

PROCESAMIENTO HISTOLOGICO: FIJADORES

Principio

La fijación es un procedimiento diseñado para detener todos los procesos de degradación que se producen después de la obtención de la muestra a estudiar o después de la muerte del organismo de donde se obtiene la muestra. El objetivo es conservar la composición, estructura y el estado del tejido en la medida de lo posible. Además, evita otros procesos tales como la autólisis y la descomposición. El agente de fijación se selecciona de acuerdo a: la clase de problema a diagnosticar, el tipo y tamaño del material, el tipo de medio de inclusión, y el método de tinción a ser utilizado.

- Formol:

La fijación tiene lugar normalmente en soluciones de formaldehído al 4% o al 10%. Se puede utilizar ya directamente como solución de trabajo, la solución amortiguada de formaldehído 3,7-4,0% tamponado a pH=7 y estabilizado con metanol para diagnóstico clínico (cod. 252931), o bien si se usa el formol al 37-38% p/p, éste se diluye con agua o con solución tampón, para llegar a la correspondiente concentración de trabajo. El formol contiene metanol para evitar la polimerización del formaldehído a paraformaldehído.

- Líquido de Bouin:

El Líquido de Bouin es una solución formada por diversas sustancias con propiedades fijadoras (Formol, Ácido Pírico y Ácido Acético). Está especialmente indicado para la fijación de tejidos blandos, normalmente se usa para fijar glándulas y órganos reproductores. El formol por si solo es un agente fijador excelente, de hecho, es el fijador de uso general en la mayoría de los procedimientos y laboratorios. Los otros dos componentes modifican el resultado que se obtendría si solo se fijara con el formol, aportando una menor dureza a la muestra fijada, facilitando la correcta fijación de las zonas más internas de la muestra y reduciendo la contracción del tejido.

Material

- Formol:

Material de muestras de tejidos y órganos de origen humano.

- Líquido Bouin:

La muestra puede ser lavada mediante algún tampón a pH fisiológico, para eliminar sangre o cualquier otra partícula extraña que hubiésemos podido transferir a la muestra durante su extracción. Aunque el grosor máximo de la muestra depende del tipo de tejido, de forma general se puede decir que éste no debería superar los 0,5-1cm. Así se asegura una suficientemente rápida entrada del fijador antes que empiece la degradación de la muestra.

Reactivos

Código	Descripción
252931	Formaldehído 3,7-4,0% p/v tamponado a pH=7 y estabilizado con metanol (CE-IVD) para diagnóstico clínico (*)
253572	Formaldehído 30-36% p/v concentrado tamponado a pH=7 estabilizado con metanol (CE-VD) para diagnóstico clínico (*)
256462	Histofix® Conservante listo para su uso (CE-IVD) para diagnóstico clínico (*) (1)
257462	Histofix® Conservante listo para su uso (rosado)(CE-IVD) para diagnóstico clínico (*) (1)
258462	Histofix®-Safe Conservante listo para su uso (CE-IVD) para diagnóstico clínico (*) (1)
254102	Líquido de Bouin para diagnóstico clínico

Preparación de las soluciones

Formaldehido solución al 4%:

Mezclar 1 parte de la solución de Formaldehído 30-36% p/v concentrado tamponado a pH=7 estabilizado con metanol con 9 partes de agua destilada (dilución 1:10).

Procedimiento

La fijación de las muestras debería tener lugar según el tamaño y las características del tejido. Para obtener una óptima fijación, ésta debe realizarse lo antes posible tras la extracción de la muestra del tejido. La penetración del formaldehido en el tejido está relacionada con la temperatura.

- Formol:

1. Los trozos de tejido, después de la toma, se introducen en solución de formol 3,7- 4,0%.
2. Introducir las muestras en un recipiente suficientemente ancho (para evitar derrames y permitir una buena manipulación) sobre un volumen de fijador de al menos 20 veces mayor que el de la muestra. La muestra debe ser de tamaño reducido si se desea utilizar para estudios microscópicos para asegurar una suficientemente rápida fijación de la zona más interna. Para la conservación de muestras destinadas al estudio macroscópico, las muestras pueden ser mayores.
3. Aunque no es imprescindible se recomienda agitación constante y suave.
4. Tiempo de impregnación: dependerá del tamaño de la muestra y de la temperatura (con calor la fijación es más rápida, pero de menor calidad).
5. En un ambiente refrigerado, la fijación es más lenta pero el frío reduce los procesos de degradación mientras se produce la fijación. Es por esto que se suele realizar a temperatura ambiente o a 4°C y ajustar el tiempo de fijación en función de la naturaleza de la muestra y de la temperatura escogida.
6. El tiempo de fijación suele ser de pocas horas a temperatura ambiente y para muestras pequeñas, y hasta 12 o más horas, si la fijación se lleva a cabo a 4°C.
7. Una vez el proceso de fijación se acaba, se recomienda realizar tres lavados de al menos 5 minutos en agua corriente.

- **Líquido de Boiun:**

1. Las muestras se deben colocar en algún recipiente con un volumen suficiente de solución fijadora en su interior, entre 10 y 40 veces mayor que el volumen de la muestra. Esto asegura que la cantidad de fijador disponible será suficiente para todo el proceso.
2. La duración del proceso de fijación se debe adaptar al tamaño y al tipo de tejido mediante la experiencia, pero como regla general el tiempo de fijación está comprendido entre 4 y 24 horas.
3. Es muy importante realizar lavados después del proceso de fijación, en general para lavar todas las sustancias fijadoras, pero especialmente para el ácido pícrico. Un insuficiente lavado provocará que la acción del ácido pícrico se mantenga en el tiempo incluso después de montar la preparación, hecho que disminuirá mucho el efecto de colorantes de características básicas. Se recomiendan 5 lavados en alcohol 50% y 5 más en alcohol 70% hasta decoloración de la muestra.
4. Si es necesario, la muestra se puede conservar en alcohol 70% hasta que pueda ser procesada.

Nota técnica

El equipo usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico clínico.

Preparación de las muestras

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas. Deberán emplearse terminologías vigentes. Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

La solución de tinción debe almacenarse a temperatura ambiente.

Caducidad

El producto almacenado a temperatura ambiente y en envase bien cerrado, es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada en el envase.

Notas sobre empleo

Para evitar errores, la tinción ha de ser realizada por personal especializado. Solamente para uso profesional. Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad. Antes de la utilización, consultar la ficha de seguridad.

Indicaciones para la eliminación de residuos

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Si se presentan más preguntas acerca de la eliminación, o del procedimiento, éstas podrán ser tramitadas a través de E-Mail: info.es@itwreagents.com. Dentro de la UE tienen validez las prescripciones basadas en el Reglamento (CE) nº 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, y por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) nº 1907/2006. en materia de clasificación, embalaje y etiquetado de sustancias peligrosas, en la correspondiente versión vigente.

Clasificación de sustancias peligrosas

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

Fabricante

Panreac Química S.L.U.
An ITW Company
C / Garraf, 2 - Polígono Pla de la Bruguera
E-08211 Castellar del Vallès
(Barcelona, Spain
Tel. (+34) 937 489 400
Fax (+34) 937 489 401

(*) Producto sanitario para Diagnóstico In Vitro



(1) EL PRODUCTO ES UNA VARIABLE DE NUESTRO ESTÁNDAR FORMALDEHIDO 3,7 – 4,0 % TAMPONADO A PH=7 Y ESTABILIZADO CON METANOL DC, REF. 252931, PERO SE VENDE CON OTRO NOMBRE COMERCIAL DE NUESTRA MARCA REGISTRADA PARA DIAGNOSTICO IN VITRO.