



Junta de Andalucía

Consejería de Salud y Consumo  
Servicio Andaluz de Salud

# POE CORTE Y TINCIÓN



## POE CORTE Y TINCIÓN

POE\_HUT \_ AP\_005

Fecha entrada en vigor 2022

FECHA	REALIZADO:	REVISADO:	APROBADO:
<b>NOMBRE</b>	MERCEDES VALENZUELA AL MARÍA JOSÉ LÓPEZ LORENZO MARIA DEL MAR GARCÍA CALDERÓN	<b>EMILIA MEDINA ESTEVEZ</b>	<b>M. DEL MAR BERENGUEL IBÁÑEZ</b>
<b>CARGO</b>	TEAP	FEA RESPONSABLE DE CALIDAD	JEFE DE SERVICIO
<b>FIRMA</b>			
	<b>Responsable de revisión</b>		<b>Fecha de revisión</b>
	<b>Lugar de archivo</b> UNIDAD DE CALIDAD		<b>Responsable custodia</b>



## **1. INTRODUCCIÓN**

El puesto de corte y tinción es el encargado de realizar los cortes (**sección o rodaja fina de un tejido biológico adherida sobre un portaobjetos**) de los tejidos incluidos en parafina y teñirlos, (**proceso por el cual se ponen en evidencia las estructuras celulares y tisulares mediante el uso de colorantes**)

## **2. OBJETO**

Estudio de la estructura microscópica de células, tejidos y órganos o sistemas

## **3. ALCANCE**

Técnicos de Anatomía Patológica.

## **4. EQUIPAMIENTO NECESARIO**

- Micrótomos
- Batería de tinción
- Reactivos (kit de tinción Spectra, alcoholes 70°, 96° y 100°..)
- Baños de flotación
- Cuchillas.
- Cestillas para los portaobjetos listos para teñir
- Pinceles finos y gruesos.
- Portaobjetos biselados.
- Placa fría.
- Programa informático de cerebro para la trazabilidad.
- Agujas histológicas
- Gasas



## 5. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

### PUESTO DE CORTE

Tendremos que preparar todo lo que necesitamos antes de empezar a cortar, para ello necesitamos:

- Portaobjetos para poner el corte histológico
- Gasas para limpiar la parafina, del micrótopo y del baño.
- Aguja histológica
- Cestillas para meter los portaobjetos listos para su tinción
- Cuchillas de microtopo
- Coger los bloques que vamos a cortar, (están todos ordenados por día, patólogo y parte de tallado) coger las peticiones e introducirlas junto a la hoja de tallado en un plástico.
- Rellenar los baños de flotación de agua destilada, que se encuentra en garrafas rellenas de un grifo (hay uno en la recepción), lo encendemos y la temperatura empezará a subir hasta 45°, que es a la temperatura con la que trabajaremos.
- Encender la placa fría para enfriar los bloques a cortar
- Abrir en el programa de Cerebro la sección de corte e identificarnos (cada Técnico tendrá su nombre de usuario y su contraseña).



Una vez preparado todo esto, pasaremos a encender el microtopo en el interruptor que hay en la parte posterior derecha.

El puesto de corte consta de 2 microtopos de rotación tipo Minot Leica A5 que **disponen de una cuchilla fija y un sujeta-muestras móvil**. El nombre del microtopo de rotación



se da porque el sujeta-muestras es accionado mediante un volante. El movimiento de rotación del volante se transforma en un movimiento recto, haciendo que el portabloques baje y suba sacando así cortes muy finos, normalmente a 3 micras.

Partes del micrótopo:

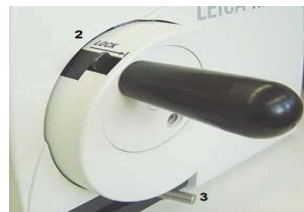


Fig. 9

- |   |   |
|---|---|
| 1 Interruptor de parada de emergencia               | 9 Enchufe para retroiluminación               |
| 2 Manivela de avance macro                          | 10 Palanca de freno de la manivela            |
| 3 Panel de control independiente                    | 11 Cabezal de la muestra con orientador y UCC |
| 4 Base del micrótopo                                | 12 Rueda manual                               |
| 5 Base del portacuchillas                           | 13 Mecanismo de bloqueo de la manivela        |
| 6 Portacuchillas E dos en uno                       | 14 Panel de control del instrumento           |
| 7 Palanca de sujeción de la base del portacuchillas | 15 Bandeja superior                           |
| 8 Bandeja de residuos estándar                      |   |

### MUY IMPORTANTE CONOCER LAS INFORMACIONES DE SEGURIDAD ANTES DE EMPEZAR A CORTAR

- El micrótopo cuenta con unos sistemas de seguridad para el bloqueo del movimiento en casos de accidente.



\*Interruptor de emergencia (1). La función de parada de emergencia se activa con el interruptor rojo PARADA DE EMERGENCIA (1) Para desactivar la interrupción de



emergencia, girar el interruptor de emergencia en el sentido de la flecha. Bloqueo del volante (solo en modo manual) (2) LOCK • Para bloquear, empujar la palanca hacia fuera y seguir girando lentamente el volante hasta que quede bloqueado con el asa en posición de las doce horas. !Atención! La palanca nunca debe accionarse mientras el corte motorizado este en marcha. Freno del volante. (3) • Para frenar el volante tirar la palanca hacia delante con fuerza. Para desbloquear el volante, empujar la palanca (3) hacia atrás a la posición original.

- Al encender el micrótopo se encenderá también el panel de mandos que está a la derecha, desde aquí pondremos las micras a la que queremos desbastar y cortar, acercar o alejar el portabloques...

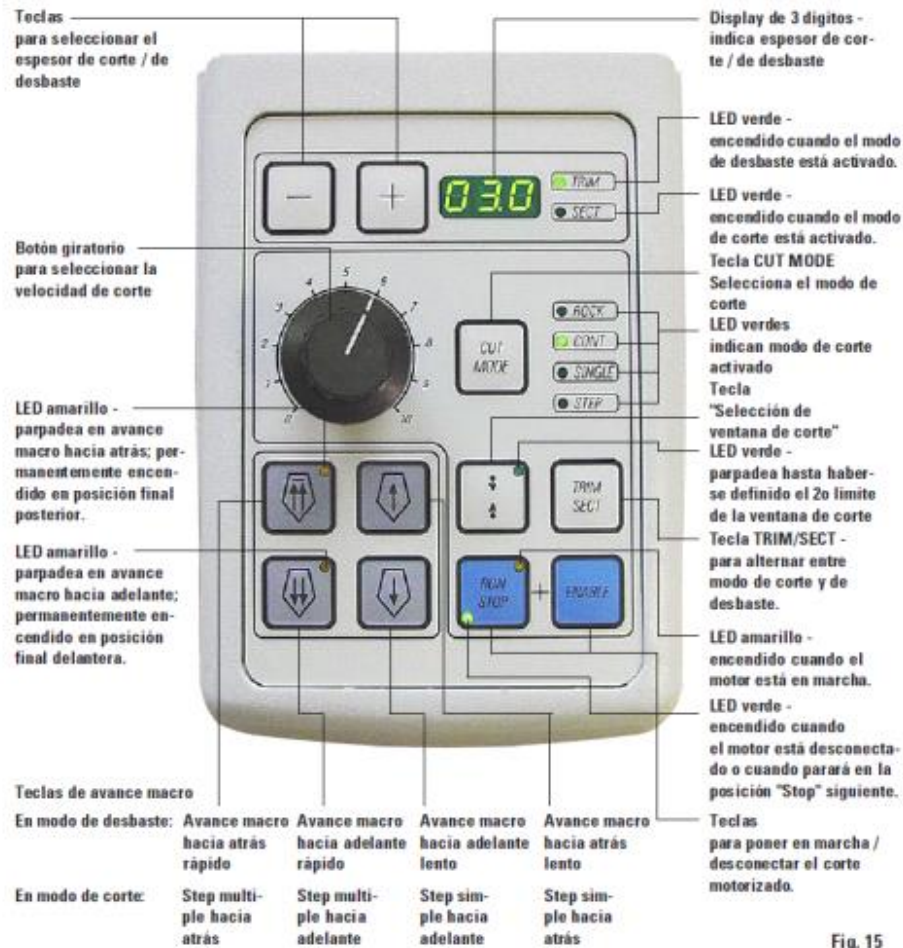
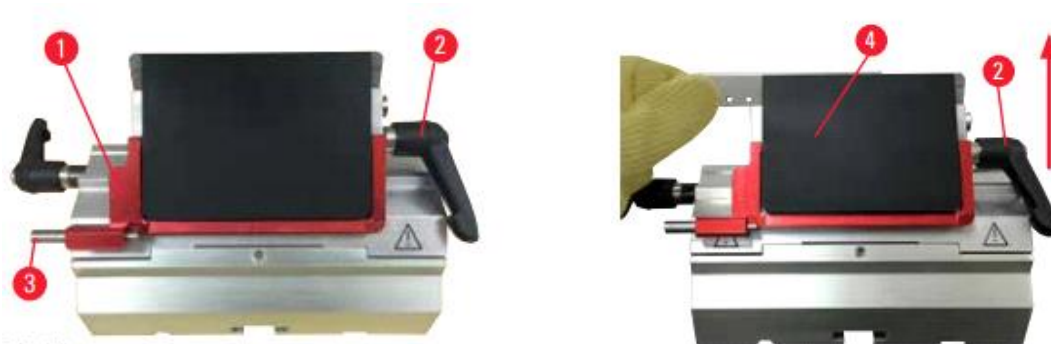


Fig. 15

- Nos aseguramos de que todas las palancas están bien apretadas (carro del portacuchillas, portacuchillas, portabloques...) y muy importante siempre que no estemos cortando tener el seguro de la palanca del volante puesto.



- Nos preparamos para cortar:
- Presionamos hacia atrás la palanca de apertura de la pinza portamuestras para sujetar casetes, insertamos el casete, y soltamos la palanca. Nos aseguramos de que el casete esté sujeto firmemente.
- Cogemos una cuchilla extremando las precauciones:



- Bajamos la funda de seguridad (1)
- Para insertar la cuchilla, girar la palanca de sujeción (2) en sentido anti horario.
- Empujamos con cuidado la cuchilla desde arriba o desde un lado. Nos aseguramos de que la cuchilla esté situada en el centro y, sobre todo, en paralelo con el filo superior de la placa de presión (4)
- Para sujetar la cuchilla, girar la palanca de sujeción (2) en sentido horario.
- Cuando queremos quitar la cuchilla, gire la palanca de sujeción en sentido anti horario, subimos la funda de seguridad (3), presionamos la palanquita para que presione la cuchilla y salga por la otra parte.
- La orientación de la cuchilla; debe estar en un ángulo inclinación según el microtomo entre 10° y 15°.
- Ya tenemos la cuchilla, el bloque y todas las palancas bien sujetas. Nos vamos al panel de mandos, presionamos la tecla TRIM/SECT (DESBASTADO/ CORTE) lo pondremos en TRIM (la luz se encenderá) y con las teclas más y menos escogeremos el grosor del desbastado.



- Seguidamente damos al avance macro hacia atrás rápido y cuando la luz se encienda será cuando el portabloques esté lo más pegado posible.
- Quitaremos la palanca de seguridad de la manivela para poder moverla y hacer que el portabloques baje a la cuchilla, lo haremos muy lentamente (el Portacuchillas deberá estar lo más pegado posible al portabloques) la orientación del bloque, debe estar en paralelo a la superficie de corte de la cuchilla.
- Comenzaremos a desbastar: consiste en quitar las capas más superficiales del bloque hasta conseguir la totalidad de la superficie completa del tejido, si mientras estamos desbastando observamos que no llega a salir parte del tejido y que otra parte puede desaparecer se procederá a deshacer el bloque (nunca gastar el bloque por intentar llegar a la parte del tejido que se ve en la zona más profunda del bloque).
- Una vez desbastado procederemos al corte: pondremos el bloque desbastado en la placa fría, cuanto más frío esté mejor saldrá el corte.

(desbastamos primero todos los bloques que vamos a cortar, así mientras se van enfriando).

- Para cortar pulsaremos en el panel de mando el botón de TRIM/SECT otra vez y lo dejaremos en SECT, con las teclas de más y menos pondremos el corte a 3 micras.
- En nuestra sesión corte abierta anteriormente tendremos que escanear el bloque, nos saldrá una pegatina con un código QR que la pegaremos en el portaobjetos.

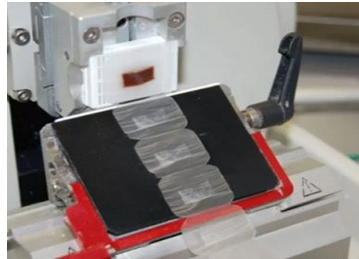


- Una vez hecho el corte éste se transporta hacia el baño de flotación con agua, el cual se encuentra a una temperatura de 45° donde, gracias a las fuerzas de tensión superficial que se generan en la lámina de parafina y tejido al hacerla flotar sobre el líquido, se eliminan posibles pliegues. Las posibles arrugas y pliegues que suelen





producirse al transportar los cortes desde el micrótomo al baño pueden: ser eliminadas mediante manipulación de los cortes, una vez estén sobre el agua, con dos pinceles de pelo fino o dos agujas. Las burbujas de gas atrapadas bajo el corte son difíciles de eliminar sin producir artefactos del tejido.



- Con el portaobjetos en el que hemos pegado la pegatina hacemos lo llamado coloquialmente “pesca” que consiste en introducir un portaobjetos en el baño hasta tocarla sección en uno de los lados del corte.





- Cuando empieza la adherencia de la sección sobre el cristal se extrae poco a poco el portaobjetos del baño, dejando drenar el agua por gravedad. Si la orientación o la disposición del corte no es la adecuada, éste se puede volver a reflotar y orientar. Una vez el tejido en el portaobjetos se volverá a pasar el código QR que aparece en la pegatina por el lector, con esto quedará trazado que el bloque ha sido cortado.

piezas	Cortes
Piezas grandes y biopsia grandes	1
Ganglios pequeños	2
Biopsias pequeñas	4
Cilindro próstata	3 o 2 portas con dos cortes
Bronquial, pulmón botón celular, pleura medula ósea	1
Cilindro hepático, cilindro de tiroides, Cilindro de mama	2
Biopsias medianas	2

- Antes de proceder al corte de los siguientes, se debe eliminar del baño cualquier resto posible de las secciones anteriores, para evitar contaminaciones asistenciales. Con la ayuda de un papel de filtro o un pincel. El microtomo también debemos ir limpiándolo frecuentemente, evitando tener la cuchilla puesta cuando se limpie.
- Secado de portas: en el borde del baño a temperatura ambiente o en vertical depende del tejido cortado (tejidos adiposos...)
- Los cortes se van poniendo en una cestilla de color rojo de forma ordenada (de atrás hacia delante) para su posterior tinción en hematoxilina-eosina en la teñidora Spectra de Leica (consultar manual del spectra).



#### PASOS PARA MEJORAR LA MICROTOMIA:

DEFECTO	POSIBLE CAUSA	SOLUCION
Cortes comprimidos	-Cuchilla desafilada -Bloque caliente	-Cambiar lado a la cuchilla -Enfriar el bloque
Cortes se rompen	-Restos de parafina en la cuchilla -Dureza en la muestra	-Limpieza -Quitar dureza de la muestra (descalcificador)
Los cortes se pegan al bloque de la cara de la cuchilla	-Ángulo incorrecto de la cuchilla -el corte está electrificado	-Cambio de ángulo -Echar vaho sobre la cuchilla (incrementando la humedad ambiental)
Cortes de diferente grosor	-Soporte mal fijado	-Apretar soporte

También podemos mejorar la microtomía con algunas recomendaciones:

- Usar cuchillas buenas para cortar.
- Optimizar el grado de inclinación de la cuchilla.
- Después de desbastar y antes de cortar debemos hacer unos cortes y desecharlos para evitar los daños provocados por el desbaste.
- Bloques siempre muy fríos a la hora de cortar.
- Usar el agua del baño siempre muy limpia.

#### CUANDO SE ACABA DE CORTAR ES MUY IMPORTANTE LA LIMPIEZA DEL MICRÓTOMO:

- Se limpiará con gasas, nunca con xilol.
- Siempre que limpiemos tendremos que asegurarnos que la cuchilla está quitada.
- Debemos dejar todo bien recogido y listo para el siguiente turno.
  - Se apagará la placa fría y se limpiará el hielo derretido con papel de filtro, gasas, papel absorbente...
- El baño de flotación vaciarlo de agua y limpiar todos los restos de parafina con gasas, no con xilol.



## FUNCIONAMIENTO DE LA TEÑIDORA-MONTADORA SPECTRA

Encender, cambiar y rellenar los líquidos de la teñidora Spectra. Todas las mañanas, cuando se empieza la jornada laboral.

Revisar la montadora y hacer el mantenimiento y limpieza diaria.



## REACTIVOS Y MATERIAL

- Esta máquina necesita filtros para la absorción de olores.
- Alcohol de 70°.
- Alcohol de 96°.
- Alcohol de 100°.
- Agua amoniacal (agua corriente con tres gotas de amoníaco).
- Hematoxilina.
- EA 50.
- Orange G.
- Xileno.
- Kit de Spectra.
- Pegamento
- Cubres



En Spectra tenemos montadas una batería de hematoxilina-eosina para biopsias, otra de Papanicolau para citología y otra de deshidratación para inmunología.

- Tenemos los siguientes códigos de colores para los distintos protocolos:
  - **Asa de color rojo:** es el protocolo de hematoxilina-eosina para biopsias.
  - **Asa de color amarillo:** es el protocolo de Papanicolau para citología ginecológica.
  - **Asa de color azul claro:** es el protocolo de Papanicolau para la citología no ginecológica.
  - **Asa de color azul:** es el protocolo con alcohol de 100º más xileno.
  - **Asa de color blanco:** en esta cestilla podemos hacer cualquiera de los protocolos anteriores.
- 
- SPECTRA consta de las siguientes estaciones:





## LLENADO DE LAS CUBETAS

- Las cubetas tienen indicado el reactivo que llevan cada una y la posición en la que están.
- El llenado de las cubetas se hará todas las mañanas al encender la máquina.
- Los lunes nos pedirá un cambio completo. Los reactivos los echamos en su cubeta correspondiente que aparece debidamente identificada.
- Los alcoholes y el xilol se rellenan directamente, al igual que todos los colorantes de citología (hematoxilina, EA 50 y orange).
- El kit de Leica se escanea. Primero la caja que posee un código QR debajo de la etiqueta, y después nos irá pidiendo los colorantes, se escanea uno a uno los códigos QR que aparecen en ellos y la máquina nos irá indicando en la cubeta que debemos echarlos.
- Una vez todas las cubetas dentro, se cierra la tapa y se le da a escaneo.
- Para teñir, lo único que hay que hacer es meter la cestilla correspondiente en la posición correcta y darle a ACEPTAR cuando planifique ruta.

Una vez salgan ya teñidos, el técnico de corte es el encargado de coger las cestillas y meterlas en el escáner Aperio de Leica (consultar manual del scanner).





## 6. BIBLIOGRAFÍA//DOCUMENTOS CONSULTADOS// ENLACES DE INTERÉS

<https://www.pce-iberica.es/instrumentos-de-medida/instrumentoslaboratorios/equipos-laboratorios/microtomos.htm>

<https://www.leicabiosystems.com/>



### • MODIFICACIONES

FECHA	MODIFICACIÓN INTRODUCIDA	REVISADO POR	APROBADO POR

### OBSERVACIONES

--