



## Fijación y decalcificación biopsias médula ósea

Blanca Palomeque Castro\*, Alfredo Ramos Pastor\*, Gima Varona Esquivel\*\*

\* Hospital Universitario Príncipe de Asturias (HUPA) Alcalá de Henares. Madrid ESPAÑA

\*\* Hospital Universitario Guadalajara ESPAÑA

### Resumen

Son varios los motivos que nos han llevado a proponer este foro de discusión sobre distintos métodos de fijación y decalcificación de biopsias de médula ósea (BMO):

- Un buen procesamiento de estas muestras es fundamental para el diagnóstico de las patologías del sistema hematopoyético (en especial neoplasias).
- Cada vez es mayor el número de BMO que llegan a los Servicios de Anatomía Patológica, por lo que es conveniente encontrar un método que, además de eficaz, pueda integrarse lo más posible en la rutina del laboratorio.
- Es un material escaso sobre el que no es factible realizar "experimentos" sin unas mínimas garantías de obtener resultados de calidad.
- El hecho de tener que aplicar sobre estas biopsias un procedimiento agresivo como es la decalcificación, nos obliga a ser rigurosos durante todo el procesamiento y a realizar las mínimas manipulaciones necesarias. Por otra parte, la necesidad cada vez mayor de utilizar técnicas inmunohistoquímicas, restringe las posibilidades, por tener que preservar los antígenos.
- La fijación y decalcificación de BMO es uno de los procedimientos con mayores variaciones entre los distintos laboratorios, desde kits comerciales basados en fijación en B5 y decalcificación en EDTA, hasta fijación formólica y decalcificación con ácidos orgánicos en "recetas personalizadas".

Por tanto, pensamos que puede ser muy útil para todos la puesta en común de los procedimientos usados en nuestros laboratorios, comentando si se ha cambiado de método, el porqué de dicho cambio en su caso, y las ventajas e inconvenientes que apreciamos en los métodos utilizados.

Para comenzar, exponemos la sistemática utilizada en nuestro laboratorio: Habitualmente se reciben dos muestras de cada paciente:

- Un coágulo procedente de aspirado de médula ósea, que se recibe en formol tamponado; a la recepción se cambia este fijador por B5 comercial, dejándolo fijar 4 horas, posteriormente se pasa a etanol 70 en el que se conserva hasta el momento de su procesado.
- La otra muestra es un cilindro óseo extraído de cresta iliaca de entre 2-4 cm de longitud y 0,1-0,2 cm de diámetro. Se recibe también en formol tamponado y se deja fijar hasta el día siguiente a primera hora en que se sustituye el fijador por una solución decalcificadora (Formol salino-Acético) compuesta por:

- Agua destilada..... hasta 1l.
- Cloruro sódico..... 8.5 gr
- Acido acético..... 100 ml
- Formol puro..... 100 ml

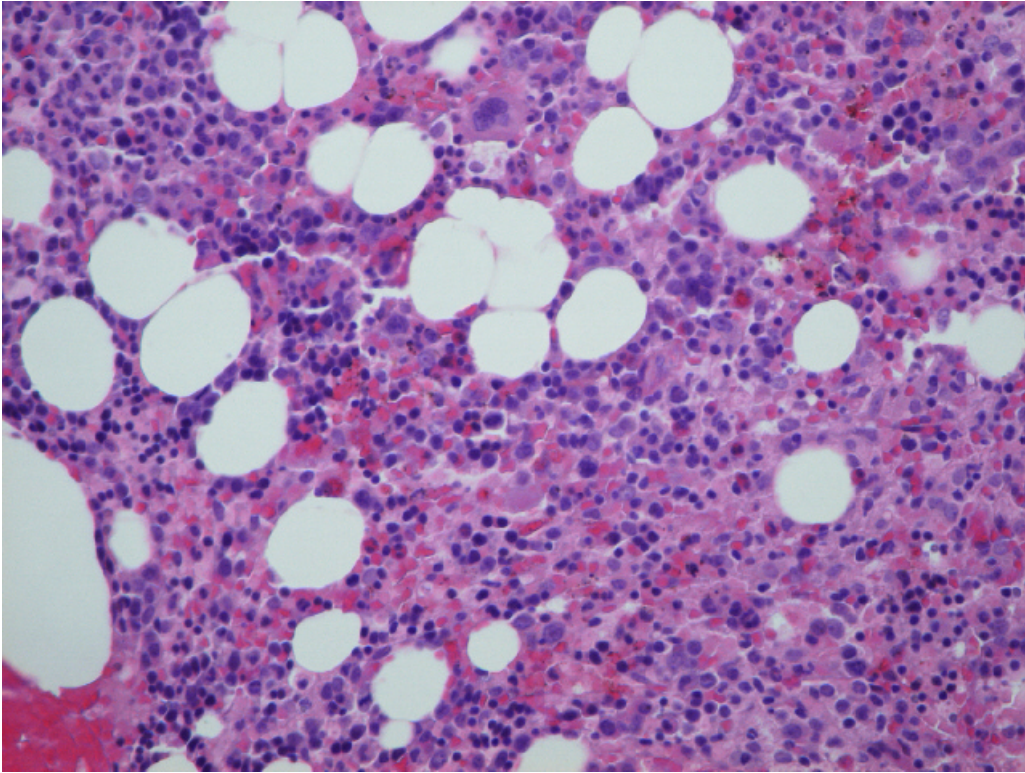
Al final de la jornada se comprueba el estado de decalcificación de la pieza, pasando a procesarla si es posible. En caso de seguir calcificada, se coloca de nuevo en formol y al día siguiente se comienza de nuevo el procedimiento. (También puede dejarse en decalcificador toda la noche, pero a veces el tiempo ha resultado excesivo y se han alterado notablemente las células) Aunque en general se obtienen buenos resultados, tanto en tinciones de rutina como en inmunohistoquímica, los continuos cambios de soluciones y el tener varios cilindros en distintas fases del proceso (pues todos los días llegan muestras), hacen engorroso el procedimiento.

Otro procedimiento usado ha sido fijar y decalcificar simultáneamente en líquido de Bouin

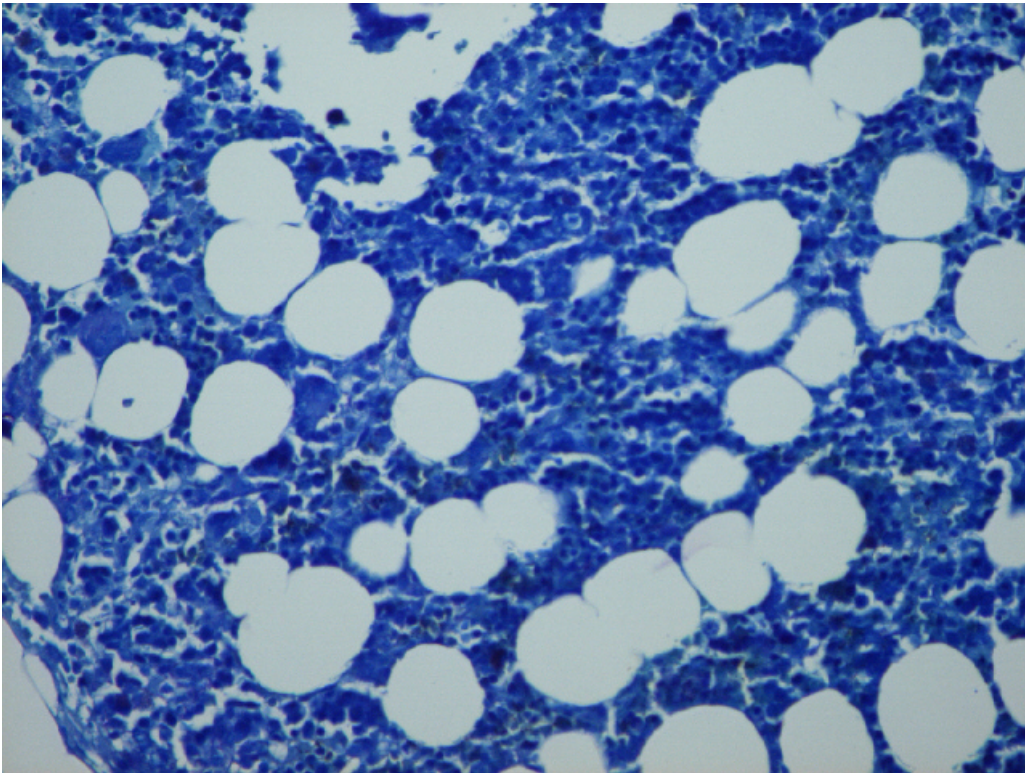
- Acido picrico a saturación en agua destilada..... 750 ml
- Formol puro..... 250 ml
- Acido acético glacial..... 50 ml

Una vez decalcificada la muestra debe lavarse en etanol 70 hasta que desaparezca el color amarillo. Las muestras pueden mantenerse decalcificando en líquido de Bouin 2 ó 3 días con buenos resultados en técnicas de rutina, no hemos realizado técnicas inmunohistoquímicas.

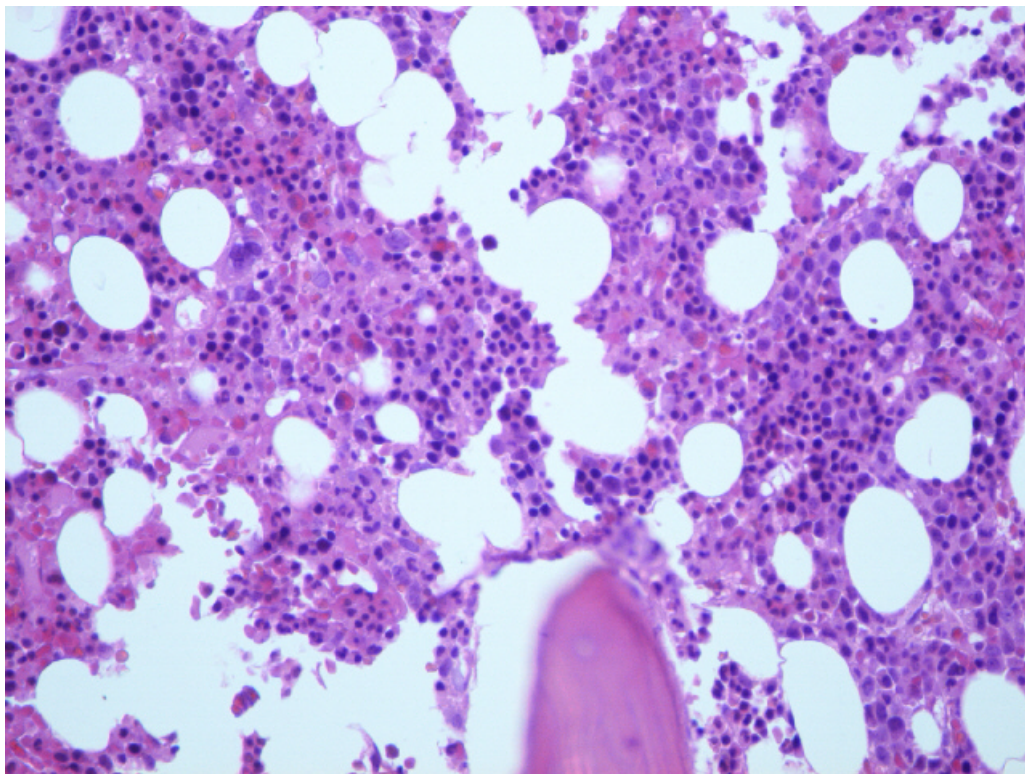
Presentamos cuatro fotografías de una biopsia seccionada por la mitad en cada uno de los cuales se utilizó uno de los métodos expuestos de fijación y decalcificación. Como se puede observar en la muestra fijada en Bouin (fotos 3,4) hay mayor cantidad de material y su calidad también es superior. Pensamos que puede ser debido a una mejor decalcificación y por tanto mayor integridad de la pieza al corte en el microtomo. Esperamos vuestros comentarios, especialmente si tenéis experiencia en la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas con BMO fijadas y decalcificadas en Bouin.



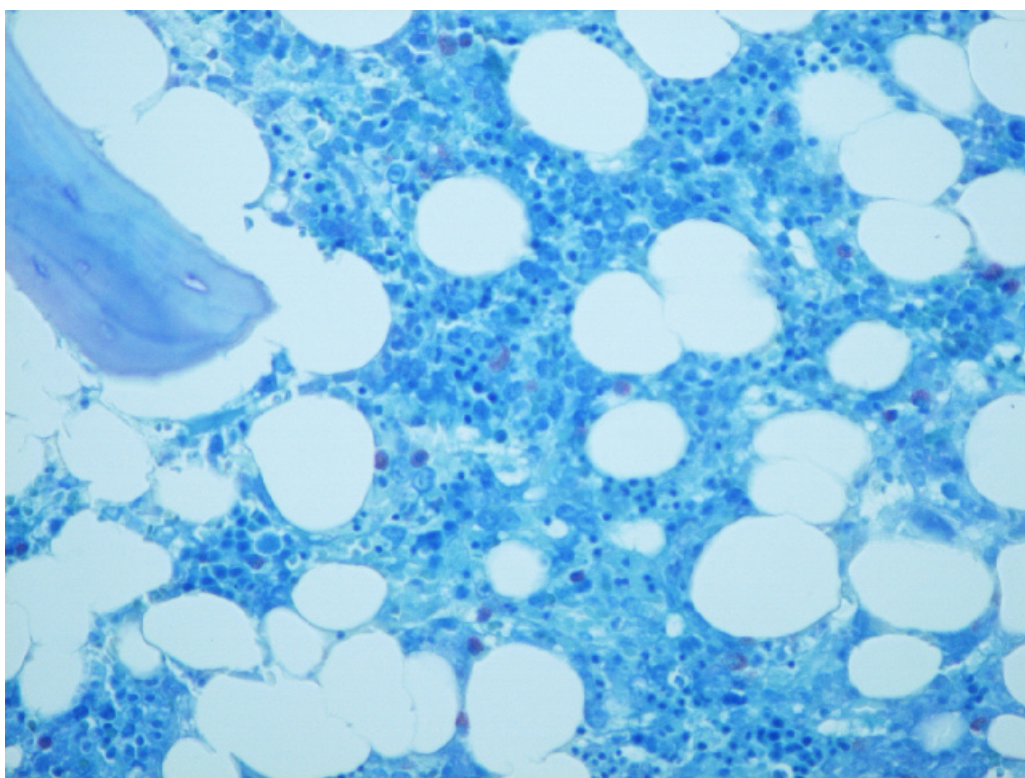
Fotografía 1: Corte de médula osea fijada en formol-acético. Tinción hematoxilina -eosina.



Fotografía 2: Corte de médula osea fijada en formol-acético. Tinción de giemsa.



Fotografía 3: Corte de médula osea fijada en liquido de Bouin. Tinción de hematoxilina-eosina.



Fotografía 4: Corte de médula osea fijada en liquido de Bouin. Tinción de giemsa.