



## PROTOCOLO DE ENVÍOS DE TEJIDOS PARA DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

### Introducción

El Servicio de Histopatología Veterinaria del Departamento de Patología y Medicina Preventiva, Facultad de Ciencias Veterinarias, de la Universidad de Concepción, ofrece el servicio de estudios de biopsias e histopatología. Punto clave para un buen análisis de los tejidos (etapa analítica), corresponde al proceso de toma de la muestra y el envío de esta al laboratorio (etapa pre analítica).

El presente documento va dirigido a usuarios de este servicio como Médicos Veterinarios, Clínicas y Consultas Veterinarias, informándolos sobre los pasos y las características de un proceso de muestreo de tejidos, que permita un correcto análisis de la muestra remitida al Servicio de Histopatología Veterinaria.

### DESDE UNA BIOPSIA

#### Conceptos a considerar

**Biopsia:** porción de tejido extraída de un cuerpo vivo, con la finalidad de llegar a un diagnóstico mediante el estudio microscópico de diversos cortes, con determinadas tinciones.

**Fijación:** Proceso que le sigue inmediatamente después de la toma de muestra para detener procesos de autólisis por auto digestión.

**Formalina tamponada 10%:** Fijador universal en base a formaldehído (37-40%). Se diluye 10 veces y se le agregan sales (fosfato de sodio monobásico y fosfato de sodio dibásico anhidro) para amortiguar el pH. De no poder acceder a las sales para tamponar se pueden suplir éstas en terreno con un trozo de tiza (carbonato de calcio).

**Alcohol de 95°:** puede ser usado como fijador, pero hay que tener en cuenta su pérdida por evaporación, lo que dificulta la forma y tiempo de envío de la muestra.

#### **Procedimiento de obtención de muestras para biopsias**

1. El estudio histopatológico de una muestra de tejido sólo debe ser solicitada por un Médico Veterinario.
2. El Médico Veterinario que solicite el estudio deberá llenar una ficha con los siguientes datos
  - Identificación del Médico Veterinario: nombre, dirección de consulta o clínica, teléfono y correo electrónico.
  - Identificación del propietario: particular, empresa, industria.
  - Identificación del paciente: nombre, especie, edad, sexo, raza.



- Anamnesis: Antecedentes clínicos, pre diagnóstico, cirugía realizada, órgano o tejido enviado.
- Fecha de la solicitud.

3. Las muestras de tejido para biopsias se depositarán y mantendrán en frascos de diferentes tamaños que cumplan con los siguientes requisitos:

- Transparentes.
- Plásticos, no está permitido frascos de vidrio por riesgo accidente corto punzante.
- Tapa rosca, boca ancha.
- La muestra deberá colocarse en el frasco con una cantidad formalina tamponada al 10% de 10 veces el tamaño de la muestra, esta debe cubrir la muestra por todas sus caras.
- Si el tejido muestreado presenta una cápsula gruesa se sugiere realizar un corte en la superficie de esta, para la mejor penetración del fijador.
- Es necesario destacar que el envase debe contener la formalina antes de depositar la muestra de tejido, ya que esto evitará que el tejido quede adherido a las paredes del envase, sin tomar contacto con la formalina.

El personal que manipula muestras de tejido deberá usar implementos de barrera como (guantes y mascarillas) para prevenir accidentes con sangre, fluidos corporales y derrames de formalina.

4. Identificación de la muestra: se realiza en el cuerpo del frasco NO EN LA TAPA.

- Nombre del paciente
- Fecha
- Tejido
- Médico Veterinario solicitante

5. Traslado de la muestra

Todas las muestras deben ir acompañadas de su respectiva orden de solicitud de estudio histopatológico con los datos antes mencionados.

Las órdenes de biopsias deben ir en la misma caja de las muestras y dentro de bolsas plásticas por eventual derrame.

Los frascos deben ser embalados con protección anti derrame.

6. Criterios de rechazo de muestra

- Muestra sin solicitud
- Mal rotulación de la muestra
- Muestras no fijadas y/o en proceso de autolisis
- Fijador no adecuado y/o en proporciones insuficientes



## 7. Resultados

Serán entregados por la secretaría del Laboratorio, quien lleva registro de las biopsias recibidas y canceladas, y enviados al Médico Veterinario tratante vía correo electrónico. Una vez enviado el resultado del examen, quedará una copia archivada en el Laboratorio.

### **DESDE UNA NECROPSIA**

El principal complemento de la necropsia lo constituye el examen histopatológico de los órganos, ya que aportará una información de gran valor incluso en aquellos casos donde la apariencia macroscópica no arroje modificaciones significativas. Mediante el análisis histológico es posible descubrir el agente etiológico, relacionarlo con las lesiones, conocer el curso de la enfermedad y en caso de las biopsias, se puede indicar el pronóstico.

### **Consideraciones generales para la recolección y envío de muestras**

Como criterios para la recolección de las muestras que se deben tener presente los siguientes:

1. Idealmente las muestras se deben obtener de un animal recién muerto, o en su defecto de un animal sacrificado que presente los síntomas de la enfermedad en forma avanzada.
2. Debe evitarse en lo posible recoger muestras de cadáveres que tengan más de 10 horas de muerto, incluso tiempos menores en épocas de verano, o cuando hay enfermedades clostridiales.
3. Las muestras como principio general deben fijarse, pero en ciertas ocasiones, se puede enviar al laboratorio muestra frescas, ya que estas tienen la ventaja de permitirle al patólogo elegir las porciones más adecuadas para realizar los cortes histológicos, aunque el principal inconveniente, es sin duda, la autólisis de los tejidos. Es importante mantener y enviar refrigerada las muestras frescas, no congeladas.
4. Por otro lado, no deben enviarse muestras congeladas ya que la congelación forma cristales groseros en los tejidos, y altera la morfología original, dificultando el diagnóstico.
5. Por último, deben recolectarse muestras de todos los órganos, independientemente si se observan o no alteraciones macroscópicas, ya que las modificaciones histológicas no siempre tienen un aspecto macroscópico determinado. El limitar el número de muestras, también limita en algún grado las posibilidades de diagnóstico.



## **Procedimiento para la recolección y fijación**

### **1. Recolección de los tejidos**

1.1 La obtención de la muestra debe ser en lo posible inmediatamente después de la muerte, para ello se usará bisturí o cuchillos limpios y afilados, ya que ellos permiten cortes netos. Con este fin no debe usarse tijeras o pinzas diente de ratón, ya que estos instrumentos alteran la morfología en las zonas de compresión.

1.2. Evitar la desecación de los tejidos, debido a que la pérdida de agua puede modificar el aspecto histológico de ellos. En terreno, se recomienda proteger los órganos o muestras de la rápida desecación utilizando para ello, por ejemplo, la pared abdominal.

1.3. Posterior a la obtención, los trozos de tejido, no deben aplastarse, ni doblarse, ya que estos defectos de manipulación, dificultarán su laminación en el laboratorio.

1.4. Los trozos deberán tener un grosor o espesor ideal de 0,5 cm y de una amplitud suficiente para identificar su origen. Espesores mayores impiden una buena fijación del interior del tejido, ya que la mayoría de los fijadores poseen un lento poder de penetración por esa razón los tejidos con cápsula, intestino, o cualquier otro conducto, deben abrirse para facilitar la acción del fijador.

1.5. Los trozos deben incluir una porción macroscópicamente normal, la que servirá para identificar el órgano, y una porción patológica. Por ejemplo, en el caso de una lesión granulomatosa, el centro del granuloma corresponde a una necrosis no estructurada, que impide reconocer el órgano, y por lo demás, tampoco se puede obtener información patológica importante, ya que en este caso, deberá examinarse más detalladamente la zona límite del granuloma, donde se observará por una parte tejido normal y por otra la reacción inflamatoria.

### **2. Fijación de la muestra**

2.1. Las muestras se colocarán lo antes posible en un líquido fijador, utilizándose más comúnmente con este fin una solución de formalina al 10% tamponada, con la que se rellena un envase con la capacidad suficiente para almacenar un volumen 5 a 10 veces superior al trozo de tejido fijado.

2.2. Se recomienda colocar primero el fijador en el frasco y luego los tejidos, para evitar que estos se adhieran a las paredes del envase, impidiendo con ello el contacto de parte de la muestra con el fijador.



2.3. La solución de formalina al 10 % tamponada, se prepara combinando 1 parte de formalina comercial (formalina pura al 37%), con 9 partes de agua. En terreno se puede tamponar, agregando un trozo de tiza (carbonato de calcio), con la que se evita la formación de hematina ácida (pigmento negro), especialmente en aquellos tejidos con gran cantidad de sangre.

2.4. Además de la formalina, se puede utilizar otros fijadores con fines específicos, pero en estos casos se debe rotular al etiquetar y empaquetar las muestras, ya que los tejidos fijados por métodos con ácidos u otros elementos empleados, se pueden alterar por tiempos de fijación superiores a 48 horas.

### **3. Envasado de la muestra**

3.1. Para la recolección de muestras se deben usar frascos de boca ancha, de modo que permita tanto la introducción de las muestras cuando estas estén frescas, así como, su posterior extracción en el laboratorio, cuando esté fijada. Por esta razón, los envases de boca angosta son inadecuados, ya que al fijarse los tejidos, estos se tornan sólidos y no pueden extraerse desde el frasco.

3.2. Los tejidos que flotan (pulmón, lipomas), deben envolverse con gasa y asegurarse de que queden cubiertos por la solución fijadora.

3.3. Todas las muestras de un caso se pueden fijar en el mismo envase, no siendo necesario identificar cada tejido por separado, aunque sean trozos pequeños, incluso de ser necesario por problemas de transporte, en el mismo envase, se pueden enviar muestras de diferentes casos, teniendo sí la precaución de envolver cada lote separadamente en gasa con su respectiva identificación.

3.4. Rotular los frascos, acompañarlos del respectivo protocolo de necropsia y enviarlos posteriormente al laboratorio.