

**Instructivo virtual para el procesamiento de fluidos corporales utilizando
la Citocentrífuga como un complemento a la labor docente.**

Darwin Javier Pabón Rodríguez

Diana Lizeth Bedoya Romero

Facultad de Tecnologías en Salud

Tecnología en Citohistología

Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud

Miryam Beatriz Puerto de Amaya

Martín Humberto Poveda Morales

Bogotá D.C

Abril 2022

INTRODUCCIÓN

La centrifugación, mediante la ayuda de una Citocentrífuga, conocida como Cytospin, es una técnica que facilita la concentración de las células sobre un portaobjeto, para posteriormente ser fijadas, coloreadas y permitir el análisis de su morfología al microscopio. Esta técnica es de gran ayuda, para líquidos hipocelulares, que llegan al laboratorio de Patología, como es el caso del líquido cefalorraquídeo, el lavado broncoalveolar y la orina, entre otros(1). Uno de los primeros en utilizar esta técnica de concentración de células fue P. Watson en sus investigaciones(2).

El Programa de Tecnología en Citohistología, cuenta con una Citocentrífuga en sus laboratorios para realizar la enseñanza sobre el manejo y la preparación de fluidos corporales de una forma presencial. Pero la pandemia que vive el mundo, forzó la entrada a la virtualidad de una forma inesperada; y obligatoriamente tuvo que buscarse apoyo en la educación virtual, la educación a distancia y la educación semipresencial. Este cambio brusco y repentino crea la necesidad de desarrollar materiales que estén acordes con estas exigencias y que complementen la labor docente.

La Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud (FUCS), cuenta con laboratorios y equipos para realizar la docencia presencial, pero debido al cambio que tuvo el mundo al migrar a las nuevas tecnologías y evitar el contacto personal para tratar

de romper la cadena de contagios; las horas de prácticas presenciales en los laboratorios, que realizaban los estudiantes, no son posibles de llevarlas a cabo, y obligan a desarrollar otras ayudas educativas que afiancen y complementen la enseñanza teórica-práctica, y ofrezcan el conocimiento de estos procesos. Esta es la razón que lleva al desarrollo de un objeto virtual de aprendizaje con fines pedagógicos, pero que, además permitirá, modificar la enseñanza aprendizaje utilizando las nuevas tecnologías, apoyados en la técnica de citocentrífugación.

OBJETIVO GENERAL

Realizar un instructivo virtual utilizando la Citocentrífuga en el procesamiento de fluidos corporales para la concentración de los elementos celulares a estudio que sirva de apoyo a la docencia.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Revisar artículos que se hayan trabajado con Citocentrífuga y fluidos corporales
- Revisar el manual de la Citocentrífuga
- Desarrollar en orden la técnica de manejo de líquidos incluyendo la Citocentrífuga
- Realizar la guía para hacer el video

MARCO TEÓRICO

Varios son los cambios que ha traído siglo XXI, entre ellos en el campo de la educación, donde se permite apoyar la docencia y facilitar el desarrollo de habilidades, además de proporcionar el avance de una sociedad digital(9).

Se espera que, con el objeto virtual de aprendizaje, donde los estudiantes estarán bajo la influencia de la imagen y el audio, tengan una nueva manera de aprender, donde se mezcle sus saberes y sus deberes, y donde estará presente la información o los contenidos y la representación, preparando al estudiante en el quehacer del trabajo del Citohistotecnólogo.

Desde otro punto de vista, esta forma de docencia, permitirá a cada estudiante aprender y asimilar los contenidos de una forma individual y podrá acceder e interactuar con el objeto virtual de acuerdo a su capacidad de aprendizaje e interés(10).

Otros investigadores como Alvarado (2017) analizan que las aplicaciones de medios audiovisuales fortalecen los procesos enseñanza y aprendizaje, motivan al estudiante y son necesarias en la formación del ser humano(11). Pero también, innovar el ambiente de una cátedra, dentro del contexto enseñanza y aprendizaje, es aprehender simultáneamente con dos sentidos la vista y el oído, permitiendo así incorporar la tecnología en el currículo mediante el uso de recursos audiovisuales, enriqueciendo las experiencias del aprendizaje con el acompañamiento del docente(10).

MATERIALES Y METODOS

Se desarrollará en orden, el proceso de preparación de los líquidos corporales y se incluirá el uso de la Citocentrífuga, para obtener como resultado final el botón con los elementos celulares sobre la superficie de un portaobjeto, y se fijará de acuerdo a la coloración que se vaya a realizar.

Para llevar a cabo esta práctica, se procesará un fluido corporal para realizar la técnica, se utilizará la Citocentrífuga que tiene el Programa de Citohistología "Cytospin" marca "Shandon", para centrifugar la muestra, se armará un bloque de acuerdo a las instrucciones del equipo, que está compuesto por: una base metálica o "Cytoclip", que tiene un resorte para asegurar la muestra a dos ganchos retenedores, este dispositivo se instala en posición abierta; sobre esta base se coloca el portaobjeto debidamente rotulado con los datos del paciente, sobre esta lámina de vidrio se orienta un filtro de papel que posee un orificio, posteriormente se acomoda el embudo o cámara recolectora de la muestra, que posee un canal y debe ir alineado con el orificio del filtro; en este paso es importante revisar que el orificio del filtro y el orificio del embudo o cámara recolectora coincidan, para que las células puedan salir y depositasen sobre el portaobjetos de vidrio, y la parte líquida de la muestra sea absorbida por el filtro. Una vez se haya revisado esta parte, se aseguran todos estos elementos sujetando el resorte a los ganchos retenedores y se sitúa el bloque dentro del cabezote rotor de la Citocentrífuga(3).

Para depositar la muestra dentro del embudo o cámara, se utilizará una pipeta Pasteur que ayudará a homogenizar la muestra y se tomará la cantidad indicada (0.5ml a 1.00ml), que se depositará en el fondo del embudo a cámara y se tapaná. Una vez depositada la muestra, este bloque no se debe mover para evitar que el filtro empiece a absorber la muestra. La cantidad de muestra que se deposite en el embudo o cámara recolectora, no debe rebosar el canal porque el filtro ejercerá su función de absorción. He de recordar que, para centrifugar en cualquier equipo, se debe equilibrar las muestras con cantidades iguales, para evitar que la fuerza centrífuga pueda romper los portaobjetos de vidrio, teniendo como resultado la perdida de la muestra. Una vez depositada la muestra en el embudo recolector tapar la muestra para evitar errores. Posteriormente tapar el cabezote rotor de la centrífuga y definido el tiempo de centrifugación y la velocidad, se inicia la centrifugación. Una vez pasado el tiempo de centrifugación y la centrífuga se haya detenido, se dispondrá a retirar el bloque donde está la muestra.

Para rescatar el portaobjeto con la muestra, se debe sostener el “Cytoclip” ensamblado con una mano y con la otra retirar el soporte que fija este ensamblado a los ganchos retenedores; evitando que el filtro y demás elementos se muevan y puedan dañar la muestra, retirar el embudo o cámara donde estaba la muestra, retirar también el filtro y rescatar el portaobjeto, fijar con etanol 96% o dejar secar al aire de acuerdo con la coloración que se vaya a utilizar.

Para evitar no saber en qué sitio está el botón de la muestra, se recomienda que, por el revés del portaobjeto, se haga un círculo con un lápiz de punta de diamante

u otro lápiz que el alcohol no lo borre, de esta forma se ubicará fácilmente el material a estudio.

El material celular contenido en la muestra se concentrará en una pequeña área de unos 6mm, llamada "el botón de la muestra". gracias al principio de operación del Cytospin, la célula que es más densa que el líquido que la suspende, al aplicar la fuerza centrífuga, la célula tendrá un mayor "momento" que el fluido y le permite ser proyectada al portaobjeto de vidrio donde queda adherida y la parte líquida es absorbida por el filtro(4).

Para rescatar el escaso material depositado en la aguja de la jeringa: existen dos maniobras que permitirán el rendimiento de la aspiración: la primera radica en dar varios golpes en la embocadura de la aguja sobre el porta objetos y así caerá el material que este adepto; la segunda consiste en aspirar una cantidad de alcohol con la jeringa y se arroja a través de la aguja así logramos que el material que está en la aguja sea arrastrado y posteriormente se pueda centrifugar. La mínima cantidad de material celular para realizar el estudio de la muestra son de 5 a 6 grupos de células bien preservadas y coloreadas(5).

*Recordar que, los elementos usados en estos procesos de deben inactivar con una solución de hipoclorito al 1% durante mínimo 30 minutos; antes de lavarlos o desecharlos en la bolsa roja.

Consideraciones a tener en cuenta, en el manejo y procesamiento de muestras en la Citocentrífuga.

- Estandarizar la técnica estableciendo velocidad y tiempos de centrifugación, para evitar cambios en la morfología celular, o la pérdida de las Células durante el procesamiento, según las características de cada muestra biológica. La velocidad debe permitir el viaje de las Células de la muestra al portaobjeto, lo mismo que la adherencia a éste.
- Para líquidos muy celulares, aconsejan los instructivos, realizar diluciones que permitan que las Células tengan sus espacios para poder adherirse al portaobjeto y no perderse o tener como resultado un botón celular muy grueso que se desprenda en el transcurso de la coloración o no permita ser analizado por lo denso o grueso de la preparación. Cuando estos botones son tan densos, una forma de rescatar la muestra para que no se pierda durante la coloración o no pueda ser interpretada, es extender el material biológico del botón con otro portaobjeto, inmediatamente se haya terminado el proceso de centrifugación y la muestra aún esté húmeda, no se puede dejar secar, algo similar a los extendidos de sangre periférica.
- Cuando la velocidad del fluido que se extrae es mayor que la velocidad de sedimentación de las Células, la mayoría de las Células se pueden perder con el líquido. El proceso se termina cuando el líquido de suspensión se ha eliminado en su totalidad.

- Una vez que las Células son extraídas del cuerpo humano, empieza la degradación de éstas, por lo tanto, es importante realizar un procesamiento pronto para cuidar su morfología y de igual importancia, es tener cuidado de no someterlas a mayores fuerzas que alteren su morfología.

1. A los laboratorios de Patología, llegan las muestras de pacientes con diferentes patologías, por esta razón existen riesgos de infección, que llevan a desarrollar enfermedades leves o graves si no se utilizan los elementos de protección personal para trabajar de una forma segura, entre estos elementos básicos están los guantes, los tapabocas, las batas y otros según el caso. La protección previene el riesgo y la cadena de infección, siendo necesario realizar un lavado de manos adecuado con frecuencia y desecho de los elementos de protección de forma correcta.

Las muestras y demás elementos utilizados en el procesamiento de las mismas deben recibir una correcta inactivación y un manejo seguro de desechos, de acuerdo a la reglamentación existente. Los residuos biológicos, a excepción de la orina, deben tener un rotulado adecuado de peligro. Los elementos corto punzantes se deben descartar en guardianes para proteger a las personas que manejan estos materiales (6).

2. **Conservación de las muestras.** Una vez que la muestra llega al laboratorio se debe procesar lo más rápido posible para evitar la degradación de las células o el crecimiento de bacterias u otros gérmenes, que impidan realizar el análisis, si esto

no es posible las muestras se deben refrigerar entre 2 y 8°C hasta su procesamiento(7).

3. Procesamiento de las muestras líquidas, se debe realizar una rutina que cubra desde la inclusión en el registro del laboratorio hasta la entrega del resultado y archivo del material estudiado del paciente.

3.1 Identificación: cuando llega la muestra al laboratorio debe tener una rotulación adecuada en cuanto al nombre del paciente, su identificación (cédula de ciudadanía u otro documento que lo acredite) y tipo de muestra. Además, estar acompañada de una orden médica, que tenga los mismos datos de identificación y qué tipo de examen se debe realizar. Esta identificación correcta de los datos debe ser realizada por la persona que reciba la muestra. Si esto no se cumple se debe devolver la muestra para aclarar lo que no está correcto(8).

3.2 Radicación: consiste en incluir al paciente en el tipo de registro que lleve el laboratorio. (manual o sistematizado).

3.3 Numeración: de acuerdo con el orden establecido en el laboratorio, se le asignará un número a todo el material del paciente. Con este número se registrarán todos los extendidos que se realicen con el material de esta persona.

3.4 Descripción Macroscópica: se debe realizar un registro claro y en orden, sobre qué tipo de muestra se recibe; de acuerdo con la solicitud del médico, y cómo se manejará la muestra. Este manejo se refiere, a las características físicas de la muestra como: volumen o cantidad, aspecto, color, si presenta fragmentos de tejido

o formación de coágulos (para realizar bloque celular), cuantos extendidos se realizarán y que coloraciones de acuerdo con el estudio solicitado.

3.5 Citocentrífuga: de acuerdo con el tipo de Citocentrífuga se monta el bloque (soporte, portaobjeto, filtro y recipiente para la muestra), donde se deposita la muestra, utilizando una pipeta de Pasteur con la cantidad adecuada.

3.6 Fijación: una vez realizada la centrifugación, se desmonta el bloque, se toma el portaobjeto con la muestra y se fija con etanol de 96 % o un cito fijador, de acuerdo con la estandarización que tenga el laboratorio; para realizar las coloraciones de Hematoxilina-Eosina o Papanicolaou. Si es para coloraciones de Giemsa o Wright se deja secar al aire.

3.7. Coloración: se acuerdo a lo solicitado por el médico tratante, se realizan las diferentes coloraciones necesarias para un estudio completo del material del paciente y para poder llevar a cabo el estudio completo que facilite un diagnóstico.

3.8 Montaje de las preparaciones: utilizando resina sintética y una laminilla se cubre el material, quedando listo para ser analizado al microscopio.

Rescate del escaso material depositado en el pivote o cono: existen dos maniobras que permitirán el rendimiento de la aspiración. La primera radica en dar varios golpes en la embocadura de la aguja sobre la porta objetos y así caerá el material que este adepto. La segunda reside en aspirar una cantidad de alcohol con la jeringa y se arroja a través de la aguja así logramos que el material que está en la aguja sea arrastrado

.El material rescatado para ser estudiado requiere 5-6 grupos de células epiteliales bien preservadas (5).

Conclusión.

Se espera con este trabajo, y la elaboración de un Objeto Virtual de Aprendizaje (OVA), dar apoyo y modificar la cátedra de procesamiento de Fluidos o Líquidos Corporales, de IV Semestre, para el Programa de Citohistología, de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, fortaleciendo el proceso enseñanza aprendizaje.

REFERENCIACIÓN BIBLIOGRAFICA

1. Ligasová A, Koberna K. New Concept and Apparatus for Cyto centrifugation and Cell Processing for Microscopy Analysis. *Int J Mol Med*. 2021;22(13).
2. Yates F. Algorithm AS 43: Variable Format in Fortran. *J R Stat Soc Ser A Stat Soc*. 1971;20(2):213-6.
3. Stokes BO. Principles of Cyto centrifugation. *Lab Med*. 2004;35(7):434-7.
4. Amaya M, Moreno-Acosta P, Mora M, Md C. Citología convencional y en base líquida en muestra compartida de tomas cervicouterinas. *Repertorio de Medicina y Cirugía*. 2015;24:41-6.
5. Rodríguez J, Vázquez D. Punción-aspiración con aguja fina de órganos superficiales y profundos. Madrid: Díaz de Santos. 1997:283-5.
6. Ministerio de Salud y Protección Social. Conductas Básicas en Bioseguridad: Manejo Integral [Internet]. Bogotá: El Ministerio; 1997 [updated 15-11-2021; cited 2021 19-11]. Available from: https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/observatorio_vih/documentos/prevencion/promocion_prevenccion/riesgo_biol%C3%B3gico-bioseguridad/bioseguridad/BIOSEGURIDAD.pdf.
7. Cookbook Laboratory. Sobre la conservación de muestras por congelación [Internet]. Zaragoza: INYCOM; 2019 [updated 15-11-2021; cited 2021 11-19]. Available from: <https://www.cookbooklaboratory.com/sobre-la-conservacion-de-muestras-por-congelacion/>.
8. Ministerio de Salud y Protección Social. Garantizar la correcta identificación del pacientes y muestras de laboratorio [Internet]. Bogotá: El Ministerio; 2014 [updated 15-11-2021; cited 2021 11-19]. Available from: <https://www.slideshare.net/hospitalruu/5-garantizar-la-correcta-identificacin-del-pacientes-y-muestras-de-laboratorio>.
9. Requena B. Las TIC y la educación social en el siglo XXI. *EDMETIC Revista de Educación Mediática y TIC*. 2016;5:8-24.
10. Barros Bastida C, Barros Morales R. Los medios audiovisuales y su influencia en la educación desde alternativas de análisis. *Revista Universidad y Sociedad*. 2015;7:26-31.
11. Alvarado Jorge L. La aplicación de los medios audiovisuales y su influencia en la competencia de comprensión oral y escrita del área de comunicación en los estudiantes de nivel primario. *Scientia* [Internet]. 2018 [cited 2021 11-19]; 19(19):[231-9 pp.]. Available from: <http://revistas.urp.edu.pe/index.php/Scientia/article/view/1756/1628>.