



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

**Sustancias decalcificantes para procesamiento de tejidos humanos
de diferente constitución**

**Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciada en
Laboratorio Clínico e Histopatológico**

Autora:

Isabel Vanessa Carvajal Laguaquiza

Tutor:

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Riobamba, Ecuador. 2024

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, **Isabel Vanessa Carvajal Laguaquiza** con cédula de ciudadanía **0503584138**, autora del trabajo de investigación titulado: **Sustancias decalcificantes para procesamiento de tejidos humanos de diferente constitución**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autora de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 21 de mayo del 2025.



Isabel Vanessa Carvajal Laguaquiza

C.C: 0503584138

CERTIFICADO DEL TUTOR

Yo, **Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez**, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: **“Sustancias decalcificantes para procesamiento de tejidos humanos de diferente constitución”**, propuesto por la **Isabel Vanessa Carvajal Laguaquiza**, 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, 12 de mayo de 2025



Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez
Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación **Sustancias decalcificantes para procesamiento de tejidos humanos de diferente constitución**, presentado por **Isabel Vanessa Carvajal Laguaquiza**, con cédula de identidad número **0503584138**, bajo la tutoría de **Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez**; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autora; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, Riobamba, 21 de mayo del 2025.

Mgs. Mercedes Balladares Saltos
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Firma

Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Firma

MsC. Eliana Elizabeth Martínez Duran
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



Firma

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez
TUTOR



Firma



CERTIFICACIÓN

Que, **ISABEL VANESSA CARVAJAL LAGUAQUIZA** con CC: **0503584138**, estudiante de la Carrera **LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO, NO VIGENTE**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**Sustancias decalcificantes para procesamiento de tejidos humanos de diferente constitución**" cumple con el **5%**, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **Compilatio Magister**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 12 de mayo de 2025

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez
TUTOR TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a mi madre Norma por todo el esfuerzo, sacrificio y apoyo incondicional que me brindan en todo momento. A Aurora, la luz de mi vida por ser una hija maravillosa. A mi esposo con su paciencia y cariño, ya que me ayudo demasiado en esta etapa. A mi hermana que siempre estuvo ahí dándome esas palabras de aliento que siempre necesitaba. A mis seres queridos que me motivaron a superar momentos difíciles y a disfrutar de los mejores.

Vanessa Carvajal

AGRADECIMIENTO

A mi Madre, que me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos. A mi hija y esposo por los ánimos para el desarrollo de mi tesis y por los aportes que me brinda en mi vida; y por último mi especial agradecimiento, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, a mi tutor el Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez que con dedicación y tiempo hizo posible la culminación de este proyecto con éxito.

Vanessa Carvajal

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	18
Tejido.....	18
Protocolo de rutina en procesamiento de tejidos	19
Pruebas especiales en tejidos humanos	21
Tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E)	21
Tinción de PAS (Ácido Periódico de Schiff)	22
Tinción de Tricrómico de Masson	22
Tinción de Gram	22
Inmunohistoquímica (IHC)	22
Tinción de Ziehl-Neelsen.....	22
Reacción de la Fosfatasa Ácida.....	22
Tinción de Oil Red	23
Tinción de Peroxidasa de Diaminobencidina (DAB).....	23
Reacción de Hidrólisis de Ácido Hidrofílico (Alcian Blue)	23
Tinción de Siderofrón (Prussian Blue).....	23
Decalcificación	23
Clasificación de Sustancias decalcificantes	24
Sustancias decalcificantes.....	25
Ácido clorhídrico (HCl)	25
El ácido nítrico (HNO ₃)	25
El ácido fórmico (HCOOH)	25
Fluido de C. Perenyi.....	25
Ácido tricloroacético.....	26

Ácido crómico (líquido de Fleming)	26
Solución tampón de ácido cítrico y citrato	26
El EDTA (Ácido Etilendiaminotetraacético)	26
Combinación de ácido fórmico y citrato de sodio.....	27
Osteomol	27
Osteosoft	27
BIODEC-R	27
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	28
Nivel descriptivo	28
Diseño documental - no experimental.....	28
Cohorte transversal.....	28
Retrospectivo.....	28
Población.....	28
Muestra.....	28
Criterios de inclusión	29
Criterios de exclusión.....	29
Método de estudio	29
Técnicas y procedimientos	29
Consideraciones éticas	30
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	48
BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXOS	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sustancias decalcificantes en tejidos humanos.....	32
Tabla 2. Sustancias decalcificantes y su prioridad.	39
Tabla 3. Eficacia de las sustancias decalcificantes.	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Clasificación de los principales tejidos.....	19
Figura 2. Esquema del proceso histológico.	21

RESUMEN

La investigación se centró en el análisis de sustancias decalcificantes utilizadas en el procesamiento de tejidos humanos, con el fin de conocer y prevalecer los agentes más efectivos según su utilidad y su impacto en diferentes tipos de tejidos. La decalcificación es un paso crucial en la preparación de muestras para análisis histológicos, ya que permite la visualización detallada de estructuras celulares al eliminar los depósitos de calcio sin dañar las muestras. Se adoptó un diseño documental-no experimental basado en una revisión bibliográfica de estudios publicados entre 2019 y 2025. La población de estudio incluyó 43 fuentes científicas provenientes de bases de datos confiables como PubMed, Scielo y Google Académico. La muestra final estuvo conformada por 25 fuentes seleccionadas según criterios específicos de inclusión y exclusión. Entre los agentes decalcificantes más utilizados, el EDTA destacó con un 76,5%, seguido por el ácido nítrico (HNO_3) con un 70,5%. Además, se identificaron otras sustancias con un 64,5%. El HCL fue el menos utilizado, con un 27,5%. Aunque el ácido nítrico es el agente más rápido, su uso puede comprometer la calidad de los tejidos, mientras que el EDTA, aunque más lento y costoso, ofrece mejores resultados en la preservación de las muestras. Los resultados obtenidos permitieron concluir que, aunque el ácido nítrico es el más rápido, su uso puede afectar la calidad de los tejidos, mientras que el EDTA, aunque más lento y costoso, presenta mejores resultados en la preservación de la muestra. Para la obtención de una muestra satisfactoria de tejido.

Palabras clave: decalcificación, sustancias decalcificantes, depósitos de calcio, procesamiento histológico, tejido óseo

ABSTRACT

This research focused on analyzing decalcifying substances used in human tissue processing to identify the most effective agents based on their usefulness and impact on different tissue types. Decalcification is a crucial step in sample preparation for histological analysis, as it allows for detailed visualization of cellular structures by removing calcium deposits without damaging the samples. A documentary, non-experimental design was adopted based on a bibliographic review of studies published between 2019 and 2025. The study population consisted of 43 scientific sources from reliable databases, including PubMed, Scielo, and Google Scholar. The final sample comprised 25 sources selected according to specific inclusion and exclusion criteria. Among the most commonly used decalcifying agents, EDTA stood out with 76.5%, followed by nitric acid (HNO_3) with 70.5%. Additionally, other substances were identified with 64.5%. HCl was the least used, at 27.5%. Although nitric acid is the fastest-acting agent, its use can compromise tissue quality, while EDTA, although slower and more expensive, offers better results in sample preservation. The results obtained led to the conclusion that, although nitric acid is the fastest-acting agent, its use can compromise tissue quality. In contrast, EDTA, although slower and more expensive, offers better results in sample preservation. To obtain a satisfactory tissue sample, the following are essential.

Keywords: decalcification, decalcifying substances, calcium deposits, histological processing, bone tissue.



Reviewed by

Mgs. Marcela González R.

ENGLISH PROFESOR

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.

Las sustancias decalcificantes son aquellas que tienen la capacidad de reducir el calcio en los huesos mediante la utilización de ácidos o soluciones. El tejido óseo se caracteriza por su estructura rígida y mineralizada, lo que le otorga su dureza y resistencia. Se divide en dos tipos principales que son: el primero llamado compacto, tiene una estructura densa y forma la capa externa; el segundo que es el esponjoso, su estructura es ligera y se encuentra en el interior. Su formación y mantenimiento dependen de los osteoblastos, osteoclastos y osteocitos¹.

En los laboratorios de Anatomía Patológica los decalcificantes como el ácido clorhídrico, ácido fórmico, EDTA y ácido nítrico, que se seleccionan dependiendo de la rapidez requerida y la necesidad de preservar la morfología celular y tisular. Estas sustancias son de gran importancia en el diagnóstico de diversas patologías ósea. El Osteosarcoma es un cáncer que comienza en los osteoblastos, se da con más frecuencia en los huesos largos como las piernas y brazos. Su grado de malignidad es del 20%, ocupa entre el 5 y 6% de las neoplasias malignas pediátricas y un 60% de los tumores óseos^{2, 3}.

Los registros del Sistema Europeo de Información sobre el Cáncer, arrojan 0.2 a 0.3 casos por cada 100,000 personas al año en la población general. Es decir 0.002%-0.003%, en algunos países europeos, como el Reino Unido, Francia y Alemania, se han reportado tasas similares. Estudios en África del Norte en países como Egipto y Túnez, los datos disponibles sugieren que la incidencia de Osteosarcoma, es más cercana a la media global, con tasas que rondan los 0.00005% - 0.0001% de la población general. En algunas áreas del continente el acceso a un diagnóstico temprano es muy difícil, esto se debe a la falta de recursos médicos^{4, 5}.

La Organización Mundial de la Salud, el 0.001% - 0.0002% de la población contrae este tipo de cáncer en el continente Asiático, sin embargo, la incidencia puede ser más baja en ciertas regiones del sur y sureste asiático, y más alta al este de Asia. En países como China, Japón y Corea del Sur, ha sido documentada con un rango de 0.5 – 2 casos por millón. Mientras que, en India, Pakistán, y países del sureste asiático es más baja su incidencia con un 0.5 casos por millón. El Consejo de Cáncer de Australia, reporta en Oceanía alrededor

de 0.0001% - 0.0002% de casos por año. Esta tasa puede ser más precisa en países con una infraestructura médica avanzada tal es el caso de Australia y Nueva Zelanda, pero la población en general sigue siendo relativamente pequeña, lo que puede influir en los datos encontrados ⁶.

Según la Sociedad Americana contra el Cáncer, la incidencia en América del Norte es de aproximadamente de 1 a 2 casos por millón de personas. Esto se traduce en una tasa de incidencia de 3-4 nuevos casos por millón de habitantes. Representan alrededor del 35% en adultos y el 60% en adolescentes. En Estados Unidos cada año son diagnosticados aproximadamente 400-500 casos de OS⁵.

En América del Sur se puede estimar en un rango de 0.0001% a 0.0002% de la población general cada año. En Brasil, se han reportado tasas que varían entre 1 y 2 casos por millón, similares a las observadas en otras regiones del mundo. Según el Registro de Cáncer de Base Populacional, que es uno de los pocos registros más completos en América del Sur, los casos de Osteosarcoma representan una porción pequeña de los tumores óseos malignos. En Argentina, Chile, y Colombia es más limitada, pero algunos estudios regionales estiman que también se encuentra en el rango de 1 a 2 casos por millón⁵.

El Instituto Nacional de Cáncer de Ecuador revela la incidencia de tumores óseos es baja en términos absolutos, con una estimación de alrededor de 0.0001% a 0.0002% de la población afectada anualmente. Las principales ciudades como Quito, Guayaquil y Cuenca pueden tener una mayor tasa de detección debido a la infraestructura médica más avanzada y los hospitales de referencia, pero no se cuenta con datos específicos y detallados por ciudad sobre la incidencia exacta de este tipo de tumores⁷.

El Ministerio de Salud Pública muestra que la incidencia de tumores maligno en huesos y articulaciones (C40-C41). En Ecuador es relativamente baja en comparación con otro tipo de cánceres más comunes. Considerando que las ciudades más grandes tienen poblaciones que varían entre 1 y 2.7 millones de habitantes, en Quito y Guayaquil se estima que podría estar entre 2 y 8 casos al año aproximadamente 0.5%. Los números reales pueden variar dependiendo de factores como el acceso al diagnóstico, la disponibilidad de tratamiento y la variabilidad en la salud pública local⁸.

Las muestras de tejido conectivo ya sean biopsias, piezas o especímenes quirúrgicos deben ser enviados para su posterior análisis patológico, como se mencionó por su dureza debe ser sometido a decalcificación. Para ello se utiliza el ácido inorgánico o minerales fuertes como el clorhídrico y el ácido orgánico débil como el fórmico y el agente quelante como el etilendiaminotetracético (EDTA)².

El Osteosarcoma es un tumor que se encuentra en el tejido conectivo, no se considera hereditario, el problema es que este tipo de enfermedad es poco frecuente, esto hace que no lo diagnostican o lo hacen demasiado tarde. El hueso contiene el 99% de calcio esto hace que su procesamiento histológico sea tedioso; se necesita quitar todos los minerales de calcio existentes, para realzar un buen corte y posterior su observación al microscopio².

Existen métodos tradicionales para el procedimiento de decalcificación, el ácido acético diluido fue uno de los primeros. Su acción es relativamente lenta, aunque este método es menos agresivo, no siempre preserva bien la estructura tisular y las características microscópicas del hueso. El ácido clorhídrico (HCl) es rápido y efectivo, especialmente útil cuando se necesita realizar el procedimiento de forma expedita. Sin embargo, su aplicación tiene ciertas limitaciones, ya que puede dañar la morfología celular, afectar las fibras de colágeno. El ácido fórmico actúa de manera más suave y lenta. Esto permite una mejor preservación de la estructura tisular, lo que es beneficioso para la visualización detallada bajo el microscopio. Además, es menos tóxico que el (HCl), lo que lo hace más seguro para el personal de laboratorio. Sin embargo, debido a su acción más lenta, requiere más tiempo de exposición para lograr una decalcificación completa².

Mediante la utilización de microondas con ácido nítrico al 5% este método es muy rápido, mantiene la estructura y características del tejido y otro método es el de perfusión. Las variantes como la temperatura, el pH y la concentración empleada de esta, implican una buena eliminación de sales de calcio. Según la filosofía el tiempo empleado para este procedimiento es de tres a siete días. Las muestras de gran tamaño se decalcifican durante varios meses por lo que estas sustancias inflaman e hidrolizan la matriz del tejido. Esto ha llevado a la búsqueda de sustancias que aceleren la decalcificación sin dañar los tejidos, el (EDTA) es el más utilizado para este procedimiento, pero tarda mucho⁹.

En 2020 Niloofar Hajihoseini, comparó la decalcificación convencional y asistida por microondas de hueso y sin dientes, utilizando ácido nítrico o ácido fórmico. Fue más rápida, sin afectar la calidad de la tinción ni la preservación de los detalles tisulares. Sin embargo, se observaron más manchas irregulares y desgarros tisulares, especialmente en muestras que contenían tanto hueso como dientes¹⁰.

Jered B. Cornelison, en 2022 comparó tres agentes decalcificadores. El HCl fue el más rápido, seguido del ácido nítrico, mientras que el EDTA tardó más, pero ofreció la mejor calidad histológica. El ácido nítrico es adecuado para muestras gruesas de adultos, mientras que el EDTA es ideal para muestras delgadas de niños pequeños, proporcionando la mejor preservación tisular¹¹.

S. Amitha Banu, en 2024 realizó un estudio que establece un protocolo estandarizado para la decalcificación del hueso utilizando una solución de ácido fórmico-formol. Se optimizó y evaluó el protocolo según el tiempo de decalcificación, la concentración de ácido fórmico y la preservación de la integridad del tejido. Los resultados mostraron que la concentración al 10% de ácido fórmico fue la más efectiva, completando la decalcificación en ocho días y preservando la calidad estructural del hueso. Las concentraciones más bajas (5%) y más altas (15%) no fueron tan efectivas¹².

El 7 de enero del 2025 Shibarjun Mandal, comparó diferentes protocolos de decalcificación ósea para identificar el más adecuado para obtener imágenes multimodales (histología, inmunofluorescencia y espectroscopía Raman) de huesos. Se utilizaron varios agentes, incluidos ácidos fuertes y débiles, y se evaluaron muestras a distintos tiempos. Los resultados ayudaron a identificar la sustancia más efectiva para aplicaciones multimodales, aunque se sugiere que podrían ser necesarios ajustes para otros tipos de tejido óseo¹³.

El uso de diferentes sustancias decalcificantes depende de varios factores, entre ellos el tipo de tejido óseo, la rapidez del proceso y la preservación de la morfología celular para el análisis histopatológico posterior. Las muestras de hueso pueden variar significativamente en su densidad mineral, lo que afecta la elección de la sustancia a utilizar. Por ejemplo, los huesos más densos, como los de la cabeza y los miembros, requieren de un tratamiento

más agresivo, mientras que los de menor densidad, como los de la pelvis o costillas, pueden ser tratados con sustancias menos concentradas.

Si no se utilizan las sustancias decalcificantes para el proceso de tejidos humanos, no se podrá prevenir los daños en la estructura y la integridad celular. Por lo que el Análisis Histopatológico puede durar varios meses.

Por lo anteriormente expuesto, surge el siguiente interrogante: ¿Cuáles son las sustancias decalcificantes para el procesamiento en tejidos humanos de diferente consistencia?

El presente trabajo tiene como objetivo principal especificar las sustancias decalcificantes para el procesamiento de tejidos humanos de diferente constitución, detallándose en 3 acápites:

1. Argumentar las sustancias decalcificantes para el procesamiento de tejidos humanos.
2. Priorizar las sustancias decalcificantes que se utilizan en el procesamiento de tejidos en general.
3. Considerar la efectividad de las diferentes sustancias decalcificantes con las diferentes texturas de tejidos humanos.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.

Tejido

Son componentes fundamentales para el correcto funcionamiento del organismo y desempeñan roles esenciales en la salud y la enfermedad. Su estudio, a través de herramientas como la histología, la anatomía patológica y las nuevas tecnologías en biología molecular, permite a los profesionales de la salud comprender mejor las patologías, mejorar los tratamientos y desarrollar nuevas terapias que pueden salvar vidas¹⁴.

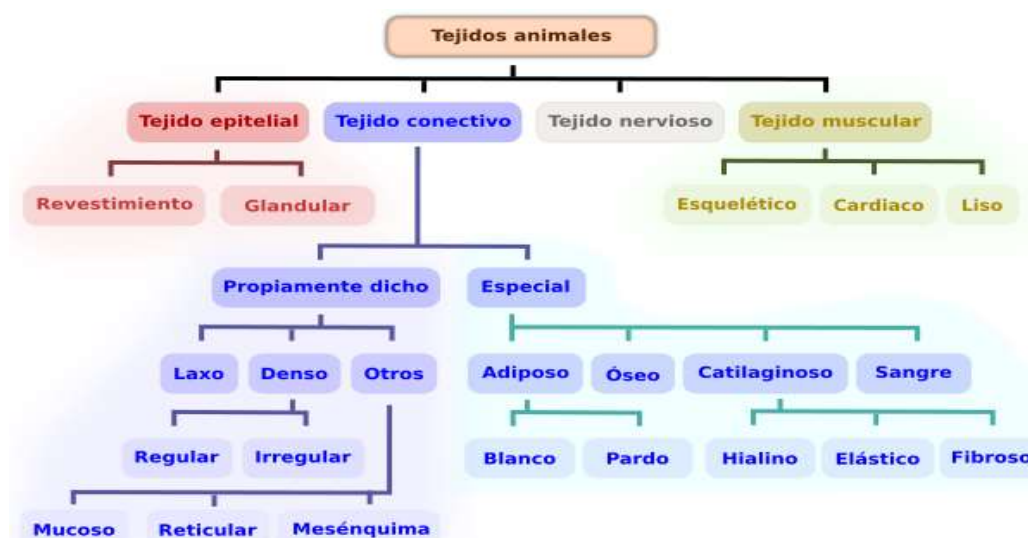
Se agrupan en cuatro tipos principales: Tejido epitelial, recubre superficies y cavidades del cuerpo, formando barreras protectoras, secretoras y de absorción. Está compuesto principalmente por células unidas por uniones estrechas, y carece de sustancia intercelular abundante. Ejemplos incluyen la piel, el revestimiento de los intestinos y las glándulas¹⁴.

Tejido conectivo: Su principal función es sostener, unir y proteger. Se caracteriza por tener una matriz extracelular abundante, que puede ser líquida, gelatinosa, fibrosa o mineralizada. Incluye hueso, cartílago, sangre, tejido adiposo y tendones¹⁴.

Tejido muscular: Este tejido está especializado en la contracción para generar movimiento. Está compuesto por células alargadas llamadas fibras musculares. Hay tres tipos: músculo esquelético (voluntario y estriado), músculo cardíaco (involuntario y estriado) y músculo liso (involuntario y no estriado)¹⁴.

Tejido nervioso: Su función principal es recibir y transmitir impulsos eléctricos a lo largo del cuerpo. Está formado por neuronas, que son las células encargadas de la transmisión de señales, y células gliales, que proporcionan soporte y protección a las neuronas. Cada tipo de tejido tiene una estructura y función específicas que contribuyen al funcionamiento general del organismo (Figura1)¹⁴.

Figura 1.- Clasificación de los principales tejidos.



Fuente: Atlas de histología animal y vegetal, 11-12-2024.

https://mmegias.webs.uvigo.es/guiada_a_inicio.php

Protocolo de rutina en procesamiento de tejidos

Se refiere a un conjunto de técnicas ejecutadas en el laboratorio para preparar un tejido, para su análisis microscópico. Este procedimiento es esencial en Histología Patológica, dado que posibilita el análisis de la estructura celular y tisular de órganos para identificar enfermedades, llevar a cabo estudios científicos, o incluso para la detección de restos humanos en medicina forense. El proceso de recolección de la muestra es esencial en el tratamiento de tejidos, dado que la calidad de la misma afecta directamente los resultados del análisis histológico. Para ello, es necesario utilizar un método de recolección apropiado (biopsia, cirugía, autopsia); garantizar que tenga el tamaño correcto, preservar de manera instantánea a través de su fijación en un medio apropiado, el traslado y la documentación completa para asegurar la identificación adecuada¹⁸.

Previo al procesamiento de la muestra, se efectúa un análisis visual del tejido para recopilar datos acerca de su tamaño, forma, color, consistencia y cualquier anomalía perceptible. Esto puede contribuir a establecer qué secciones necesitan un análisis más detallado o qué zona concreta debe ser empleada para el estudio histológico. Tras la revisión, se recorta una pequeña porción utilizando un bisturí o tijeras para simplificar su manejo. Si se requiere, puede ser dividido en diversos segmentos, en función de la región a

analizar. Los cortes generalmente tienen un tamaño de 1 a 2 cm³ para garantizar un proceso eficaz¹⁸.

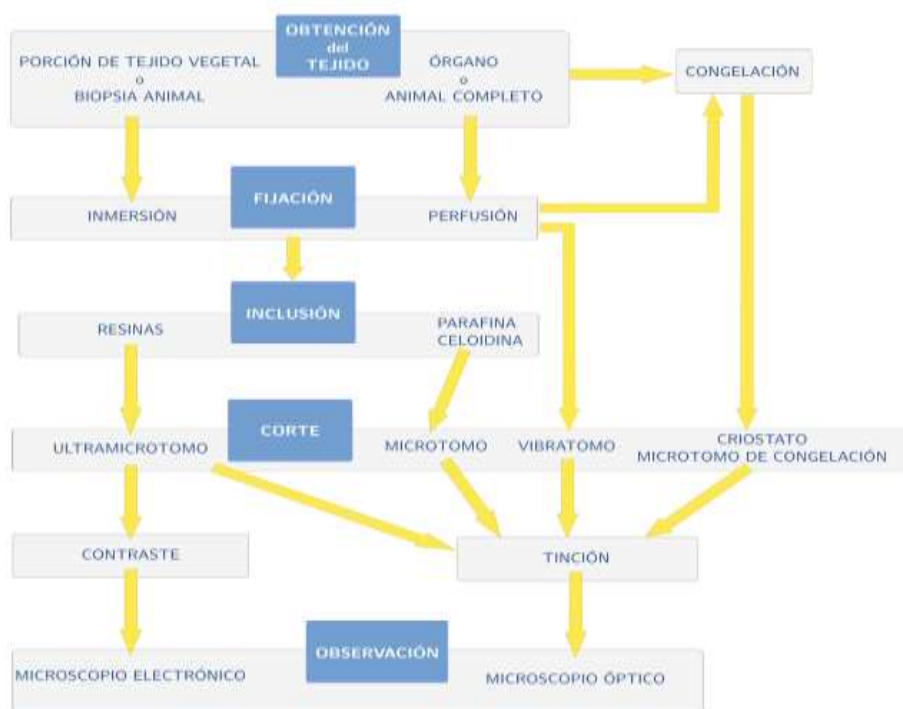
Es importante que el tejido sea deshidratado, generalmente mediante una serie de alcoholes de concentraciones crecientes, para eliminar el agua del tejido. Una vez que la muestra se ha fijado adecuadamente (generalmente con formaldehído al 10%), se procede a la inclusión. Este proceso implica sumergirlo en un medio sólido, generalmente parafina, para que se endurezca y se haga más fácil de cortar en secciones finas. Esto permite que el tejido se mantenga firme y estable durante el proceso de corte¹⁸.

Luego se moldea en bloques, estos son sólidos y permiten que las secciones finas del tejido sean cortadas sin dañar las estructuras celulares, ya que permite que permanezca en su posición correcta y evita que se deforme durante el corte posterior. Para ello se utiliza el micrótopo este realiza cortes de 3 a 5 micrómetros de grosor, los que son llevados a un portaobjetos de vidrio¹⁸.

La tinción es crucial para mejorar el contraste entre las diferentes estructuras celulares y tisulares, ya que las células no son suficientemente visibles a simple vista sin colorantes. Uno de los métodos más comunes es la tinción H&E (Hematoxilina y eosina), donde la Hematoxilina, tiñe los núcleos celulares de color azul o morado, permitiendo ver detalles en la estructura nuclear y la Eosina que tiñe el citoplasma y las fibras de colágeno de color rosado o rojo¹⁸.

Después de la tinción, las láminas de tejido son cubiertas con un cubreobjetos, una lámina de vidrio delgada que se coloca sobre la muestra para protegerla, además, se utiliza una resina de montaje (como el bálsamo de Canadá o medios sintéticos) para sellar y permitir su visualización al microscopio para examinar la estructura o identificar características patológicas o anormales, como signos de cáncer, inflamación, necrosis u otras condiciones (Figura 2)¹⁸.

Figura 2. Esquema del proceso histológico.



Fuente: Atlas de histología animal y vegetal, 11-12-2024.

<https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/1-proceso.php>

Pruebas especiales en tejidos humanos

Las pruebas especiales en tejidos humanos son técnicas esenciales que permiten el análisis detallado de las estructuras celulares y tisulares. Proporcionan información clave sobre la presencia de infecciones, tumores, enfermedades metabólicas y otros trastornos. La capacidad para utilizar estas técnicas con precisión es vital para los patólogos y médicos, ya que facilita el diagnóstico temprano y la determinación del tratamiento adecuado para diversas condiciones clínicas. A continuación, se describen algunas de las pruebas especiales más utilizadas en los estudios de tejidos humanos:

Tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E), se utiliza para observar la morfología general de los tejidos, permite distinguir entre los componentes celulares y las estructuras tisulares. La hematoxilina tiñe los núcleos celulares de color azul o morado, mientras que la eosina el citoplasma y las fibras de colágeno de color rosa. Su aplicación es fundamental para la evaluación de la estructura tisular y la identificación de cambios patológicos, como la inflamación, el cáncer y las infecciones¹⁵.

Tinción de PAS (Ácido Periódico de Schiff), detecta la presencia de glucógeno, mucopolisacáridos y mucinas en los tejidos. Es útil para identificar componentes que contienen azúcares, como las glucoproteínas y glucolípidos. Se usa en el diagnóstico de enfermedades como enfermedad hepática, diabetes mellitus, y ciertos tumores que secretan mucinas. También es útil en la identificación de hongos como las Cándidas¹⁵.

Tinción de Tricrómico de Masson, diferencia entre fibras de colágeno, musculares y células en los tejidos. Esta tinción es particularmente útil para observar la fibrosis y las cicatrices. Se utiliza para evaluar trastornos como la fibrosis hepática, cicatrización del miocardio después de un infarto y enfermedades pulmonares crónicas¹⁵.

Tinción de Gram, esta prueba se utiliza para identificar bacterias y diferenciarlas entre dos grupos principales: Gram positivas y Gram negativas. Es fundamental en microbiología clínica para la identificación de infecciones bacterianas y la determinación del tratamiento antibiótico adecuado¹⁵.

Inmunohistoquímica (IHC), es una técnica que utiliza anticuerpos específicos para identificar antígenos en los tejidos. Esta prueba permite la localización y cuantificación de proteínas específicas dentro de las células y tejidos. Se utiliza ampliamente en el diagnóstico de cánceres y otras enfermedades, ya que puede ayudar a determinar el tipo de células tumorales y la expresión de proteínas clave (como los marcadores tumorales). También se utiliza para detectar bacterias, virus y otras infecciones específicas¹⁵.

Tinción de Ziehl-Neelsen, utilizada para detectar mycobacterias, como el Mycobacterium tuberculosis, que son resistentes a los ácidos y el alcohol. Es especialmente útil para el diagnóstico de tuberculosis pulmonar y otras infecciones por micobacterias¹⁵.

Reacción de la Fosfatasa Ácida, es una enzima presente en diversas células, especialmente en los macrófagos y en las células tumorales. La actividad de este catalizador se puede detectar mediante tinciones específicas. Esta prueba se utiliza para estudiar las neoplasias hematológicas, como la leucemia y ciertos tumores sólidos¹⁵.

Tinción de Oil Red, detecta grasas y lípidos dentro de las células. Esta tinción es especialmente útil para estudiar los depósitos de lípidos en el tejido. Es fundamental en el diagnóstico de enfermedades metabólicas como la esteatosis hepática (hígado graso), arteriosclerosis y en la investigación de síndrome metabólico¹⁵.

Tinción de Peroxidasa de Diaminobencidina (DAB), se usa en la inmunohistoquímica para visualizar la localización de antígenos en tejidos. La peroxidasa de diaminobencidina actúa como marcador para los anticuerpos en presencia de un antígeno. Esta técnica se utiliza para detectar antígenos en el diagnóstico de cáncer y enfermedades infecciosas¹⁵.

Reacción de Hidrólisis de Ácido Hidrofílico (Alcian Blue), ayudan en el diagnóstico de tumores gástricos, síndrome de mucopolisacaridosis y otras enfermedades relacionadas con acumulación de mucinas, ya que detectan ácidos mucopolímeros y glicosaminoglicanos en los tejidos¹⁵.

Tinción de Siderofrón (Prussian Blue), detecta la presencia de hierro en los tejidos, especialmente en forma de hemosiderina (un complejo de hierro almacenado). Es útil para el diagnóstico de enfermedades como hemocromatosis, hemorragias crónicas o acumulación anormal de hierro en los tejidos¹⁵.

Decalcificación

El primer paso para la decalcificación es la obtención y fijación. Se toma una muestra de tejido óseo (puede ser una biopsia o un fragmento óseo). Luego se fija generalmente en una solución de formol (formaldehído al 10%) durante varias horas o incluso días, para preservar su morfología celular. Esto impide la autólisis y salva los detalles estructurales del tejido. Se elige una sustancia adecuada, como un ácido (ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido fórmico) o un agente quelante (EDTA, citrato de sodio), dependiendo de la rapidez requerida y la preservación de la estructura tisular¹⁶.

El tejido óseo fijo se coloca en el decalcificante elegido (en una solución a una concentración específica). El proceso debe llevarse a cabo en condiciones controladas de

temperatura y tiempo, estos pueden variar dependiendo del agente y el tamaño del hueso (de horas a días). Es fundamental monitorear periódicamente el progreso, esto puede incluir el uso de un test de flexibilidad o pH para verificar si el calcio se ha eliminado adecuadamente. Si se utiliza un agente ácido, se puede controlar el tiempo de exposición y la intensidad del procedimiento para evitar que se dañen las estructuras tisulares¹⁶.

Después de la decalcificación completa, se enjuaga el tejido óseo varias veces con agua corriente para eliminar los restos de la sustancia utilizada, este paso es importante para prevenir cualquier reacción residual que pueda interferir con los siguientes procesos. Para asegurarse de que el proceso ha sido exitoso, se realiza una comprobación, una forma de hacerlo es verificar que el hueso sea flexible y que ya no contenga calcio detectable, o mediante el uso de un test¹⁶.

El tejido decalcificado se debe deshidratar mediante una serie de soluciones de alcohol (generalmente etanol en concentraciones crecientes). La deshidratación es esencial para preparar el tejido para su inclusión en parafina. Este proceso reemplaza el agua en la muestra y lo convierte en un bloque sólido, ideal para cortar secciones finas, usando un micrótopo, que luego serán montadas sobre portaobjetos para su análisis al microscopio. Finalmente, las secciones se tiñen con las tinciones adecuadas (como hematoxilina y eosina) y se observan al microscopio para el diagnóstico histológico¹⁶.

Clasificación de Sustancias decalcificantes

Son agentes químicos utilizados para eliminar las sales de calcio de los tejidos duros como huesos y dientes, facilitando su corte en secciones finas para análisis histológico. Los principales métodos incluyen el uso de ácidos, agentes quelantes y otros compuestos. El (HCl), es rápido, económico y efectivo, pero puede afectar la morfología del tejido si no se controla adecuadamente, alterando las estructuras celulares. El (HNO₃), suele ser más agresivo afectando la calidad de los cortes histológicos. Mientras que el fórmico, es lento y menos agresivo en comparación con otros¹⁶.

Los agentes quelantes que se unen a los iones de calcio, eliminándolos gradualmente sin alterar mucho la estructura del tejido. Entre ellos tenemos al EDTA (Ácido

etilendiaminotetraacético), este método es menos agresivo para las estructuras celulares. Pero es más lento y requiere un tiempo considerable. El Ácido cítrico es menos agresivo y lento que los anteriores¹⁶.

Los métodos mixtos combinan ácidos y agentes quelantes para acelerar el proceso de decalcificación como la combinación de ácido clorhídrico y EDTA, ambos disuelven y eliminan el calcio de manera controlada, requiere un monitoreo cuidadoso para evitar daños al tejido. Ana Morse (ácido fórmico + citrato de sodio) es un enfoque eficaz y menos agresivo. Al utilizar esta mezcla, se puede obtener cortes de alta calidad para el análisis microscópico¹⁶.

Sustancias decalcificantes

Ácido clorhídrico (HCl), es efectivo y rápido que se utiliza ampliamente en el laboratorio de anatomía patológica para la decalcificación, facilitando el análisis microscópico de los tejidos óseos. Sin embargo, es importante tener un control preciso del tiempo y las condiciones de uso para evitar daños a las estructuras celulares y garantizar resultados histológicos óptimos¹⁷.

El ácido nítrico (HNO₃), tiene la ventaja de ser rápido y eficiente, su alta agresividad requiere un manejo cuidadoso para evitar daños en las estructuras celulares y asegurar que la morfología del tejido no se vea comprometida. Es ideal para situaciones donde se necesita rapidez en la eliminación del calcio, pero debe ser manejado con precauciones para evitar riesgos para el personal y el daño de la muestra¹⁷.

El ácido fórmico (HCOOH), su principal desventaja es el tiempo lento de decalcificación, pero su capacidad para mantener la integridad celular lo convierte en una opción valiosa para estudios histológicos detallados. Es ideal para el análisis de tumores óseos, enfermedades metabólicas y estudios en los que la preservación de la estructura celular es clave¹⁷.

Fluido de C. Perenyi, su fórmula es Ácido Nítrico 10% 40 ml, Ácido crómico 0,5% 30 ml y Alcohol etílico absoluto 30 ml. Su tiempo de decalcificación dura de 2 – 7 días. Se recomienda para fines rutinarios, descalcifica y suaviza los tejidos al mismo tiempo, la tinción nuclear y citoplasmática es buena, se evita la maceración debido a la presencia de

Ácido Crómico y Alcohol, su desventaja es que es relativamente lento para huesos densos, por lo que no se recomienda para trabajos urgentes. No se puede determinar mediante una prueba química porque se forma un precipitado al agregar amoníaco al fluido de Perenyi incluso en ausencia de iones de calcio. Esto se puede disolver añadiendo ácido acético glacial gota a gota. A continuación, se añaden a la solución unos 0,5 ml de oxalato de amonio acuoso saturado. La reaparición de un precipitado blanco en un plazo de 30 minutos reafirmará la presencia de calcio en el agente, lo que significa que la decalcificación aún no está completa.

Ácido tricloroacético, su tiempo de decalcificación es de 4 a 8 días, permite una buena tinción nuclear. No requiere lavado, el exceso de ácido puede eliminarse con varios cambios de alcohol al 90%, mejorando así la deshidratación del tejido. Entre sus desventajas tenemos que es débil, no se utiliza para tejidos densos y es adecuado sólo para pequeñas espículas de hueso. Es de acción muy lenta, por lo que no se recomienda para exámenes urgentes.

Ácido crómico (líquido de Fleming), se puede utilizarse tanto como fijador como decalcificante. Se recomienda para espículas óseas diminutas. Pero la tinción nuclear con hematoxilina se inhibe. Además, tiende a sufrir reducción y formar precipitados en el fondo del recipiente, por lo que requiere cambios frecuentes de solución.

Solución tampón de ácido cítrico y citrato, su tiempo de decalcificación es de 6 días. Por lo que permite una excelente tinción nuclear y citoplasmática y no produce distorsión celular ni tisular. El fluido de von Ebner, su fórmula es Solución acuosa saturada de NaCl 36% 50 ml, Ácido clorhídrico concentrado 8 ml y Agua destilada 50 ml. Este componente permite una tinción citológica relativamente buena, moderadamente rápido, no requiere lavado antes de la deshidratación y se recomienda para dientes y pequeños trozos de hueso.

El EDTA (Ácido Etilendiaminotetraacético), es ideal para situaciones en las que se requiere una decalcificación controlada y más suave, sin dañar las estructuras celulares. Su principal desventaja es la lentitud del proceso, que puede llevar varios días o semanas, lo que lo hace menos adecuado para situaciones que requieren rapidez. Sin embargo, es una excelente opción para estudios detallados de huesos, como los que involucran el análisis de

tumores óseos, patologías metabólicas y otros estudios especializados en los que la preservación de la morfología celular es clave¹⁷.

Combinación de ácido fórmico y citrato de sodio, aunque su acción es más lenta que la de los ácidos más fuertes, su capacidad para preservar la morfología y evitar daños en las estructuras tisulares lo convierte en una opción ideal para estudios histológicos detallados, especialmente cuando se requiere un análisis preciso de la estructura celular del tejido óseo¹⁷.

Osteomol, es una solución utilizada para la descalcificación rápida (con fijación) de tejidos duros como huesos y dientes, esencial en procedimientos histológicos de rutina para el diagnóstico de células humanas. Su formulación, basada en formaldehído y ácido clorhídrico, permite desmineralizar tejido óseo, como muestras de médula ósea extraídas por punción, y ablandar tejido queratinizado de origen humano, fijando las muestras simultáneamente¹⁷.

Osteosoft, es una solución descalcificadora suave, lista para usar, desarrollada para la desmineralización de huesos, médula ósea y otros tejidos duros de origen humano, esencial en procedimientos histológicos. Su formulación basada en EDTA es ideal para tejidos sensibles con calcio, como biopsias de cresta ilíaca¹⁷.

BIODEC-R, es un decalcificador rápido para tejidos mineralizados, como hueso compacto y concreciones calcáreas, utilizado en procedimientos histológicos. Su formulación incluye ácido clorhídrico y ácido fórmico, los cuales reaccionan con el calcio tisular para realizar la desmineralización. El producto se utiliza en un volumen de 1:100 durante 6-12 horas para muestras de hasta 5 mm de espesor. Es un producto clasificado como peligroso, destinado al uso profesional en laboratorios. Debe ser almacenado a temperatura ambiente y puede ser utilizado hasta 2 años tras su apertura, siempre que se conserve correctamente¹⁷.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.

Nivel descriptivo: Se argumentó sobre las sustancias decalcificantes para el procesamiento de tejidos humanos, permitiendo priorizar estos agentes tras su utilidad, así como también se consideró la efectividad en diferentes texturas de tejidos humanos.

Diseño documental - no experimental: Se realizó mediante una revisión bibliográfica de lo efectuado en los últimos años, donde se utilizó a las sustancias decalcificantes para el procesamiento de tejidos humanos de diferente constitución.

Cohorte transversal: Porque la investigación se analizó en un determinado límite de tiempo ya que se utilizó información a partir del año 2020 al 2025.

Retrospectivo: Ya que la información proviene de artículos científicos obtenidos de bases datos relevantes como: Google Académico, PubMed, Scielo, Elsevier y Redalyc.

Población

La población de estudio que se utilizó fue de 43 fuentes en los que se aborda las sustancias decalcificantes para el procesamiento de tejidos humanos, permitiendo priorizar estos agentes tras su utilidad, así como también se consideró la efectividad en diferentes texturas de tejidos humanos, para la obtención de resultados, publicadas en artículos registrados en bases de datos científicos: Google Académico(15), página oficial de la Organización Mundial de la Salud(1), Sociedad Americana contra el Cáncer(SAC) (1), Instituto Nacional del Cáncer(INC) (1), Sistema Europeo de Información contra el Cáncer(ECIS) (1), Registro de Cáncer de Base Populacional (RCBP) (1), PubMed (17), Scielo (3), Elsevier (2) y Redalyc (1).

Muestra

En el presente proyecto se escogieron 25 fuentes de información como muestra según los criterios de inclusión y exclusión conformados por artículos actualizados obtenidos de

bases de datos como: Google Académico (12), PubMed (7), Scielo (3), Elsevier (2) y Redalyc (1).

Criterios de inclusión:

- Información de estudios con fecha de publicación desde el año 2020 al 2025, para constatar que los datos sean actuales.
- Definiciones que se mantengan vigentes obtenidas de artículos, libros y revistas digitales sobre sustancias decalcificantes para el procesamiento de tejidos humanos.
- Búsquedas en bases de datos certificados ya sea en idiomas inglés y español.
- Artículos científicos que incluyan sustancias decalcificantes y la utilidad de estos agentes en el procesamiento patológico de los tejidos humanos.

Criterios de exclusión:

- Informes de estudios con más de cinco años de publicación ya que no poseen relevancia por su desactualización.
- Artículos sobre sustancias decalcificantes a los cuales no se tuvo acceso a la información completa debido a que fueron de pago.
- Estudios con resultados incompletos que no permiten obtener información clara por ende no se obtuvo conclusiones sólidas.

Método de estudio

Se llevó a cabo una investigación y síntesis de información obtenida de las distintas bases científicas como artículos, libros, manuales, sitios web pertenecientes a organizaciones nacionales e internacionales vinculadas al tema, utilizando el enfoque del método teórico.

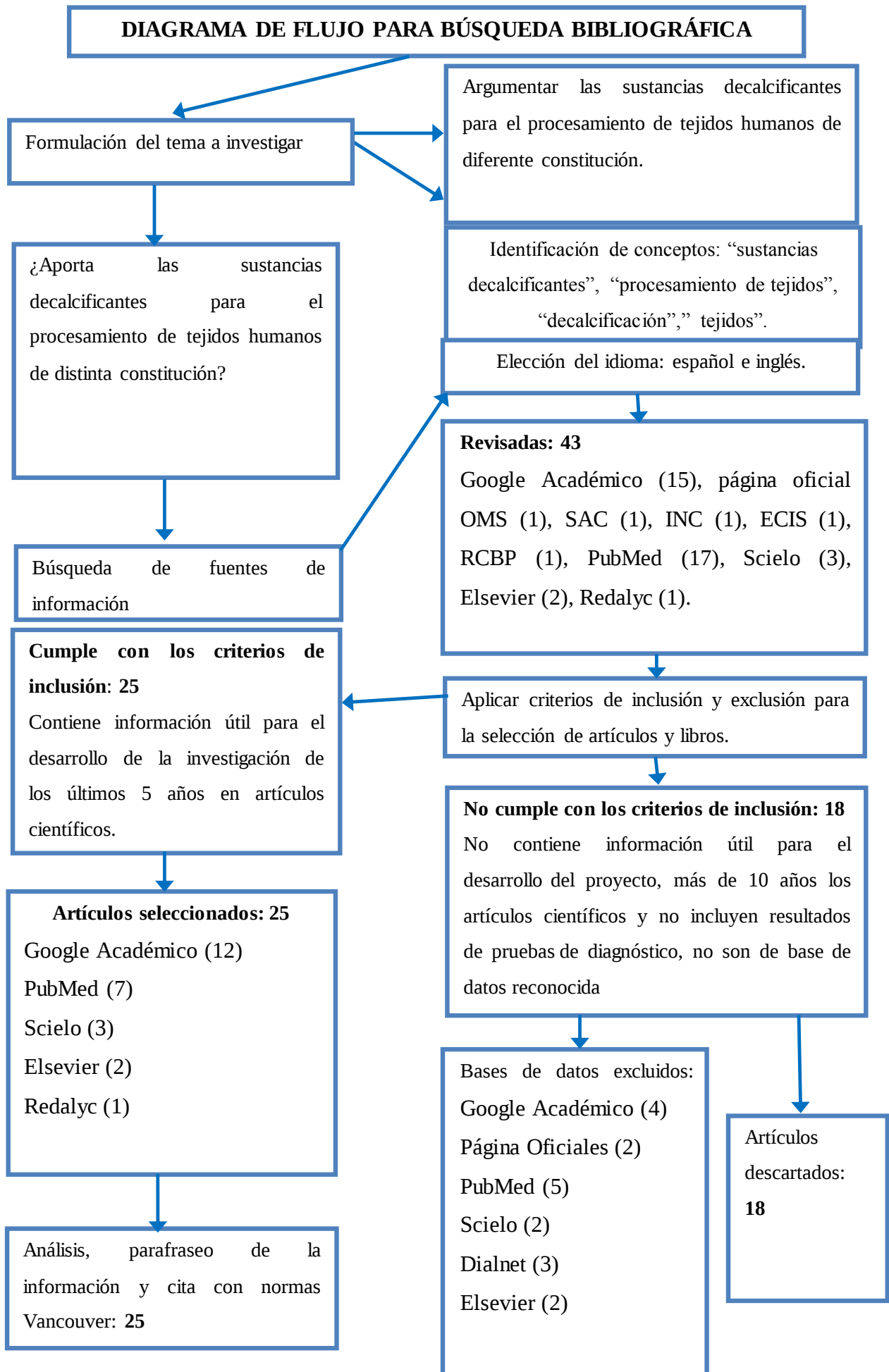
Técnicas y procedimientos

La técnica utilizada fue la observación y en el procedimiento se empleó la revisión de las diversas bases de información bibliográfica, para su recolección y tratamiento de información descriptivo.

Consideraciones éticas

Por ser un proyecto de revisión bibliográfica no fue necesaria la participación de un comité de ética, debido a que no se manipuló muestras biológicas ni se trabajó con seres humanos, animales ni plantas, respetando las normas éticas de investigación científica además que los resultados no fueron empleados con fines maleficentes.

En el siguiente diagrama de flujo se describe la estrategia de búsqueda bibliográfica realizada para la identificación de los artículos seleccionados:



CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Sustancias decalcificantes en tejidos humanos.

Autor	Estudio		Dimensión de corte	Sustancia decalcificante utilizada											
	Nº	Tejido utilizado		HCL			HNO ₃			EDTA			OTRO		
				Concentración en %	Tiempo o Días	Eficiencia	Concentración en %	Tiempo o Días	Eficiencia	Concentración en %	Tiempo o Días	Eficiencia	Concentración en %	Tiempo o Días	Eficiencia
Cornelison al et ¹⁹	1	Hueso craneal	3mm	7%	3	Rápido	5%	10	Intermedio	10%	78	Lento	N/A	N/A	N/A
Miquelestorena al et ²⁰	35	Hueso humano	2cm y 5mm de grosor	7%	1	Rápido	N/A	N/A	N/A	10%	1	Rápido	N/A	N/A	N/A
Mahmoud al et ²¹	1	Osteoma mandibular	2cm y 5mm de grosor	7%	3	Rápido	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	CH ₂ O ₂ C ₂ HCl ₃ O ₂ Liquido de Von Ebner	3	Rápido

Cody al et ²²	1	Legrado de fémur	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	10%	7	Lento	N/A	N/A	N/A
Arango al et ²³	54	Dientes	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	5%	3	Rápido	10%	3	Rápido	CH ₂ O ₂ 10%	3	Rápido
Castillo al et ²⁴	100	Premolares	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	5%	3	Rápido	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Guzmán al et ²⁵	28	Molares	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	6% 5%	3	Rápido	N/A	N/A	N/A	CH ₂ O ₂ 7%	14	Lento
Mohamed Imran al et ²⁶	64	Dientes	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	10%	3	Rápido	10%	3	Rápido	C ₆ H ₁₀ O ₈ 5% Liquido de Von Ebner	3	Rápido
Mohammad Shahid al et ²⁷	192	Premolares	1mm 2mm	10%	3	Rápido	5%	3	Rápido	14%	3	Rápido	CH ₂ O ₂ 10%	3	Rápido

Kerketta al et ²⁸	120	Dientes	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	5%	3	Rápido	14%	91	Lento	C ₂ HCl ₃ O 2 5%	5	Intermed io
Bolourchi al et 29	90	Dientes	2, 4 y 6 mm	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	CH ₂ O ₂ 10%	56	Lento
Dusit Bumalee al et ³⁰	60	Dientes	2mm	N/A	N/A	N/A	5%	7	Rápido	14%	50	Lento	CH ₂ O ₂ 50% Sol. Anna Morse	10 15	Intermed io
Khangura al et ³¹	30	Dientes	2mm	N/A	N/A	N/A	5%	10	Interme dio	14%	100	Lento	C ₂ HCl ₃ O 2 5% Fluido de Perenyi	9 8	Rápido
Umbare al et ³²	50	Dientes	2mm	N/A	N/A	N/A	5%	9	Interme dio	5%	6	Rápido	C ₂ HCl ₃ O 2 5%	14	Lento

Sharon al et ³³	20	Tejido duro	1cm	N/A	N/A	N/A	10%	1	Rápido	14%	21	Lento	CH ₂ O ₂ 10%	1	Rápido
Pattaranatcha al et ³⁴	10	Cartílago articular Hueso Subcondrales	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	14%	45	Lento	N/A	N/A	N/A
Nileshwariba al et ³⁵	30	Dientes	1mm 2mm	N/A	N/A	N/A	37%	3	Rápido	14%	3	Rápido	N/A	N/A	N/A

Nota: N/A: no aplica, (HCl): ácido clorhídrico, (HNO₃): ácido nítrico ácido, (EDTA): etilendiaminotetraacético, (CH₂O₂): ácido fórmico, (C₂HCl₃O₂): ácido tetraclorhídrico, (C₆H₁₀O₈): ácido tricarboxílico.

Análisis e interpretación

En la Tabla 1, se evidencia las sustancias decalcificantes, el tiempo empleado y la eficacia, las mismas que se recopilaron de 17 autores, demostrando que el agente más utilizado fue el EDTA con un 76,5% seguido de HNO_3 un con 70,5%, luego con un 64,5% de otras sustancias decalcificantes como el ácido fórmico, ácido tetraclorhídrico, ácido carboxílico, solución de Anna Morse, líquido de Von Ebner, líquido de Perinyi y por último el HCL con un porcentaje del 27,5%.

El HCL fue utilizado durante 1 y 3 días, siendo el de mayor prevalencia el segundo con un 75%; el HNO_3 se utilizó hasta en 10 días predominando el segundo con 58,3% seguido del último con un 16,6%; el EDTA se empleó durante 100 días donde el más manejado fue el segundo con un 30,7%; en otros decalcificantes utilizados el tiempo fue variado, siendo el de 3 días más utilizado.

La eficiencia se midió en tres fases; rápida, donde el HCL obtuvo un 100%, el HNO_3 un 75%, el EDTA un 46,1% y otros agentes decalcificantes con un 83,3%; intermedia donde se encuentra en primer lugar el HNO_3 con un 25%, seguido del Ácido Fórmico con un 16,6%; y lento con un 53,8% el EDTA.

Discusión

En varios estudios, como los de Cornelison et al¹⁹, Miquelestorena et al²⁰, y Mohammad Shahid et al²⁷, se utilizó el ácido clorhídrico (HCl) en concentraciones del 5% al 7%, mostrando una decalcificación rápida pero moderada, con rendimientos entre el 10% y el 78%. Este resultado coincide con lo observado en el estudio de Sharon et al³³, quienes también reportaron una eficacia intermedia para el HCl. En comparación, el ácido nítrico (HNO_3) en concentraciones del 5% al 10% se usó en otros trabajos (Cornelison et al¹⁹, Miquelestorena et al²⁰, entre otros) con una mayor rapidez de acción, alcanzando un 78% de eficacia en decalcificación, lo que lo convierte en una opción preferida en estudios que requieren rapidez. Este hallazgo es consistente con el trabajo de Mohammad Shahid et al²⁷ y Sharon John et al³³, quienes informaron que el HNO_3 permitió completar la decalcificación en 1 a 3 días.

Sin embargo, mientras que los resultados del HCl y HNO₃ son positivos en términos de rapidez, algunos estudios sugieren que el uso prolongado de estas sustancias puede generar efectos secundarios en las muestras. Dusit Bumalee et al³⁰ reportaron que la aplicación prolongada de HCl y HNO₃ podría afectar la integridad estructural de algunas muestras, como el cartílago, lo que limita su aplicabilidad en ciertos contextos. En comparación, otros autores como Kerketta et al²⁸ y Khangura et al³¹ utilizaron EDTA, un compuesto con una acción más lenta pero efectiva. En sus estudios, EDTA mostró una decalcificación más gradual, alcanzando hasta un 14% de eficacia, lo que podría ser más adecuado para muestras que requieren un tratamiento menos agresivo.

A diferencia de los ácidos clorhídrico y nítrico, el EDTA se caracterizó por su acción más lenta pero más efectiva en términos de conservación de las muestras. Aunque la decalcificación con EDTA requiere más tiempo (algunos estudios aplicaron hasta 10 días o más, como Khangura et al³¹, la tasa de decalcificación fue más controlada y menos destructiva para las muestras. En este sentido, los estudios de Cornelison et al¹⁹ y Miquelestorena et al²⁰ confirmaron que el EDTA es particularmente útil para muestras delicadas donde se busca preservar su estructura interna, aunque con un sacrificio en términos de tiempo.

Los estudios de Mahmoud et al²¹, Khangura et al³¹ y Dusit Bumalee et al³⁰ también emplearon el formaldehído y las soluciones de Von Ebner, pero los resultados fueron más variables. Mientras que el formaldehído mostró una eficacia variable entre el 3% y el 91%, dependiendo de la muestra y la concentración aplicada, su aplicación requiere un manejo cuidadoso debido a la posible alteración de las muestras en concentraciones elevadas. Este hallazgo coincide con estudios anteriores que sugieren que el formaldehído es más adecuado para la preservación de tejidos que para la decalcificación rápida (Mohammad Shahid et al²⁷).

Por otro lado, las soluciones de Von Ebner, aunque utilizadas en algunos estudios (Mahmoud et al²¹), presentaron una eficacia más incierta, y su aplicación dependió fuertemente de las características específicas de las muestras y el tiempo de exposición. Esto sugiere que este líquido puede ser útil en situaciones muy específicas, pero no es la

opción más confiable para decalcificar grandes cantidades de muestras de manera consistente.

Un aspecto clave que emerge de los estudios revisados es la variabilidad en el tiempo de decalcificación, especialmente cuando se utiliza EDTA o formaldehído. Pattaranatcha et al³⁴ informó que, en su investigación sobre cartílago articular y hueso Subcondral, el uso de EDTA requirió hasta 45 días para lograr una decalcificación completa, lo cual es considerablemente más largo que los 3 días comúnmente reportados en estudios que emplean HCl o HNO₃. Este resultado resalta la importancia de elegir el agente decalcificante adecuado según el tipo de muestra y el tiempo disponible para el procedimiento.

Tabla 2. Sustancias decalcificantes y su prioridad.

Sustancia decalcificante	Autores que lo utilizaron	Tiempo de decalcificación (días)	Ventajas	Desventajas	Prioridad
Ac. Clorhídrico (HCL)	Cornelison et al ¹⁹ Miquelestorena et al ²⁰ Mahmoud et al ²¹ Guzmán et al ²⁵ Mohamed Imran et al ²⁶ Mohammad Shahid et al ²⁷ Khangura et al ³¹ Sharon et al ³³ Nileshwariba et al ³⁵	1-3	Rápido Económico	Daño de tejidos blandos. Monitoreo cuidadoso. Libera vapores tóxicos.	Media
Ac. Nítrico (HNO ₃)	Cornelison et al ¹⁹ Miquelestorena et al ²⁰ Guzmán et al ²⁵ Mohammad Shahid et al ²⁷ Kerketta et al ²⁸ Khangura et al ³¹	1-10	Rápido Buen rendimiento.	Daño de tejidos	Alta

	Sharon et al ³³				
Ac. Etilendiaminotetraacético (EDTA)	Cornelison et al ¹⁹ Miquelestorena et al ²⁰ Guzmán et al ²⁵ Mohammad Shahid et al ²⁷ Kerketta et al ²⁸ Dusit Bumalee et al ³⁰ Khangura et al ³¹ Nileshwariba et al ³⁵	1-100	Eficaz y controlable.	Costoso. Necesita condiciones.	Alta
Ac. Fórmico (CH ₂ O ₂)	Mahmoud et al ²¹ Arango et al ²³ Mohammad Shahid et al ²⁷ Kerketta et al ²⁸ Dusit Bumalee et al ³⁰ Sharon et al ³³	1-56	Buena alternativa,	Acción es más lenta.	Medio
Ac. Tetraclorhídrico (C ₂ HCl ₃ O ₂)	Mahmoud et al ²¹ Kerketta et al ²⁸ Bolourchi et al ²⁹ Khangura et al ³¹	1-9	Rápido	Toxico.	Media
Ac. Tricarboxílico (C ₆ H ₁₀ O ₈)	Mohamed Imran et al ²⁶	3	Menos agresivo que	Acción lenta.	Alta

	Mohammad Shahid et al ²⁷		otros No tan tóxico.		
Líquido de Von Ebner	Mahmoud et al ²¹ Mohamed Imran et al ²⁶	2-3	Eficiente. Proceso controlable.	Costoso.	Baja
Solución de Anna Morse	Dusit Bumalee et al ³⁰	10	Muestras complejas.	Costosa.	Baja
Líquido de Perinyi	Khangura et al ³¹	8	Rápido	Daño de tejidos	Baja

Análisis e interpretación

La tabla 2, muestra un análisis de distintas sustancias decalcificantes, clasificadas según su prioridad: alta con un 39% donde están incluidas el HNO_3 , EDTA, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_8$; media con un 36% el HCL, CH_2O_2 , $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ y baja con un 25% el Líquido de Von Ebner, Líquido de Perinyi, Solución de Anna Morse.

Discusión

La elección del agente decalcificante ha sido ampliamente debatida en la literatura científica. Comellison et al¹⁹ y Miquelestorena et al²⁰ sostienen que el ácido clorhídrico (HCl) es una de las opciones más utilizadas debido a su rapidez y bajo costo. Sin embargo, Khangura et al³¹ y Sharon et al³³ discrepan, argumentando que su uso puede comprometer la integridad de los tejidos blandos y que su alta toxicidad representa un riesgo significativo en el laboratorio. A pesar de esto, Mahmoud et al²¹ defienden que, bajo un monitoreo adecuado, el HCl sigue siendo una alternativa viable cuando se busca rapidez en la decalcificación.

Por otro lado, el ácido nítrico (HNO_3) genera opiniones divididas. Guzmán et al²⁵ y Mohammad Shahid et al²⁷ coinciden en que es un decalcificante eficiente, con un buen rendimiento en tiempos relativamente cortos. Sin embargo, Kekerta et al²⁸ advierten que su capacidad para dañar los tejidos lo hace menos recomendable para estudios que requieren una preservación histológica detallada. En este sentido, Comellison et al¹⁹ argumentan que, aunque el HNO_3 es efectivo, su uso debería limitarse a muestras en las que la estructura histológica no sea la prioridad.

En contraste con los ácidos inorgánicos, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) ha sido defendido por Sharon et al³³ y Dusit Bunalee et al³⁰ como el método más controlable y preciso para la decalcificación. Mohammad Shahid et al²⁷ reconoce sus ventajas, pero enfatiza que su alto costo y su tiempo de actuación prolongado pueden ser limitantes. Kekerta et al²⁸ y Nileshwariba et al³⁵ argumentan que, a pesar de estas desventajas, el EDTA es la mejor opción para preservar la morfología celular, lo que lo hace indispensable en estudios histológicos detallados.

El debate se extiende también a los ácidos orgánicos, como el ácido fórmico (CH_2O_2) y el ácido tetraclórico ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$). Mohammad Shahid et al²⁷ y Arango et al²³ ven en el ácido fórmico una alternativa prometedora, ya que, aunque su acción es más lenta, es menos agresivo con los tejidos. Sin embargo, Bolourchi et al²⁹ y Khangura et al³¹ defienden que el ácido tetraclórico, a pesar de su toxicidad, ofrece una opción más rápida y efectiva, aunque su uso debe realizarse con precaución.

Finalmente, en cuanto a las soluciones menos tóxicas, como el Líquido de Von Ebner, la Solución de Anna Morse y el Líquido de Perinyi, los autores también presentan diferencias de opinión. Mahmoud et al²¹ y Mohamed Imran et al²⁶ destacan su seguridad y controlabilidad, pero Dusit Bumalee et al³⁰ critican su alto costo. Khangura et al³¹ por su parte, señala que, si bien el Líquido de Perinyi permite una decalcificación rápida, su efecto dañino sobre los tejidos sigue siendo una desventaja importante.

Tabla 3. Eficacia de las sustancias decalcificantes.

Autor	Estudio		Sustancia decalcificante utilizada	Tiempo empleado	Eficiencia			
	Dimensión	Muestra			Muy alta	Alta	Media	Baja
Kavimalar al et ³⁶	2mm	58 Cálculos pulpares	EDTA 17%	1 día	X	-	-	-
Mansour ³⁷	5mm	3 Biopsias óseas	EDTA 10% HCL 5% HNO ₃ 5%	5 días	X	-	-	-
				8 hora	-	-	X	-
				7 horas	-	-	-	X
Widbiller al et ³⁸	2mm	16 dientes	Solución Anna Morse EDTA	14 días	X	-	-	-
				21 días	-	X	-	-
Kumar al et ³⁹	2mm	50 dientes	EDTA 5% HCL 5% HNO ₃ 5% CH ₂ O ₂ 10%	8 días	X	-	-	-
					-	-	X	-
					-	X	-	-
					-	-	-	X
Pholar al et ⁴⁰	2mm	42 Trozos de Amígdala calcificados	EDTA 10% HNO ₃ 5% CH ₂ O ₂ 5%	N/A	X	-	-	-
					-	X	-	-
					-	-	-	X
Parrilli al et ⁴¹	1cm	2 Fragmentos de rodilla	HNO ₃ 4% CH ₂ O ₂ 5%	14 días	-	X	-	-
					-	-	-	X

Miao al et ⁴²	1cm	23 Fragmentos de costilla	HCL 10% HNO ₃ 10% CH ₂ O ₂ 30%	2 días	X	-	-	-
					-	-	X	-
					-	-	X	-
Vodithala al et ⁴³	N/A	30 Espículas óseas	HNO ₃ 10%	7 días	-	X	-	-

Análisis e interpretación

En la tabla 3, se presenta la eficiencia de las sustancias decalcificantes utilizadas por distintos autores en tejidos de diferente constitución donde el EDTA es de una muy alta eficacia con un 62,5 %, seguido del HNO_3 con un 75%, el HCl con un 37,5%, el CH_2O_2 con un 25% y por último la solución de Anna Morse con un 12,5%.

Discusión

El ácido clorhídrico (HCl) y el ácido nítrico (HNO_3) son dos de los compuestos más comunes en los estudios de decalcificación debido a su capacidad para desmineralizar rápidamente los tejidos. Mansour³⁷, por ejemplo, utilizó HCl (5%) y HNO_3 (5%) en sus biopsias óseas, observando que, aunque el tiempo de decalcificación fue relativamente corto (8 horas para HCl y 7 horas para HNO_3), la eficiencia de decalcificación fue variable, clasificándose en niveles medios o bajos dependiendo de la muestra tratada. En contraste, Kumar et al³⁹ utilizó HCl (5%) y HNO_3 (5%) durante 8 días en 50 dientes, donde el ácido nítrico mostró una eficacia más alta en comparación con el HCl . La diferencia en los resultados podría deberse a la diferencia en los tipos de muestras (hueso vs. dientes) y a los tiempos de decalcificación más largos en el estudio de Kumar³⁹.

Estos hallazgos resaltan que HNO_3 parece ser más efectivo que HCl , especialmente cuando se requiere una decalcificación más profunda en muestras complejas como dientes, mientras que HCl es más adecuado para muestras menos densas y su decalcificación rápida es apreciada en algunos estudios, como el de Miao et al⁴², que utilizó HCl (10%) con una eficiencia variable pero relativamente rápida en muestras de cáncer de mama.

El EDTA es una sustancia conocida por su acción más lenta pero eficaz, especialmente en muestras que requieren preservación de tejidos delicados. Kavimalar et al³⁶, que usaron al 17% en cálculos pulpaes, lograron una eficiencia muy alta en solo 1 día. Sin embargo, este resultado parece ser una excepción, ya que otros estudios que utilizados reportan tiempos más largos, como el de Widbiller et al³⁸, quienes usaron durante 14 a 21 días, con una eficiencia clasificada como alta, pero no comparable a los resultados obtenidos con ácidos fuertes en tiempos más cortos.

Mansour³⁷ empleó EDTA (10%) en 5 días, alcanzando una eficiencia alta en algunos casos, pero aun así con una desventaja notable en comparación con HNO₃, que mostró tiempos de decalcificación más rápidos (7 horas) pero con una eficiencia menor. Estos contrastes muestran que, si bien EDTA es útil cuando la preservación tisular es crítica, su acción más lenta en comparación con los ácidos fuertes puede hacer que su uso no sea práctico en investigaciones que requieren resultados rápidos.

En cuanto a las soluciones de bajo impacto, solución de Anna Morse y Biodec R son opciones interesantes para aquellos estudios que buscan una decalcificación más suave, aunque con tiempos más largos de decalcificación. Widbiller et al³⁸ utilizaron solución de Anna Morse durante 14 a 21 días, con resultados satisfactorios, pero menos eficientes en comparación con los ácidos. Este enfoque es similar al de Kumar et al³⁹, que también optaron por EDTA y soluciones más suaves, pero con tiempos prolongados.

El Biodec R, utilizado en el estudio de Vodithala et al⁴³ para tejidos duros, es otra alternativa eficaz en términos de preservación de muestras, con un tiempo de decalcificación relativamente corto de 1 a 5 días y una eficiencia alta. Sin embargo, su costo y la posible menor efectividad en muestras muy densas limita su aplicabilidad. La comparación con EDTA, que requiere tiempos más nblargos, pero proporciona un control más detallado, resalta una vez más el dilema entre la rapidez y la calidad de la decalcificación. Los estudios sobre muestras de cáncer de mama y tejidos duros muestran resultados particularmente interesantes, ya que estas muestras pueden ser más complejas que las muestras de hueso tradicional. En Miao et al⁴², el uso de HCl (10%), HNO₃ (10%), y CH₂O₂ (30%) logró una decalcificación rápida en 2 días, con resultados mixtos en cuanto a la eficiencia, que varió de muy alta a media. Sin embargo, el hecho de que el tiempo de decalcificación fuera tan corto sugiere que los ácidos fuertes, a pesar de ser más rápidos, pueden no ser siempre la mejor opción para muestras complejas, donde los compuestos más suaves como EDTA o solución de Anna Morse podrían ser más efectivos, aunque requieren más tiempo.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

El procesamiento de tejidos humanos mediante sustancias descalcificantes es una práctica fundamental en diversos campos de la investigación y la medicina, especialmente para preservar la estructura de muestras óseas y dentales. Los ácidos fuertes como HCl y HNO₃ permiten una descalcificación rápida, lo que los convierte en opciones eficientes cuando se requiere obtener resultados en tiempos cortos. Sin embargo, su uso prolongado puede afectar la integridad de estructuras más delicadas, como el cartílago y los tejidos blandos. Por otro lado, el EDTA, aunque más lento en su acción, ofrece un tratamiento más suave y controlado, siendo ideal para muestras sensibles que requieren un proceso más gradual. Otras sustancias, como el ácido fórmico y el líquido de Von Ebner, proporcionan métodos más suaves para la descalcificación, pero su elección depende de las características específicas de las muestras y los objetivos del estudio. En definitiva, la selección del agente decalcificante debe considerar tanto la rapidez del proceso como la preservación de la calidad de la muestra.

En la relación entre los costos y la accesibilidad de los agentes decalcificantes más comunes. Se observa que, a pesar de que el ácido clorhídrico (HCl) y el ácido nítrico (HNO₃) son opciones relativamente económicas y fácilmente disponibles, su uso frecuente puede implicar mayores costos indirectos asociados con la necesidad de manejo especializado y la potencial pérdida de muestras debido a su agresividad. Por otro lado, el EDTA, aunque es un agente más caro y menos accesible en términos de disponibilidad, presenta una ventaja significativa en cuanto a la conservación de muestras valiosas debido a su acción menos destructiva. Este análisis sugiere que la elección entre estos agentes debe considerar no solo la eficiencia y el tiempo, sino también los costos asociados al manejo y la preservación de las muestras. Mientras que HCl y HNO₃ pueden ser más accesibles en términos de precio y disponibilidad, los laboratorios que priorizan la preservación de la calidad de las muestras a largo plazo podrían optar por EDTA, pese a su costo adicional, si la conservación precisa de los tejidos es fundamental para los resultados del estudio.

Las diferencias notables en la preservación de la integridad de los tejidos entre los diferentes ácidos utilizados para la decalcificación. Se observa que, aunque el ácido nítrico

(HNO₃) es extremadamente eficiente en términos de velocidad, su capacidad para mantener la estructura tisular es más limitada en comparación con otros ácidos más suaves, como el EDTA. Esto se debe a la naturaleza agresiva del HNO₃, que puede desnaturalizar proteínas y alterar la arquitectura celular durante el proceso de decalcificación, especialmente cuando el tiempo de exposición no se regula con precisión. El ácido clorhídrico (HCl), aunque menos rápido que el HNO₃, demuestra una mejor preservación en términos de integridad tisular, aunque también requiere monitoreo para evitar la pérdida de detalles estructurales. En contraste, el EDTA, aunque significativamente más lento, es mucho más suave en su acción, lo que permite una preservación superior de los tejidos sin comprometer su estructura, lo que lo hace ideal para muestras delicadas que requieren ser analizadas con un alto nivel de detalle. Este análisis subraya la importancia de seleccionar el agente adecuado según el tipo de tejido y los requisitos del estudio, priorizando la preservación estructural cuando sea necesario.

BIBLIOGRAFÍA

1. Atlas de histología vegetal y animal. [En línea] 2024. https://mmegias.webs.uvigo.es/guiada_a_oseo.php.
2. Efecto de la descalcificación superficial con ácido clorhídrico sobre la determinación de las expresiones del receptor de estrógeno, el receptor de progesterona, Ki67 y el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano en el carcinoma mamario inva. Xin, Rao. Number 4, April 2023, Vol. Volume 31.
3. Sistema Europeo de Información sobre el Cáncer. Sistema Europeo de Información sobre el Cáncer. [En línea] 2022. <https://ecis.jrc.ec.europa.eu/>.
4. Cáncer Incidence and Mortality in Asian. Huang, Junjie. 2022 Junio 30.
5. Comparison of routine and microwave-assisted decalcification of bone with or without teeth: A histologic study. Hajihoseini, Niloofar. 17, 2020, Vol. 10.
6. Villa-Forte, Alexandra. Manual MSD . Manual MSD. [En línea] 2022. <https://www.msmanuals.com/es/hogar/fundamentos/el-cuerpo-humano/tejidos-y-%C3%B3rganos?ruleredirectid=755>.
7. Efecto de los protocolos de descalcificación en la inmunohistoquímica y los análisis moleculares de muestras óseas. Miquelstorena-Standley, Elodie. (8), Agosto 2020, Vol. 33. doi: 10.1038/s41379-020-0503-6..
8. Sistema de conductos radiculares de segundos premolares maxilares y mandibulares mediante la técnica de diafanización dental. Chacón, Andrés Alexander Castillo. julio 2023.
9. Comparación de técnicas de diafanización: estudio experimental. Gallegos, Alexa Stefania Guzmán. s.l. : Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas , 2024.
10. Descalcificación dental: correlación entre la pérdida de peso en un diente descalcificado con diferentes agentes descalcificantes. Imran, Mohamed. 6, 2022, Vol. 12.
11. Evaluación histológica comparativa de dientes descalcificados por método convencional versus descalcificación inducida por microondas. Rashmi, Kerketta. 3, 2024, Vol. 28.
12. Evaluación histológica cualitativa de diversos agentes descalcificantes en tejido dental humano. Bumalee, Dusit. 3, 2023, Vol. 17.
13. Descalcificación dental con diferentes agentes descalcificantes: un estudio comparativo. Khangura, Amberpreet Kaur. 3, 2021, Vol. 25.

14. Evaluación de diferentes agentes descalcificadores en dientes extraídos: un estudio comparativo. Umbare, Dhiraj Kumar K. 2023.
15. Comparison of various decalcifying agents to evaluate their efficacy. John, Sharon. 2023.
16. Descalcificación rápida del cartílago articular y del hueso subcondral mediante un limpiador ultrasónico con EDTA. Charnwichai, Pattaranatcha. 2023.
17. Comparación de diferentes soluciones descalcificantes en dientes humanos. Jadeja, Nileshtariba. 2, 2023, Vol. 11.
18. Comparación entre la descalcificación convencional y un método asistido por microondas en tejido óseo afectado por micetoma. Magdi, Mansour. 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6561980>.
19. Histología de los dientes humanos: revisión de los métodos de tinción estándar y específicos. Widbiller. 2021, Vol. 127. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996921000996>.
20. Evaluación de diferentes agentes descalcificadores en dientes extraídos: un estudio comparativo. K, Kumar. 2023. https://journals.lww.com/jpbs/fulltext/2023/15002/Evaluation_of_Different_Decalcification_Agents_on.88.aspx?context=LatestArticles.
21. Visualización 3D del ligamento cruzado anterior humano combinando micro-TC y análisis histológico. Annapaola, Parrilli. 2024, Vol. 26. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00276-023-03295-5>.
22. Atlas de histología vegetal y animal . Atlas de histología vegetal y animal . [En línea] <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-técnicas/protocolos/p-descalcificación.php>.
23. Atlas de Histología animal y vegetal. Atlas de Histología animal y vegetal. [En línea] <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-técnicas/protocolos/p-tinción-h-e.php>.
24. Comparación de tres agentes descalcificadores para la evaluación de la histomorfología de las fracturas craneales. PhD, Cornelison Jered B. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.14990>, 02 de febrero de 2022.
25. Instituto Nacional de Cáncer. Instituto Nacional de Cáncer. [En línea] <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadísticas>.
26. Mayo Clinic Connect. Mayo Clinic Connect. [En línea] Marzo 16, 2024. <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/osteosarcoma/symptoms-causes/syc-20351052>.

27. Ministerio de Salud Pública. Ministerio de Salud Pública. [En línea] 4 de Febrero de 2022. <https://www.salud.gob.ec/diagnóstico-y-detección-oportunas-son-claves-para-detectar-el-cáncer/>.
28. Procesamiento histológico rutinario de los tejidos. Procesamiento histológico rutinario de los tejidos. [En línea] 2020. <https://citopatveterinaria.com/procesamiento-histológico-rutinario-de-los-tejidos/>.
29. SOLCA (Sociedad de Lucha contra el Cáncer) - Núcleo de Quito. SOLCA (Sociedad de Lucha contra el Cáncer) - Núcleo de Quito. [En línea] 05 de Febrero de 2024. <https://solcaquito.org.ec/en-ecuador-la-incidencia-de-cáncer-en-los-últimos-años-ha-modificado-su-situación-epidemiológica-presentandose-casos-con-más-frecuencia-en-hombres-y-mujeres-desde-los-65-años/>.
30. Manobras sequenciais específicas para diafanización dentária. Padronización de un protocolo educacional. Daniel, Arango Cano. 1, 2023, Vol. 31.
31. Optimización del ácido fórmico Descalcificación a base de d-formalina sobre el Protocolo para Histología del hueso calvario. Banu, S Amitha. 2, 2024, Vol. 12.
32. Eficacia de la técnica de activación ultrasónica pasiva a nivel de orificio para eliminar residuos de molares mandibulares: un estudio ex vivo. Bolourchi, Iman. 15, 6 de Noviembre 2024.
33. Efecto de la descalcificación sobre la tinción inmunohistoquímica del síndrome tricorniofalángico tipo 1. Chen, Miao. 2024. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/prm2.12138>.
34. Una comparación de tres agentes de descalcificación para la evaluación de la histomorfología de fracturas craneales. Cornelison, Jered B. 3, 2022, Vol. 67.
35. Análisis de calidad de muestras óseas para una descalcificación óptima con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Craig, Dr. J. Cody. 8, 27 de Marzo del 2022, Vol. 30.
36. Evaluación comparativa de agentes descalcificantes para la disolución de cálculos pulpares: un estudio in vitro. Kavimalar. 4, 2022, Vol. 25. 10.4103/jcd.jcd_35_.
37. Madrid, Universidad Complutense de. STUDOCU. STUDOCU. [En línea] 2022. <https://www.studocu.com/es/document/universidad-complutense-de-madrid/practicas-clínicas-de-enfermería-metodología-enfermera/tema-6-descalcificacin-de-hueso/43188550>.
38. Fluido de Von Ebner para la Descalcificación de Osteoma: Informe de Caso. Mahmoud. <https://doi.org/10.47191/ijmra/v8-i01-15>, 01 Enero 2025, Vol. Volume 08.

39. Comparación cualitativa de agentes de descalcificación para secciones criostáticas de hueso para posterior análisis biofotónico. Mandal, Shibarjun. 1, 2025, Vol. 15.
40. Comparación de métodos convencionales y de microondas para la descalcificación ósea utilizando ácido nítrico al 10%. Sahitya, Vodithala. 2021.
https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/93135955/66800-libre.pdf?1666862248=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DComparison_of_Conventional_and_Microwave.pdf&Expires=1739312981&Signature=T9hxBhXUr838B6nB4e9OXx6XbCcYksyo6SORsTYOTTA~xTgShuK73TVe.
41. Evaluación comparativa de la eficacia de la descalcificación asistida por agitación mecánica de dientes permanentes humanos: Un análisis histológico. Shahid, Mohammad. 26, 26 de Septiembre del 2023.
42. Validación de protocolos de fijación y descalcificación para optimizar la tinción inmunohistoquímica en biopsias de trepanación de médula ósea. Suwatchai, Pholar. 2024.
https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A16%3A794336/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A180280571&crl=c&link_origin=scholar.google.com.ec.
43. Comparación de la descalcificación convencional Método y descalcificación por microondas “Hueso” : Protocolo de investigación. Vodithala, Sahitya. Número 11, Revista Europea de Ciencias Moleculares y Clínicas : s.n., 2020, Vol. Volumen 07.

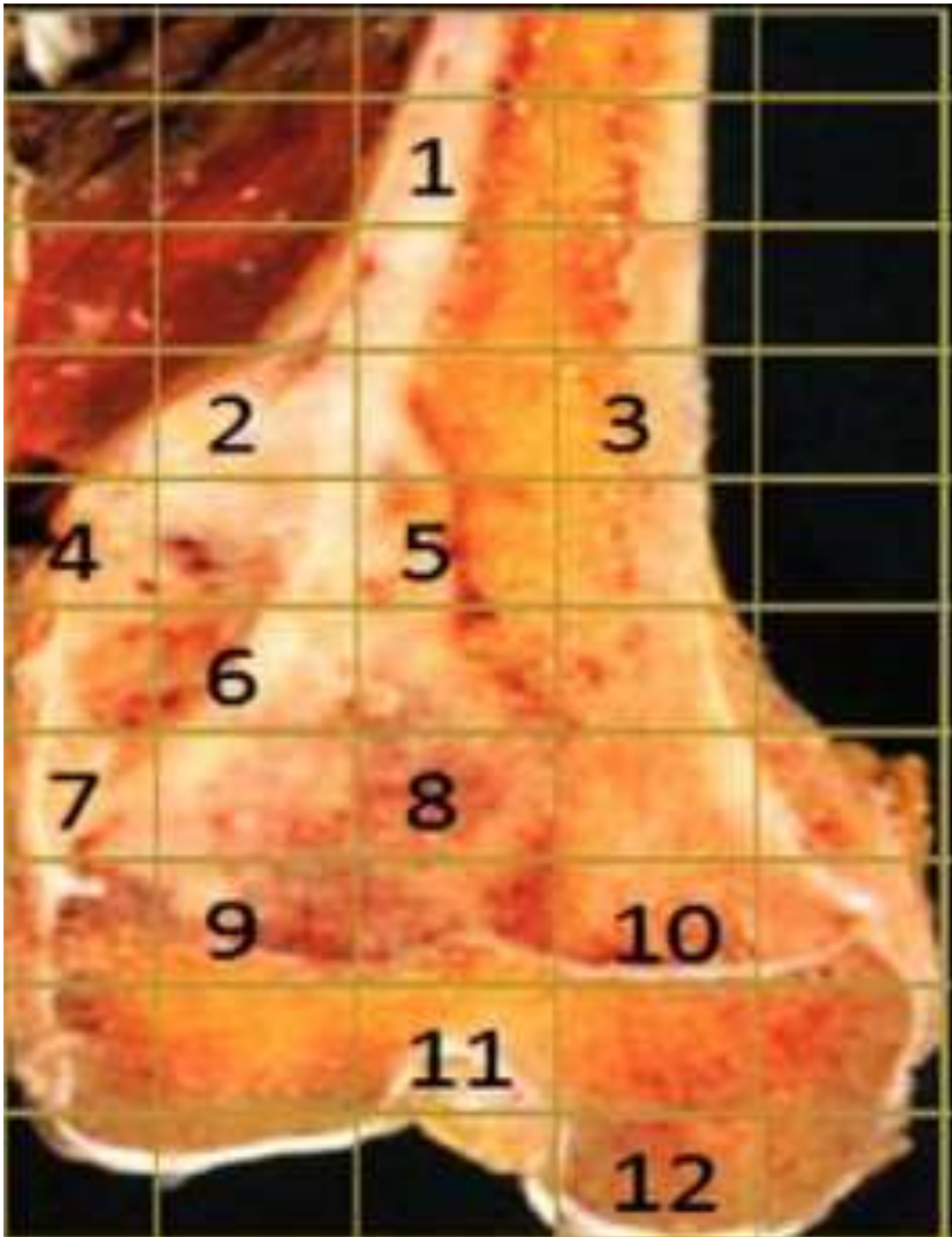
ANEXOS

Anexo 1. Estructura de un hueso.



Fuente: <https://drafaelcastro.com/blog/como-estan-formados-los-huesos/>

Anexo 2. Corte del tejido óseo para Análisis Patológico.



Fuente: <https://depositphotos.com/es/photo/medical-student-in-anatomy-dissecting-a-kidney-45684073.html>

Anexo 3. Ficha técnica del Ácido Clorhídrico.

DE ACUERDO A LA NOM-018-STPS-2015		HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD DE SUSTANCIAS QUÍMICAS		 ÁCIDO CLORHÍDRICO	
LABORATORIO DE QUÍMICA					
1. Nombre de la sustancia química: Ácido Clorhídrico.					
2. Uso recomendado y restricciones de la sustancia: Reactivo de laboratorio.					
3. Nombre del fabricante o importador: Golden Bell.			4. En caso de emergencia comunicarse a: 2979730379 PC		
SECCIÓN II. IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS					
Pictograma de peligro 		Palabra de Advertencia: PELIGRO Indicación de Peligro: H302. Nocivo en caso de ingestión. H314. Provoca graves lesiones en la piel y lesiones oculares. H335. Puede irritar las vías respiratorias. H371. Puede provocar daños en los órganos.			
H402. Nocivo para la vida acuática. P201. No respirar gases/aerosoles/vapores. P264. Lavarse cuidadosamente después de la manipulación. P270. No comer, beber o fumar mientras se manipula este producto. P280. Usar guantes, ropa de protección y equipo de protección para la cara y ojos.					
SECCIÓN III. INFORMACIÓN DE LA SUSTANCIA QUÍMICA					
1. Nombre químico: Ácido Clorhídrico. Fórmula: HCl			2. Nombre comercial: Ácido Clorhídrico.		
3. Porcentaje y nombre de los componentes Agua 63% y Ácido Clorhídrico 37%			4. Sinónimos: Ácido Muriático, Ácido Hidroclórico, Cloruro de Hidrógeno (gas).		
			5. No. CAS: 7647-01-0	6. No. de ONU: 1789	
7. Impurezas y aditivos estabilizadores: N.D.					
SECCIÓN IV. PRIMEROS AUXILIOS					
1. Vía de Entrada	2. Primeros auxilios				
Oral	NO PROVOCAR EL VÓMITO. En caso de que la víctima esté inconsciente dar respiración artificial, mantenerla en reposo y abrigada. Si está consciente dar a beber un poco de agua continuamente (una cucharada cada 10 minutos).				
Cutánea	Si ha contaminado la ropa, quitarla inmediatamente y lavar la piel con abundante agua. Lavar inmediatamente la zona afectada con agua en abundancia por al menos 20 minutos.				

Fuente: <https://es.scribd.com/document/398996348/HOJA-DE-SEGURIDAD-ACIDO-CLORHIDRICO>

Anexo 4. Ficha técnica del Ácido Nítrico.

	FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD	
ÁCIDO NÍTRICO		

1. IDENTIFICACION DE LA SUSTANCIA O PREPARADO Y DE LA EMPRESA

Nombre Comercial	Acido Nítrico
Sinónimos	Agua fuerte, nitrato de hidrógeno, hidróxido de nitrilo
Formula Química	HNO ₃
Peso Molecular	63.02 g/mol
Uso	Construcción, Industria de abonos, Metalurgia y Textil.
Identificación de la Empresa	CONSTRUCCIONES TECNICAS EN OBRAS CIVILES S.A.S

2. IDENTIFICACION DE LOS PELIGROS

Identificación de Riesgos	Corrosivo, no inflamable. Reacciona con muchos compuestos orgánicos (acetona, ácido acético) y con sustancias inflamables (trementina, carbón, alcohol) con peligro de incendio, explosión y formación de gases tóxicos. En ciertas condiciones, nitrifica las materias celulares facilitando su ignición.
Primeras vías de exposición	Contacto con la piel, ojos y vías aéreas
Síntomas relacionados con la exposición	
- Inhalación	Una inhalación aguda de este producto produce estornudos, ronquera, laringitis, problemas para respirar, irritación del tracto respiratorio y dolor del tórax. En casos extremos se presenta sangrado de nariz, ulceración de las mucosas de nariz y boca, edema pulmonar, bronquitis crónica y neumonía.
- Contacto con los ojos	Produce irritación, dolor, lagrimeo, erosión de la córnea e incluso, ceguera.
- Contacto con la piel	Para la piel, es peligroso tanto líquido, como en forma de vapor. Causa quemaduras severas, la piel adquiere un color amarillo y se presenta dolor y dermatitis.
- Ingestión	Este ácido es muy corrosivo y puede destruir los tejidos gastrointestinales. Produce salivación, sed intensa, dificultad para tragar, dolor y shock.

Fuente: <https://es.slideshare.net/gelazapata/ficha-de-acido-nitrico>

Anexo 5. Ficha técnica del EDTA

SSOMAC					Reg 01- E10	
VOLCAN	Nombre				Formula	
MSDS	EDTA (Titriplex III)				$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$	
	Criterio de Seguridad		Color	Valor	Característica	
	Inflamabilidad		Rojo	1	no inflamable	Peso Molecular 372.26
	Toxicidad		Azul	1	Venenosos	Punto de Ebullición No se dispone
	Reactividad		Amarillo	1	Irritante	Punto de Fusión 252°C
	Q : Producto Químico		Blanco	Cor	Corrosivo	Gravedad Especifica No se dispone
Inflamabilidad		Equipo de protección personal				
Temperatura de auto-inflamación : En caso de incendio: No inflamable, produce gases tóxicos (Acido Acético), usar obligatoriamente auto contenido SCSR evitar uso de agua, es contaminante, medio de extinción, CO2 espuma PQS		PROTECCION RESPIRATORIA: Respirador para gases organicos NIOSH en alta concentraciones use auto contenido y auto rescate PROTECCION PARA LOS OJOS: Lentes quimicos Goggles PROTECCION PARA LAS MANOS: Guantes de Nitrilo PROTECCION PARA LOS PIES: Botas de Jefe				
Toxicidad		Consideraciones ante emergencias				
INHALACION: Quemadura , irritacion CONTACTO CON LA PIEL: Quemaduras, irritacion CONTACTO CON LOS OJOS: Quemaduras, irritacion CONTACTO DE INGESTION: Quemadura, envenenamiento		INHALACION: Evacuar hacia aire fresco, proporcionar oxigeno, llevar al medico, posible quemadura de las vias respiratorias. CONTACTO CON LOS OJOS: Lavar suavemente con agua corriente durante 15 min, abriendo ocasionalmente los parpados. CONTACTO CON LA PIEL: Remueva la ropa, lave con agua y jabon , consulte al médico INGESTION: De a beber inmediatamente agua o leche. Nunca de nada por la boca boca a una persona que se encuentre inconsciente.				
Reactividad		Informacion Ecologica: Tóxico para peces, algas y dafnias. Manteniendo las condiciones adecuadas de manejo, no deben esperarse problemas ecologicos.				
Sustancia: estable. Condiciones a evitar: materiales Incompatibles Incompatibilidad (sustancias a evitar): agnetes oxidantes fuertes. Descomposicion de componentes peligrosos: Oxidos Nitrosos (Nox), Oxidos de carbono(CO y CO2)		Manipulacion y Almacenamiento: Evite generacion de polvo.				

Fuente: <https://es.scribd.com/doc/222796913/Edta>

Anexo 6. Ficha técnica del Osteomol.

Categoría Descripción		Número de Catálogo :101736	
Nombre del Producto : OSTEOMOLL® 		Descripción General	Solución para descalcificación rápida con fijación para histología. Descalcifica tejido óseo y ablanda tejido queratinizado, fijando las muestras en el mismo proceso.
Aplicaciones Descalcificación rápida (con fijación) para histología		Código HS 3824 99 92	
Nivel de Calidad MQ400		Densidad 1,10 g/cm ³ (20 °C)	
Valor de pH 1 (H ₂ O, 20 °C)		Declaraciones de Peligro H290: Corrosivo para metales, H302 + H332: Nocivo por ingestión/inhalación, H314: Provoca quemaduras graves en la piel, H317: Puede causar reacción alérgica, H335: Irritación respiratoria, H341: Sospecha de defectos genéticos, H350: Cáncer.	
Declaraciones de Precaución P202: No manipular sin leer, P280: Usar guantes/protección ocular, P301 + P312: En caso de ingestión, P303 + P361 + P353: Contacto con piel, P304 + P340 + P310: Inhalación, P305 + P351 + P338: Contacto con ojos.		Palabra de Señal Peligro	
Clase de Almacenamiento 6.1D: Materiales no combustibles, tóxicos agudos Cat.3		Grupo de Trabajo en Agua WGK 3: Altamente peligroso para el agua	
Desecho 9		Categorías de Peligro Nocivo, irritante, cancerígeno, sensibilizante	
Almacenamiento Conservar entre +15°C y +25°C		Declaración de Transporte ADR ONU 1789, 8, II	

Fuente: https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/OSTEOMOLL,MDA_CHEM-101736?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F

Anexo 7. Ficha técnica del Osteosoft

Categoría	Descripción
Número de Catálogo	101728
Nombre del Producto	OSTEOSOFT® 
Descripción General	Solución descalcificadora suave para histología, utilizada para desmineralizar y descalcificar huesos, muestras de médula ósea y otros tejidos duros de origen humano. Formulada con EDTA, ideal para biopsias.
Aplicaciones	Solución descalcificadora suave para histología
Declaraciones de Peligro	H318: Provoca lesiones oculares graves. H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de inhalación.
Declaraciones de Precaución	P260: No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280: Llevar gafas/máscara de protección. P305 + P351 + P338: En caso de contacto con los ojos, enjuagar con agua.
Palabra de Señal	Peligro
Clase de Almacenamiento	10 - 13 Otros líquidos y sólidos
Grupo de Trabajo en Agua	WGK 2: Obviamente peligroso para el agua
Desecho	3: Los reactivos orgánicos relativamente poco reactivos deben recogerse en el recipiente A. Si están halogenados, deben recogerse en el recipiente B.
Almacenamiento	Conservar entre +15°C y +25°C

Fuente: https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/OSTEOSOFT,MDA_CHEM-101728?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F

Anexo 8. Ficha técnica del BIODEC-R

Categoría		Descripción
Producto	BIODEC R	
Códigos de Corte/Unidad	05-M03009 500 ml (UDI-DI 08033976234423), 05-03009Q 4 x 2,5 l (UDI-DI 08033976232122)	
Contenedor primario	Frasco de PET (polietileno tereftalato), 2,5 litros, color blanco, con tapón de polietileno HD.	
Contenedor secundario	Caja de cartón	
Aplicación	Descalcificación rápida de tejidos mineralizados (hueso compacto, concreciones calcáreas) con mezcla biácida y corrector salino.	
Principio activo	Ácido clorhídrico y ácido fórmico reaccionan con calcio tisular (carbonato, fosfato, oxalato, urato) para descalcificación.	
Técnica de fijación	Relación 1:100, tiempo de uso: 6-12 horas para muestras de hasta 5 mm de espesor. Post-descalcificación: flujo de agua corriente 1 hora o 3 cambios de PBS.	
Componentes	Ácido clorhídrico, ácido fórmico, corrector salino, agua destilada.	
Advertencias	Uso profesional en laboratorio. Clasificado como peligroso. Seguir instrucciones de seguridad en la etiqueta y ficha técnica.	
Conservación	A temperatura ambiente, mantener los frascos bien cerrados.	
Estabilidad	2 años a partir de la primera apertura, si se conserva correctamente.	
Eliminación	Desecho peligroso, entregar a empresas autorizadas según las leyes vigentes.	

Fuente: https://bio-optica.it/ftp/Sito/technical_datasheet/03009_ES.pdf

Anexo 9. Procesamiento rutinario de tejidos.

Pasos del procesamiento de tejidos rutinario		
Paso	Descripción	Tiempo
1. Fijación	Los tejidos se sumergen en una solución fijadora (formalina) para preservar su estructura.	12-24 horas
2. Deshidratación	Los tejidos se pasan por una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente (70%, 95%, 100%) para eliminar el agua.	1-2 horas por cada solución
3. Aclaramiento	Los tejidos se sumergen en un agente aclarador, como el xileno, para eliminar el alcohol y hacer que los tejidos sean más compatibles con la parafina.	1-2 horas
4. Infiltración	Los tejidos se impregnan con parafina fundida.	4-6 horas
5. Inclusión	Los tejidos impregnados con parafina se colocan en moldes y se dejan solidificar a temperatura ambiente o en un baño de parafina fría.	1-2 horas
6. Corte	Los bloques de parafina con los tejidos se cortan en secciones finas utilizando un micrótopo.	1-2 horas
7. Desparafinización	Las secciones se sumergen en xileno para eliminar la parafina y hacer que los tejidos sean compatibles con los reactivos acuosos.	30 minutos a 1 hora
8. Rehidratación	Las secciones desparafinadas se pasan por una serie de soluciones alcohólicas decrecientes y luego se rehidratan con agua.	30 minutos
9. Tinción	Las secciones se tiñen con colorantes como la hematoxilina y eosina para visualizar los diferentes componentes celulares bajo el microscopio.	30 minutos - 1 hora
10. Deshidratación final y aclaramiento	Después de la tinción, las secciones se pasan nuevamente por alcohol y xileno para prepararlas para el montaje final.	30 minutos
11. Montaje	Se aplica un medio de montaje (como bálsamo de Canadá) sobre las secciones para fijarlas en un portaobjetos, y luego se cubren con un cubreobjetos.	15-30 minutos
12. Observación	Finalmente, se observa la muestra bajo el microscopio para realizar el análisis histológico.	Variable

Fuente: <https://citopatveterinaria.com/procesamiento-histologico-rutinario-de-los-tejidos/f>

Anexo 10. Pasos para realizar la decalcificación.

Pasos para realizar una decalcificación	
1. Preparación	Reúne los materiales necesarios: solución decalcificadora (ácido clorhídrico, ácido acético o productos comerciales), guantes, pinzas, frascos o recipientes adecuados.
2. Colocación de la muestra	Coloca la muestra (como un hueso, diente o material biológico) en el recipiente adecuado para evitar contaminación o pérdida.
3. Adición de solución	Vierte la solución decalcificadora sobre la muestra, asegurándote de cubrirla completamente.
4. Incubación	Deja la muestra en la solución durante el tiempo recomendado.
5. Monitoreo del proceso	Revisa el estado de la muestra periódicamente.
6. Detención del proceso	Una vez que la muestra esté suficientemente decalcificada, retírela de la solución.
7. Lavado	Lava la muestra con agua destilada o solución salina para eliminar los residuos del ácido.
8. Almacenaje o procesado	Después de decalcificar, puedes proceder con los análisis o almacenar la muestra.

Fuente: <https://www.leicabiosystems.com/es/knowledge-pathway/an-introduction-to-decalcification/>