

COMUNICACIÓN BREVE

Propuesta de una técnica citológica de coloración rápida

Proposal of a cytological technique for fast staining

MsC. Rafael Escalona Veloz^I y Lic. Mailén Ochoa Roget^{II}

^I Hospital General Docente "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso", Santiago de Cuba, Cuba.

^{II} Hospital Universitario "Dr. Ambrosio Grillo Portuondo", Santiago de Cuba, Cuba.

RESUMEN

En este trabajo se presenta un nuevo método de coloración de tipo Romanowsky, para las muestras celulares obtenidas por punción aspirativa con aguja y los líquidos orgánicos, que consiste en una modificación de la técnica de tinción de May Grünwald-Giemsa, teniendo en cuenta la escasez de materiales y reactivos necesarios para la preparación del procedimiento original y de la técnica de Diff-Quick® en los laboratorios de Anatomía Patológica de la provincia de Santiago de Cuba. Luego de probar con diferentes disoluciones, mediante el método de ensayo y error, se obtuvo una proporción que resultó adecuada para los fines perseguidos.

Palabras clave: métodos de coloración, técnicas citológicas, laboratorios de Anatomía Patológica.

ABSTRACT

In this work a new staining method of Romanowsky type is presented, for the cellular samples obtained through aspirative puncture with needle and the organic liquids, consisting in a modification of the staining technique of May Grünwald-Giemsa, keeping in mind the scarcity of materials and necessary reagents for the preparation of the original procedure and of Diff-Quick® technique in the Pathology laboratories from Santiago de Cuba province. After proving with different dissolutions, by means of the assay and error method, a proportion was obtained which was appropriate for the proposed aims.

Key words: staining methods, cytological techniques, Pathology laboratories.

INTRODUCCIÓN

La coloración de las muestras celulares tomadas por punción aspirativa con aguja y de los líquidos orgánicos, puede realizarse mediante varias técnicas citohistológicas, de las cuales las más utilizadas han sido la de hematoxilina-eosina rápida, la de Papanicolaou, de May Grünwald-Giemsa y la de Diff-Quick®.¹⁻⁴ La tendencia de los últimos años ha sido utilizar aquellas que sean rápidas, a la vez que eficaces, para ofrecer el diagnóstico al paciente en la misma consulta. Cada citopatólogo debe utilizar la que le resulte más cómoda y con la que esté más familiarizado.

Así, también pueden emplearse diversas coloraciones histoquímicas para demostrar la presencia de estructuras y sustancias celulares que no se hayan hecho visibles con otra coloración, como la plata metanamina de Grocott, para la identificación de hongos; el ácido peryódico de Schiff, en el caso de mucinas y bacterias; la técnica de Ziehl-Neelsen, para bacilos ácido-alcohol resistentes; el azul de Alciano, en la detección de mucinas; el azul de Prusia, en la identificación de hierro; el método de Fontana-Masson, en la identificación de melanina; el de Grimelins, para la identificación de gránulos argirófilos; el de Gomori, en la confirmación de microorganismos; el de Fouchet, para pigmentos biliares; la tinción rojo Congo, en la detección de amiloidosis y la tinción *Red Oil O*, para identificar lípidos, entre otros.⁵⁻⁷

DESARROLLO

En tiempos en que la inmensa mayoría de los trabajos sobre estudios histológicos y citológicos se refieren a técnicas de microscopía electrónica y coloraciones inmunohistoquímicas, surge la interrogante de si sería oportuno y conveniente insistir en la búsqueda de nuevas técnicas y métodos de tinción para visualizar los componentes celulares bajo el microscopio de luz.

Los autores de este trabajo opinan que sí. Por tal razón se experimentó mediante el método de ensayo y error con diferentes colorantes metacromáticos como el Giemsa, el azul de toluidina y el cristal violeta a disoluciones diversas, hasta llegar a una proporción que diera resultados similares a los obtenidos con el procedimiento convencional del May Grünwald-Giemsa (MGG); los mejores resultados fueron obtenidos con el Giemsa en las proporciones que serán descritas más adelante.

Las muestras citológicas por punción, después de obtenidas, y los líquidos orgánicos, luego de centrifugados y extendidos los sedimentos, fueron fijados en seco al aire ambiental y luego coloreados mediante el procedimiento diseñado.

Modificación de la técnica de tinción de May Grünwald-Giemsa

- Modo de preparación de las disoluciones

Disolución 1 de May Grünwald-Giemsa:

- Reactivo de May Grünwald-Giemsa en polvo: 8 miligramos
- Alcohol absoluto: 1 000 mL

Disolución 2 de Giemsa (cantidad suficiente para colorear las láminas, según proporción):

- Disolución comercial de Giemsa a 1 %: 3 gotas
- Agua corriente: 1 mL

- Procedimiento tecnológico

Verter sobre las láminas en posición horizontal, unas gotas de la disolución 1 de May Grünwald-Giemsa y dejar por espacio de 5 minutos.

- Decantar el exceso del colorante.
- Verter sobre las láminas unas gotas de la solución 2 de Giemsa por espacio de 15 minutos.
- Decantar el exceso de colorante.
- Lavar en agua corriente.
- Secar las láminas al horno por espacio de 3-5 minutos, o al aire libre.

– Observar al microscopio sin montar.

El método de coloración de May Grünwald-Giemsa reactivo puede sustituirse por el azul de toluidina o el cristal violeta, pero en cantidades inferiores, y aunque las características de coloración no son similares a las proporcionadas por el MGG y los detalles celulares resultan difíciles de interpretar, estos permiten diferenciar perfectamente las muestras que den negativo de las que den positivo.

Al respecto, se ofrecen imágenes obtenidas por el método convencional (figura 1) y el propuesto por los autores del presente artículo (figura 2).

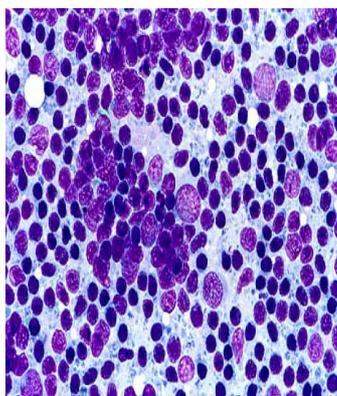


Fig. 1. Coloración obtenida con el MGG convencional

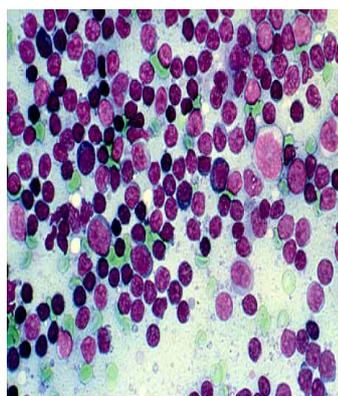


Fig. 2. Coloración obtenida con el MGG modificado

Como pudo apreciarse, la modificación de la técnica de tinción de May Grünwald-Giemsa es un procedimiento rápido, fácil de realizar, que no requiere varios productos e insumos (como fijadores, alcohol metílico, medios de montaje, láminas cubreobjetos, azida de sodio, entre otros), y que cuando se utiliza el colorante en polvo de MGG los resultados son similares a los obtenidos por la técnica original y la de Diff-Quick®.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wu M, Idrees M, Zhang Z, Genden E, Burstein DE. Papanicolaou stain may not be necessary in majority of head and neck fine-needle aspirations: Evidence from a correlation study between Diff-Quik-based onsite diagnosis and final diagnosis in 287 head and neck fine-needle aspirations. *Diagn Cytopathol.* 2010; 38(11): 846-53.
2. Gonçalves AJ, Menezes MB, Kavabata NK, Bertelli Antonio AT, Souza Ricardo AS, Joelsons D. Punção aspirativa nos tumores das glândulas salivares: especificidade e sensibilidade. *Rev Assoc Med Bras.* 2007 [citado 9 Apr 2012]; 53(3): 267-71. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302007000300027&lng=en
3. Palomeque Castro B, Ramos Pastor A, Varona Esquivel G. Tinción de Giemsa para histología. Dos protocolos de actuación. *Actas del IX Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y II Congreso de Preparaciones Virtuales.* 1 May-31 Jun 2007; Ciudad Real. Madrid: CGCOM; 2007 [citado 14 Jun 2012]. Disponible en: http://www.conganat.org/9congreso/trabajo.asp?id_trabajo=606&tipo=3

4. Figueredo Thiel S. Diagnóstico citohistoquímico sistemático en biopsias de médula ósea y citologías hematológicas en el Paraguay. *An Fac Cienc Méd (Asunción)*. 2005 [citado 15 Jul 2012]; 38(1-2). Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1816-89492005000100002&script=sci_arttext&tlng=es
5. Kocjan G. *Fine needle aspiration cytology: diagnostic principles and dilemmas*. New York: Springer; 2006.
6. Parrilla Delgado ME, López Soto MV, Valls Pérez O. Generalidades. En: *Atlas de ecocitopatología diagnóstica en las lesiones abdominales*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2006.
7. Escalona Veloz R. Punción aspirativa con aguja fina para el diagnóstico de tumores en anatomía patológica. *MEDISAN*. 2012 [citado 1 Jul 2012]; 16(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1029-30192012000200013&script=sci_arttext

Recibido: 2 de agosto de 2013.

Aprobado: 28 de agosto de 2013.

Rafael Escalona Veloz. Hospital General Docente "Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso", avenida Cebreco, km 1½, reparto Pastorita, Santiago de Cuba, Cuba. Correo electrónico: escalona@medired.scu.sld.cu