



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGIA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



APLICACIÓN DEL MÉTODO MANUAL EN EL PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO EN LA CÁTEDRA DE HISTOTECNOLOGÍA

AUTORES

**ELBA SIGNORELLI
JEISON TORREALBA
LEIDY SUTIL
MIGUEL VERA**

**TUTOR
MAGALIS PEREZ PARADA**

VALENCIA, OCTUBRE DE 2013.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



CONSTANCIA DE ENTREGA

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Trabajo Monográfico
titulado:

**APLICACIÓN DEL MÉTODO MANUAL EN EL PROCESAMIENTO
HISTOLÓGICO EN LA CÁTEDRA DE HISTOTECNOLOGÍA.**

Presentado por los bachilleres:

ELBA SIGNORELLI C.I. 22.407.404
JEISON TORREALBA C.I. 21.152.821
LEIDY SUTIL C.I. 22.405.147
MIGUEL VERA C.I. 20.161.654

Fue leído el trabajo monográfico y se considera que cumple con los parámetros metodológicos exigido para su aprobación. Sin más a que hacer referencia, se firma a los ____ días del mes de Octubre del año 2013.

**Prof. MAGALIS PEREZ PARADA
C.I. N°:**

Firma del Tutor
(O Representante de la Comisión Revisora)



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO



CONSTANCIA DE APROBACION

Quienes suscribimos, Prof. Lisbeth Loaiza, Directora de Escuela; y Prof. Maira Carrizales, Coordinadora del Comité de Investigación y Producción Intelectual de la Escuela. Hacemos constar que una vez obtenidas las evaluaciones del tutor, jurado evaluador del trabajo en la presentación escrita del trabajo final de grado titulado: **Aplicación Al Método Manual En El Procesamiento Histológico En La Cátedra De Histotecnología**, presentado como requisito para obtener el título de Técnico Superior Universitario en Histotecnología, el mismo se considera Aprobado.

En Valencia, a los 21 días del Mes de Octubre del año Dos Mil Trece.

Prof. Lisbeth Loaiza
Directora

Prof. Maira Carrizales
Coordinadora



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**APLICACIÓN DEL MÉTODO MANUAL EN EL PROCESAMIENTO
HISTOLÓGICO EN LA CÁTEDRA DE HISTOTECNOLOGÍA**

AUTORES:

ELBA SIGNORELLI
JEISON TORREALBA
LEIDY SUTIL
MIGUEL VERA

TUTOR: MAGALIS PEREZ

Año: 2013.

RESUMEN

Durante la formación de los futuros profesionales histotecnólogos es necesario capacitarlo para la obtención de material biológico de humano, animal y vegetal, puesto que este es el perfil fundamental de este profesional. Es por ello que se deben instruir para el manejo de métodos automatizados de avanzada. Sin embargo ante la situación que se vive en nuestra universidad debido a los bajos presupuestos se hace imposible la adquisición de equipos biotecnológicos para las prácticas profesionales. Por lo que, es necesario describir la aplicación de algunos métodos manuales en el procesamiento de muestras histológicas como vía para minimizar el impacto en la formación del histotecnólogo. De allí, que el presente trabajo se caracterizó por ser de tipo monográfico documental, donde se efectuó una revisión bibliográfica pertinente y actualizada a fin de tener toda la información para la construcción de dicho cuerpo de conocimiento. En cuanto a las conclusiones que se pudo obtener es que es necesario el manejo efectivo del método manual en los procesos histológicos en los laboratorios de Histotecnología, debido a la situación actual que vive el país, ya que en la actualidad hay carencia de recursos económicos que repercute de manera directa dentro del sector universitario y el sector salud, no obstante es pertinente que los profesionales en estas áreas manejen no solo los métodos automatizados sino los métodos manuales para el procesamiento de tejidos a fin de dar repuesta a los desafíos que se viven en la actualidad.

Palabras Claves: Método Manual de Procesamiento Histológico, Procesamiento de láminas histológicas, Laboratorios de Histotecnología.



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
T.S.U. EN HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**MANUAL METHOD APPLICATION PROCESSING IN THE CHAIR HISTOLOGIC
HISTOTECHNOLOGY**

AUTHORS:

ELBA SIGNORELLI
JEISON TORREALBA
LEIDY SUTIL
MIGUEL VERA

TUTOR: MAGALYS PEREZ

Año: 2013.

ABSTRACT

During the training of future professionals need Histotechnologists enable him to obtain biological material from human, animal and plant, as this critical profile of this professional. That is why you must instruct the management of advanced automated methods. However, because of the situation that exists in our university because of low budgets is impossible biotech equipment procurement for professional practices. So, it is necessary to describe the application of some manual methods in processing histological samples as a way to minimize the impact on the formation of histotechnologist. Hence, the present study was characterized as monographic documentary type, which conducted a literature review relevant and updated in order to have all the information for the construction of the body of knowledge. As for the conclusions that could be obtained is that effective management is required manual method histological processes Histotechnology laboratories, due to the current situation in the country, since there is currently a lack of economic resources has a direct impact within the university sector and the health sector, however it is pertinent that professionals in these areas manage not only the methods but automated manual methods for tissue processing in order to give response to the challenges that are experienced in today.

Keywords: Method Histological Processing Manual, histological slides Processing, Laboratories Histotechnology.

INTRODUCCIÓN

La Histotecnología es una profesión inherente al área de la salud, de libre ejercicio, con formación y educación universitaria. Su objetivo principal es el cumplimiento de las actividades encaminadas a la investigación, gerencia, docencia y planificación, promoción, evaluación, conservación y defensa de todo lo relacionado al campo de la Histotecnología, en función de garantizar la salud de la población en todos sus órdenes sociales. Es el soporte técnico operativo y científico de todo material biológico humano, animal y vegetal con fines diagnósticos, de investigación y docencia, sin perjuicio de aquellas que, en la aplicación de su propia Ley de ejercicio, puedan ser ejercidas por otros profesionales. ⁽¹⁾

Ahora bien, es importante hablar de la técnica histológica la cual comenzó con el inicio de la histología y anatomía patológica a fines del siglo XIX y principios del siglo XX cuando llegó a su apogeo la llamada era de la histología del micrótopo o del micrótopo iniciada por el alemán Mayer quien implementó formalmente la palabra histología, que posteriormente indujo a la aparición de diversidad de técnicas, instrumentos y equipos que servirían para el estudio anatomopatológico. ⁽²⁾

Cabe mencionar, que el primer técnico histólogo venezolano fue el Doctor José Gregorio Hernández, el cual implementó la histología normal y patológica en la facultad de medicina en 1891 e introdujo oficialmente esta disciplina en Venezuela a finales del siglo XIX y formó los primeros técnicos histólogos (Histotecnólogos) Venezolanos. Lo que es cierto, es que esta profesión ha venido progresando paulatinamente, pero durante su desarrollo a través de diversas dificultades esto fue reseñado por la Asociación de Histotecnólogos de Venezuela, la cual realizó un estudio indicando que para hay factores imposibilitan el ejercicio pleno de la profesión y entre ellos están: disponibilidad de los tipos y concentraciones de los reactivos, la carencia de equipos, la falta de mantenimiento, la formación capacitación y la automotivación del personal que trabaja en el laboratorio. ⁽³⁾

En otro orden de ideas, es oportuno hablar del proceso habitual consiste en realizar estudios macroscópicos precisos y sistematizados de tejidos, haciéndolos analizables, mediante procesos como la fijación, un método empleado para lograr la preservación morfológica y la composición química de las células y tejidos; además, se emplea la eliminación de las sales de calcio presentes en los tejidos tras haber realizado su fijación técnica mejor conocida como decalcificación. Seguidamente, se procede a aplicar la deshidratación, debido a que una gran parte del tejido está constituida por agua, esto se hace mediante la aplicación de una serie de soluciones de menor a mayor concentración de agente deshidratante. Para posteriormente, realizar la desalcoholización, que consiste en sumergir el material histológico a una solución que es miscible tanto con el agente aclarante como con el medio de inclusión a utilizar, la sustancia comúnmente utilizada es el xileno o xilol. ^(3,4,5)

Es preciso mencionar, que se procede a realizar el proceso de infiltración que se basa en la impregnación del tejido en parafina líquida para otorgarle una determinada consistencia; seguidamente procedemos a la confección de bloques de parafina, proceso denominado también inclusión. Posteriormente, se procede a la realización del corte para obtener secciones de los tejidos a estudiar, que pueden ir desde el grosor de unos cuantos nanómetros hasta centenares de micras. Tras la obtención del corte, se necesita la visualización de las estructuras histológicas que, por ser incoloras necesitan adquirir color mediante la tinción, a partir de sustancias que interactúan con los tejidos de manera química, física-química, haciendo posible reflejar un determinado color y de igual manera producir el contraste y diferenciación de las estructuras titulares para su seguido estudio. ^(6,7)

En relación a lo expresado con anterioridad, el uso de este método se puede realizar de dos formas una con el uso de equipos modernos y otra de manera manual. Este último importante para el conocimiento del futuro egresa en histotecnología, debido que en la actualidad hay carencias de recursos en los centros asistenciales donde se observa que se ha venido agudizando la situación

desde el año 2009, donde el deterioro ha sido progresivo por el manejo equivocado de las políticas sanitarias en Venezuela, esto se puede evidenciar por la falta de mantenimiento de equipos, la escases de insumos, la baja de remuneración que reciben el personal que labora en el sector salud. De igual forma, se conoce que se han construidos pocos centros hospitalarios y el 70% de los centros de atención inmediata han sido abandonados. ⁽⁸⁾

Esta misma problemática se observa dentro en las universidades puesto que en la actualidad hay una carencia de recursos para el desarrollo de nuevas áreas del saber imposibilitando el desarrollo sustentable e impactando en la calidad educativa. Todo lo descrito, se observa de manera latente cuando las universidades nacionales no obtienen los recursos para el desarrollo de infraestructura, compra de equipos, insumos.

Lo anteriormente descrito, se puede leer en el artículo la crisis universitaria y crisis de entendimiento en Venezuela, donde se expresa que la politiquería y el populismo dentro de todo sistema educativo y en especial a nivel superior; ha dañado la calidad impartida a los educando gracias a la cacareada masificación educativa. Todo lo anteriormente expresado, impone la necesidad de ser responsable de la formación y preparación de los nuevos egresados; para logro de este fin se debe fomentar una educación superior de excelencia, que sea capaz de ser inclusiva y responder de forma eficientemente a las demandas de la economía global de la sociedad del conocimiento, esto solo se puede lograr evitando caer en la perversa cultura del rentismo, el populismo y el clientelismo político, que han sido tradicionalmente rémoras para el desarrollo nacional. ⁽⁹⁾

En este mismo orden de ideas, el artículo explica que Venezuela tristemente se ubica en la clasificación 118 de los 141 de los países que fueron considerados para en el estudio, este buscó analizar y medir la calidad educativa que es proporcionado en cada una de estas naciones a sus educando. Asimismo, Moreno expresó dentro del ránking de competitividad en el periodo 2012-2013, en el Foro Económico Mundial, Venezuela aparece en la cola de los 144 países evaluados.

Todo esto refleja no solo la perentoria necesidad de solventar la crisis financiera de las nuestras universidades, sino pensar en la responsabilidad de desechar el modelo estatista y populista del gobierno, por tanto, se debe promover y apoyar con visión de futuro a fin de ser coparticipes de las transformaciones que requieren en las universidades del país, para así contribuir al pleno ejercicio de su autonomía y el logro de una patria productiva, competitivo y solidario al que todos tenemos derecho. ⁽⁹⁾

Hay que destacar, que esta situación se ve reflejada en la Facultad de Ciencias de la Salud en la escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológica carrera de Histotecnología, debido que en la actualidad carece de recursos donde se observa la falta de equipos e insumos para las prácticas en los laboratorios, repercutiendo en la calidad de egresado. Es por ello, que es necesario desarrollar mecanismo que ayuden a adquirir conocimientos prácticos para el procesamiento de muestras histológicas, considerando dos premisas la primera la crisis en el sector salud donde hay escasez de recursos económicos y la falta de presupuestos dentro del sector universitario que en muchas ocasiones se ve imposibilitado para comprar los de equipos de última generación o el mantenimiento de los ya existentes.

El presente es monográfico documental va dirigido a describir la aplicación de métodos manuales en el procesamiento de muestras histológicas, debido que es necesario capacitar al alumnado para la obtención de material biológico humano, animal y vegetal, siendo que este el objetivo principal de la profesión de histotecnólogos. El manejo de métodos manuales y métodos automatizados, permite una formación profesional integral que contribuye al desarrollo efectivo del ejercicio de la profesión en situaciones donde exista carencia de recursos o en momentos, donde se tengan todos los equipos necesarios para el procesamiento de muestras histológicas.

DESARROLLO TEÓRICO DE LA INVESTIGACIÓN

Se define la técnica histológica al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónicos y electrónicos. Otra definición indica que, esta consiste en realizar estudios macroscópicos precisos y sistematizados de tejidos, haciéndolos analizables, mediante procesos como la fijación, un método empleado para lograr la preservación morfológica y la composición química de las células y tejidos; además, se emplea la eliminación de las sales de calcio presentes en los tejidos tras haber realizado su fijación técnica mejor conocida como descalcificación. ⁽¹⁰⁾

Procesamiento de Muestras Histológicas Manual

El hombre ha tenido la necesidad de conocer cada día más de su propio organismo, el de los animales y vegetales a fin de dar respuesta a sus necesidades e interrogantes, eso lo ha llevado a estudiar las estructuras de tejidos, órganos y células para el logro de este conocimiento ha buscado desarrollar métodos y técnicas que permitan el estudio morfológico de estructuras tisulares.

Cabe destacar, que el método histológico posee una serie de pasos ajustados a un procedimiento riguroso para el estudio de tejido, estos poseen un protocolo que permite obtención de la muestra para ser visualizadas y evaluadas para su posterior diagnóstico bajo la luz de un microscopio. Estos procedimientos están claramente explicados en el manual de métodos histotecnológicos del Instituto de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos, el cual fue elaborado en el año de 1953 por Mary Frances Gridley, cuyo objetivo fundamental era asegurar la calidad histopatológico e impulsar las normas para asegurar la calidad del procesamiento de la muestras. Este manual fue revisado en 1955 y cambiado a manual de técnicas histológicas y tinciones especiales, ya para 1987 y 1991 se vio en la

necesidad de actualizar en manual con nuevas técnicas, las cuales fueron apoyadas por el Doctor Thomas Stocker sub director del Instituto de las Fuerza Armadas de los Estados Unidos (AFID) con el objeto de hacer énfasis en los aspectos teóricos prácticos explicando de manera organizada y detallada los procedimientos de rutina para la preparación de los cortes histológicos. ⁽⁷⁾

En este mismo orden de ideas, se van a explicar a continuación las etapas del proceso histológico, las cuales posee nueve etapas cada una con procedimientos de rutina entre estas etapas están: La fijación, Deshidratación, Diafanización o aclaramiento, Infiltración de parafina, Inclusión, Micrótopo, Coloración HE, Montaje.

Fijación

La fijación es el proceso por la cual se evita y se previene los cambios autolíticos que producen en los tejidos, a menudo favorecidos por agentes infecciosos, inflamaciones y mal manejo físico después de la obtención de la muestra. Otra definición hace referencia que la fijación como un método para la preservación de la morfología, la composición química y los tejidos. Consiste en producir la muerte de las células, de manera tal que las estructuras que poseían éstas en el estado viviente se conserven en un mínimo de modificaciones, a lo largo del tiempo y los siguientes pasos que confieren la técnica. ⁽¹¹⁾

Hay que señalar que, el proceso de fijación no solo preserva los tejidos deteniendo la autolisis sino que también permite que los tejidos permanezcan sin cambios luego de subsecuentes tratamientos. Idealmente, los tejidos se endurecen ligeramente pero no se fragmentan permitiendo que las estructuras tisulares no se encojan y que estén muy cerca del estado en vivo. La fijación puede lograrse por inmersión o por perfusión. La fijación debe hacerse inmediatamente ya que cualquier demora seca el tejido y acelera la autolisis. La congelación del tejido antes de la fijación puede producir cambios morfológicos severos. En la selección del fijador intervienen varios factores tales como las estructuras y entidades que se van a demostrar y los efectos a cortos y largo plazo

del almacenaje. Hay numerosos tipos de fijadores, cada uno con sus ventajas y desventajas. Algunos fijadores son restrictivos, otros se pueden usar de varias formas. ⁽¹⁰⁾

Es importante mencionar, que la formalina neutra al 10% estabilizada, está considerada como el mejor fijador general para especímenes patológicos porque preserva el número más grande de estructuras, requiere un periodo de fijación relativamente corto, puede ser usada para almacenamiento de muestras de tejido a largo plazo y penetra rápida y regularmente sin producir endurecimiento del tejido. Los tejidos sin procesar pueden permanecer varios meses sin efectos adversos y sin precipitados en formalina neutra al 10% estabilizada, siendo la preservación del detalle nuclear y citoplasmico muy adecuada. ^(10,12)

Deshidratación.

Los tejidos en su mayoría contienen grandes cantidades de agua que debe ser eliminada y reemplazadas por la parafina, naturalmente debe ser realizados mediante el uso de algunas sustancias que se mezclan con el agua y tengan cierta afinidad con ella, de manera que pueda penetrar fácilmente entre las células de los tejidos para que pueda sustituir el agua.

Cabe destacar, que la deshidratación debe ser completa porque, de lo contrario, el solvente no actúa de forma adecuada y el bloque de inclusión no alcanza la dureza requerida. Para tal fin se utilizan líquidos deshidratadores en los cuales se sumergen los tejidos. Los deshidratadores más usados son el alcohol etílico, el alcohol isopropílico, el dioxano y el cloroformo. ⁽¹³⁾

Diafanización o aclaramiento.

Se trata de un proceso por el cual se consigue la sustitución del agente deshidratante por una sustancia miscible con el medio de inclusión que va utilizarse. Con ello se pretende que toda la pieza histopatológica se halle

debidamente empapada en un agente químico líquido en el que pueda disolverse en el medio de inclusión y de este modo penetra en el tejido. ^(13,14)

En oportuno indicar, que durante el proceso las muestras deshidratadas se encuentran totalmente embebidas en alcohol etílico absoluto; pero la parafina tampoco es soluble en alcohol por lo que es necesario reemplazarlo por sustancias que sean capaces, simultáneamente, de mezclarse con el alcohol y disolver la parafina. Estas se denominan líquidos diafanizadores o intermediarios como son el xilol, tolueno, benceno, y el cloroformo.

Hay que expresar que, la actividad aclaradora o diafanizadora del xilol se emplea también en el procedimiento de coloración. La diafanización de los tejidos deshidratados se debe a que estas sustancias poseen un alto índice de refracción y al interactuar con los tejidos los vuelven transparentes. La actividad aclaradora o diafanizadora del xilol se emplea también en el procedimiento de coloración. La diafanización de los tejidos deshidratados se debe a que estas sustancias poseen un alto índice de refracción y al interactuar con los tejidos los vuelven transparentes. ⁽¹⁰⁾

Infiltración de parafina.

La infiltración se realiza mediante baños sucesivos en la parafina fundida. Estos baños deben ser renovados frecuentemente porque se cargan del medio de aclaración y producen la disminución del punto de fusión de la parafina y la vuelven más blandas y menos apropiada para el corte. Su enturbiamiento a la percepción de olor del aclarante en el último baño de parafina indica la necesidad de cambiarlo ⁽¹⁴⁾

Por tanto, la penetración de la parafina al interior de los tejidos se efectúa cuando ésta se encuentre en estado líquido. En el comercio las parafinas se expenden en forma de bloques discoidales, escamas, tabletas rectangulares o en forma de grumos pequeños. Las parafinas, se disuelven usando estufas que las mantienen en ese estado. Las estufas permanecen a una temperatura constante, generalmente de 20 C a 40 C por encima del punto de fusión de la parafina a

emplear. La parafina diluida se coloca en tres recipientes dentro de la estufa. El primero, con una capacidad de 1000 a 1500 cc, recibirá a las muestras embebidas en xilol; la parafina reemplazará el xilol de las muestras y se infiltrará al interior de las mismas. Los otros dos recipientes son más pequeños (500 cc. de capacidad) y, de manera consecutiva recibirán a los tejidos. El último de ellos servirá para contener a las muestras antes del proceso de formación de los “bloques” de parafina. En el interior de la estufa debe existir otro recipiente conteniendo parafina líquida pura, que se empleará para la formación de los “bloques”. El tiempo que permanezcan las muestras dentro de los recipientes de parafina dependerá de la naturaleza del tejido y el tamaño de las muestras. ⁽¹⁰⁾

Inclusión

El fundamento de este proceso radica en la ocupación completa con este medio de los espacios intratisulares y extratisulares inicialmente rellenos de agua y que proporcione la consistencia firme, necesaria para hacer cortes bastantes delgados, sin provocar distorsión y sin alterar las relaciones especiales del tejido y elementos celulares. Es importante indicar, que la finalidad de este proceso es proporcionar a las piezas anatómicas la homogeneidad y dureza suficiente para que pueda obtener secciones finas de calidad. Se puede realizar la inclusión de distintos medios. Por hoy en día el método de elección sigue siendo la inclusión de la parafina. ^(13, 14)

En cuanto al proceso la inclusión o formación del bloque de parafina se efectúa empleando moldes de diversos materiales y diferentes áreas y profundidades. Pueden ser de papel, metal o plástico. El bloque de parafina debe contener la muestra correctamente orientada para facilitar la obtención de las secciones o “cortes”. El molde elegido se llena con parafina caliente pura; con una pinza calentada en un mechero se toma una pieza de tejido del tercer recipiente y se orienta una de sus superficies (aquella que se pondrá en contacto con el filo de la navaja) se sumerge al interior del molde, en el que la parafina ha empezado a solidificarse y se le aplica una leve presión. Después los moldes se enfrían de

inmediato (se sumergen en agua fría o se introducen en el refrigerador) para que la parafina se solidifique de manera homogénea. ⁽¹⁰⁾

Micrótopo

Los micrótopos son instrumentos de gran precisión que proporciona cortes delgados parejos y de espeso graduables. Los cortes más comunes son de 4 a 6 micras. En esta etapa, los tejidos y la parafina integran un solo bloque que, posee la dureza y la consistencia suficientes para obtener secciones delgadas y transparentes. Dichos cortes se obtienen utilizando instrumentos mecánicos diseñados para que en forma más o menos automática, seccionen el bloque de parafina en cortes delgados y de grosor uniforme. Los instrumentos se denominan “micrótopos”. ⁽¹⁵⁾

Durante esta parte del proceso de procede a la extensión y adhesión de los cortes al porta objetos y una vez obtenidos, son aislados o en forma de cintas, generalmente se presentan arrugados y muestran una área menor que la que poseen en la inclusión, por lo que es necesario extenderlos y luego adherirlos a las láminas portaobjetos (esto facilita su manipulación posterior). ⁽¹⁰⁾

Posteriormente, los cortes se extienden al depositarlos sobre la superficie del líquido extendedor contenido en un recipiente denominado “baño de flotación” (éste mantiene la temperatura entre 40o a 45o C). Las secciones se depositan en el líquido procurando que la superficie brillante (aquella correspondiente al filo de la navaja) se ponga en contacto con el líquido caliente. En caso que ciertas arrugas persistan, se emplean unas pinzas finas o un pincel de pelo de camello, para ejercer una ligera tracción entre los extremos de los cortes y así desarrugarlos totalmente. ⁽¹⁰⁾

Coloración HE

Tinción

La mayoría de los tejidos, sobretodo lo de los animales, son incoloros y por ello se necesita teñirlos para observar sus características morfológicas. Las tinciones

generales están basadas en el uso de colorantes, sustancias mediante las cuales se consuelen colorear los tejidos estos son hidrosolubles y se caracterizan por unirse a ciertas moléculas presentes en los tejidos gracias a afinidades químicas.
(15)

En este momento es oportuno definir hematoxilina y Eosina, la primera es una sustancia capaz de colorear, extraída de la madera de un árbol de Campeche, originario de centro américa y la segunda es un colorante artificial (se trata de derivados hidroxixanténicos halogenados con tres grupos arilo) presente autofluorescencia espontanea se la emplea tanto en soluciones acuosas como alcohólicas. Para colorear se emplea genetralmente una batería de coloración. Es un ácido débil. Utilizando una mezcla en que el ácido acético actúa como mordiente se utiliza para colorear cromosomas. (14)

Cabe destacar, que la coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico. Consiste en la tinción de: Los núcleos mediante una hematoxilina, previamente oxidada y transformada en hemateina a la que se le añade una sustancia mordiente para formar una laca (para tal fin se usan sales metálicas de aluminio, plomo o fierro). Los núcleos se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron. En cuanto al citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados de color rosado. (10)

Montaje

Es el paso final para la preparación de una lámina portaobjeto, es cubrir la porción que contiene el tejido como un vidrio muy delgado, la laminilla cubre objeto. Esto hace que la lámina sea permanente y permite el examen microscópico. (PROPHET EDNA. Métodos histotecnológicos. Instituto de patología de las fuerzas armadas de los Estados Unidos de América (AFIP) 1992. (7) Este procedimiento consiste en colocar encima del corte coloreado y diafanizado una gota de una sustancia adherente, diluida, generalmente en xilol (resina natural

como el bálsamo de Canadá o resinas sintéticas, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio) y encima de ellos, una laminilla cubreobjetos, cuidando que no queden burbujas de aire entre la resina. A continuación se deja que el xilol se evapore, y la resina adquiera solidez suficiente; para ello las láminas se colocan en una platina caliente (45o 50o C) durante 24 a 48 horas y estarán listas para ser observadas. ⁽¹⁰⁾

Ventajas adquirir conocimiento en el Procesamiento de Muestras Histológicas Manual

Los procedimientos manuales de inclusión en la actualidad han sido desplazados de las prácticas diarias por los procedimientos que emplean sistemas automáticos, pero sigue siendo válido para el procesamiento de muestras que por sus variaciones en volumen o por su extrema delicadeza no pueden ser incluidas en el procesador automático. Por otra parte, este tipo de inclusión es importante para el aprendizaje del laboratorio pues los alumnos pueden seguir los cambios que sufren la textura tisular durante el proceso. ⁽¹⁵⁾

El propósito que guía cualquier proceso de inclusión es conseguir una impregnación lo más correcta posible en el menor tiempo sin que la distorsión tisular sea excesiva. En la técnica manual de inclusión es posible emplear agentes deshidratantes y sobre todo líquidos intermediarios que por su elevado costo no pueden utilizarse (cloroformo). Por tanto, estos serían muy costosos utilizar estos solventes en los procesadores automáticos de tejido. ⁽¹⁵⁾

El uso de métodos manuales permite que los profesionales en Histotecnología tengan formas alternativas para el procesamiento de muestras histológicas, considerando que en la actualidad hay carencias de equipos e insumos en los centros asistenciales. Por tanto, las universidades nacionales deben considerar la posibilidad de preparar a sus futuros egresados en la aplicación del método de procesamiento histológico, debido a la crisis presupuestaria no permite en algunos casos la obtención y mantenimiento de equipos.

Una vez expuestos los elementos teóricos, es oportuno hacer referencia a los antecedentes de la investigación, los cuales fueron debidamente seleccionados considerando la pertinencia de los mismo: la primera es una investigación desarrollada en la Universidad Arturo Michelena objetivo de este trabajo especial de grado es elaborar un manual de procesamiento histológico para microscopia óptica adaptado a las condiciones de Venezuela que estandarice y disminuya la diversidad de metodologías utilizadas, para optimizar los resultados que se obtengan al procesar las muestras tisulares. El trabajo se caracterizo por ser descriptiva de campo bajo la modalidad proyecto factible, lo que buscó en dicho estudio es complementar las clases teóricas y prácticas durante la formación académica de los estudiantes de Histotecnología, siendo una herramienta útil para los profesionales que laboran en el ámbito relacionado con la histología e histopatología, logrando profundizar el conocimiento teórico de las técnicas histológicas básicas y permitiendo adquirir un manejo adecuado práctico de las mismas.

Cabe destacar que la conclusión a la cual llegó la investigación es que todo Escuela de Patología Médica requiere de documentos teóricos actualizados relacionados procesamiento histológico con el fin de poder disponer de activos intelectuales que contribuyan en la formación de los futuros egresados. Dicho trabajo es de utilidad para la investigación, debido que allí exponen de manera clara y precisa el manejo de procesos de estructuras tisulares, sirviendo como elementos teóricos para la construcción del presente cuerpo de investigación. ⁽¹⁶⁾

Otro antecedente va relacionado a los procesos históricos de la Técnica Histológica en Venezuela, este artículo científico que dicha áreas del conocimiento es la piedra angular de la histología normal y patológica. Actualmente a la luz de los adelantos agigantados de la patología molecular, esta disciplina requiere de mayor competencia la autora expresó que actualmente existen más de 300 Histotecnólogos en el país quienes no cubren las demandas a Nivel Nacional siendo un clamor el establecimiento de cursos universitarios regulares en esta materia, debido que las destrezas y conocimientos de técnica histológica, se

transmitieron en forma tradicional de patólogo a patólogo, de patólogo a técnico y de técnico a técnico y no por la formación profesional. La conclusión a la cual llega en su trabajo científico actualmente la demanda de Histotecnólogos es mayor debido a la nueva apertura de centros de diagnóstico anatomopatológico tanto públicos como privados a nivel Nacional, por tal razón se requiere personal altamente calificado para el desempeño de área de la ciencias de la salud.

Dicho manuscrito sirve de sustentación para explicar el proceso histórico de cómo fue evolucionado la carrera de Histotecnología y la forma como se ha venido transfiriendo en conocimiento de manera empírica. Por tanto, dicho documento permite ver con mayor precisión las exigencias del sector salud y la necesidad de la formación técnica y profesional de los futuros egresados de las universidades nacionales, sirviendo como proceso reflexivo del porque sistema universitario actual de incentivar la enseñanza de los métodos manuales y métodos automatizados para el procesamiento de cortes histológicos a fin de garantizar la calidad y el desempeño del ejercicio profesional y el impacto que este tiene dentro del sistema sanitario del país. ⁽¹⁷⁾

CONCLUSIÓN

Se puede concluir que es necesario que los profesionales en Histotecnología logren manejar los métodos automatizados y los métodos manuales, ya que esto permite responder a las exigencias y requerimientos que hay en la actualidad en el país. Sin contar, que el uso y dominio de ambas formas de procesamiento de métodos histotecnológicos contribuya a la formación sólida del futuro egresado y el desempeño efectivo de sus funciones en un área tan sensible en el campo de las ciencias de la salud.

Un aspecto importante a señalar, es que sí bien el uso de métodos histotecnológicos con equipos automatizados se logra procesar las muestras histológicas con mayor rapidez y celeridad, sin la presencia del técnico o licenciado en Histotecnología, habría que considerar el manejo efectivo del método manual para el procesamiento de cortes histológicos, debido a la situación actual del país en materia de salud y educación, ya que la misma es crítica por la carencia de materiales, insumos, equipos y mantenimiento.

Todos o anteriormente expuesto obedece a la carencia de recursos económicos, producto de las políticas económicas del Estado Venezolano, el cual no responde a las necesidades y exigencias. Es por ello, que se hace énfasis en la enseñanza de métodos manuales, debido a la carencia de equipos que existe en centros asistenciales y laboratorios universitarios dejándolo como una alternativa factible, la cual deben ser manejadas por los profesionales en esta área de conocimiento.

Finalmente, en la actualidad las universidades nacionales y en el caso particular de la Facultad de las Ciencias de la Salud, específicamente la Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas en la carrera técnica de Histotecnología es un área relativamente nueva que requiere el impulso y apoyo para la adquisición de equipos e insumos que son necesarios, para la formación del egresado en las áreas de laboratorio para el desarrollo efectivo de las prácticas profesionales, es por esto que es necesario en el aprendizaje de método manual como una forma de

subsana la carencia de equipos por los problemas de asignación de recursos a esta prestigiosa casa de estudios.

RECOMENDACIONES

Se sugiere solicitar la colaboración del sector privado para la compra de equipos e insumos, considerando que esta es opción viable, debido al prestigio que ha venido adquiriendo paulatinamente la Universidad de Carabobo, como formador de capital intelectual para los distintos sectores productivos del país, esto permitiría la dotación en los laboratorios de la Escuela de Histotecnología y garantizaría en el tiempo la formación de los futuros egresados.

Otro aspecto a ser señalado, es el hecho que el uso del método manual hace que los alumnos, docentes en el campo de la Histotecnología se vean más expuestos a los agentes químicos los cuales son dañinos para la salud, por ello se recomienda tener especial énfasis en los mecanismos de bioseguridad a fin de preservar la salud y la calidad de vida de dichos profesionales en el campo de las ciencias médicas.

Finalmente, es propicio indicar que se podría estimular a la participación activa de los estudiantes, para serlos sensibles a las necesidades y el resguardo de laboratorios de la Escuela de Histotecnología a fin que estos se integren y así crear vínculos sólidos con la Facultad de las Ciencias de la Salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Junta Directiva Del Colegio de Histotecnologos de Venezuela, Junto con la Comisión Para la Creación del Proyecto de Ley del Ejercicio de la Profesión de la Histotecnología. Documento en Línea. Disponible en: <http://leyejerciciohistotecnologia.blogspot.com/2012/05/normal-0-21-false-false-false-es-ve-x.html>. Fecha de consulta: 26-02-13.
2. Infomed Especialidades. Histología. Documento en línea. Disponible en <http://www.sld.cu/sitios/histologia/temas.php?idv=14934>. 13/09/2013.
3. Yáber M, Hernández J. Académico-científico; Apóstol de la justicia social; Misionero de la esperanza. Primera Ed. Ediciones OPSU- UCV. Caracas, 2004. Fecha de consulta: 22-02-13.
4. Espinel L. El Doctor José Gregorio Hernández. Figura paradigmática y médico del pueblo. GacMéd Caracas 1974 Año LXXXII. (5-6): 239-244. Fecha de consulta: 18-02-13.
5. Hernández J. Obras Completas. Compilación y notas por el Dr. Fermín Velez Boza. Ed. OBE, Imprenta Universitaria. UCV. Caracas, 1968. Fecha de consulta: 15-02-13.
6. Stevens A. Histología Humana. Tercera edición. ElsevierMosby. Madrid España 2006.
7. Prophet Edna. Métodos histotecnológicos. Instituto de patología de las fuerzas armadas de los Estados Unidos de América (AFIP); 1992.
8. Sistema de Salud Venezolano es Como un Paciente con Enfermedad. <http://www.guia.com.ve/noti/34568/sistema-de-salud-venezolano-es-como-un-paciente-con-enfermedad-cronica> 25/01/2009.
9. Moreno, J. Crisis Universitaria y Crisis de Entendimiento en Venezuela. Documento en Línea. Disponible en <http://www.americaeconomia.com/analisis-opinion/crisis-universitaria-y-crisis-de-entendimiento-en-venezuela-0>.
10. Montalvo A. Técnicas Histológicas. Documento en Línea Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal%20de%20Recursos%20en%20Linea/Apuntes/3_tecnica_histologica.pdf Fecha de Consulta:

03/09/2013.

11. Torres F. Manual de técnicas en histología y anatomía patológica. Primera edición. Ariel practicum.
12. Lynch R. Métodos de Laboratorio (3ed) Editorial México; 2006.
13. Flores F. Introducción a las Técnicas Histológicas. Revista Ciencias; 2007 Documento en Línea. Disponible en: <http://www.RevistaCiencias.com/publicaciones/epypuyzkplqspprd.php>. Fecha de Consulta: 05/09/2013.
14. Molist P. Técnicas Histológicas. 2008 Documento en Línea. Disponible en <http://webs.uvigo.es/mmegias/inicio.html>. Fecha de Consulta: 08/09/2013.
15. García R. Laboratorio de Anatomía Patológica Interamericana. Mc Graw Hill.
16. Suarez E. y Canelo J. Manual de procesamiento histológico para microscopia óptica adaptado a las condiciones de Venezuela que estandarice y disminuya la diversidad de metodologías utilizadas. Trabajo de grado para optar título de Licenciados Histotecnología. Valencia: Venezuela. 2011.
17. Suarez C. Notas sobre el origen de la técnica histológica en Venezuela: con especial referencia a su desarrollo en el Instituto Anatomopatológico "Dr. José Antonio O'daly. Documento en Línea. Disponible en <http://xa.yimg.com/.../Origen+de+la+técnica+histológica+en+Venezuela.+Dra+...d> e CABB de Suárez. Fecha de consulta: 22-07-13.