

Guía toma de muestras de Anatomía Patológica

Indicaciones para la toma de muestras de biopsia y citología y su remisión al Laboratorio
Revisión de los aspectos generales y guía de muestreo por órganos y tejidos

I. TIPOS DE BIOPSIA.....	2
Biopsia escisional.....	2
Biopsia incisional.....	2
II. FIJACIÓN Y REMISIÓN DE LAS MUESTRAS (BIOPSIAS).....	2
Dilución del Formol.	2
Los envases.....	3
¿Cómo procesar las piezas grandes?	3
¿Y las piezas muy pequeñas?	4
Consejos para otros tipos de muestras	4
La identificación de márgenes quirúrgicos.....	5
III. FIJACIÓN Y REMISIÓN DE MUESTRAS (CITOLOGÍAS).....	5
Punción y aspiración con aguja fina (PAAF).....	5
Líquidos (abdominal, torácico, pericárdico)	6
Líquido Cefalorraquídeo.....	6
IV. HOJA DE SOLICITUD.....	6

I. TIPOS DE BIOPSIA

En función del tipo de lesión, la información que deseamos obtener o la planificación terapéutica que hayamos diseñado escogeremos entre los siguientes tipos de biopsia:

Biopsia escisional

Extirpación completa de un órgano o de una lesión. Se aplica a lesiones nodulares abordables quirúrgicamente (sobre todo cutáneas) o a órganos completos como el bazo o los ganglios linfáticos.

Biopsia incisional

Extirpación parcial de un órgano, un tejido o una lesión. Aplicable a:

- Tumores de partes blandas de difícil acceso.
- Optimización de la planificación quirúrgica de tumores accesibles. Necesitamos un diagnóstico para determinar el grado de agresividad quirúrgica que aplicaremos.
- Biopsias no tumorales de procesos difusos (biopsia hepática, renal, cutánea, gastrointestinal).

Existen diversas **herramientas y técnicas** para la toma de biopsias incisionales (Tru Cut[®], *punch*, sección directa con bisturí, biopsia endoscópica, biopsia con aguja de Jamshidi, etc).

II. FIJACIÓN Y REMISIÓN DE LAS MUESTRAS (BIOPSIAS)

El **objetivo** de la fijación es preservar las células y sus componentes internos, evitando la degradación que se inicia desde el mismo momento en que privamos al tejido de aporte sanguíneo (autólisis).

El **fijador de rutina** en Anatomía Patológica es el Formaldehído (CH₂O), un aldehído gaseoso que se satura en agua a una concentración de entre el 37 y el 40% y que es lo que conocemos como **Formol**. El formol induce cambios físicos, creando **puentes** tanto intra como intermoleculares. De esta forma quedan “congeladas” las estructuras celulares, incluyendo enzimas catalíticos y microorganismos, evitándose su degradación.

Dilución del Formol

La solución saturada **se diluye** en agua al **10%** (1 parte de formol y 9 de agua)¹. De forma ideal debería tamponarse para evitar la oxidación y la consiguiente formación de ácido fórmico, el cual reacciona con la hemoglobina formando un pigmento que puede confundirse al microscopio con microorganismos o con otras formas de pigmento natural (hemosiderina, melanina).

La fijación debe iniciarse en los primeros **30 minutos** tras la extracción. A ser posible, de forma inmediata.

¹ En ocasiones existen dudas sobre la forma de hacer la dilución por el hecho de que el formol que adquirimos al proveedor lleva la indicación “37%” o “40%”. Esta es, de hecho, la forma más pura de formol (es una solución saturada), por lo que no hay que hacer cálculos: 1 parte de formol al 37-40% y 9 de agua.

Los envases

Los **envases** deben ser de plástico, de boca ancha, con volúmenes no superiores a 1L y deben ir bien identificados con las etiquetas adhesivas que proporciona el Laboratorio. Es importante recordar que el ancho de boca del contenedor debe ser superior al tamaño de muestra. Los tejidos, una vez fijados, se endurecen, y aquel tejido que entró sin grandes dificultades cuando estaba fresco no podrá salir una vez fijado sin tener que romper o cortar el envase. Es aconsejable no emplear contenedores de cristal por el riesgo de rotura durante el transporte.

El contenedor debe viajar en una **bolsa de plástico** (proporcionada también por el Laboratorio) que evite la salida de líquidos en caso de rotura.



Los envases de boca estrecha pueden dificultar la salida de la pieza



Las muestras deben viajar en flotación, con espacio suficiente para evitar su deformación

¿Cómo procesar las piezas grandes?

Para las muestras muy grandes (piezas de amputación, esplenectomías, lobectomías, etc.) existen cuatro opciones:



La sección parcial de piezas grandes facilita la fijación.

1. Remitir la pieza **refrigerada** (no congelada) mediante el uso de placas frías. El transporte, salvo en casos excepcionales, dura un máximo de 24 horas, durante las cuales el tejido se conserva bien a baja temperatura.

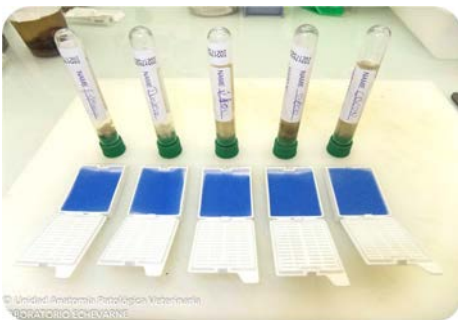
2. **Prefijar** la pieza en la Clínica durante 48-72 horas y posteriormente remitirla envuelta en dos bolsas de plástico y un contenedor rígido de *porexpan* o plástico. Es buena idea practicar secciones incompletas de la pieza de aproximadamente 1 cm de grosor para facilitar la fijación.

3. Partir la pieza en **secciones separadas** y remitirlas en envases distintos, adecuadamente identificados. Conviene adjuntar una fotografía anotada o un esquema que permita al patólogo reconstruir la pieza.

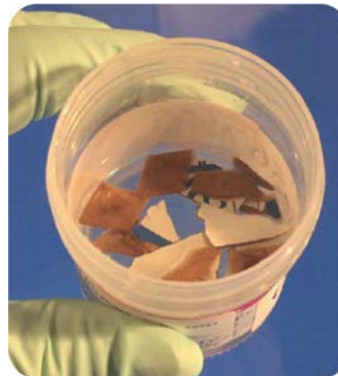
4. Remitir únicamente una **parte de la pieza**, aceptando que no podrán evaluarse los márgenes correctamente. El resto de la pieza debería conservarse hasta que el estudio patológico haya concluido.

¿Y las piezas muy pequeñas?

Las **muestras endoscópicas** o de tamaño endoscópico conviene remitirlas en tubos de plástico con cierre hermético correctamente identificados (código identificador y tipo de muestra, p.ej. “estómago”, “nariz izquierda”, etc.). No son recomendables los contenedores de tipo *Eppendorf* por la facilidad con que se abren durante el transporte. Tampoco es recomendable el empleo de **soportes** (cartón, papel, etc.), siendo preferible que las muestras viajen en **flotación**. Debido a la inevitable presencia de cierto grado de artefactuación en este tipo de muestras, es aconsejable remitir **múltiples piezas**.



Ejemplo de muestras endoscópicas gastrointestinales. Cada zona anatómica se remite en un contenedor identificado.



Evite el uso de soportes rígidos para las muestras endoscópicas.

Consejos para otros tipos de muestras

Para **órganos luminales** (intestino, útero, etc.) es buena idea perfundir formol en su interior. En el caso de secciones largas es recomendable practicar un corte longitudinal parcial que no implique los bordes de corte o la zona lesión en caso de tratarse de una masa.

Para muestras **planas y delgadas** (estómago, vejiga urinaria, etc.) puede resultar útil su fijación a una superficie rígida mediante suturas (no grapas ni agujas).

Los **globos oculares** deben remitirse completos, preferiblemente con un esquema que oriente en la localización de la lesión.

El **encéfalo** debe remitirse completo, sin practicar cortes transversales. Es recomendable, de ser posible, una prefijación en clínica de 48-72 horas con un volumen importante de formol. El envío puede hacerse entonces con un volumen mínimo.

Las muestras de **músculo esquelético** también se benefician de una fijación sobre soporte rígido que evite la retracción que induce el formol.

Si se remiten **múltiples nodulaciones** de un mismo paciente, deben ir correctamente identificadas en envases individualizados o bien marcadas con hilo de sutura en el mismo envase. La información de identificación debe constar en la hoja de solicitud. Evite la descripción macroscópica de las piezas porque muchos aspectos cambian durante la fijación (textura, color, etc.).

La identificación de márgenes quirúrgicos

Identificar los márgenes de una pieza quirúrgica para su posterior valoración aporta una información pronóstica muy valiosa en procesos neoplásicos. Para facilitar la comunicación entre el cirujano y el patólogo es útil en muchos casos identificar la orientación de dichos márgenes, de manera que el patólogo sepa si está evaluando un margen rostral, caudal o profundo. Para identificar los puntos cardinales de una pieza existen diversas técnicas. Revisamos tres de ellas a continuación:

1. El marcaje con **tinta china**: mediante el empleo de tintas de distintos colores visibles macro y microscópicamente el patólogo puede saber en todo momento qué margen está afectado o está libre de neoplasia. Para ello, la tinta china es ideal por insolubilidad en agua y su persistencia durante el procesamiento de los tejidos.

La coloración de la pieza debe realizarse en fresco, antes de la fijación. Para ello, se seca la superficie de la pieza con papel absorbente y se pintan los distintos márgenes (con colores distintos si es necesario). La pieza debe secarse 5-10 minutos antes de su inmersión en formol.



Ilustración 1 El marcaje con tinta china es una de las mejores soluciones para la identificación de márgenes quirúrgicos. (Fuente: Kamstock, DA. Vet Pathol 48(1):19-31, 2011).

Existen kits de pintura especializados, pero marcas como *Pelikan* o *Staedler* comercializan también tinta china de colores distintos.

2. El marcaje con **suturas** es otra alternativa, aunque tiene la desventaja de que la referencia no es visible microscópicamente. La orientación puede indicarse mediante número de suturas (rostral dos suturas, caudal una sutura, etc.) o mediante color del hilo. No es buena idea indicar la composición del hilo como referencia.
3. Una vez extraída la pieza quirúrgica, pueden tomarse muestras del lecho y remitirse en envases separados e identificados (“lecho rostral”, “lecho profundo”, etc.).

En todos los casos, la hoja de solicitud debe indicar las instrucciones para la interpretación de las marcas.

III. FIJACIÓN Y REMISIÓN DE MUESTRAS (CITOLOGÍAS)

Punción y aspiración con aguja fina (PAAF)

- Útil para lesiones nodulares cutáneas y subcutáneas.
- Útil para lesiones nodulares viscerales con la ayuda de ecografía.
- Es aconsejable muestrear **múltiples zonas** de la lesión para asegurar la obtención de celularidad viable y representativa.
- Utilice el diámetro de **aguja** adecuado. En caso de duda, utilice uno fino y otro grueso.
- En lesiones muy hemorrágicas es preferible un diámetro reducido.
- En lesiones de consistencia alta es preferible un diámetro mayor.

- En lesiones duras y superficiales puede ser preferible un raspado. En caso de duda, combine técnicas.
- En algunos casos es útil la punción **sin aspiración**, reduciendo la contaminación hemática.
- Una vez obtenida la muestra realice las extensiones de forma **inmediata**. Emplee tantos portaobjetos como hagan falta.
- Deje **secar** las preparaciones 5-7 minutos.
- **FIJE LAS EXTENSIONES**, una vez secas, sumergiéndolas en **metanol o etanol**. Si utiliza Diff-Quick[®], el primer líquido de la batería contiene metanol. Asegúrese de que la parte alcohólica no se ha evaporado!! (la tasa de evaporación del metanol es del 37%/24 horas para envases abiertos, del 1% en envases cerrados).
- La **tinción** de una o todas las preparaciones es **opcional**, recomendable en caso de existir dudas sobre la calidad de la muestra. Permite, si fuera necesario, la repetición de la toma de muestra mientras el paciente sigue en consulta y evita remitir muestras no útiles al laboratorio.
- **IDENTIFIQUE** todas las preparaciones con etiqueta de código o con el nombre del animal. En caso de punciones de múltiples zonas anatómicas, indíquelo (ej.: “nódulo”, “ganglio”). La identificación debe ir en la misma cara del portaobjetos que la muestra.
- Prepare los portaobjetos para su envío, preferiblemente en cajas de plástico rígido. Evite el contacto de la superficie de muestra con cualquier otra superficie (otros portaobjetos, cubreobjetos, etc.).

Líquidos (abdominal, torácico, pericárdico)

- Remita muestra del líquido en **tubos** adecuados (con EDTA si hay sangre, estériles si requiere también cultivo, etc.).

Líquido Cefalorraquídeo

- Vea indicaciones en la [Guía de LCR](#).

IV. HOJA DE SOLICITUD

La Hoja de Solicitud es el **medio de comunicación** esencial entre la Clínica, el personal técnico y el patólogo. Existen dos **formatos**, uno para [Biopsias y Citologías](#) y otro para [Necropsias](#). La hoja genérica de solicitud de análisis debe acompañar a la hoja de solicitud de Anatomía Patológica. En la primera constan datos fundamentales como la especie, la edad, la raza, el sexo y el nombre del paciente. La segunda está diseñada para que conste toda la información relevante que permita interpretar correctamente las biopsias y las citologías.

Los siguientes puntos le facilitarán la revisión de toda la información útil:

- **Historia clínica específica** de la lesión: sitio anatómico lo más preciso posible (ej, es más correcto indicar “región tiroidea” que “región cervical”), fecha de detección de la lesión, tasa de crecimiento, etc.).
- **Signos** clínicos asociables a la lesión (cojera, vómito, etc.).
- **Tipo de lesión**: lesión nueva, segunda cirugía de ampliación de márgenes, biopsia escisional tras una primera biopsia incisional, recidiva local, etc.).
- **Historia clínica general** (antecedentes de neoplasia, etc.).
- **Tratamiento**, local y sistémico.
- Hemogramas, Bioquímicas y otras analíticas.
- Resultados de **pruebas anteriores** (citología, biopsias previas, radiografías, ecografías, TAC).