



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Licenciada en Ciencias de la  
Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

Técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos

**AUTORA**

Joselyn Lisseth Barragan Lizano

**TUTOR**

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

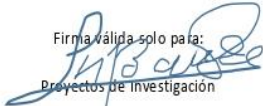
**Riobamba – Ecuador**

**2021**

## REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: “**Técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos**”. Presentado por Joselyn Lisseth Barragan Lizano, dirigido por el Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez, una vez escuchada la defensa oral y realizado el informe final del proyecto de revisión bibliográfica con fines de graduación, escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para el uso y custodia de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH.

Para la constancia de lo expuesto firman:

Firma válida solo para:  
  
Proyectos de Investigación

Mgs. Mercedes Balladares Saltos

**Presidenta del tribunal**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

  
Titulación Especial

Mgs. Yisela Ramos Campi

**Miembro del tribunal**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

Ing. Felix Falconi Ontaneda

**Miembro del tribunal**

Firma válida solo para:  
  
Consejo Cúmplice de la U. Barragan, 072321  
**Firma**

## CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, **Carlos Iván Peñafiel Méndez**, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutor del Proyecto de Investigación titulado: **Técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos**, propuesto por la Srta. Barragan Lizano Joselyn Lisseth, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 24 de junio de 2021



.....  
Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Yo, Joselyn Lisseth Barragan Lizano con C.I.: 0202078200, soy responsable del presente trabajo investigativo con el título denominado “Técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos” en el que se manifiesta ideas, pensamientos, criterios, análisis, resultados y conclusiones. Los derechos de autoría es patrimonio intelectual de la Universidad Nacional de Chimborazo.

A handwritten signature in blue ink that reads "Joselyn BL". The signature is written in a cursive style with a horizontal line underlining the letters.

Joselyn Lisseth Barragan Lizano

C.I.: 0202078200

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero empezar por agradecer a mi familia por impartirme valores a lo largo de mi trayectoria, por enseñarme a ser mejor cada día, brindarme todo su amor y confianza, y por corregir mis faltas y celebrar junto a mis los triunfos obtenidos. A la Universidad Nacional de Chimborazo que me acogió en sus grandes aulas, para la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en las que se imparte el conocimiento por grandes profesionales, que han entregado su tiempo y dedicación que me han ayudado en mi desarrollo profesional, sin dejar de lado que este segundo hogar me permitió conocer personas maravillosas y momentos que llevo en mi corazón.

A mi tutor Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez a quien le debo gran parte de mi aprendizaje y el desarrollo de este proyecto en el cual me brindo apoyo con sus conocimientos y me motivo en cada etapa para llegar a la culminación esperada.

A mis lugares de prácticas, que me ayudaron a mejorar profesionalmente demostrándome la realidad de la vida laboral y la importancia de nuestro empeño en el área.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo primero a Dios que me ha dado todo sin condición y por su grande misericordia hacia mi persona, por permitirme culminar un logro más en mi vida y por mantenerme siempre firme en mis objetivos. A mi madre Carmen, por darme la vida y llenarme de esperanza en momentos difíciles, a mi padre Washington, por ser mi fuerza y amigo incondicional a mi hermana Liz, por siempre estar para las buenas y las malas conmigo y demostrarme su amor incondicional, les entrego todo lo que soy y cada triunfo es para ellos. A mi abuelita Lida, que siempre ha estado pendiente de mí y a querido lo mejor para mí. A mis amigos que son la familia que uno escoge, por demostrar que la sinceridad, el respeto y el apoyo existe y enseñarme que la unión hace la fuerza, que la meta se puede lograr a pesar de las circunstancias porque un error no marca lo que eres y serás.

## ÍNDICE

CAPÍTULO I. ....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
Origen de los colorantes.....	2
Métodos tricrómicos .....	4
Método tricrómico de Masson .....	4
Picro fucsina de Van Gieson.....	5
Coloraciones para sustancia amiloidea .....	5
Rojo Congo para amiloidosis.....	6
Reacción del permanganato de potasio en el diagnóstico de la amiloidosis.....	6
Métodos para demostrar pigmentos .....	6
Impregnación Argéntica.....	7
Fontana de Masson .....	7
Técnica Fontana de Masson por argentafinidad .....	8
Métodos para demostrar microorganismos .....	8
Ziehl Neelsen (BAAR) .....	9
Tinción de Grocott .....	10
Métodos de tinciones para diferentes carbohidratos.....	11
Tinción de PAS (Ácido Peryódico de Schiff).....	11
Técnica de Azul Alcian.....	11
CAPITULO II. ....	13
METODOLOGÍA.....	13
CAPITULO III.....	17
DESARROLLO .....	17

CONCLUSIÓN.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	26



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tinción y presencia de amiloides .....	17
<b>Tabla 2.</b> Tinción y presencia de melanina .....	19
<b>Tabla 3.</b> Tinción y presencia de microorganismos micóticos .....	20
<b>Tabla 4.</b> Tinción y presencia de Bacilos Acido Alcohol Resistentes (BAAR).....	21
<b>Tabla 5.</b> Tinción y presencia de Carbohidratos y mucosustancias .....	22

## RESUMEN

Una coloración especial permite evidenciar estructuras biológicas presentes en los cortes histológicos, las mismas que son difíciles de identificar con las de rutina. El objetivo del proyecto investigativo fue recopilar información sobre el uso de tinciones especiales para el diagnóstico de patologías en tejido humano. Esta investigación está realizada bajo un diseño documental-bibliográfico de nivel descriptivo. A partir de una población de 80 fuentes bibliográficas, para el desarrollo, se aplicó criterios de inclusión y exclusión tomando 53, actualizadas, revisadas y verificadas por investigadores que aprueban su publicación, en las que fueron de repositorios, libros y bases de datos científicas, destacando su escasa información se logró obtener fuentes confiables. Se encontraron tinciones que estudian estructuras específicas como el Rojo Congo para teñir amiloides, expresando mayor sensibilidad a su estructura proteica, la captación de ion férrico para melanina en caso de emergencia, pero queda a consideración del personal correspondiente ya que Fontana de Masson utiliza más tiempo, pero permite más intensidad al momento de identificarla. Grocott es más sensible para hongos, aunque tenga un alto costo, pero PAS que de igual manera permite su identificación, pero con menor sensibilidad, Ziehl Neelsen para bacterias ácido alcohólicas resistentes, Azul Alcian y PAS permiten la observación de carbohidratos y mucinas que contienen depósitos de heparán sulfato y dermatán sulfato que pueden ocasionar daños neurológicos, miocardiopatías, incluso para adenocarcinoma mucinoso de ovario, célula mesotelial pleural, mixomas, en lesión de lupus eritematoso discoide y materiales mucinosos en mixedema.

**Palabras claves:** Tinciones Especiales, tejido patológico.

## ABSTRACT

A special staining makes it possible to reveal biological structures present in the histological sections, which are difficult to identify with the routine ones. The objective of the research project was to collect information on the use of special stains for the diagnosis of pathologies in human tissue. This research carried out under a descriptive-level documentary-bibliographic design. From a population of 80 bibliographic sources, for the development, inclusion and exclusion criteria applied taking 53, updated, reviewed and verified by researchers who approve their publication, in which they were repositories, books and scientific databases, highlighting its scarce information, it was possible to obtain reliable sources. Stains that study specific structures such as Congo Red found to stain amyloid, expressing greater sensitivity to its protein structure, the uptake of ferric ion for melanin in case of emergency, but it left to the consideration of the corresponding personnel since Fontana de Masson uses more time, but allows more intensity when identifying it. Grocott is more sensitive for fungi, although it has a high cost, but PAS that in the same way allows its identification, but with less sensitivity, Ziehl Neelsen for acid-resistant bacteria, Alcian Blue and PAS allow the observation of carbohydrates and mucins that contain deposits. of heparan sulfate and dermatan sulfate that can cause neurological damage, cardiomyopathies, including for mucinous adenocarcinoma of the ovary, pleural mesothelial cell, myxomas, in discoid lupus erythematosus lesion and mucinous materials in myxedema.

**Key words:** Special stains, pathological tissue.

Reviewed by:  
Mgs. Maritza Chávez Aguagallo  
**ENGLISH PROFESSOR**  
c.c. 0602232324

## **CAPÍTULO I.**

### **INTRODUCCIÓN**

El presente trabajo tiene como objetivo recopilar información sobre los fundamentos de las tinciones especiales utilizadas en patología de tejidos humanos.

Las técnicas histológicas a igual que el ser humano ha ido cambiando e inventando nuevos avances tecnológicos para beneficio propio o colectivo, uniendo a las personas por más distantes que se encuentren a nivel mundial, también han ido evolucionando una serie de enfermedades que han llevado a muchos habitantes a la muerte.

Debido a esta larga trayectoria de desesperación, angustia en las familias, ha obligado a la ciencia a buscar medios para calmar sus dolencias, realizando experimentos en laboratorios para detectar a tiempo enfermedades visualizando a los enemigos invisibles del cuerpo humano, es así que los colorantes o tinciones forman parte de una especialidad denominada histología, la misma que estudia estructuras microscópicas de tejidos, células y orgánulos celulares para detallar su morfología y descubrir la posible función.

Desde que el microscopio óptico fue perfeccionado en Alemania a finales del siglo XIX, no lograba satisfacer totalmente las expectativas de los investigadores en histología, puesto que no se alcanzaba a diferenciar las estructuras de los tejidos <sup>1,2</sup>.

Por esta razón, se encontró en la necesidad incrementar el contraste utilizando la sensibilidad del ojo humano a las distintas coloraciones, comenzando por técnicas de tinción de células y orgánulos celulares, sin dejar de lado la búsqueda de tinciones específicas, que no alterara la estructura de los tejidos <sup>1,2</sup>.

Van Leeuwenhoek utilizó una coloración en 1714 para teñir un tejido de animal en el cual empleó una solución de azafrán en vino facilitando la observación de las fibras musculares estriadas y en 1781 Fontana agregó soluciones fusionadas de ácido básicas resaltando núcleo y nucléolo <sup>1,2</sup>.

Con el pasar del tiempo se introducen colorantes como carmín en 1849 por Goppert y Cohn y hematoxilina en 1863 por Waldeyer. En el siglo XIX se implementa el incremento del uso de los

colorantes en las industrias textiles para su expansión mundial, permitiendo la utilización de los mismos en cortes histológicos logrando un avance histotecnológico <sup>1,2</sup>.

### **Origen de los colorantes**

Los colorantes se pueden dividir en naturales y artificiales según su origen. La mayoría de las tinciones utilizadas en histología son artificiales. Los pigmentos naturales se derivan de extractos de plantas y animales. Generalmente, tienen una historia de cientos de años y han sido utilizados por humanos para diversos propósitos. <sup>1-3</sup>.

Ahora, considerando que el propósito de la tinción de tejidos es aumentar el contraste de su estructura se identifica agregando compuestos coloreados que son selectivos para ciertas áreas. Cabe señalar que no todos los de origen natural tienen las propiedades requeridas, como la estabilidad a la luz y la temperatura, pero son diferentes de muchos colorantes sintéticos porque no son tóxicos ni cancerígenos sobre los humanos <sup>4,5</sup>.

Entre los colorantes naturales más empleados se encuentra la hematoxilina, que deriva del tallo del palo de Campeche (*Haematoxylon campechianum*), original de la provincia mexicana y ahora también cultivado en América Central y del Sur; el carmín, que se obtiene del cuerpo seco de la hembra de la cochinilla (*Dactylopius coccus*), originario de México y las regiones andinas, aunque ahora también existen explotaciones en las Islas Canarias; el azafrán, obtenido de los estambres de *Crocus sativus* y de gran importancia comercial en España e Irán; y, la orceína, extraída tras la hidrólisis alcalina de ciertos líquenes, aunque en la actualidad se puede preparar sintéticamente <sup>1-7</sup>.

La base de coloración radica en la afinidad que tienen ciertos tejidos por una determinada sustancia, en este caso el colorante. Suele utilizarse para teñir células y componentes tisulares que se van a observar al microscopio óptico, por lo que suele comprobarse en cortes de tejido, que se obtienen a partir de inclusiones en parafina o en criostatos <sup>4</sup>.

Sirviendo de esa manera al estudio microscópico de las estructuras de tejidos e identificar anomalías por medio de tinciones convencionales y especiales que brindan información al médico tratante sobre la patología a descubrirse <sup>6</sup>.

Los colorantes son componentes principales de las tinciones ya que poseen tres elementos importantes: un anillo aromático de benceno con dos tipos de radicales, un cromóforo que aporta

el color y un auxocromo que ayuda a unir a elementos del tejido, llamando a la unión de estos cromógeno <sup>4</sup>. Un compuesto químico es coloreado porque sus moléculas absorben gran cantidad de radiación electromagnética en la parte visible del espectro <sup>7</sup>.

Para el estudio de los tejidos, los anatómicos patólogos y los Histotecnólogos han utilizado técnicas de tinción especiales para diagnosticar alteraciones ocasionadas por agentes externos o internos que provocan lesiones o neoplasias. A pesar de que la Hematoxilina – Eosina ha sido utilizada comúnmente presenta limitaciones en su nitidez y contraste frente a la visualización de características patológicas en el tejido, sin embargo, las tinciones especiales permiten identificar estructuras específicas en los tejidos, agentes infecciosos, daños a nivel del tejido conectivo, muscular, neuronal, entre otros <sup>2</sup>.

Para analizar estas muestras son necesarias las biopsias que generalmente sirven para diagnosticar cáncer; sin embargo, se pueden encontrar otros problemas como infecciones o desordenes autoinmunes. No siempre la extracción de un tejido se realiza mediante aguja, sino también por medio de intervención quirúrgica para extraer un nódulo o bulto. Las mismas son llevadas al personal de patología, quienes se encargan de estudiar las características presentes en los tejidos, mediante tinciones que permiten evaluar y diagnosticar los problemas presentes.

Los avances científicos se han ido desarrollando por lo que es necesario tener conocimiento sobre estas tinciones, por esa razón, este proyecto pretende recopilar información sobre el uso de tinciones especiales para el diagnóstico de patologías en tejido humano.

En Ecuador es importante que el personal anatómico-patólogo y los Histotecnólogos conozcan y apliquen el uso de tinciones especiales para el diagnóstico histopatológico, de no utilizarse en forma correcta el resultado será erróneo.

El capítulo I corresponderá a la introducción, marco teórico sobre el tema de la investigación que incluyen los antecedentes del estudio, la fundamentación teórica y las definiciones conceptuales, lo cual permitirá comprender la aplicación de las tinciones especiales, enfocando su uso y procedimiento a seguir para la visualización de estructuras patológicas, seguido por la problemática en contexto y sus objetivos a seguir para su desarrollo.

En el capítulo II describe la metodología utilizada en este campo de estudio, basándose en el tipo de investigación y la recopilación de la información sobre las diferentes tinciones especiales y su uso, de acuerdo a las variables que buscan especificar el tema en mención.

En el capítulo III se encuentra constituido por el desarrollo en el que se refleja los resultados obtenidos de la investigación, incluyendo las conclusiones referentes a los objetivos establecidos.

### **Métodos tricrómicos**

Se denomina métodos tricrómicos al uso de tres colorantes que permiten la identificación de las estructuras por medio de distintos colores. Se utilizan principalmente para resaltar las fibras de soporte o distinguir el tejido conectivo de las fibras musculares, el colágeno y las fibras reticulares en base a coloraciones ácidas <sup>1,7,8</sup>.

Para fibras colágenas se utilizan las siguientes coloraciones:

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

Para sustancia amiloide se presenta la coloración de rojo Congo

### **Método tricrómico de Masson**

Se emplea para diferenciar el tejido conjuntivo del tejido muscular, cabe resaltar que también se puede utilizar para demostrar presencia de fibrina de una manera satisfactoria, aunque se puede teñir los depósitos antiguos como colágeno (azul) <sup>1,2, 7-10</sup>

El resultado de las coloraciones se presenta a continuación: los núcleos se colorean de color negro o azul, el citoplasma, eritrocitos y tejido muscular de color rojo y el colágeno de azul <sup>1,6</sup>. Su procedimiento se encuentra en el **(anexo 1)**

### **Método tricrómico de Gomori**

A menudo su uso es aplicado para el tejido conjuntivo y muscular, donde las fibras de colágeno se tiñen de verde o azul y de color rojo las fibras musculares; mencionando también que sirve para teñir citoplasma de rojo y fibrina.

Se debe tener en cuenta que para identificar la presencia de fibras reticulares mediante técnicas de coloración no son confiables ya que estas no llegan a fibras finas, además, de que no se puede diferenciar con el colágeno, mientras que el método de impregnación de metales garantiza un contraste que permite identificar las fibras más finas, dando así una mayor confiabilidad <sup>9</sup>.

La utilización de este método reflejara en sus resultados una coloración negra demostrando su afinidad por lo expuesto anteriormente<sup>1,7,9</sup> (**anexo 2**).

### **Picro fucsina de Van Gieson**

Esta coloración tricrómica está constituida por hematoxilina férrica; es decir, por una coloración nuclear; por amarillo de metanilo o ácido pícrico que colorea el citoplasma por su característica acidófila y fucsina ácida que es selectiva para colágeno por su propiedad ácida <sup>1,9</sup>. Se caracteriza por teñir fibras de colágeno inmaduras de un naranja pálido y las maduras de color rojo intenso al igual que el osteoide que se encuentra en la matriz ósea sin mineralizar <sup>9,11</sup>.

Las fibras elásticas incluyen arterias y venas las mismas que con la ayuda de la tinción Van Gieson demostrara daños en los mismos, incluyendo atrofia en el tejido elástico en enfisema, adelgazamiento o pérdida en arterioesclerosis, y cambios relacionados con la edad como reduplicación, roturas y hendiduras que conducen a arrugas en la piel <sup>9</sup>.

El colágeno se tiñe de rojo y de amarillo otros tejidos<sup>9</sup>, como se muestra en el (**anexo 3**) con su respectivo procedimiento.

### **Coloraciones para sustancia amiloidea**

El amiloide es una sustancia proteica no natural del organismo por lo que su presencia en el mismo se considera patológica, esta sustancia se deposita en diferentes tejidos y órganos del cuerpo ocasionando atrofia y necrosis de los mismos. La enfermedad se denomina amiloidosis y se encuentra en mayor frecuencia en: hígado, piel, ganglios linfáticos, riñones, bazo y páncreas <sup>1,2,9</sup>.

Las proteínas fibrilares se encuentran descritas por varias cadenas siendo las más frecuentemente la cadena AL y la cadena AA <sup>1,12</sup>.



- Cadena AL (amiloide ligera), producidas por las células plasmáticas secretoras de anticuerpos, ciertos tipos de neoplasia derivados de linfocitos B transformados se encuentran relacionados con el depósito de la sustancia amiloide <sup>1,12</sup>.
- Cadena AA, denominada amiloidosis secundaria o reactiva, su precursor es la proteína SAA que es producida por el hígado en condiciones patológicas <sup>1,12</sup>.

### **Rojo Congo para amiloidosis**

Es un colorante diazoico tetrazoado, introducido desde 1982, utilizado como colorante de algodón en el área textil, el mismo que ha sufrido modificaciones con el transcurso del tiempo <sup>1,2</sup>.

Hoy en día se considera específico para la sustancia amiloidea; sin embargo, tiñe el colágeno y las fibras elásticas de forma variable<sup>1,2</sup>. Posee características de birrefringencia y dicroísmo específicos. Al ser positivo se visualizará una birrefringencia verde manzana. El dicroísmo, se caracteriza por presentar un viraje de color al ser visualizado bajo un rayo de luz a determinada onda, por esta razón, la decoloración del rojo cuando se observa el tejido con el rayo de luz polarizada<sup>1,4,9,13-15</sup>.

El método de rojo Congo alcalino de Puchtler (1962)<sup>9</sup> es recomendado por la falta de un paso lo que permite al histopatólogo una ventaja de acuerdo al tiempo, su procedimiento se entra descrito en el **(anexo 4)**

### **Reacción del permanganato de potasio en el diagnóstico de la amiloidosis**

Se fundamenta en la desnaturalización que provoca la acción del permanganato potásico sobre la cadena AA de amiloide, ya que por razones desconocidas no ocurre en la cadena AL en el cual se colorea de rosa o rojo con persistencia del fenómeno de birrefringencia a la luz polarizada mientras que la cadena AA no se colorea 1 tal como se muestra en el **(anexo 5)**.

### **Métodos para demostrar pigmentos**

La presencia de pigmentos suele ser normales, aunque también se encuentra en condiciones patológicas. Se clasifican en dos grupos<sup>1,2,7,14</sup>

- Al fijar el tejido se presentan artefactos, comúnmente precipitados por causa del formaldehído <sup>1,2,7</sup>.

- Los pigmentos endógenos están presentes dentro de las células, como la hemoglobina, la melanina y lipofuscina<sup>1,2,7</sup>.

Se utilizan coloraciones como:

- Método de Perls
- Método de Fontana-Masson

### **Impregnación Argéntica**

La impregnación argéntica utiliza sales metálicas, como nitrato de plata, para ocasionar precipitados en las estructuras de los tejidos que se van a observar. El término de argentafinidad, se caracteriza por la propiedad de los tejidos al reducir el nitrato de plata sin la utilidad de agentes reductores externos, mientras que, la argirofilia necesita agentes reductores externos, como formol o hidroquinona, para sus precipitados<sup>1,2</sup>.

### **Fontana de Masson**

La coloración Fontana de Masson fue introducida en 1946. Permite identificar la melanina y diagnosticar tumores malignos como: melanomas, feocromocitomas (neoplasia que se presenta en la glándula suprarrenal) y tumores carcinoides<sup>1,2,16</sup>. Su principio se basa en dos reacciones de reducción, la primera a causa del amoníaco que reduce al nitrato de plata y el segundo en el tejido al precipitarse la plata metálica sobre el mismo<sup>1,2,9,16</sup>.

La melanina es un pigmento granuloso, amarillo, pardo o negro encontrado en la piel, pelo, coroides y el iris de ojo, incluyendo las meninges y la substancia negra del cerebro. La aparición de este pigmento es causada por los melanocitos, que son células que ayudan en la síntesis de la melanina y tienen como función proteger a la piel de los rayos ultravioleta<sup>1,2,9,16</sup>. La melanina es capaz de reducir el nitrato de plata por sí sola el cual da precipitados de plata metálica, caracterizando así el principio del Método de Fontana Masson<sup>1,2</sup>.

La coloración Fontana de Masson y la murcicarmin de Mayer son útiles para la identificación de melanina en la pared fúngica y mucopolisacáridos capsulares, principalmente para hongos dematiáceos y *Cryptococcus* spp<sup>17</sup>.

## **Técnica Fontana de Masson por argentafinidad**

Su realización se basa en la impregnación argéntica realizada en dos tiempos donde el amoniaco realiza su primera reducción de nitrato de plata a oxido diamino argéntico y el tejido en la segunda realizando una precipitación de plata metálica sobre granulaciones proporcionadas de capacidad reductora<sup>1,2,9</sup>.

Para su respectiva incubación con plata amoniacal en el tejido conlleva un tiempo de 24 horas en la oscuridad para evitarse precipitados causados por la luz solar. Para la realización de esta técnica se necesita preparar los reactivos, como la solución de plata que se lleva hasta un punto medio entre precipitar o no, ocasionando un aspecto nuboso <sup>1</sup>.

La melanina presentara un color negro y el procedimiento adecuado para la obtención de este resultado se encuentra en el **(anexo 6)**

## **Demostración de hemosiderina y hierro**

El hierro que se encuentran en los tejidos no se puede demostrar con técnicas tradicionales porque el hierro se encuentra fuertemente unido a un complejo proteico como es la hemoglobina y mioglobina, al tratarse con peróxido de hidrogeno el hierro empieza a liberarse, en el que se logra demostrar con la reacción de azul Prusia de Perls, por lo que esta técnica permite identificar al hierro en su forma iónica, en sales ferrosas y férricas <sup>9</sup>.

Se utiliza en cortes histológicos, pero también en frotis de sangre y de medula ósea, comúnmente se encuentran cantidades menos de ácido férrico en el bazo y la medula ósea. Al presenciar una mayor cantidad de hierro es indicativo de hemosiderosis y hemocromatosis, pero su disminución es característico de anemia por la deficiencia del mismo <sup>9</sup>.

Al visualizar los cortes histológicos en el microscopio siguiendo su respectivo procedimiento **(anexo 7)** el hierro se colorea de azul mientras que sus núcleos de rojo<sup>9</sup>.

## **Métodos para demostrar microorganismos**

Los microorganismos de importancia medica son los siguientes<sup>1,2,7</sup>:

- **Bacterias:** organismos unicelulares cuya talla varía entre 0.2 y 5 micrómetros<sup>7</sup>.

- **Hongos:** Existe una gran variedad y se clasifican por su forma. Como son hongos dematiáceos y *Cryptococcus spp*<sup>7,16</sup>.
- **Virus:** organismos diminutos, la mayoría son visibles sólo mediante el microscopio electrónico<sup>7</sup>.
- **Protozoarios:** mismos que parecen poseer estructuras muy simples, pero tienen funcionalidad muy compleja<sup>7</sup>.

Se utilizan tinciones como:

- Ziehl-Neelsen
- Grocott

### **Ziehl Neelsen (BAAR)**

Esta tinción es usada para demostrar la presencia de bacterias alcohol ácido resistente, generalmente se lo realiza en muestras de esputo, pero también se lo hace en muestras de diferentes tejidos, se considera importante para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y la lepra producidas por las bacterias ácido alcoholes resistentes<sup>1,18</sup>.

Se les denomina bacilos alcohol ácido resistentes, por las características de su pared celular, es decir, por la presencia de lípidos en sus estructuras, las mismas que tienen capacidad de resistir a la decoloración de alcohol ácido después de ser teñidos con colorante básicos, visualizados en las muestras de tejidos de color rojo y de color azul a las bacterias no alcohol ácido resistentes, que son incapaces de resistir la decoloración<sup>1,2,18</sup>.

Existe una infección bacteriana crónica por causa de *Mycobacterium tuberculosis* se puede localizar en los pulmones, pero esto no descarta que también puede afectar a otros órganos del cuerpo humano, los tejidos que presentan tuberculosis tienen una característica peculiar que son la formación de granulomas<sup>19,20</sup>.

Las micobacterias son difíciles de teñir porque contienen una mayor cantidad de lípidos, por esta razón no permite la acción de los colorantes básicos o rutinarios en los tejidos<sup>1,2,9,18</sup>.

El mordiente químico es la fucsina el cual es un colorante básico asociado con el ácido fenico y junto con el calor permite la retención del colorante en las bacterias para que no sufran decoloración con los agentes químicos, como el alcohol ácido, el azul de metileno se usa para

contraste, el mismo que se caracteriza por ser un contra colorante, teñirá el resto de la muestra.  
1,2,9,18.

Existen algunas micobacterias que no son ácido alcohol resistente ya que bacterias y organismos tienen diferentes grados de ácido alcohol resistentes como: *Cryptosporidium*, *Legionella*, entre otros<sup>18,20</sup>.

Para sus resultados las bacterias alcohol ácido resistentes tomarán su color rojo brillante mientras el fondo se visualizará de azul, para obtener esto se realiza el procedimiento (**anexo 8**) en el cual incluye alcohol ácido al 1%, solución de carbol-fucsina de Ziehl-Neelsen y solución de azul de metileno<sup>1,9,18</sup>.

### **Tinción de Grocott**

Es conocida por su mayor sensibilidad al demostrar la presencia de organismos micóticos en sospechas patológicas, se aplica en aspirados bronquiales, esputos inducidos o biopsias pulmonares usados para identificar hongos de tipo *Pneumocystis carinii* u otros tipos de hongos que son oportunistas como aspergillus que pueden provocar una neumonía, se manifiestan por una coloración marrón a negro en el tejido<sup>1,2,9,18</sup>.

Los principales reactivos son el Nitrato plata-metenamina de Gomori y el ácido crómico que son usados en la tinción de Grocott, siendo el colorante el nitrato de plata, el que presenta un color negro mate o brillante a las estructuras fúngicas<sup>1,2</sup>.

El ácido crómico actúa como agente fijador y oxidante, el mismo que es usado en la tinción de Grocott produciendo una oxidación de los grupos hidroxilos a aldehídos iniciando de componentes mucopolisacáridos de la pared celular de los hongos<sup>1,18</sup>.

Después de la aplicación del ácido crómico en el tejido correspondiente, se emplea la solución de nitrato-plata, dando como resultado la reacción de los aldehídos mezclado con nitrato de plata produciendo una coloración negra, perteneciente a la reacción de argentafin<sup>1,16</sup>.

El uso de un colorante de contraste de color verde claro, hace que los elementos fúngicos tomen una coloración negra con márgenes afilados y su centro aclarado, visualizándose de color verde claro el tejido (**anexo 9**)<sup>1,16</sup>.

## Métodos de tinciones para diferentes carbohidratos

### Tinción de PAS (Ácido Peryódico de Schiff)

Conocida por sus siglas PAS, utiliza dos reactivos, el ácido peryódico y el reactivo de Schiff, considerándose una tinción especial, por demostrar la presencia de carbohidratos como mucina especialmente la neutra (utilizadas en glándulas intestinales, endocervicales y bronquiales), glucógeno, microorganismos micóticos (criptococos, blastomicosis, histoplasma, etc), parasitarios y para delimitar la membrana basal en la piel y en otros tejidos, logrando el diagnóstico de lupus eritematoso y otras enfermedades, en la membrana basal la intensidad de su coloración es proporcional al contenido de los carbohidratos <sup>1,2,9,18-21</sup>.

Puede ayudar a diagnosticar tumores por medio de la identificación de mucinas o glucógeno permitiendo su diferenciación, evaluando el espesor de la membrana basal, al encontrarse incrementado es indicativo de una patología, en especial de los capilares glomerulares del riñón. Se le considera sensible para la identificación de hongos, porque sus paredes se encuentran contenidas de polisacáridos en las que se identifican: *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus* y *Blastomyces* <sup>1,9,18</sup>.

Los componentes de tejidos y células que son reactivos para PAS son: almidón de glucógeno, mucina (sialomucina, mucina neutra), membranas basales,  $\alpha$ -antitripsina, reticulina, hongos (cápsulas), gránulos de zimógeno pancreático, coloide tiroideo, corpora amylacea y cuerpos de Russell <sup>9,22-24</sup>.

La utilización de los reactivos (**anexo 10**) da como resultado una coloración magenta (rojo a púrpura) para glucógeno, hongos y membranas basales.

### Técnica de Azul Alcian

Esta coloración tiene afinidad por los grupos básicos permitiendo determinar Mucopolisacáridos ácidos a un nivel de pH ácido, utilizando entre 2,4 – 2,6 se colorea la sialomucina, pero también grupos carboxílicos de ácidos urónicos, en caso de que el pH sea de 1, predominara los grupos sulfatos como los proteoglicanos o las mucinas como por ejemplo, mucinas de células caliciformes del intestino grueso, mucinas de las glándulas serosas bronquiales, salivales y próstata, y por último el cartílago considerado un proteoglicano <sup>1,9,21</sup>.

Al seguir disminuyendo el valor de pH como puede ser de 0,5 este alcanzará una tonalidad más fuerte únicamente para los mucopolisacáridos ácidos sulfatados, volviéndose selectiva y permitiendo que las mucosas gástricas y glándulas de Brunner sean no reactivas frente a esta coloración<sup>1,2,9</sup>

Es recomendable usar esta tinción en adenocarcinoma mucinoso de ovario, célula mesotelial pleural (contiene ácido hialurónico), mixomas (tumores secretores de mucina) y en lesión de lupus eritematoso discoide y materiales mucinosos en mixedema<sup>21</sup>.

## **CAPITULO II.**

### **METODOLOGÍA**

#### **Tipo de investigación**

En el presente proyecto investigativo se realizó bajo un estudio de nivel descriptivo, donde se obtiene información relacionada con la temática, razón que se hizo una búsqueda exhaustiva donde se seleccionaron y analizaron fuentes bibliográficas las cuales mostraron características sobresalientes sobre tinciones especiales en tejidos patológicos, este estudio se limitó a recopilar información sobre fundamentos y procedimientos utilizados.

De diseño documental – bibliográfica, tomando en cuenta estudios actualizados mediante artículos, revistas científicas e incluso libros, los cuales permitirán sostener la valoración de la investigación.

De cohorte transversal porque se realizó en un solo bloque de resultados en un periodo determinado. Es retrospectivo, ya que las bases de información son tomadas en un espacio de tiempo de hasta diez años, tiempo comprendido entre 2010 - 2021; es decir, que parte de hechos ya estudiados, sin embargo, hay información que no se encuentra en el límite del tiempo establecido en los criterios de inclusión, debido a la importancia de su contenido.

#### **Población**

La población de estudio quedó conformada por 80 bibliografías en los que abarca información en base al tema de técnicas de tinciones especiales para el estudio de patologías en tejidos humanos, encontradas en libros, repositorios y en bases científicas como Scielo, Scopus, Redalyc, Dialnet, Medigraphic, Elsevier, NCBI y ProQuest comprendido entre 2010 – 2021

#### **Muestra**

En el proyecto de investigación están incluidas 53 bibliografías totales, en las cuales se incluyen libros (15), repositorios (13), Scielo (12), Dialnet (1), Manuales (2), Gale (1), Medigraphic (2), NCBI (1), Redalyc (1), Elsevier (2), ProQuest (3), tomando en cuenta los criterios de inclusión y la importancia del contenido. Se aplica criterios de selección descritos a continuación, los mismos que ayudan a tener un enfoque más claro y preciso.



La muestra utilizada es de 32 fuentes bibliográficas de tipo no probabilístico, en el que se encuentra información relacionada al tema, en diferentes idiomas como inglés y español, con contenido relevante para el desarrollo del capítulo III presente en esta investigación, las mismas que son comprendidas en Repositorios (9), Scielo (10), Libros (8), ProQuest (1), Elsevier (1), Redalyc (1), Medigraphic (1) y NCBI (1), no se pudo obtener más información relacionada al tema razón por lo que no se abarcó más fuentes bibliográficas para la investigación, teniendo en cuenta que no cumplían con los criterios de inclusión.

### **Criterios de inclusión y exclusión**

**Inclusión:** Se emplea criterios de inclusión como:

- ✓ Fechas de publicación comprendidos desde el 2010 hasta el 2021
- ✓ Artículos con contenido de tinciones especiales
- ✓ Utilización de tinciones especiales en tejidos humanos
- ✓ Libros que indiquen fundamentos de tinciones especiales
- ✓ Insertos que ayuden en el procedimiento
- ✓ Repositorios acerca de tinciones especiales

**Exclusión:** Los criterios de exclusión comprenden:

- ✓ Tinciones rutinarias
- ✓ Células
- ✓ Tejido animal
- ✓ Páginas webs no confiables
- ✓ Fechas de publicación más de 10 años.

### **Método de Estudio**

En la presente investigación se aplica el método teórico, el mismo que se realizará un análisis y síntesis de la información sobre técnicas especiales en tejido humano.

### **Técnicas y Procedimientos**

Las técnicas y procedimientos que se utilizaron fue la obtención de la información a través de la indagación de revistas como Scielo, Scopus, Redalyc, Dialnet, Medigraphic, Elsevier, NCBI,

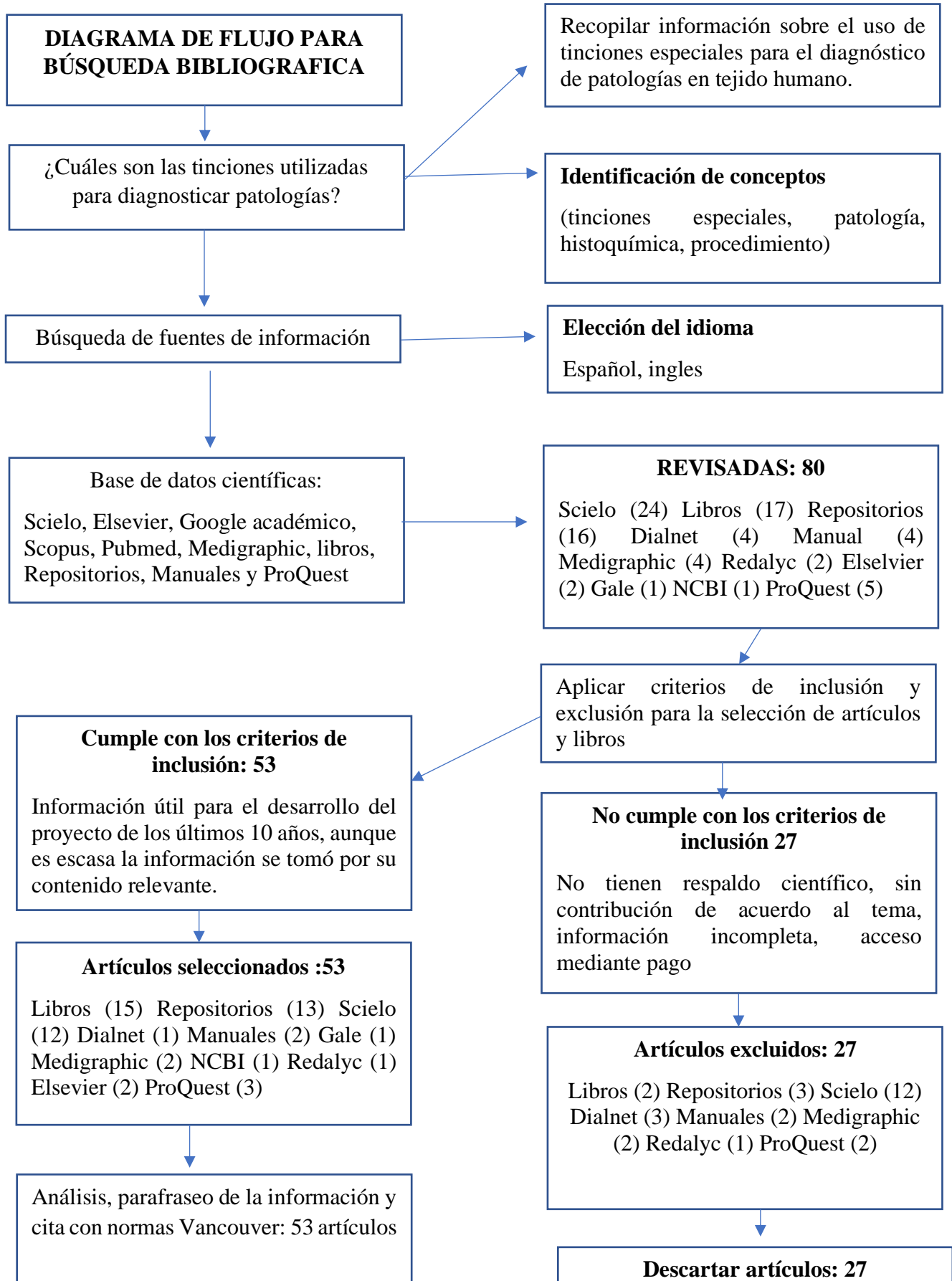
ProQuest, repositorios y manuales, en las cuales se revisa y analiza cada uno de los contenidos para su correspondiente análisis y síntesis sobre el tema involucrado en la investigación.

### **Procesamiento estadístico**

La investigación tiene carácter cualitativo razón por la que se recopila información referente al tema de tinciones especiales, acumulando información de manera bibliográfica – descriptiva para ser analizada y argumentada.

### **Consideraciones éticas**

No existen conflictos bioéticos porque la muestra no es de origen biológico, por lo que se respeta las normas éticas de investigación científica. Los resultados científicos fueron empleados con fines no maleficentes.



### CAPITULO III.

#### DESARROLLO

Con la obtención de las 32 fuentes bibliográficas se recopila información de tinciones especiales que son aplicadas para demostrar la presencia de estructuras patológicas en el tejido humano, como se exponen a continuación.

**Tabla 1. Tinción y presencia de amiloides**

<b>Tinción que se utiliza</b>	<b>Presencia de estructura amiloide en el tejido</b>
PAS	Positivo
Van Gieson	Variable
Tricrómico de Masson	Azul o verde
Rojo Congo	Birrefringencia verde
Hematoxilina eosina	Acumulo amorfo rosado
Cristal violeta al 0,1%	Rojo purpura
Tioflavina T	Fluorescencia verde-amarillenta

La tabla 1, muestra las diferentes tinciones que han sido utilizadas por los histopatólogos para diferenciar bajo un microscopio la estructura amiloide, sustancia proteica que llega a producir necrosis y atrofia de los tejidos y distintos órganos, cada uno de ellos ha sido cuestionado por su gran utilidad como es en el caso de Drury y Wallington<sup>25,26</sup> se refiere al amiloide como eosinófilos, dando como resultado PAS positivo pero, variable con Van Gieson y azul o verde con un tipo de tricrómico de Masson, para esta última tinción Wolman se encuentra en desacuerdo pues menciona que el amiloide no se tiñe con tricrómico, es decir, azul o verde, como lo hace el colágeno. La clave es que el amiloide es una sustancia variable y la tinción puede ser variable, además, el

amiloide puede teñirse o no con un método específico, y no teñir no significa que un material específico definitivamente no sea amiloide <sup>25,26</sup>.

Cabe señalar que el método del rojo Congo de Benhold se caracteriza porque durante el proceso de teñido, el amiloide observado bajo luz polarizada es de rosa a rojo y verde manzana a diferencia del cristal violeta de Lieb, el amiloide será de color violeta o púrpura, realizando así la confirmación efectiva de amiloide <sup>1,9,25,26</sup>.

En la investigación realizada por Diaz et al<sup>27</sup>, titulada “Amiloidosis oral nodular” menciona que el colorante más utilizado es el rojo Congo, aunque existen otras técnicas histoquímicas menos utilizadas que pueden distinguir el amiloide de otras sustancias (como el violeta cristal o el violeta de metilo). Sin embargo, el estudio de “Punción biopsia de riñón. Indicaciones y resultados”<sup>28</sup> se basa en una investigación en el Hospital Rawson sobre biopsias de riñón de diferentes pacientes, en las que se incluye hipertensión, diabetes, síndrome nefrótico y lupus concluyendo que la biopsia renal es un procedimiento diario que al utilizarse correctamente llega ser útil, y en algunos pacientes puede mostrar afecciones renales, mientras que en otros puede diagnosticar enfermedad renal. Se utiliza Hematoxilina de Harris para la investigación en general, siendo el objetivo principal la tinción de Cristal violeta al 0.1 % para teñir el amiloide (que se tiñe en púrpura sobre un fondo azul), donde el diagnóstico se muestra correcto y la especificidad de la tinción se encuentra un papel decisivo en la determinación de los hallazgos clínicos <sup>25,27,28,29</sup>.

Torcatt y Valasquez<sup>25</sup> en su “Estudio comparativo de métodos de Benhold y Lieb mediante investigación documentada para la demostración de amiloide en Histotecnología” concluyen que Rogo Congo de Benhold y Cristal de violeta de Lieb son métodos de mayor especificidad para mostrar depósitos de amiloide en tejidos, por lo que los Histotecnólogos lo utilizan, pero al presentarse una acumulación de amiloide muy pequeña, ya no se observa birrefringencia con la tinción de rojo Congo, por lo que se llega a utilizar la tinción de Cristal de violeta para la proteína eficazmente<sup>25,28,30,31</sup>.

En el libro Bancft's Theory and practice of histological Techniques<sup>9</sup> por Suvarna S et al<sup>9</sup> indica que el rojo Congo a pesar de ser característico para amiloide también se puede identificar fibras densas de colágeno por lo que puede dar falsos positivos al estar fijado con formalina pero, al momento de utilizar un método alcalino de rojo Congo permite su reducción (método de Puchtler)

sin embargo, Romhányi a pesar de utilizar rojo Congo acuoso al 1%<sup>9</sup> y montadas con goma arábica afirmó que se solucionaría el problema entonces Bely y colaboradores en el 2006 adecuaron el método de Romhányi en el paso de desparafinización en el cual se hace por 5 días y la incubación del colorante en un tiempo más prolongado teniendo como resultado una alta afinidad por el amiloide considerándose altamente sensible <sup>9</sup>. Pero en un estudio realizado por NEQUAS del Reino Unido recomendando al método de Puchtler por su optimización de tiempo señalando que puede dar falsos positivos y negativos causados por diversos factores entre una de ellas, es el corte muy delgado del tejido <sup>9</sup>.

**Tabla 2. Tinción y presencia de melanina**

Tinción que se utiliza	Presencia de melanina en el tejido
Fontana de Masson	Negro
Captación de Ion Férrico	Café

En la tabla 2, se muestra las tinciones utilizadas para presentar la presencia de melanina, la cual es el pigmento importante por dar el color de la piel y cabello en su normalidad, su diferencia radica en varios puntos que se indican en el estudio realizado por González y Ramírez <sup>14</sup> titulado “Comparación del método de captura del Ión ferroso versus reacción de Fontana- Masson para demostrar la presencia de melanina en biopsias de piel del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso” demuestra que la Captación del Ión Ferroso, utiliza menor cantidad de materiales a comparación de la Fontana de Masson, al igual que el tiempo de realización y cuidado ya que con la Captación de Ión Ferroso es de 2 horas y 20 minutos, sin necesitar un cuidado especial al momento de preparar los reactivos y Fontana de Masson 20 horas y 45 minutos por lo que no se recurriría a su utilización en una emergencia, además, sus reactivos no pueden estar en contacto con la luz, por los precipitados que se puede generar, presentando una dificultad en el diagnóstico<sup>16,32</sup>.

Cabe mencionar también que la técnica Fontana de Masson presenta más pasos para su desempeño, incluido el uso de colorante de contraste, de lo contrario solo se pueden observar partículas de melanina y el tejido restante no, por otro lado, la Captación de Ión Ferroso no requiere el uso de

colorante de contraste, debido a que la solución utilizada tiene un color de fondo celeste, lo que permite una correcta valoración del tejido observado, en el grado de intensidad García<sup>32</sup> indica de igual manera que la tinción Fontana de Masson posee mayor intensidad para los gránulos de melanina coloreándolos de negro mientras que la captación de Ión Ferroso son de color café<sup>16,32</sup>.

Sin embargo, gracias a la comparación realizada se determina que para la identificación de melanina se usa Fontana Masson, en la que se valora la intensidad de su coloración, pero también puede dificultar su microscopia pues, se presentan precipitados que no correspondían a la melanina<sup>16</sup>.

**Tabla 3. Tinción y presencia de microorganismos micóticos.**

<b>Tinción que se utiliza</b>	<b>Presencia de microorganismos micóticos</b>
Ácido Peryódico de Schiff (PAS)	Rojo a purpura
Grocott	Delineados de color negro

En la tabla 3, se menciona el uso de las tinciones para el diagnóstico de hongos en tejidos humanos, en el cual muestra su coloración con las diferentes técnicas mencionadas, en el trabajo de titulación presentado por Mestanza<sup>18</sup> demuestra que con la tinción de PAS se puede lograr la identificación de microorganismos micóticos (histoplasma y cándida) y la tinción de Grocott solamente identifica la fase de los hongos (hifas, levaduras, esporas)<sup>18</sup>; El origen para estos resultados fueron las muestras para PAS en tejidos de tubos digestivos y para Grocott en tejidos de piel. Pero en un estudio realizado por Kazuya et al<sup>33</sup>. Titulado “New Grocott Stain without Using Chromic Acid” (Nueva tinción Grocott sin utilizar ácido crómico)<sup>33</sup> indica que la reacción de ácido periódico-Schiff (PAS), la tinción de Gridley y la tinción de Grocott representan técnicas histoquímicas utilizadas para identificar hongos en secciones de tejido. Entre las tres técnicas, la tinción de Grocott tiene mayor sensibilidad para la detección de hongos y otros microorganismos ricos en polisacáridos en secciones de parafina preparadas convencionalmente<sup>33</sup>.

Terán y Fernandez<sup>34</sup> en su trabajo de “Estudio comparativo entre PAS Y Grocott (G.M.S) para la micosis” menciona que PAS a más de ser económica tiene una gran utilidad a la hora de detectar micosis en las muestras histológicas, por su autenticidad y precisión al momento de teñir

glucógeno en la membrana basal de los vasos sanguíneos, anexos, resaltando de igual manera otras estructuras y células de la piel, permitiendo de esta forma la valoración de la degeneración fibrinoide (de color rojo los depósitos de fibrina logrando visualizar hongos y parásitos)<sup>34</sup> Además, se puede usar en el caso de crioglobulinemia para identificar la presencia de crioglobulina. A lo contrario de la impregnación de Grocott que es sensible para micosis, pero, no se puede visualizar los elementos como fibras elásticas o mastocitos, la diferencia entre melanina y hemosiderina por lo que requiere la utilización de reacciones especiales <sup>34</sup>.

Guarner y Brand<sup>35</sup> menciona en “Diagnóstico histopatológico de las infecciones por hongos en el siglo XXI” que los microorganismos micóticos deben ser analizados primero por Hematoxilina eosina y en caso de observarse inflamación en el tejido y una alta sospecha de hongos después de la revisión del mismo se utiliza tinciones de PAS y Grocott, además la tinción de mucicarmin o Fontana-Masson ayudan a identificar *Cryptococcus* por la presencia de mucina y melanina, estos son métodos alternativos que ayudan a la identificación en el tejido<sup>35,36</sup>.

Al estudio mencionado anteriormente Morales y Cardona <sup>36</sup> concuerdan en el uso respectivo de las tinciones de acuerdo a los microorganismos micóticos a diagnosticar, pero Gomez<sup>37</sup> menciona que PAS permite identificar de mejor manera las estructuras micóticas presentes <sup>37</sup>.

**Tabla 4. Tinción y presencia de Bacilos Acido Alcohol Resistentes (BAAR)**

Tinción que se utiliza	Presencia de estructura Bacilos Acido Alcohol Resistentes (BAAR)
Ziehl-Neelsen	Rojo brillante

En la tabla 4, se refleja una tinción muy característica para el diagnóstico de Bacilos Acido Alcohol Resistentes como: *Micobacterium* y *Actino-mycetes*. En estudios realizados por: Alba y Orellano<sup>19,38</sup> reflejan un criterio similar en este método, señalando que es muy utilizado para *Mycobacterium tuberculosis* por su especificidad y sensibilidad alta, además es rápida, de bajo costo al no utilizar un microscopio de fluorescencia, a diferencia de la Auramina que a pesar de dar un resultado más rápido entre 2 a 3 minutos, tiende a utilizar microscopio de fluorescencia por ser una tinción de fluorocromos<sup>19,38-40</sup>.



En un estudio realizado por Bustamante et al<sup>41</sup> denominado “Detección de Bacilos Acido Alcohol Resistentes en biopsias embebidas en parafina en casos de inflamación Granulomatosa Crónica” estudian a 30 pacientes de los cuales se seleccionan 57 bloques que se encuentran embebidos en parafina con muestras de pleura, pulmón, ganglio linfático, pericardio y lóbulo cerebral, en los cuales se reflejan la respuesta inflamatoria granulomatosa que son características de personas que presentan tuberculosis, lepra y entre otras enfermedades infecciosas presentes en el mundo<sup>41</sup>. Se presentó el 58%<sup>41</sup> de muestras de pleura con inflamación necrosante, señalan que es una característica clásica de un granuloma inmunitario causado por bacilos micobacterianos como *Mycobacterium tuberculosis*<sup>41</sup>. El uso de tinciones de auramina/rodamina y Ziehl Neelsen no muestra diferencias significativas, pues las dos tinciones decretaron BAAR pero, recomiendan la tinción de fluorocromos cuando existan dudas en los cortes histológicos para Ziehl Neelsen pues es una técnica costosa sin embargo, es rápida y fácil<sup>41-44</sup>.

Existieron diferencias en los tejidos a la hora de aplicar las tinciones en las cuales se notaron su resolución y coloración, como es el caso del tejido pleural del pulmonar, mostro una escasa absorción de fluorocromos y baja resolución a lo contrario del pulmón, esto se da por la semi-impermeabilidad de químicos a causa de la composición serosa de la pleura mientras que el pulmón posee tejido parenquimatoso que permite su correcta absorción. Estos autores además de indicar el uso de las tinciones, no lo recomienda como confirmación de diagnóstico de infección por BAAR del género *Mycobacterium*<sup>41</sup>.

La tinción más útil para demostrar bacilos tuberculosos, que son acido alcohol resistente de otros microorganismos es Ziehl Neelsen el mismo que es característico por su bajo costo, la rapidez y facilidad de su técnica para el uso en cualquier laboratorio, es importante mencionar que permite diferencias las bacterias en dos grupos que son las capaces de resistir decoloración y las que no<sup>45</sup>.

**Tabla 5. Tinción y presencia de Carbohidratos y mucosustancias**

<b>Tinción que se utiliza</b>	<b>Presencia de carbohidratos y mucosustancias</b>
PAS	Coloración magenta
Azul Alcian	Azul oscuro

En la tabla 5 muestra el uso de tinciones utilizadas en el diagnóstico de carbohidratos y

mucosustancias, esta última se encuentra dentro de la clasificación de los hidratos de carbono, dividiéndose en polisacáridos, proteoglicanos y lipoproteínas; se pueden hallar en neutras y acidas<sup>46</sup>. Crocker y Burnett<sup>47</sup> manifiesta que la tinción de PAS es útil porque demuestra una gran variedad de sustancias, sin embargo, es más utilizada para observar la presencia de glucógeno, el mismo que sirve de reserva energética por ser un polisacárido encontrándose en el hígado y en mayor cantidad en los músculos, pero las mucosustancias se localizan en el tejido conectivo y tejido glandular, estas contienen mucinas neutras y acidas; las mucinas son proteínas esenciales en los componentes de secreciones mucosas y salivales. La primera se tiñe con PAS de color magenta mientras que la segunda se colorea con Azul Alcian presentándose un color azul intenso, Ross et al<sup>47</sup> en una microfotografía de la tinción de PAS de tejido renal indica que este método es utilizado para ubicar los hidratos de carbono y demás sustancias con esta característica, como las membranas basales que son positivas observándose una coloración magenta, esto se da porque los túbulos renales están limitados por estas membranas al igual que los capilares glomerulares y el epitelio de la capsula de Bowman<sup>48-50</sup>.

Bancroft et al<sup>51</sup> expresa que es una técnica mayormente útil para evidenciar glicoconjugados y carbohidratos; mediante esta técnica se puede detectar glucógeno o mucinas que ayudan a evidenciar tumores y el grosor de la membrana basal, como en el caso de capilares glomerulares del riñón, su aumento puede ocurrir en ocasiones patológicas<sup>50</sup>, por otra parte el Azul de Alcian permite identificar los proteoglicanos y las mucinas acidas presentes en los tejidos, a un pH de 1 en las que predomina los grupos sulfatos, donde las células y tejidos se tiñen como el cartílago, mucinas de glándulas serosas bronquiales y mucinas de células calciformes del intestino grueso. Permitiendo observar en el tracto gastrointestinal los adenocarcinomas<sup>51</sup>, teniendo en cuenta que no son reactivas en mucinas neutras como glándulas de Brunner y la mucosa gástrica<sup>51</sup>.

Algunas patologías relacionadas con el uso de Alcian blue están relacionadas con la Mucopolisacaridosis, un error congénito asociado al metabolismo de las mucosustancias<sup>46</sup> donde se encuentran depositado el material de dermatàn sulfato, condroitìn sulfato o heparán sulfato<sup>52</sup>. Estas patologías generan problemas en el déficit enzimático, que se determina por el acumulo lisosomal de glucosaminoglucanos (GAG), al ser macromoléculas estas ayudan de soporte estructural a la matriz extracelular importantes en la comunicación celular y regulación de la misma<sup>53</sup>.

Entre las principales se encuentran: Síndrome de Hurler depósito de heparán sulfato y dermatán sulfato, su mecanismo de herencia es autosómico recesivo, su clínica más frecuente es opacidad corneal, macroglosia, hepatoesplenomegalia, miocardiopatía, entre otras <sup>53</sup>. Síndrome de Hunter es un gen recesivo que se encuentra ligado al cromosoma X, afecta más a hombres que mujeres porque se encuentra un solo patrón de este gen<sup>53</sup> y su almacenamiento y clínica es igual que la anterior, sin embargo, la mucina se encuentra visible en lesiones maculopapulares<sup>52</sup>. El Síndrome de Sanfilippo solo contiene depósitos de Heparán sulfato, es autosómico recesivo y puede ocasionar retardo del neurodesarrollo, disfunción motora entre otras<sup>53</sup>. Estas enfermedades tienen en común el heparán sulfato, que puede llegar a ocasionar daños a nivel neurológico y a nivel cardíaco como la miocardiopatía y la valvulopatía es causante el dermatán sulfato <sup>46</sup>.

Monaco et al<sup>21</sup> menciona que usar esta tinción es recomendable para patologías como: adenocarcinoma mucinoso de ovario, célula mesotelial pleural (contiene ácido hialurónico), mixomas (tumores secretores de mucina) y en lesión de lupus eritematoso discoide y materiales mucinosos en mixedema <sup>21</sup>.

## CONCLUSIÓN

De la información recopilada se puede concluir que las tinciones tienen sus diferentes usos y aplicaciones para detectar a tiempo un sin número de estructuras y microorganismos que el cuerpo humano va experimentando a medida que transcurre el tiempo, recordando las evoluciones de las mismas y la aparición de nuevas enfermedades debido a que no se utiliza barreras de protección.

El Histotecnólogo para el diagnóstico de patologías en los tejidos utiliza tinciones especiales, es decir, coloraciones que tienen afinidad por estructuras específicas permitiendo incrementar su uso preferencial en el diagnóstico oportuno, tomando en cuenta el tiempo de procesamiento y los costos de cada uno de ellos, las observaciones microscópicas mediante distintas técnicas en diversos cortes histológicos se pueden encontrar estructuras como amiloides que se tiñe con rojo Congo, colágenas y fibrinales con métodos tricrómicos, para pigmentación con Perls y Fontana de Masson y microorganismos con Grocott y Ziehl Neelsen y carbohidratos con PAS y Azul Alcian.

El uso de las tinciones para el estudio patológico son: Azul Alcian que tiñe mucopolisacáridos ácidos de azul permitiendo su uso en el incremento de estas, Van Gieson tiñe las fibras elásticas de color negro azulado para identificar venas, arterias y elastofibroma, Fontana de Masson tiñe de negro a las mucinas, gránulos argenta fines y cromafines para el uso de melanomas, tumores neuroendocrinos, PAS con su coloración roja se puede apreciar mucopolisacáridos, mucinas, membranas basales y hongos permitiendo el diagnóstico de lupus eritematoso, sarcoma de Ewing, tumores renales, enfermedades de glomérulos del riñón, Grocott para el uso de hongos que tiñe de negro en carácter infeccioso, Gomori para reticulina de color negro en caso de fibrosis en medula ósea e hígado, Tricrómico de Masson tiñe el colágeno de color azul intenso, mucina de color verde o azul, queratina y musculo liso de rojo, Azul de Perls para hemocromatosis, hemosiderosis y anemia por deficiencia de hierro. De las mencionadas anteriormente las más frecuentes son, rojo Congo, PAS, Grocott, Tricrómica de Masson, Ziehl Neelsen.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Garcia R. Laboratorio de anatomía patológica. 1ra ed. España. McGRAW-HILL;1993
2. Montuenga L, Esteban F, Calvo A. Técnicas en histología y biología celular. 2da ed. España. Elsevier Masson;2014
3. Manual de tinciones en laboratorio de histología. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <https://www.studocu.com/es-mx/document/universidad-nacional-autonoma-de-mexico/histologia-humana/practicas/manual-de-tinciones-especiales-con-imagenes/6391185/view>
4. Avedaño J, Guevara Y, Herrera M, Ramos M. Uso de colorantes naturales para el estudio de estructuras tisulares [Trabajo monográfico]. Bárbula: Universidad de Carabobo; 2016. Disponible en: <http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/5830/javenda%C3%B1o.pdf?sequence=1>
5. López J L, Hernández D M, Colín C C, Ortega P S, Cerón G, Cendejas F. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Medigraphic [Internet]. 2014 [ Consultado 06 Abril 2021]; 3(1). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdis/ir-2014/ir141b.pdf>
6. Acuña Fernández, U., & Elguero Bertolini, J. Histoquímica. An Real Soc Esp Quím. [Internet] 2012 [Consultado 25 Feb 2021];(2):114-118. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3959325>
7. Fortoul T. Histología y biología celular. 2da ed. Mexico. McGRAW-HILL; 2013
8. De Brito L. Conocimiento de la colección: Imágenes histológicas de tejidos. 1ra ed. Rio de Janeiro. Ed autor; 2021
9. Suvarna S, Layton C y Bancroft J. Bancroft's Theory and practice of histological Techniques. 7ma ed. ELSEVIER; 2013
10. Cáceres F, Herrera G, Fernández A, Fernández J, Martínez R, Carvajal D et al . Utilidad de Tinción de Tricrómico de Masson en la Cuantificación de Densidad Media Vascular en Mucosa Oral Normal, Displasia Epitelial y Carcinoma Oral de Células Escamosas. Int. J. Morphol. [Internet]. 2017 Dic [citado 2021 Abr 06] ; 35( 4 ): 1576-1581. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n4/0717-9502-ijmorphol-35-04-01576.pdf>
11. Brusco H, López J, Loidl C. Histología médico-práctica. España. Elsevier; 2014

12. Silva López, F., Morillo Soria, D., & Tinoco Vergara, A. Miocardiopatía restrictiva: presentación de un caso y revisión bibliográfica. *Revista Medicina* [Internet]. 2005 [Citado 06 Abr 2021]. 11(3). Disponible en: [https://link.gale.com/apps/doc/A159392385/GPS?u=unach\\_cons&sid=GPS&xid=d54d7ee1](https://link.gale.com/apps/doc/A159392385/GPS?u=unach_cons&sid=GPS&xid=d54d7ee1)
13. Figueroa F. Importancia del Estudio Histopatológico en el diagnóstico de Patología Bucal [Internet] [Repositorio de la Universidad de Guayaquil]. Universidad de Guayaquil; 2016. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/19242/1/FIGUEROAfiorella.pdf>
14. Albanna M, Holmes JH IV. Skin Tissue Engineering and Regenerative Medicine [Internet]. San Diego, United States: Elsevier Science & Technology; 2016 [citado 25 de febrero de 2021]. 56-58 p. Disponible en: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/unach-ebooks/detail.action?docID=4335663>
15. Gonzales Cruz E, Gómez Aburto D, Rivera Rosado F, De la Cruz Nicolas M. Manual de tinciones citoquímicas especiales en hematología [Internet]. 2019 [citado 25 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.ifcc.org/media/478752/manual-de-tinciones-citoquimicas-especiales.pdf>
16. Gonzales P, Ramírez N. Comparación del método de captura del Ión ferroso versus reacción de FONTANA- MASSON para demostrar la presencia de melanina en biopsias de piel del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso [Proyecto de Unidad de Investigación]. Chile: Universidad Andrés Bello; 2014. Disponible en: [http://repositorio.unab.cl/xmlui/bitstream/handle/ria/4583/a110896\\_Gonzalez\\_P\\_Comparacion%20del%20metodo%20de%20captura%20del%20ion\\_2014\\_Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=La%20T%C3%A9cnica%20de%20Fontana%20Masson,carcinoides%20\(Bennington%2C%202000\)](http://repositorio.unab.cl/xmlui/bitstream/handle/ria/4583/a110896_Gonzalez_P_Comparacion%20del%20metodo%20de%20captura%20del%20ion_2014_Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=La%20T%C3%A9cnica%20de%20Fontana%20Masson,carcinoides%20(Bennington%2C%202000))
17. Tangarife-Castaño VJ, Flores-Muñoz SV, Mesa-Arango AC. Diagnostico Micológico: de los métodos convencionales a los moleculares. *Medicina y laboratorio* [Internet]. 2015 [citado 06 Abr 2021]. 21 (5-6). Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/884119/diagnostico-micologico.pdf>
18. Mestanza Hurtado RG. Frecuencia de las tinciones histoquímicas de PAS, Grocott y Ziehl Neelsen utilizadas para la identificación de microorganismos, realizadas en el Servicio de

- Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo en el año 2015 [tesis de titulación]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2016 [citado 25 de febrero de 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8079/1/T-UCE-0006-005.pdf>
19. Orellano- Hurtado J. Diagnóstico de Mycobacterium tuberculosis en esputo de pacientes mediante la técnica de tinción de Ziehl Neelsen [Tesis]. Machala: Universidad Técnica de Machala; 2017. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10256/1/ORELLANA%20HURTADO%20JAVIER%20VICENTE.pdf>
  20. García, M. J., Cárdenas, M., & Urbano, A. Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones respiratorias [Internet]. 2012 [citado 25 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.omniascience.com/books/index.php/scholar/catalog/book/15>
  21. Monaco SE, Pantanowitz L, Xing J. Atlas of Touch Preparation Cytopathology. New York: Springer Publishing Company; 2016
  22. Pranab Dey. Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology. 2018 Springer: India.
  23. Carson F, Hladik C. Histotechnology A Self-Instructional Text. 3ra Ed. American Society for Clinical Pathology. A; 2009.
  24. Elston D, Ferringer T, Ko CJ, Peckham S, High WA, DiCaudo DJ. Libro electrónico de Dermatopatología. Londres: Elsevier Health Sciences; 2013. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/unach-ebooks/reader.action?docID=1746433&query=special+stain>
  25. Torcatt N, Velásquez N. Estudio comparativo de los métodos de BENHOLD Y LIEB mediante investigación documentada para la demostración de amiloide en Histotecnología [Trabajo de grado]. Valencia: Universidad de Carabobo; 2013. Disponible en: <http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/6402/nitorcatt.pdf?sequence=1>
  26. Montero C. Aspecto histoquímico del amiloide en un caso de amiloidosis secundaria. Rev. Med. Hondur. [revista de internet]. 1969 [citado 12 abril de 2021];37(1):1.8. Disponible en: <http://cidbimena.desastres.hn/RMH/pdf/1969/pdf/Vol37-2-1969-6.pdf>

27. Pérez S, Mancha M, Reina T, Gómez R, Gías N. Amiloidosis Oral Nodular. Rev. EspCirug Oral Maxilofac [revista de internet]. 2008 [citado 09 abril 2021];30(1):35-40. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/maxi/v30n1/caso3.pdf>
28. Trabuco O, Carreño RJ, Borzone V. Punción Biopsia de Riñón. Rev Argurol [revista de internet]. 2012 [citado 09 abril 2021];27(1- 3):81-82. Disponible en: [http://scholar.google.es/scholar?q=puncion+de+biposia+de+roñon&btnG=&hl=es&as\\_sdt=0%2C5](http://scholar.google.es/scholar?q=puncion+de+biposia+de+roñon&btnG=&hl=es&as_sdt=0%2C5)
29. Bolaños L, Mosquera-Reboredo JM, Cao M, Ferreiro T, Veleiro B, Valdés F, et al. Amiloidosis renal y tiroidea secundaria a síndrome periódico asociado a criopirinas (síndrome de Muckle-Wells) (mutación NLRP3). Nefrología (Madrid) [Internet]. 2013[citado 24 de febrero de 2021];33(2):266-71. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0211-69952013000200016](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952013000200016)
30. Castellanos L, Martínez N, Gutiérrez J, Viramontes A, Garcés L, de la Cruz F, Guadarrama P, Luna J. La tinción con el colorante rojo tiazina es un método de diagnóstico pos-mortem rápido y confiable para la enfermedad de Alzheimer Arch Neurocién [Internet]. 2017 [Citado el 02 Abril 2020]; 22(4): 33-43. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/arcneu/ane-2017/ane174d.pdf>
31. Seminario M. Amiloidosis cutánea primaria localizada: características histopatológicas en los pacientes del área de dermatología del Hospital - Luis Vernaza durante el periodo 2005-2010 [Tesis de obtención de título de especialista]. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil; 2011. Disponible en: <http://192.188.52.94/bitstream/3317/126/1/T-UCSG-POS-EGM-DER-4.pdf>
32. García Del Moral, R. (2001) Manual de laboratorio clínico diagnóstico. Santa Fe de Bogotá, Colombia: Mc Graw Hill Interamericana.
33. Kazuya S, Kitazawa K, Mizutani Y, Onouchi T, Inada K, Tsutsumi Y. New Grocott Stain without Using Chromic Acid Acta Histochem. Cytochem. [revista de internet]. 2015 [citado 09 abril 2021];48(1): 9-14. Disponible en: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/ahc/48/1/48\\_14045/\\_pdf/-char/en](https://www.jstage.jst.go.jp/article/ahc/48/1/48_14045/_pdf/-char/en)
34. Terán A. Estudio comparativo entre P.A.S y GROCOTT (G.M.S) para la micosis [Trabajo monográfico]. Valencia: Universidad de Carabobo; 2013. Disponible en: <http://www.riuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/123456789/6448/1/ateran.pdf>



35. Guarner, J., & Brant, M. E. (2011). Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century. *Clinical Microbiology Reviews*, 247-280. Recuperado el 17 de Julio de 2016, Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3122495/>
36. Morales N, Cardona N. Métodos de diagnóstico en micología. *CES Med.* [Internet]. 2018 Abr [citado 2021 Abr 15]; 32 (1): 41-52. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-87052018000100041&lng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87052018000100041&lng=es).
37. Gómez F. Características generales de los hongos e infecciones sistémicas y oportunistas de las micosis tropicales. 5 ed. Editorial medica panamericana. Pp 1-19 Disponible en: [http://aula.campuspanamericana.com/\\_Cursos/Curso01417/Temario/Experto\\_Med\\_Tropical/M5T1-Texto.pdf](http://aula.campuspanamericana.com/_Cursos/Curso01417/Temario/Experto_Med_Tropical/M5T1-Texto.pdf)
38. Alba L. Identificación de agentes bacterianos patógenos en muestras de secreción pulmonar del personal custodio y personas privadas de libertad del centro de rehabilitación social de Loja [Tesis]. Loja: Universidad Nacional de Loja; 2014. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/13537/1/Tesis%20Luis%20Alba.pdf>
39. Barba R. Prevalencia de tuberculosis pleural en pacientes diagnosticados con tuberculosis, atendidos en el hospital Carlos Roberto Huembes. Managua 2012-2014 [Tesis para especialidad]. Managua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua: 2015. Disponible en: <https://repositorio.unan.edu.ni/6597/1/41069.pdf>
40. Posso Santisteban R. Mycobacterium tuberculosis en biopsias comparando: Ziehl-Neelsen y Auramina – O [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Federico Vallareal; 2018. Disponible en: <http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/2526/POSSO%20SANTISTEBAN%20RAUL%20IVAN.pdf?isAllowed=y&sequence=1>
41. Bustamante J, Astudillo M, Pazos A, Bravo E. Detección de bacilos ácido alcohol resistentes en biopsias embebidas en parafina en casos de Inflamación Granulomatosa Crónica Colombiana [internet]. 2010 [citado 2021 Abr 15]; 15(2):263-270. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319027885018.pdf>
42. Graterol R OA, Barreto E ME, Ramos NA, Fernández F S, Da Mata J OJ, Angulo JA. Diseño del Kit de Tinción Ziehl Neelsen del Instituto Nacional de Higiene “Rafael

- Rangel". Rev Inst Nac Hig Rafael Rangel. diciembre de 2016;47(1-2):18-26. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0798-04772016000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0798-04772016000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
43. Guillen R. Detección de bacilo de KOCH según técnica de Ziehl Neelsen por baciloscopia directa de esputo en sintomáticos respiratorios de 15 a 70 años [Anteproyecto de tesis]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2013. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/41812/1/CD-018-GUILLEN%20GARCIA.pdf>
  44. Pérez del Molino M, Tuñez-Bastidas V, García-Ramos M, Lado Lado F. Diagnóstico microbiológico de la tuberculosis Med Integral [internet]. 2002 [citado 2021 Abr 15];39(5):207-15. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-diagnostico-microbiologico-tuberculosis-13029946>
  45. González R, Cuevas B, Cortes M, Sánchez M. Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico. UNAM, FES Zaragoza, noviembre de 2020. Recuperado de: <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/publicaciones/libros/cbiologicas/libros/Tinciones.pdf>
  46. Negron M. Informe respecto a las técnicas de demostración de los carbohidratos en el tejido [Internet]. Universidad de Concepción; 2016. Disponible en: <https://www.studocu.com/cl/document/universidad-de-concepcion/ginecologia/informe/informe-carbohidratos-ii/4235800/view>
  47. Crocker B y Burnett D. La ciencia del diagnóstico de laboratorio. 2da Ed: México: McGraw-Hill; 2007
  48. Ross M y Pawlina W. Ross Histología texto y atlas, correlación con biología molecular y celular. 8va Ed. España: Wolters Kluwer; 2020
  49. Bruel A, Ilso E, Tranum K, Qvortrup K, Genneser F. Geneser Histología. 4ta Ed. España: editorial medica panamericana, 2012
  50. Mowry, RW. The special value of methods that color both acidic and vicinal hydroxyl groups in the histochemical study of xiucins. With revised directions for the Coloidal iron stai-v, the use of Alcian Blue G8x and their cohibinatlons with the Periodic Acid-Schiff reaction. Annals of the New York Academy of Sciences, 2008

[citado 2021 Abr 15]; 106 (2), 402–423 Disponible en: <https://sci-hub.do/10.1111/j.1749-6632.1963.tb16654.x>

51. Suvarna S, Layton C y Bancroft J. Bancroft's Theory and practice of histological Techniques. 8va ed. ELSEVIER; 2019
52. Weedon's Skin Pathology Essentials E-Book. London: Elsevier; 2016. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/unach-ebooks/reader.action?docID=4558073&query=alcian+blue+>
53. Suarez J, Gómez P, Arias J y Contreras G. Mucopolisacaridosis: características clínicas, diagnóstico y de manejo. Rev Chil Pediatr [Internet]. 2016 [citado 2021 Abr 15];87(04): 295-304. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v87n4/art12.pdf>

# **ANEXOS**

## Anexo 1. Tricrómico de Masson

<b>Solución de Bouin</b>	
<b>Solución de trabajo Hematoxilina férrica (Weigert)</b>	
<b>Solución A stock</b>	
Hematoxilina	1 g
Alcohol etílico 95%	100 mL
<b>Solución B stock</b>	
Cloruro férrico 29%	4 g
Agua destilada	95 mL
Ácido clorhídrico concentrado	100 mL
Es reusable por 2 semanas	
<b>Solución Biebrich Escarlata-Fucsina Acida</b>	
Biebrich escarlata 1% acuosa	90 mL
Fucsina ácida 1% acuosa	10 mL
Ácido acético glacial	1 mL
<b>Solución Fosfomolibdico-Acido fosfotúngstico</b>	
Ácido fosfomolibdico	5 g
Ácido fosfotúngstico	5 g
Agua destilada	200 mL
<b>Solución de verde luz al 2%</b>	
Verde luz SF amarillento	2 g
Ácido acético glacial	1 mL
Agua destilada	99 mL
<b>Solución alternativa de azul de anilina</b>	
Azul de anilina	2,5 g
Ácido acético glacial	2 mL
Agua destilada	98 mL
<b>Solución diferenciadora: solución acuosa de ácido acético glacial al 1%</b>	

Acido acético glacial	1 mL
Agua destilada	99 mL

### Procedimiento

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.
2. Colocar solución de Hematoxilina férrica durante 10 minutos.
3. Con agua corriente lavar por 10 minutos y después con agua destilada.
4. Añadir solución fucsina ácida-Biebrich escarlata por 15 minutos.
5. Lavar con agua destilada.
6. Con la solución Acido fosfomolibdico-fosfotúngstico tratar de 10 a 15 minutos
7. Colocar solución azul anilina para contrastar por 5 a 10 minutos o solución verde luz por 1 a 5 minutos.
8. Lavar en agua destilada.
9. Si se usa azul anilina, diferenciar con ácido acético 1 % por 3 a 5 minutos.
10. Si se usa verde claro, diferenciar con solución de ácido fosfotúngstico 5% por 15 minutos.
11. Deshidratar y aclarar. Montar.

### Resultados

Núcleos	Azul-negruczo
Citoplasma, queratina, fibras musculares y eritrocitos	Rojo
Colágeno y reticulina	Azul o verde

## Anexo 2. Método tricrómico de Gomori

### Solución de plata amoniacal

Para 10 mL de solución de nitrato de plata al 10% y 2,0 a 2,5 mL de una solución acuosa de hidróxido de potasio al 10%, se añade agua amoniacal al 26 al 28%, gota a gota, hasta que el precipitado resultante desaparezca sin dificultad al agitar la solución. Llevar la solución con agua destilada hasta dos veces su volumen. Se debe usar vidrio limpio de ácido <sup>5</sup>.

### Solución de Permanganato de Potasio

Solución de permanganato de Potasio	0,5 g
Agua destilada	100 mL

### Solución de Metabisulfito de Potasio

Metabisulfito de Potasio	2 g
Agua destilada	100 mL

### Solución de sulfato de amonio férrico

Sulfato de amonio férrico	2 g
Agua destilada	100 mL

### Solución de formol

Solución de formaldehído	20 mL
Agua destilada	80 mL

### Solución de Cloruro de Oro

Solución stock de Cloruro de Oro	20 mL
Agua destilada	80 mL

### Solución de tiosulfito de sodio

Tiosulfito de sodio	2 g
Agua destilada	100 mL

### Procedimiento

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.
2. Colocar solución acuosa de permanganato de potasio al 0,5% por 1 minuto.
3. Lavar en agua corriente por 2 minutos.
4. Añadir solución acuosa de metabisulfito de potasio por 1 minuto, para diferenciar.
5. Lavar en agua corriente por 2 minutos.

6. Colocar solución de sulfato de amonio férrico al 2% por un minuto, para sensibilizar.
7. Lavar con agua corriente por 2 minutos; seguido con 2 cambios de agua destilada por 30 segundos cada vez.
8. Impregnar en la solución de plata por un minuto.
9. Enjuagar en agua destilada por 20 segundos.
10. Colocar por 3 minutos en formol al 20%.
11. Lavar en agua corriente por 3 minutos.
12. Colocar en solución de cloruro de oro al 0,2% por 10 minutos, para tonificar.
13. Usar vaso de Coplin.
14. Enjuagar en agua destilada.
15. Reducir la tonificación en una solución de metabisulfito de Potasio al 2% por 1 minuto.
16. Fijar en solución de tiosulfato de sodio al 2% por 1 minuto.
17. Lavar en agua corriente por 2 minutos.
18. Deshidratar y montar.

## Resultados

Fibras reticulares

Negro



### Anexo 3. Método de Van Gieson

#### Hematoxilina férrica de Weigert

##### Solución stock

##### Solución 1

Hematoxilina cristalizada	1 g
Etanol al 95%	100 mL

##### Solución 2

Cloruro ferrico anhidro ( $\text{FeCl}_3$ )	1,5 g
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,48 g
Agua destilada	100 mL

##### Solución de trabajo

Mezclar a partes iguales las soluciones 1 y 2. Al ser mezcladas tomaran un color negroazulado que rápidamente vira a pardo negruzco <sup>5</sup>.

Preparar en fresco y añadir

Ácido clorhídrico concentrado	1 mL
-------------------------------	------

#### Picro-fucsina de Van Gieson:

##### Solución 1

Fucsina acida	1 g
Agua destilada	100 mL

##### Solución 2

Solución acuosa saturada de ácido pícrico

##### Solución de trabajo

Solución 1	10 mL
Solución 2	90 mL

Si se deja actuar por unas semanas la solución actúa de una mejor manera al igual que recién preparada, teniendo en cuenta que antes de su uso agregar 0,25 mL de ácido clorhídrico concentrado <sup>5</sup>.

#### Procedimiento

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.
2. Para colorear los núcleos añadir hematoxilina férrica de Weigert durante 10 minutos.
3. Con agua corriente lavar durante 5 minutos

4. Enjuagar en agua destilada
5. Añadir la solución de trabajo de Van Gieson para teñir durante 30 segundos a 1 minuto
6. Secar con papel de filtro
7. Lavar rápidamente en etanol al 70%
8. Completar la deshidratación con rapidez; aclarar y montar

### Resultados

Núcleos	Azul – Negrozco
Citoplasma	Amarillo
Colágena	Rojo intenso

## Anexo 4. Congo de Putter

### Procedimiento técnico

**Fijación:** Formol tamponado al 10%, alcohol absoluto o liquido de Carnoy.

Secciones en parafina o congelación

#### Solución de Hematoxilina de Harris

#### Solución de rojo Congo

#### Solución de almacenamiento:

R rojo Congo (C.I. 221 20)	1 g
Cloruro sódico al 1% en alcohol de 80%	200 mL
Agitar hasta disolución. Filtrar. Esta solución es estable durante meses	

#### Solución de trabajo:

Solución de almacenamiento de rojo Congo	100 mL
Hidróxido sódico al 1%	1 mL

#### Modo de operar

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.
2. Aplicar Hematoxilina de Harris por 2 minutos
3. Aclarar rápidamente con agua corriente
4. Lavar en la solución salina en alcohol al 80%
5. Solución de rojo Congo alcalino por 20 minutos
6. Deshidratar, aclarar y montar.

#### Resultados

Nucleolos	Azules
Amiloide	Naranja rojizo
Fibras elásticas	Naranja rojizo
En la observación con luz polarizada, el resultado será verde manzana brillante sobre fondo oscuro.	

#### Observaciones

No debe utilizarse material que haya sido fijado con agentes oxidantes pueden dar falsos positivos

El rojo Congo en medio ácido o neutro tiñe también las fibras de colágeno del tejido conjuntivo originando falsos positivos. Se recomienda utilizar rojo Congo alcalino

La utilización de un agente de diferenciación que contenga cloruro sódico a saturación, potencia la fijación del colorante al amiloide, ocasionando una coloración progresiva de gran selectividad

## Anexo 5. Reacción de permanganato de potasio en el diagnóstico de la amiloidosis

### Procedimiento técnico

**Fijación:** igual a la del rojo Congo convencional con diferencia de que el efecto de la prueba de permanganato se amortigua de forma notable cuando el fijador contiene sublimado. Cortes en parafina<sup>5</sup>.

#### Soluciones de permanganato potásico:

Solución acuosa de permanganato de potásico al 5%	50 mL
Solución acuosa de ácido sulfúrico al 0.3%	50 mL

#### Solución acuosa de ácido oxálico al 2%

#### Soluciones empleadas en el rojo Congo alcalino

#### Modo de operar

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.
2. Colocar con la solución de permanganato durante 2 a 3 minutos
3. Añadir ácido oxálico para la decoloración completa
4. Lavar en agua destilada
5. Realizar la técnica de rojo Congo alcalino

#### Resultados:

Amiloide de tipo AA	Deja de colorearse con el rojo Congo
Amiloide de tipo AL	Rosa o rojo con persistencia del fenómeno de birrefringencia a la luz polarizada

#### Observaciones:

Simultáneamente a la prueba de permanganato debe desarrollarse una preparación paralela sobre la que se realiza una coloración normal de rojo Congo para control de los resultados.

## Anexo 6. Fontana de Masson por argentafinidad

**Fijación:** Formalina al 10%

### Soluciones:

#### Solución de nitrato de plata (Fontana)

Disolver

Nitrato de plata	5g
Agua destilada	100mL

Añadir a 95 mL de esta solución hidróxido amónico hasta obtener una solución clara sin precipitados. Luego añadir gota a gota lo necesario de los restantes 5 mL de la solución de nitrato de plata hasta que la solución se vuelva ligeramente turbia<sup>5</sup>.

Antes de usar se deja reposar de 1 a 2 horas en la oscuridad.

#### Solución de cloruro de oro

Cloruro de oro acuoso al 1%	10 mL
Agua destilada	40 mL

#### Solución de tiosulfato sódico al 5%

Tiosulfato sódico	5 mL
Agua destilada	100 mL

#### Solución rojo nuclear rápido (Kernechtrot)

##### Procedimiento

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido y rehidratar con agua destilada.
2. Incubar en solución de nitrato de plata a 56°C durante 1 hora o bien de 24 a 48 horas a temperatura ambiente, manteniéndolo en oscuridad. Los cortes deben ser de color marrón claro
3. Lavar en agua destilada
4. Colocar en solución de cloruro de oro durante en 5 minutos
5. Lavar en agua destilada, tres veces.
6. Colocar en solución de tiosulfato sódico durante 5 minutos
7. Lavar en agua destilada
8. Contrastar con solución de rojo nuclear rápido durante 5 minutos

9. Lavar con agua destilada dos veces

10. Deshidratar, aclarar y montar

### Recomendaciones

Usar cortes de control

Emplear material de vidrio químicamente limpio

Evitar el contacto con metales

### Resultados

Sustancias reductoras de la plata, incluidos gránulos argentafinines y melanina	Negro
Nucleolos	Rosa

### Observaciones:

El procedimiento indicado anteriormente es inespecífico por los pigmentos como formol, hierro, pigmento lipofuscínico y orgánulos argenta fines que pueden indicar positivo. Si bien es cierto su utilidad es frecuente para demostrar la presencia de melanina, pero es recomendable utilizar otras técnicas para confirmar el resultado<sup>5</sup>. Se puede utilizar el método de Warthin Starry a un pH 3.3 para demostrar la melanina; en embargo, la prueba más crucial para la melanina es la reducción de nitrato de plata (0,1 M o 1.7%) en tampón de acetato (0.1 M pH 4) en una hora o menos a temperatura ambiente evitando la luz solar<sup>5</sup>.

## Anexo 7. Método de Perls

### Reacción del azul de Prusia de Perls para el hierro férrico (Perls 1867)

Este método se considera la primera reacción histoquímica clásica. El tratamiento con una solución de ferrocianuro ácido resultará en el desenmascaramiento del hierro férrico en forma de hidróxido,  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , por el ácido clorhídrico diluido. El hierro férrico luego reacciona con una solución diluida de ferrocianuro de potasio para producir un compuesto azul insoluble, ferrocianuro férrico (azul de Prusia).

#### Fijación

Evite el uso de fijadores ácidos. Los cromatos también interferirán con la conservación del hierro.

#### Solución de ferrocianuro

Ferrocianuro de potasio acuoso al 1%	20 ml
Ácido clorhídrico acuoso al 2%	20 ml

Preferiblemente recién preparada justo antes de su uso.

#### Procedimiento

1. Lleve una sección de prueba y control al agua.
2. Trate las secciones con la solución de ferrocianuro ácido recién preparada durante 10 a 30 minutos (consulte la Nota a continuación).
3. Lavar bien con agua destilada.
4. Teñir ligeramente los núcleos con rojo neutro acuoso al 0,5% o rojo nuclear rápido al 0,1%.
5. Lavar rápidamente con agua destilada.
6. Deshidratar, aclarar y montar en resina sintética.

#### Resultados

Hierro Férrico	Azul
Núcleos	Rojo

#### Nota

- a. Dependiendo de la cantidad de hierro férrico presente, puede ser necesario variar los tiempos de tinción.
- b. Algunos laboratorios mantienen las dos soluciones madre preparadas por separado y almacenadas en el refrigerador. Las dos soluciones no deben almacenarse durante períodos prolongados; esta precaución garantizará que las soluciones conserven su viabilidad.



c. Es esencial que se utilice un control positivo con todas las secciones de prueba. La elección del material más adecuado como muestra de control es importante. Un control útil sería el tejido pulmonar post mórtem que contiene un número razonable de macrófagos positivos para hierro (células de insuficiencia cardíaca). Los depósitos de hierro recién formados se pueden disolver en el ácido clorhídrico.

## Anexo 8. Tinción de Ziehl Neelsen

### Procedimiento técnico

**Fijación:** Cualquier fijador, excepto líquido de Carnoy .

### Soluciones:

<b>Solución de Ziehl Neelsen Carbol Fucsina</b>	
Cristales de fenol	2,5 mL
Alcohol etílico absoluto	5 mL
Fucsina básica	0,5 g
Agua destilada	50,0 mL Filtrar antes de usar
Filtrar antes de usar	
<b>Solución alcohol ácida 1%</b>	
Acido clorhídrico	1 mL
Alcohol etílico corriente (70%)	99 mL
<b>Solución Azul de Metileno stock</b>	
Azul de metileno	1,4 g
Alcohol etílico 95%	100 mL
<b>Solución Azul de Metileno de trabajo</b>	
Azul de metileno stock	10 mL
Agua corriente	90 mL
<b>Procedimiento</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.</li><li>2. Agregar solución de Ziehl Neelsen Carbol Fucsina a la lámina, durante unos 30 minutos.</li><li>3. Lavar con agua corriente.</li><li>4. Decolorar con solución alcohol ácido 1% hasta que las secciones estén de color rosado pálido, aproximadamente 5 minutos.</li><li>5. Lavar con agua por de 5 a 8 minutos.</li><li>6. Añadir azul de metileno. Las secciones deben verse azul pálido, por 30 segundos aproximadamente.</li><li>7. Lavar con agua destilada.</li></ol>	

8. Colocar alcohol etílico del 95% y alcohol etílico absoluto, realizar 2 cambios cada uno y aclarar con xileno de igual forma por 2 minutos cada uno, para una deshidratación rápida

9. Montar.

### Resultados

Pigmento ceroide y bacilos ácidos alcohol resistentes	Rojo brillante
Glóbulos rojos	Naranja amarillo
Otros elementos tisulares y bacilos no ácidos alcohol resistentes	Azul

## Anexo 9. Tinción de Grocot

### Soluciones

<b>Acido crómico 4%</b>	
Acido crómico	4 g
Agua destilada	100 mL
<b>Nitrato de plata 5%</b>	
Nitrato de plata	5 g
Agua destilada	100 mL
<b>Tiosulfato de sodio 5%</b>	
Tiosulfato de sodio	5 g
Agua destilada	100 mL
<b>Metenamina 3%</b>	
Metenamina	3 g
Agua destilada	100 mL
<b>Borax 5%</b>	
Borax	5 g
Agua destilada	100 mL
<b>Solución stock Nitrato Plata-Metenamina</b>	
Nitrato de Plata 5%	5 mL
Metenamina 3%	100 mL
<b>Solución de trabajo Nitrato plata-metenamina</b>	
Solución stock Nitrato de Plata-Metenamina	25 mL
Borax 5%	2 mL
Agua destilada	25 mL
Preparar fresco previo al uso. No usar si está turbio	
<b>Bisulfito de Sodio 1 %</b>	
Bisulfito sodio	1 g
Agua destilada	100 mL
<b>Cloruro de Oro 0,1%</b>	
Solución Cloruro de Oro 1%	10 mL

Agua destilada	90 mL
<b>Verde claro 0,2% stock</b>	
Verde claro SF	0,2 g
Agua destilada	100 mL
Ácido acético glacial	0,2 mL
<b>Verde claro solución de trabajo</b>	
Verde claro stock	10 mL
Agua destilada	50 mL

### Procedimiento

1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.
2. Para su oxidación colocar ácido crómico 4% por 1 hora
3. Lavar con agua corriente unos segundos
4. Para remover los residuos del ácido crómico colocar en solución bisulfito de sodio por 1 minuto
5. Lavar con agua corriente durante 5 a 10 minutos.
6. Enjuagar con agua destilada unas 3 o 4 veces
7. Colocar en solución de trabajo Nitrato Plata-Metenamina, en una estufa de laboratorio a una temperatura de 58°C a 60°C, en un periodo de 50 a 60 minutos.
8. Enjuagar con el agua destilada unas 6 veces
9. Realizar el matizado con la solución de cloruro de oro de 2-5 minutos.
10. Enjuagar con agua destilada
11. Colocar el tiosulfato de sodio de 2-5 minutos.
12. Lavar con agua corriente
13. Contrastar con solución de trabajo de verde claro por 30 a 45 segundos.
14. Deshidratar y aclarar con alcohol al 95% o alcohol absoluto y xileno
15. Realizar el montaje con un medio de resinoso

### Resultados

Hongos	Marcados en negro
Mucina	Gris oscuro
Micelio e hifas	Rosado grisáceo

Fondo

| Verde

|

## Anexo 10. Tinción de PAS (Ácido Peryódico de Schiff)

### Soluciones

<b>Solución Acido peryódico 0.5%</b>	
Acido periódico	0,5 g
Agua destilada	100,0 mL
<b>Solución Ácido clorhídrico 1 N</b>	
Ácido clorhídrico P.A. 37%	83,5 mL
Agua destilada	916,5 mL
<b>Reactivo de Coleman Schiff</b>	
Fucsina básica	1,0 g
Agua destilada a 60°C	200,0 mL
<b>Llevar a ebullición.</b>	
<b>Enfriar y agregar:</b>	
Ácido clorhídrico 1N	10,0 mL
<b>Dejar 24 horas y agregar:</b>	
Carbón activado	0,5 g
Agitar por 1 minuto, filtrar hasta que la solución sea incolora. Guardar en refrigeradora.	
<b>Procedimiento</b>	
<ol style="list-style-type: none"><li>1. Con ayuda de la estufa desparafinar el tejido e hidratar con agua destilada.</li><li>2. Colocar solución Ácido peryódico por 5 minutos.</li><li>3. Lavar con agua destilada.</li><li>4. Añadir el reactivo de Coleman Schiff por 15 minutos.</li><li>5. Lavar en agua destilada por 10 minutos.</li><li>6. Colocar Hematoxilina Mayer por 15 minutos o Harris por 6 minutos.</li><li>7. Lavar en agua corriente por 15 minutos.</li><li>8. Deshidratar y aclarar.</li><li>9. Montar.</li></ol>	
<b>Resultados</b>	
Glicógeno, mucina, algunas membranas basales	Rojo a púrpura
Hongos	Rojo a púrpura

Núcleo

| Azul