

Uso de microondas en reemplazo del xileno para el desparafinado de las secciones histológicas

Hernández D.R.*, Santinón J.J., Sánchez S., Ruiz Díaz F.J.

Instituto de Ictiología del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias-UNNE

*dhernandez@vet.unne.edu.ar

Introducción

La inclusión en parafina constituye un paso indispensable en la obtención de preparaciones histológicas a partir de tejidos fijados en formalina, ya que permite obtener secciones finas. Asimismo, para las técnicas analíticas posteriores es fundamental la eliminación completa de la parafina y la rehidratación de los cortes, un proceso conocido como desparafinado. En los laboratorios histológicos e histopatológicos, el xileno sigue siendo uno de los solventes más comúnmente utilizado para este proceso, pero ha demostrado ser altamente inflamable, tener problemas en su desecho, así como efectos nocivos para la salud de los operarios. Varios estudios han evaluado sustitutos para el xileno, y se ha demostrado que el calor (mayor a 90 °C) es una alternativa eficiente para obtener excelentes resultados. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el reemplazo del xileno por el uso de horno microondas (HM) para el desparafinado de las secciones histológicas.

Metodología

Se utilizaron diez tacos de diferentes tejidos y se procedió a realizar cortes con micrótopo para obtener secciones de 4 µm de espesor. Las secciones fueron repartidas en dos grupos: un grupo Control (desparafinado rutinario con xilol) y un grupo de desparafinado por HM (DHM). Las secciones histológicas para DHM fueron colocadas en cubetas plásticas y cubiertas con solución salina buffer (PBS), posteriormente introducidas en HM a máxima potencia (700 watts) para alcanzar entre 95 y 100 °C durante distintos periodos de tiempo (1, 2, 4 y 6 minutos). Luego, los cortes fueron coloreados con Hematoxilina y Eosina (HyE) y PAS, deshidratados siguiendo el proceso clásico con alcoholes crecientes, aclarado y montaje. Las preparaciones fueron calificadas como Buena, Regular o Mala, según los siguientes criterios: a-uniformidad e intensidad del color, b-detalles nucleares y c-detalles citoplasmáticos.

Resultados

Los preparados sometidos a DHM por dos minutos recibieron la mejor calificación, presentando características tintoriales uniformes y de buena intensidad, con detalles celulares y nucleares similares a los obtenidos en las secciones del grupo Control teñidas con HyE (Figuras 1 y 2). Sin embargo, se observó que la exposición al HM durante un minuto no es suficiente para desparafinar correctamente, mientras que tiempos superiores a dos minutos pueden causar daños en los tejidos, principalmente al tejido conectivo laxo (Figura 1B). Los preparados coloreados con PAS fueron similares entre ambos procedimientos (Figura 3). En las Por otro lado, el método con HM redujo el tiempo total de procesamiento en aproximadamente dos veces respecto al método tradicional.

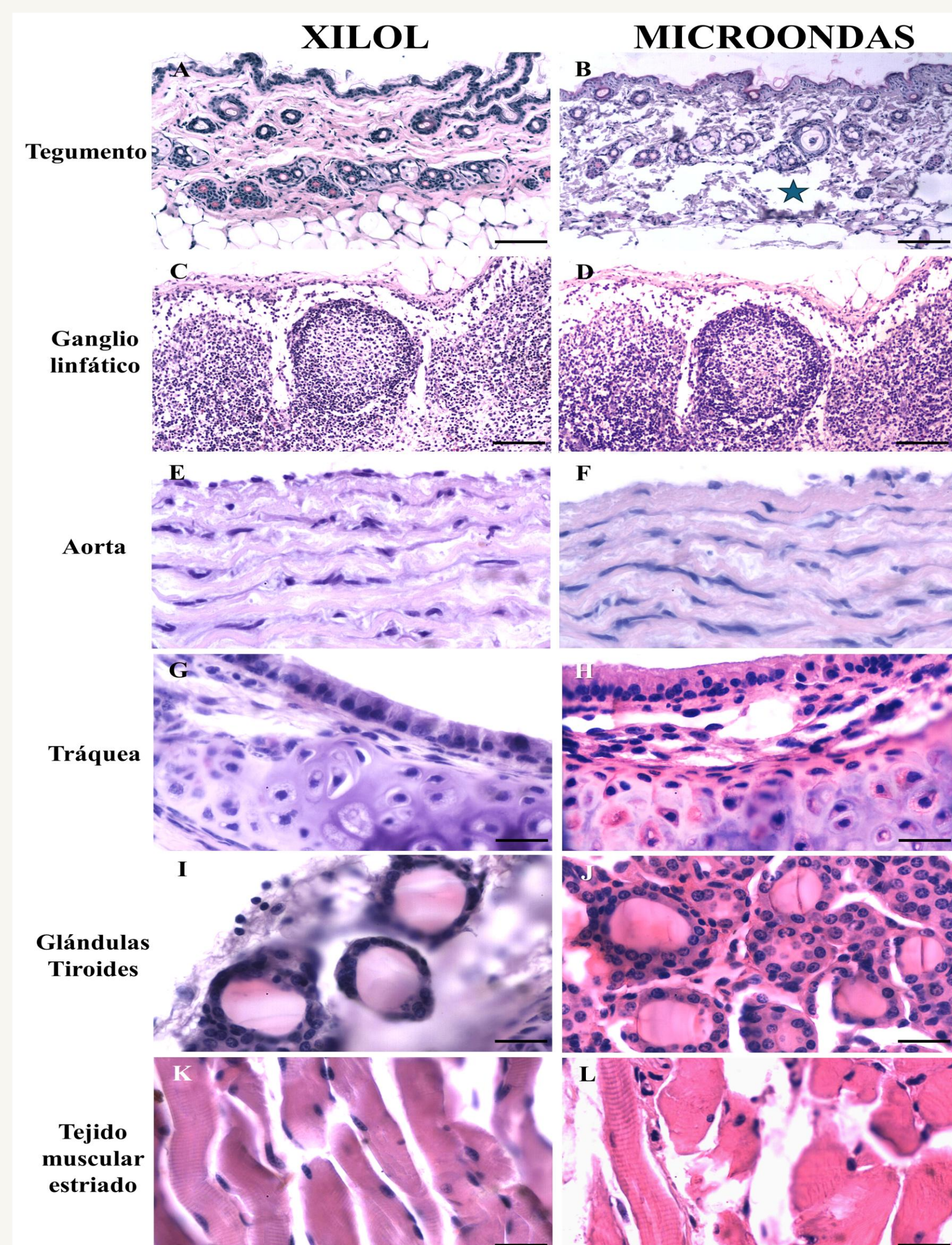


Figura 1: Microfotografías comparativas del procesamiento de desparafinado convencional con xilol frente al procesamiento por microondas. En b se puede observar que el desparafinado con microondas genera alteraciones en el tejido conectivo (estrella). Coloración HyE. Barras= A a D 50 µm; desde E a L 25 µm.

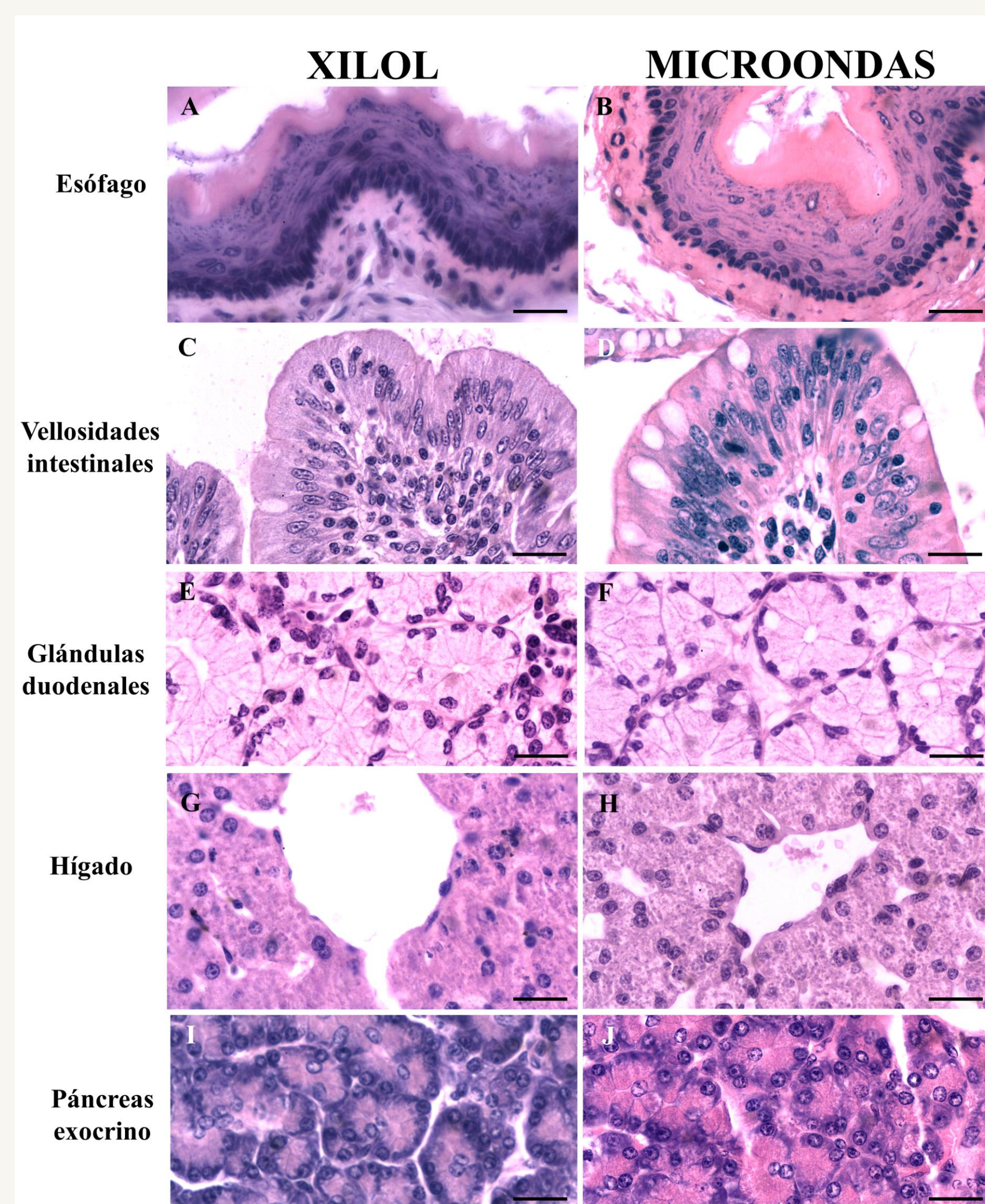


Figura 2: Microfotografías comparativas del procesamiento de desparafinado convencional con xilol frente al procesamiento por microondas. Coloración HyE. Barras= 25 µm.

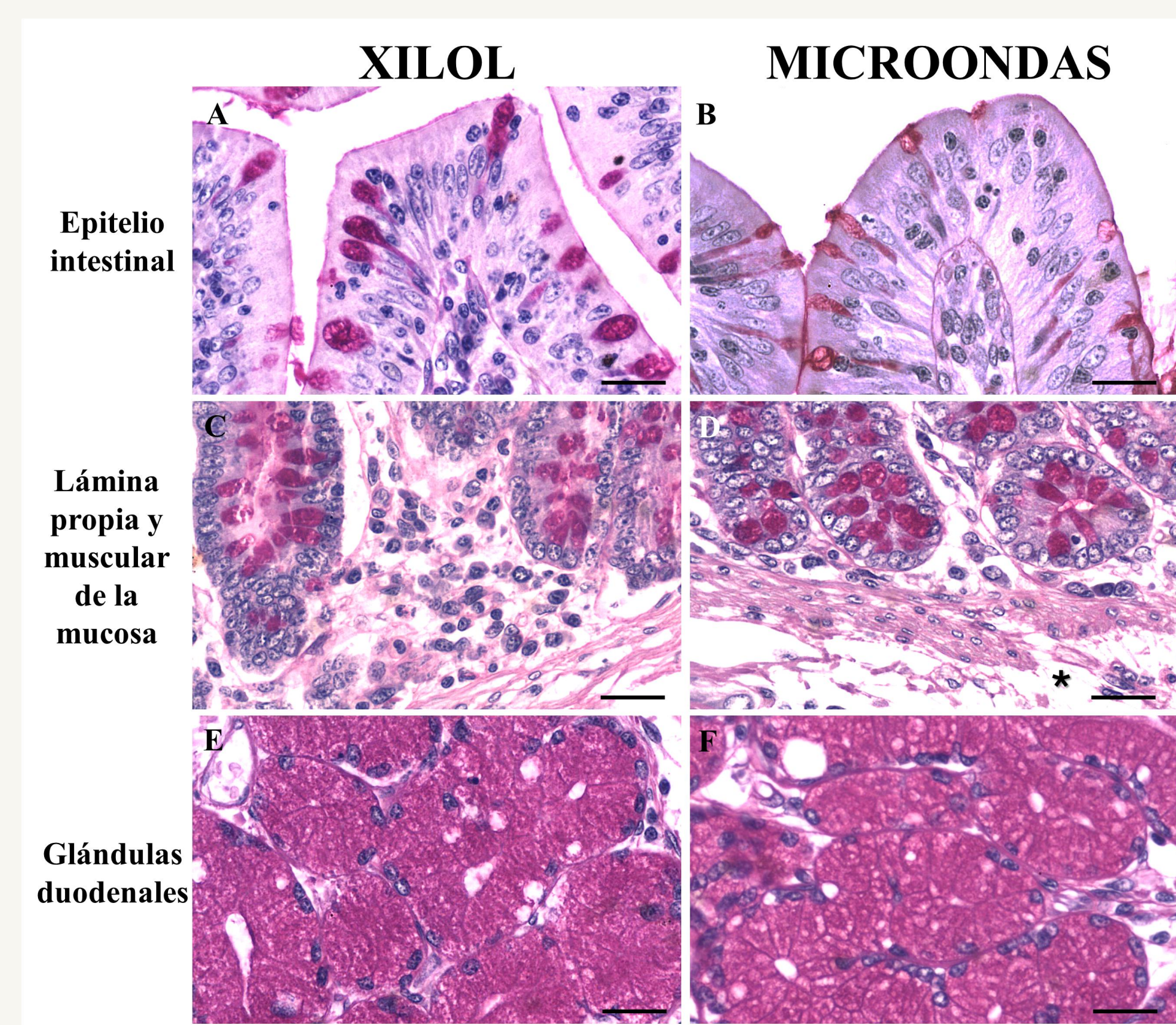


Figura 3: Microfotografías comparativas del procesamiento de desparafinado convencional con xilol frente al procesamiento por microondas. En b se puede observar que el desparafinado con microondas genera alteraciones en el tejido conectivo (estrella). Coloración PAS. Barras= 25 µm.

Conclusiones

El análisis de los preparados demostró que el desparafinado de las secciones histológicas en horno microondas puede utilizarse como herramienta válida para el reemplazo del xilol.

BIBLIOGRAFÍA

