

## **Cátedra: Histotecnología**

**PROFESOR ADJUNTA A CARGO T.L. ZALAZAR MARIA FERNANDA**

**PROFESORA ADJUNTA T.L. TRAVERSO VIVIANA LUJÁN**

**PROFESORA ASISTENTE PISCITELLO ROSANNA GABRIELA PISCITELLO**

### **Fundamentación**

La Histotecnología es una disciplina netamente técnica que intenta proporcionar al alumno, al mismo tiempo que una visión esencial de las técnicas histológicas, un panorama integrador de los conceptos adquiridos durante la Carrera y que se encarga de estudiar los fundamentos y las secuencias de manipulaciones técnicas que debe sufrir una muestra biológica, ya sea animal o vegetal, para obtener un "preparado histológico" que será analizado con microscopios ópticos o electrónicos particulares. Dicho preparado debe ser representativo del órgano o tejido en estudio, ya que durante su observación deberá permitir llegar a un diagnóstico sobre el estado morfo-funcional y/o patológico del mismo.

Para ello, se tratará de que el alumno conozca, interprete y aplique las Técnicas Histológicas, haciendo hincapié en el concepto de que el conocimiento es provisorio y sometido a constante revisión.

El eje principal que se tuvo en cuenta para la selección y organización de los contenidos fue la de los Métodos Histológicos. Giran alrededor de éste, conceptos básicos de integración que provienen de asignaturas complementarias: Química Inorgánica, Química Orgánica y Biológica, Biología y Anatomía.

Nuestra sociedad, al igual que otras del continente, se encuentra sumida en un estado de desarrollo que limita la calidad de vida. Coincidentemente con este hecho, se ha señalado una serie de carencias que se asocian al mismo, tales como la falta de identidad e integración cultural, independencia de políticas científico-tecnológicas, de economías que las respalden, de un plan de salud y seguridad social adecuado a las necesidades de la comunidad, etc.

Tal pensamiento es tomado por la Cátedra de Histotecnología como guía para la elaboración de una propuesta de enseñanza que tienda a subsanar, desde la formación de recursos humanos, las carencias de la realidad dentro del área que nos compete, con el objetivo de orientar al Técnico de Laboratorio a satisfacer las necesidades que se suscitan en el Equipo de Salud consolidando y fortaleciendo su desarrollo. Asimismo, se pretende generar una conciencia acerca del papel que el Profesional Técnico desempeñará en el ámbito de la salud e investigación para favorecer el avance científico y técnico.

## Objetivos.

### OBJETIVOS GENERALES DE LA MATERIA:

#### **OBJETIVOS GENERALES DE LA MATERIA**

- Desarrollar aptitudes para transferir los conocimientos internalizados durante el análisis del curso hacia áreas de la actividad humana.
- Tomar conciencia de su responsabilidad como gestor de su propio proceso formativo.
- Estimular el desarrollo del pensamiento reflexivo sobre la base de los conceptos analizados.
- Emplear la terminología básica de la histotecnología en su expresión gráfica, oral y escrita.
- Adquirir entrenamiento esencial para obtener información bibliográfica sobre temas específicos de la Asignatura.
- Desarrollar habilidades para el manejo de instrumentos, técnicas de laboratorio y sus aplicaciones.
- Aplicación de recursos tecnológicos adaptables e integratorios de la Histotecnología.

#### **CARGA HORARIA**

- Actividades Teóricas: 50
- Actividades Prácticas: 40

**TOTAL:90**

## CONTENIDOS MÍNIMOS

- Organización del Laboratorio de HISTOTECNOLOGÍA.
- Práctica de la Fijación de Muestras Biológicas.
- Maniobras para Obtener Cortes Histológicos:
- Métodos de Tinción: Introducción.
- Métodos de Tinción: Técnicas de Rutina.
- Métodos Especiales. Introducción y nociones generales.

## CONTENIDOS DE LA ASIGNATURA

### **Unidad N° 1: La Técnica Histológica**

#### Contenidos:

Concepto y alcances. Materiales de vidrio. Aparatos y automatización del Laboratorio de HISTOTECNOLOGÍA. Adecuación del Microondas en técnicas histológicas. Reactivos: concepto. Reactivos fijadores, aclarantes, opacantes, aislantes, decalcificantes, conservadores, diferenciadores, indiferentes y colorantes. Obtención de la Muestra: Biopsia, autopsias y líquidos orgánicos. Precaución de extracción. Recepción y manipulación de las muestras biológicas.

### **Unidad N° 2: Fijación**

#### Contenidos:

Concepto, generalidades y condiciones para lograr una correcta fijación. Clasificación y propiedades de los reactivos fijadores. Fijadores oxidantes: ácido osmico, acético, crómico y pícrico. Sales metálicas: bicloruro de mercurio y dicromato de potasio. Fijadores reductores: alcohol metílico y etílico. Formaldehído, glutaraldehído, paraldehído y acroleína. La acetona. Mezclas fijadoras: concepto, fundamento y aplicaciones. Artificios de fijación.

### **Unidad N° 3: Características de la Fijación**

#### Contenidos:

Elección del fijador según el objeto de estudio. Relación volumétrica fijador muestra. Tiempo de fijación. Temperatura de fijación. La osmolaridad del fijador. La concentración del fijador. El potencial de hidrogeniones del fijador. Fijación y preservación de las muestras: diferencias conceptuales. Lavado de las piezas fijadas. Conservación de las muestras.

### **Unidad N° 4: Inclusión de las Muestras Biológicas**

### Contenidos:

Generalidades. Tratamiento preliminar de las muestras: la serie de deshidratación. Volumen y duración. Reactivos deshidratantes. Aclaración o desalcoholización de las piezas deshidratadas. Los medios de Inclusión: celoidina, parafina, gelatina, polietilenglicol, OCT. Resinas epoxidicas: araldita, epon, durcupan y Spurr. Resinas poliéster. Metacrilatos. L.R. White. Composición y aplicación de cada una. Moldes de inclusión. Orientación de las muestras durante la inclusión. Tallado del bloque de inclusión. Artificios de inclusión.

### **Unidad N° 5: Métodos para Ejecutar los Cortes**

#### Contenidos:

Generalidades. Micrótomos: usos y cuidados. Micrótomos de deslizamiento y rotación. Vibratomo. Criostato. Micrótomos de Congelación. Ultra micrótomos y Crioultramicrotomos. Navajas: afilado y asentado. Tipos, cuidados y uso de las navajas. Confección de cortes: características de un buen corte. Estiramiento. Formas de recoger un corte. Pegado de las secciones histológicas. Medios de Adhesión: albúmina, gelatina crómico, acetato de vinilo, poli-L-lisina, otros. Artificios de seccionamiento.

### **Unidad N° 6: Tinciones**

#### Contenidos:

Generalidades. Las materias colorantes. Composición química y comportamiento de los colorantes. Colorantes oxazínicos, azínicos y tioazínicos. Sitios reactivos de un colorante. : grupo cromogénico, auxocromo y salificable. Coloración difusa, selectiva y específica. Métodos de coloración: directos e indirectos: mordientes. Progresivos y regresivos: diferenciadores. Ortocromáticos y meta cromáticos. Simples y combinadas. Intravital, supravital y post- vital. Coloraciones en cortes e "in toto". Coloraciones en bloque. Coloración de control (testigo). Artificios de coloración.

### **Unidad N° 7: Montaje de las Preparaciones Coloreadas**

#### Contenidos:

- a) Líquidos de montaje para preparados no deshidratados (temporarios): glicerina, cerosota, licor de Apathy y gelatina glicerinada. Sellado de los preparados temporarios: betún de Judea, esmalte y parafina.
- b) Líquidos de montaje para preparados deshidratados (permanentes): bálsamo natural de Canadá. Resinas sintéticas comerciales: bálsamo sintético de Canadá, Canadax, Permout, entellan, DPX, Polymount, etc. Precauciones. Artificios de montaje.

## **Unidad N° 8: Técnica de Hematoxilina –Eosina**

### **Contenidos:**

Coloración núcleo / citoplasmática. Preparación de la Hematoxilina de Harris y Mayer. Técnica de Masson: Tricromica para diferenciar tejido muscular de tejido conectivo. Otros métodos tricromicos de importancia clínica. Técnica de Weigert para elastina. Preparaciones. Fundamento físico-químico de las técnicas.

## **Unidad N° 9: Histoquímica**

### **Contenidos:**

Concepto y generalidades. Técnica de Bauer para hidratos de carbono. Sudan para lípidos. Perls para depósito de hierro. Rojo Congo para amiloide. Técnica de Azul de Toluidina y Azul de Alciano para proteoglicanos ácidos. Ziehl Neelsen para micobacterias. Giemsa para helicobacter pyloris. Brachet y Feulgen para ácidos nucleicos. Otros métodos de importancia para Anatomía Patológica.

## **Unidad N° 10: Impregnaciones Metálicas**

### **Contenidos:**

Concepto y generalidades. Técnicas argénticas, osmicas, auricas y de metales pesados. La impregnación, revelado y fijación del metal depositado. Método de Bielchowsky, Von Kossa, Warthin Starry y AgNOR. Técnicas de aplicación para tejido nervioso. Nitración para mesotelios. Impregnación en cortes y en bloque. Técnicas para el estudio de Muestras Óseas: conceptos generales. Métodos de descalcificación. Reactivos Decalcificantes. Concentración, tiempo y temperatura de descalcificación. Método de pulimentación y Petrificación. Fundamentos.

## **Unidad N° 11: Enzimohistoquímica**

### **Contenidos:**

Concepto y generalidades. Enzimas: clasificación. Sustratos. Reacciones interespecificas. Técnicas de aplicación: Fosfatasa ácida y alcalina. Peroxidasa, Succino-deshidrogenasa y DOPA-oxidasa. Precauciones. Inmunohistoquímica: concepto y generalidades. Antígeno y anticuerpo. Reacción Antígeno Anticuerpo. Anticuerpos primarios, secundarios y monoclonales. Marcadores enzimáticos y fluorescentes. Concepto de sensibilidad y especificidad de una prueba inmunohistoquímica. Técnicas directas e indirectas. Precauciones. Marcadores tumorales. Controles de calidad. Otras técnicas de importancia clínica.

## **Unidad N° 12: Métodos para Microscopia Electrónica de Transmisión**

### **Contenidos:**

Generalidades. Obtención y fijación de las muestras. Post fijación. Inclusión. Ultra micrótomos. Cuchillas de vidrio y de diamante. Los Cortes: finos y semifinos. Grillas. Coloraciones particulares: colorantes electrodensos. Métodos para Microscopia Electrónica de Barrido: generalidades. Obtención de las muestras. Fijación. Congelación-Desecación. Fijación al punto crítico: diagrama de fases del agua. Líquidos transicionales. Sombreado de la muestra.

## **Unidad N° 13: La Organización Administrativa del Laboratorio de Histotecnología**

### **Contenidos:**

Archivo de las piezas y bloque de inclusión. Preparadoteca. Informes.

## **Práctico N° 1: "Reconocimiento del Laboratorio de Histotecnología. Normativas de Bioseguridad".**

### **Contenidos:**

- Reconocimiento del laboratorio de Histotecnología.
- Reconocimiento de salidas de emergencia y roles individuales frente a accidentes.
- Uso de microscopio común

### **Objetivos:**

- Conocer las generalidades de las actividades que se realizan en este laboratorio. -
- Adiestrarse en el uso del microscopio óptico común (M.O.C.).
- Observar las principales normas de Bioseguridad.

## **Práctico N° 2: "La Célula"**

### **Contenidos:**

- Técnica de Azul de Metileno para mucosa bucal
- Técnica de Marck para determinar distintos estadios de Mitosis
- Generalidades

### **Objetivos:**

- Asimilar los conceptos teóricos a partir de la observación microscópica.
- Determinar los diferentes estados celulares.
- Diferenciar las células de los distintos tipos de organismos vivos.

## **Práctico N° 3: "Los Tejidos"**

### **Contenidos:**

- Introducción teórica
- Preparado histológico de glándula salival (HE y ATO)
- Generalidades

### **Objetivos:**

- Determinar las características estructurales y funcionales de cada tejido.
- Diferenciar y relacionar las propiedades de los distintos tejidos.

## **Práctico N° 4: "Obtención y fijación de las muestras"**

### **Contenidos:**

- Preparación de reactivo fijador
- Obtención de muestras

- Preparación de bolsas
- Fijación

**Objetivos:**

- Reconocer la importancia que tiene la correcta utilización de los instrumentos y reactivos empleados en cada técnica.
- Comenzar a utilizar vocabulario específico dentro de la Histotecnología
- Conocer las funciones del Técnico dentro del laboratorio.

### **Práctico N° 5: "Inclusión en parafina"**

**Contenidos:**

- Deshidratación
- Reactivos intermediarios
- Preimpregnación
- Inclusión propiamente dicha

**Objetivos:**

- Aprender una de las técnicas de rutina más utilizadas en todos los laboratorios de Histotecnología.
- Determinar lo imprescindible de la química para la elección de diferentes reactivos
- Comprobar la importancia de los solventes utilizados para esta operación.

### **Práctico N° 6: "Cortes Histológicos"**

**Contenidos:**

- Montaje del bloque o taqueo
- Micrótomos
- Navajas
- Cortes

**Objetivos:**

- Asimilar el manejo adecuado del micrótomos y de sus partes.
- Lograr habilidad en la obtención de cortes.

### **Práctico N° 7: Aplicación integrada de cortes e inclusión**

### **Práctico N° 8: Integración I (instancia de Evaluación Práctica**

### **Práctico N° 9 y N° 10: "Repaso"**

### **Práctico N° 11: "Coloraciones. Técnicas Empíricas I**

**Contenidos:**

- Aspectos teóricos
- Técnicas de coloración. Maniobras de coloración

**Objetivos:**

- Determinar la importancia de las clases de coloraciones.
- Percibir lo indispensable de la química en los colorantes y sus estructuras.
- Lograr manejar a la perfección la principal técnica de rutina.



## **Práctico N° 12: "Métodos de Tinción. Técnicas Empíricas II. Técnicas Tricromicas".**

**Contenidos:**

- Técnica de tinción
- Observación Microscópica

**Objetivos:**

- Desarrollar habilidad para el manejo de estas técnicas de rutina.
- Reconocer la importancia de la aplicación de las mismas para la diferenciación de estructuras.

## **Práctico N° 13: "Métodos de Tinción. Técnicas Histoquímicas I. Técnicas de PAS".**

**Contenidos:**

- Técnica de tinción
- Observación microscópica

**Objetivos:**

- Diferenciar las técnicas histoquímicas de las empíricas.
- Comprobar la importancia de la acción química entre las moléculas colorantes y las estructuras del tejido.

## **Práctico N° 14: "Métodos de Tinción. Técnicas Histoquímicas II. Técnicas de ATO-AB"**

**Contenidos:**

- Técnica de tinción
- Observación microscópica

**Objetivos:**

Evidenciar las características químicas de los colorantes y su acción sobre estructuras específicas.

## **Práctico N° 15: "Aplicación integrada II" (instancia de evaluación práctica).**

## **Práctico N° 16: "Repaso".**

## **Práctico N° 17: "Microscopía"**

## **Práctico N° 18: "Generalidades de Enzimo histoquímica e Inmuno histoquímica"**

**Contenidos:**

- Técnicas de tinción
- Observación microscópica

**Objetivos:**

- Diferenciar este tipo de técnicas de las técnicas histoquímicas y empíricas.
- Asumir la importancia de las mismas dentro de las técnicas de laboratorio de rutina.
- Realizar una experiencia en técnicas de Enzimo histoquímica.

**Práctico N° 19: "Métodos de tinción. Otras técnicas de Coloración"**

**Contenidos:**

- Técnicas de tinción
- Observación microscópica

**Objetivos:**

- Conocer y aplicar otras técnicas de importancia dentro de los laboratorios de Anatomía Patológica.

## **METODOLOGÍA DE ENSEÑANZA- APRENSIZAJE**

Las actividades de esta asignatura se llevarán a cabo a modo expositivo, complementando con medios audiovisuales (cañón, filminas, diapositivas) y lectura de textos, de manera tal que le permita al educando receptar la información que se le brinda y por ende la construcción del conocimiento.

Otros recursos didácticos utilización de pizarrón, marcadores de colores, microscopios, frotis con coloraciones de tejidos.

Las actividades teóricas de esta asignatura no son obligatorias para los alumnos regulares.

Las actividades prácticas de esta asignatura son obligatorias. El dictado de las mismas son tutoriales y personalizadas, ya que se basan en el aprendizaje sobre aparatología

histotecnológica y microscopios, motivo por el cual el docente deberá con sus estrategias de enseñanza - aprendizaje lograr que el alumno pueda reconocer, relacionar, interpretar, ejercitar y aplicar todo lo inherente a la histotecnología.

## **EVALUACION**

Tipos y metodología de evaluación que implementa en su asignatura:

**Inicial:** de diagnóstico - constatación de los diferentes saberes previos.

**De proceso:** de acompañamiento y seguimiento de las distintas actividades.

**Final:** de comprobación - consolidación – aplicabilidad.

Criterios de evaluación en cada una de ellas:

- **De Inicio:** calidad de saberes previos - capacidad de relación - de agrupamiento.
- **De proceso:** capacidad de análisis y síntesis - de comparación y descripción - claridad conceptual de estudio - responsabilidad y cuidado en el manejo del instrumental - calidad del trabajo Grupal.
- **Final:** de retención - relación - transferibilidad - de trabajo en equipo - precisión conceptual.

Régimen de aprobación:

**Exámen parcial:** Se tomara 3 exámenes parciales en forma escrita, con nota individual. Con sistema de preguntas estructuradas (de opción múltiple) y no estructuradas (Respuestas a desarrollar). Que podrá recuperar el mismo por inasistencia justificada dentro de las 48 horas y/o por aplazo si tiene el 80% de los trabajos practicos aprobados y asistencia del 100% de los mismos.

**Exámen Final:**

Los alumnos regulares que aprobaron los contenidos teorico- prácticos: Se tomara 1 exámen final en forma procedimental y escrita. Con sistema de preguntas estructuradas (de opción múltiple) y no estructuradas (Respuestas a desarrollar).

**Alumnos que no aprobaron la parte práctica ni Teórica serán considerados como Libre.**

**Actividades de especiales**

- 1- Realización de un video por comisión de trabajo práctico que muestre el recorrido del Método Histológico desde la experiencia práctica en el laboratorio.
- 2- Visita de prestigiosos profesionales en el área Histotecnología, Anatomía Patológica y Ciencias Forenses, compartiendo sus experiencias en el marco de las actividades teóricas.

**Bibliografía**

- Libro de Catedra Teorico Practico