



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

Informe final de investigación previo a la obtención del título de:  
**LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA SALUD EN LABORATORIO CLÍNICO E  
HISTOPATOLÓGICO**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

Caracterización de la técnica hematoxilina - eosina modificada en la observación  
histopatológica según estado postmortem

**Autor:** Andrea Gisselle Lema Cepeda

**Tutora:** PhD. María Eugenia Lucena de Ustariz

**Riobamba – Ecuador**

**2020**

## REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: **“Caracterización de la técnica hematoxilina – eosina modificada en la observación histopatológica según estado postmortem”**. Presentado por Andrea Gisselle Lema Cepeda, dirigida por PhD. María Eugenia Lucena de Ustariz, una vez escuchada la defensa oral y realizado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación, escrito en el cual se ha constado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presenta para el uso y custodia de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo.

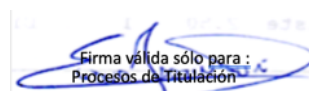
Para la constancia de lo expuesto firman:

Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores  
**Presidenta del tribunal**



.....  
**Firma**

Mgs. Eliana Elizabeth Martínez Durán  
**Miembro del Tribunal**



.....  
**Firma**

Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez  
**Miembro del tribunal**



.....  
**Firma**

## **CERTIFICADO DEL TUTOR**

Yo, María Eugenia Lucena de Ustariz, docente de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico en calidad de Tutora del Proyecto de Investigación titulado: Caracterización de la técnica hematoxilina – eosina modificada en la observación histopatológica según estado postmortem, propuesto por Andrea Gisselle Lema Cepeda, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad Ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto.

Riobamba, 26 de Noviembre de 2020



.....  
**PhD. María Eugenia Lucena de Ustariz**

**Docente tutor de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico**

## AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido de este trabajo de investigación, corresponde exclusivamente a su autora Andrea Gisselle Lema Cepeda con cédula de identidad 0604524058 y tutora PhD. María Eugenia Lucena de Ustariz, y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.




.....

Andrea Gisselle Lema Cepeda

**Autora**

**CI:** 0604524058



.....

PhD. María Eugenia Lucena de Ustariz

**Tutora**

**CI:** 1758494551

## AGRADECIMIENTO

Quiero expresar un cordial y afectuoso agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo, que se ha convertido en mi segundo hogar durante estos cuatro años, a la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico, que más que una profesión se ha convertido en mi vocación.

A todos mis queridos docentes, gracias por su paciencia, apoyo incondicional y valioso aporte científico, moral y ético que me han brindado a lo largo de estos cuatro años, lo cual ha sido un pilar fundamental para llegar a cumplir mis metas profesionales.

De manera especial quiero agradecer a las docentes que me apoyaron en la elaboración del presente trabajo de investigación, a mi tutora la PhD. María Eugenia Lucena, conjuntamente con el apoyo de la MsC. Verónica Cáceres Manzano, quienes con su apoyo han hecho posible esta investigación.

A la Lcda. Paola Machado, gracias por compartirme sus conocimientos y ser un apoyo incondicional en el proceso de la investigación forense.

*Andrea Lema Cepeda*

## DEDICATORIA

En primer lugar quiero agradecer a Dios por ser el motor de mi vida, por darme siempre la fortaleza de salir adelante, aprendiendo de mis errores, y es por eso que soy mejor cada día. Y sobre todo gracias por brindarnos salud y vida a toda mi familia y a mí.

Nunca podría expresar todo el agradecimiento que tengo hacia mi mami Ceci, mi mami Lore y mi papi Mario, quienes han sido el pilar fundamental en mi vida y es por ustedes que estoy cumpliendo mis sueños, gracias por su apoyo incondicional y por estar siempre junto a mí. Es para mí un privilegio y un orgullo que sean mis padres.

Gracias a mi papi Héctor por apoyarme y por estar siempre junto a mí en los momentos más importantes de mi vida.

A mis tíos Fredd y Fernanda, gracias por su apoyo y cariño incondicional, a mis primas Romina y Belén, quienes son mi adoración y para las que espero ser siempre un buen ejemplo y demostrarles que el que persevera alcanza sus metas.

*Andrea Lema Cepeda*

## RESUMEN

La tinción hematoxilina – eosina se ha considerado indispensable y fundamental a lo largo de los años, la presente investigación es de carácter documental no experimental, posee un enfoque cualitativo porque se realizó una recopilación de información relacionada a la temática, además adoptó un alcance descriptivo ya que se consiguieron datos ligados al tema, como objetivo se determinó realizar una investigación bibliográfica acerca de la caracterización de la tinción hematoxilina – eosina según estado postmortem y además analizar las similitudes que ésta presenta con la histopatología clínica. El ámbito forense en la actualidad tiene un elevado nivel de importancia porque se encarga de explicar y demostrar un delito y por ende determinar sus autores, esto se realiza por medio de un conjunto de técnicas y procedimientos científicos, divididos en varias áreas. La histopatología forense pertenece a ésta rama del conocimiento y su principal función es ayudar al médico legista a determinar la causa de muerte del occiso, para lo que se realizan una serie de protocolos ligados a los conocimientos histológicos, los mismos que se detallan en el presente proyecto de investigación, dando relevancia al proceso de tinción hematoxilina – eosina, ya que gracias a su excelente trabajo al teñir las diferentes estructuras tisulares, se puede observar por medio del microscopio óptico la morfología celular de los tejidos u órganos a estudio. Además se analizaron diferentes estudios que poseen técnicas que se pueden implementar en el laboratorio de histopatología forense para obtener un mejor resultado en el momento de la tinción.

**PALABRAS CLAVE:** Histopatología forense, Tinción hematoxilina – eosina, Histología, Procesamiento de tejidos, Ciencias Forenses

## ABSTRACT

Hematoxylin-eosin staining has been considered essential and fundamental over the years; the present research is of a non-experimental documentary nature. It has a qualitative approach because a compilation of information related to the subject was made; it also adopted a descriptive scope; since data related to the subject were obtained. The objective was to carry out a bibliographic investigation about the hematoxylin-eosin staining's characterization according to postmortem status and analyze the similarities it presents with clinical histopathology. The forensic field currently has a high level of importance because it is responsible for explaining and proving a crime and determining its perpetrators. This is done through a set of scientific techniques and procedures, divided into several areas. Forensic histopathology belongs to this branch of knowledge. Its primary function is to help the forensic doctor to determine the cause of death of the deceased. Thus, a series of protocols linked to histological knowledge is carried out, which are detailed in the current research project. The hematoxylin-eosin staining process has relevance. Thanks to its excellent work in staining the different tissue structures, the cell morphology of the tissues or organs under study can be observed through the light microscope. Besides, different studies were analyzed with techniques that can be implemented in the forensic histopathology laboratory to obtain a better result at the time of staining.

**Keywords:** Forensic Histopathology, Hematoxylin - Eosin Staining, Histology, Tissue Processing, Forensic Science.



Translation of abstract reviewed by Dr. Narcisa Fuertes PhD.

Professor at Linguistic Competences UNACH



URKUND

# CERTIFICACIÓN

A **LEMA CEPEDA ANDREA GISSELLE** con CC: **0604524058**, estudiante de la Carrera de **LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**, Facultad de **CIENCIAS DE LA SALUD**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado: **“Caracterización de la técnica hematoxilina - eosina modificada en la observación histopatológica según estado postmortem”**, que corresponde al dominio científico **SALUD COMO PRODUCTO SOCIAL, ORIENTADO AL BUEN VIVIR** y alineado a la línea de investigación **SERVICIOS SOCIALES**, cumple con el 0%, reportado en el sistema Anti plagio URKUND, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 15 de diciembre de 2020



.....  
PhD. María Eugenia Lucena de Ustariz

**TUTORA**



## Document Information

---

<b>Analyzed document</b>	TESIS PARA URKUND ANDREA LEMA.docx (D86671703)
<b>Submitted</b>	11/25/2020 11:02:00 PM
<b>Submitted by</b>	María Eugenia Lucena
<b>Submitter email</b>	mlucena@unach.edu.ec
<b>Similarity</b>	0%
<b>Analysis address</b>	maria.eugenia.lucena.unach@analysis.arkund.com

## ÍNDICE

REVISIÓN DEL TRIBUNAL .....	II
CERTIFICADO DEL TUTOR .....	III
AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN .....	IV
AGRADECIMIENTO .....	V
DEDICATORIA .....	VI
RESUMEN .....	VII
ABSTRACT .....	VIII
URKUND.....	IX
INDICE.....	XI
INDICE DE ILUSTRACIONES .....	XII
INDICE DE TABLAS .....	XIII
INDICE DE ANEXOS .....	XIV
Capítulo I. INTRODUCCIÓN .....	1
Capítulo II. MARCO METODOLÓGICO .....	17
Capítulo III. DESARROLLO.....	21
CONCLUSIONES .....	33
BIBLIOGRAFÍA .....	34
ANEXOS .....	40

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1.</b> Flujograma de inclusión y exclusión de información.....	<b>20</b>
---	-----------

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Servicio Nacional de Ciencias Forenses .....	<b>22</b>
<b>Tabla 2.</b> Protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Hospital Nacional de la Mujer “Dra. María Isabel Rodríguez.....	<b>23</b>
<b>Tabla 3.</b> Protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Hospital Santiago Oriente Dr. Luis Tisne Brousse .....	<b>24</b>
<b>Tabla 4.</b> Protocolo de tinción hematoxilina – eosina establecido en la Universidad Nacional de Educación a Distancia .....	<b>25</b>
<b>Tabla 5.</b> Método de tinción hematoxilina y eosina de tejidos intactos mediante deslipidación y ecografía .....	<b>28</b>
<b>Tabla 6.</b> Método del programa de mejora del pre tratamiento del tejido decalcificado con ácido en tinción con hematoxilina – eosina. ....	<b>30</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Visualización de la tinción hematoxilina – eosina .....	<b>40</b>
<b>Anexo 2.</b> Preparación del colorante Hematoxilina de Carazzi.....	<b>40</b>
<b>Anexo 3.</b> Preparación del colorante Hematoxilina de Ehrlich .....	<b>41</b>
<b>Anexo 4.</b> Preparación del colorante Hematoxilina de Gill.....	<b>43</b>
<b>Anexo 5.</b> Preparación del colorante Hematoxilina de Harris .....	<b>44</b>
<b>Anexo 6.</b> Preparación del colorante Hematoxilina de Mayer .....	<b>46</b>
<b>Anexo 7.</b> Preparación del colorante Hematoxilina de Weigert .....	<b>47</b>

## Capítulo I. INTRODUCCIÓN

Las ciencias forenses en la actualidad tienen un alto grado de importancia porque se ocupa de explicar y demostrar un delito y por ende establecer cuáles son los autores y determinar la participación de éstos, por medio de la realización de un conjunto de técnicas y procedimientos ligados a diferentes conocimientos científicos.

Una de las áreas dentro de las ciencias forenses es la histopatología forense que se podría considerar un pilar fundamental para esclarecer los diferentes casos delictivos, debido a que el personal en ésta área tiene una de las tareas más arduas, al ser partícipes del proceso de la búsqueda de la verdad cuando la causa de la muerte no se encuentra clara o existen dudas latentes, lo cual conlleva una gran responsabilidad debido a que la emisión del informe pericial histopatológico, le permitirá al médico legista determinar la causa exacta de la muerte, de tal forma que si no se realiza un buen trabajo, esto puede acarrear repercusiones tanto jurídicas como sociales.

Alrededor del mundo existen varios centros de investigación forense que cuentan con laboratorios de última tecnología en el área de histopatología, en donde las muestras se obtienen principalmente de casos de homicidio y asesinatos, por ello se considera fundamental en el proceso de investigación penal y por ende para asegurar el cumplimiento de la verdad y la justicia.

A nivel mundial se puede mencionar el continente Europeo, en países como España, el cual tiene una tasa de homicidios del 0,48 por cada 100.000 habitantes, mientras que en países vecinos como Francia tiene una tasa de homicidios de 1,31 por cada 1000.000 habitantes y Alemania 0,91 por cada 100.000 habitantes. Actualmente la histopatología forense en toda Europa vive un momento extraordinario que ha sido fruto, sin duda, de la puesta en marcha y el desarrollo de los institutos de medicina legal en los cuales alrededor del 90% de los casos delictivos se requiere de la participación del área de histopatología forense<sup>1</sup>.

Dentro de Latinoamérica, países como Puerto Rico, en donde según estadísticas recientes la tasa de homicidios es de 20 por cada 100.000 habitantes, país en donde se realizan placas de estudio histopatológico de casi el 100% de los casos judiciales<sup>2</sup>, también países con un mayor índice delictivo como es Honduras en donde su tasa de

homicidios es de 43.6 por cada 100.000 habitantes; se conoce que dos de sus principales laboratorios de histopatología forense se encuentran en las ciudades de Tegucigalpa y San Pedro Sula, en los que cuentan con una producción amplia en éste ámbito, debido a la fuerte demanda se realizan análisis de entre 40 a 60 muestras mensuales<sup>3</sup>.

Actualmente el Ecuador tiene una tasa de homicidios y asesinatos de 6.4 por cada 100.000 habitantes, el mismo que se ha mantenido por los últimos años, por tal motivo en el año 2015 las autoridades se vieron en la necesidad de crear ocho centros de investigación forense, para impulsar la investigación del delito en nuestro país, los mismos que cuentan con laboratorios en distintas áreas y por supuesto en histopatología forense, en donde se trabaja con una gran afluencia de muestras. Hoy en día la ciudad de Riobamba no cuenta con un centro de investigación forense, pero se espera que en un futuro se continúe con el plan de construcción del mismo<sup>4</sup>.

El análisis histopatológico forense se divide en diferentes fases: pre-analítica, analítica y post-analítica. La fase preanalítica se considera desde la recepción de las evidencias, que en éste caso son las muestras de órganos o fragmentos con su respectiva cadena de custodia, se procede a la comprobación de datos y su codificación, continuando empieza la fase analítica, comenzando con la observación macroscópica, siguiendo con el procesamiento de tejidos, tinción, montaje y por último el análisis microscópico y la fase post-analítica en la que se realiza el informe de resultados obtenidos. Es importante mencionar que se deben tener evidencias fotográficas de cada fase.

La tinción hematoxilina – eosina se considera como un método comúnmente utilizado en histopatología forense, esto es por varios factores entre los que se pueden mencionar, el bajo costo de los reactivos que se utilizan para su realización, el tiempo que se utiliza durante el protocolo de tinción es relativamente corto, además su eficacia y eficiencia son excepcionales.

El propósito de la presente investigación es establecer la importancia que tiene la tinción hematoxilina – eosina para el estudio postmortem, debido a que los tejidos comúnmente son incoloros y requieren ser teñidos para diferenciar sus estructuras tisulares, por ende realizar esta tinción ayuda significativamente al analista en la observación microscópica y por lo tanto facilitará la determinación de la causa de muerte del occiso.



## La histopatología forense

Por todo lo antes mencionado, es importante conocer más acerca de la histopatología forense, la misma que se encarga del estudio macroscópico y microscópico de los diferentes órganos y tejidos que han sido extraídos en una autopsia, o también hay varios casos de exhumaciones de carácter judicial, en ambos casos se practican procedimientos y metodologías especializadas de la rama de histopatología clínica<sup>5-6</sup>.

La histopatología es una rama estrechamente relacionada y fundamentada en los conocimientos histológicos, debido a que se encarga del estudio de la morfología celular y por ende de las alteraciones que sufren las células postmortem de los tejidos a estudio. La histopatología proviene de las palabras griegas<sup>6-7-8</sup>:

- Histos: tejido
- Pathos: lesión o algún tipo de enfermedad
- Logos: estudio

Por lo tanto se entiende que la patología es la encargada del estudio de las alteraciones que se pueden observar al microscopio o cualquier cambio o alteración en los tejidos como producto de algún tipo de enfermedad o lesión. En el ámbito forense se realiza el estudio histopatológico tanto en muertes violentas que se pueden considerar como no naturales y en muertes naturales<sup>8</sup>.

El análisis microscópico de los tejidos se lo realiza posterior a la necropsia pertinente, la importancia del estudio histopatológico forense radica desde ese punto debido a que el perito responsable del área de histopatología procede con su trabajo, el cual se centra en corroborar, cambiar o descartar lo que se observó en el estudio macroscópico, y de esta manera dando solidez y fundamentos científicos al estudio de la necropsia médico-legal<sup>6-9</sup>.

La importancia del estudio microscópico en el área de histopatología forense se demuestra también en varios casos donde en el estudio macroscópico no se puede visualizar ninguna alteración aparente en los órganos o tejidos, por lo que no se podría determinar la causa de muerte sin la colaboración del análisis de dicha área. Un dato importante a considerar podría ser también que si se determina que el factor que produjo la muerte es de carácter genético se ayudaría a los predecesores a tomar en cuenta dichas alteraciones para evitar problemas futuros en su salud. Además brinda a la

familia una explicación clara y precisa sobre la muerte repentina de su ser querido<sup>10-11-12</sup>.

También, la envergadura del perito es enorme, por ello debe ser consciente de la importancia que tiene su labor dentro de la investigación forense ya que es portador de una responsabilidad pública debido a que su apreciación conjuntamente con las pruebas científicas, puede ser decisiva en la resolución judicial. Lo cual implica que las decisiones que tome el perito pueden afectar el honor, el futuro y la libertad de las personas involucradas en el caso delictivo<sup>13-14-15</sup>.

Por eso se considera de vital importancia mencionar que en ésta y en todas las áreas forenses no debe existir ningún error ya que cualquier falencia en el proceso de investigación puede ser desastroso y dar un resultado erróneo y poco confiable<sup>13-15-16</sup>.

Convencionalmente, la histopatología forense se ha considerado parte integral no solo para esclarecer la causa de muerte, sino para determinar respuestas a algunas interrogantes legalmente importantes como<sup>11</sup>:

- Cronología histomorfológica de la enfermedad
- Hallazgos histológicos post mortem
- Determinaciones histomorfológicas de la edad

También es importante establecer que un buen conocimiento en ésta área es de gran importancia por lo que se puede asesorar a órganos judiciales en los que podemos mencionar, a la policía, tribunales, fiscales, además instituciones de seguros en términos de qué acciones de diagnóstico son empleadas después de la autopsia<sup>11</sup>.

El trabajo que se realiza dentro del laboratorio de histopatología forense

La histopatología forense se encarga de estudiar los diferentes métodos, técnicas y procedimientos que ayudan a la transformación de un fragmento de tejido u órgano en una fina película que nos facilita su observación microscópica<sup>17</sup>.

Fase pre-analítica

El trabajo en el laboratorio de histopatología forense comienza con la recepción de evidencias, es decir, desde que llega la muestra (órgano o tejido) al laboratorio con su respectiva cadena de custodia, lo cual se define según la Fiscalía General del Estado

como el conjunto de pasos que garantizan la buena y correcta preservación de los diferentes indicios encontrados y recolectados en el lugar de los hechos; durante todo el proceso investigativo, y que dentro de la fase del juicio, será prueba contundente para que el tribunal de justicia decida sobre la responsabilidad o inocencia del acusado<sup>18-19-20</sup>.

Además de la cadena de custodia son necesario otros documentos como el oficio solicitando la diligencia conjuntamente con la orden del fiscal a cargo, dirigido al administrador del Centro de Investigaciones y Ciencias Forenses, en el que debe estar especificado que se requiere del estudio histopatológico de las evidencias enviadas, el acta de posesión para el perito que va a realizar el análisis, en el que debe constar nombre completo, número de cédula y número de acreditación del mismo. También es fundamental recibir la solicitud del análisis histopatológico postmortem por parte del médico legista<sup>21</sup>.

Las condiciones para aceptar las evidencias (muestras de tejidos u órganos) son:

- Las muestras deben estar fijadas en formol bufferado al 10%, y en el caso de cerebro y cerebelo que se consideran como tejido blando al 20%<sup>21</sup>.
- Los órganos que tengan un diámetro mayor a 4cm, deben enviar realizados varios cortes en porciones a lo largo del órgano para que la preservación del mismo sea mejor<sup>21</sup>.
- La cantidad de formol tiene que ser tres veces más que el tamaño del órgano o fragmento enviado. Los recipientes de plástico permiten una buena relación de formol-órgano, además que se previenen accidentes al no ser de vidrio<sup>21-22-23</sup>.
- Por ningún motivo se aceptan muestras en bolsas plásticas, siempre envases rígidos de plástico<sup>21-22-23</sup>.
- El envase de plástico debe estar correctamente rotulado con: el nombre del occiso, descripción de la pieza anatómica, la fecha y la hora en la que fue extraída la muestra, número del caso, nombre del médico legista responsable, fiscal que se encuentra a cargo del caso<sup>21</sup>.
- La boca del envase debe ser amplia, de modo que el órgano o fragmento pasen de forma muy holgada. Además el envase de plástico debe ser estéril, de tapa en forma de rosca para que no sea de fácil apertura<sup>21-22-23</sup>.

La fase pre-analítica finaliza con la codificación, la cual consiste en asignar una numeración determinada para cada caso. La misma se debe plasmar sobre: la solicitud del examen, envase, caseta y placa histológica. Y también se debe anotar la fecha y hora en la que se recibe la muestra<sup>21-23</sup>.

#### Fase analítica

##### Observación macroscópica

La observación macroscópica dentro del laboratorio de histopatología forense se realiza en una estación de trabajo a base de acero inoxidable, en el que se procesan las piezas anatómicas a estudio, a las que se debe realizar cortes representativos de 3mm de espesor, esto se lo hace con bisturí estéril y regla, además en ésta estación existe un sistema de extracción de gases nocivos para precautelar la salud del perito analista. Esta etapa del análisis histopatológico se encarga de describir el órgano o fragmento de tejido por sus características físicas. Entre los aspectos que se describen en los informes periciales tenemos<sup>21</sup>:

- Masa: Sección irregular y corpulenta de varios o un tejido quístico o sólido, también existen sólido-quístico.
- Fragmento: Sección única o también puede ser múltiple de tejido que puede considerarse ser mucoide, membranoso, hemorrágico, entre otros.
- Forma: Se puede mencionar formas rectangulares, cilíndricas, esférica, romboidal, entre otros.
- Color: Las formas más comunes son rosado, nacarado, blanco, café, verde, entre otros.
- Peso: Se determina en gramos.
- Dimensiones: Se mide el espesor, alto y ancho.
- Superficie: Puede ser rugosa, vellosa, lisa, entre otros.
- Aspecto exterior: Puede ser grumoso o granular, fibroso, sólido, compacto, hemorrágico, purulento, entre otros.
- Consistencia: Puede ser firme, blanda, dura, gelatinosa, entre otros.
- Contenido: Puede ser purulento, turbio, sebáceo, líquido, grumoso, entre otros.

- Proliferación: Puede ser hipertrófica, pediculada, normalmente se utiliza para descripciones de patologías en fragmentos de piel, además en ésta área se debe tener conocimiento de la siguiente terminología:
  - Roncha: Elevación en la piel, se considera pasajera y normalmente se encuentran de color rojo blanquecino, con un diámetro que oscila entre los 0.5cm – 10cm.
  - Ampolla: Lesión que se puede observar elevada, también se puede observar líquido en su interior y tiene un diámetro mayor a 5mm.
  - Pápula: Lesión de consistencia sólida, que se puede observar que sobresale de la piel y puede tener un diámetro de hasta de 5mm.
  - Excoriación: Zona traumatizada, por lo usual en forma lineal o profunda.
  - Escama: Lesión en forma de laminillas epiteliales, normalmente son finas y reseca.
  - Nódulo: Lesión, elevada, de consistencia sólida, su diámetro es mayor a 5mm.
  - Mácula: Se puede observar como una especie de mancha amoratada, no se puede palpar y no tiene relieve en la piel.
  - Vesícula: Lesión elevada que contiene líquido y tiene un diámetro hasta de 5mm.
  - Pústula: Lesión elevada, que posee contenido purulento, tiene un diámetro de hasta 3mm.

Los cortes realizados de los órganos o fragmentos se los introducen en sus respectivas casetas rotuladas previamente con lápiz 2B o carboncillo para evitar que los reactivos borren la codificación..

Para el procesamiento de tejidos según en manual emitido por parte de la Fiscalía General del Estado, se puede realizar de dos formas, según el equipamiento que tenga el laboratorio de histopatología forense:

- Procesamiento de tejidos en procesador manual.
- Procesamiento de tejidos basado en aplicación de microondas sin uso de xilol.

## Procesamiento de tejidos en procesador manual

Fijación: Se debe introducir las casetas que contienen los fragmentos de tejido en un envase con formol bufferado al 10% o si las casetas contienen cortes de cerebro o cerebelo se debe utilizar formol bufferado al 20% y dejarlas ahí durante 24 horas. Es indispensable que el formol cubra por completo todas las casetas. Esto se lo realiza para evitar la autólisis y que se conserven intactas las estructuras tisulares<sup>21-23-24-25</sup>.

Deshidratación: La parafina no es miscible en agua, entretanto los tejidos principalmente se componen de agua. Esto involucra que para una fácil introducción de la parafina en estado líquido en el fragmento de tejido u órgano debe cambiarse el agua por un solvente orgánico. Lo cual se obtiene mediante este proceso, el cual se lo realiza introduciendo las casetas que contienen los fragmentos de tejido en diferentes envases con etanol de la siguiente forma<sup>21-23-25-28</sup>:

- Envase con etanol al 95% por 1h.
- Envase con etanol al 95% por 1h.
- Envase con etanol al 100% por 1h.
- Envase con etanol al 100% por 1h.
- Envase con etanol al 100% por 1h.
- Envase con alcohol isopropílico por 1h.
- Envase con alcohol isopropílico por 1h.

Aclarado: Proceso por el cual se consigue la sustitución del agente deshidratante por una sustancia miscible con el medio de inclusión que va a utilizarse y de esta manera penetrar en el tejido. Esto se lo realiza según la disponibilidad de reactivos del laboratorio histopatológico forense, debido a que se puede utilizar tolueno, xilol o sustituto de xilol. Estas sustancias se denominan aclarantes, debido a que su efecto en el tejido es dar cierto grado de translucidez, lo cual establece que la sustancia se introdujo en el fragmento correctamente. Y se lo realiza introduciendo las casetas que contienen los fragmentos de tejido en diferentes envases, de la siguiente forma<sup>21-26-28-29</sup>:

- Envase con xilol, tolueno o sustituto de xilol por 1h.
- Envase con xilol, tolueno o sustituto de xilol por 1h.

Infiltración: Es indispensable infiltrar el fragmento en un material de consistencia firme que permita realizar cortes adecuados para su estudio, el material idóneo para realizar este procedimiento se denomina parafina<sup>24-25</sup>. La parafina es una sustancia de consistencia cerosa conformada por la mezcla de hidrocarburos obtenidos comúnmente como producto en la elaboración de aceites lubricantes provenientes del petróleo. A temperatura ambiente tiene una consistencia sólida y su punto de fusión puede ser cambiante dentro de los rangos de 40°C - 70°C dependiendo de la mezcla de hidrocarburos, pero en éste caso se recomienda que sea hasta los 62°C<sup>26-27</sup>.

Este proceso se lo realiza introduciendo las casetas que contienen los fragmentos de tejido en diferentes envases que contienen parafina derretida, de la siguiente forma<sup>21</sup>:

- Envase con parafina derretida por 1h, con su punto de fusión máximo hasta los 62°C.
- Envase con parafina derretida por 1h, con su punto de fusión máximo hasta los 62°C.

El punto de fusión de la parafina es importante que sea constante y preciso debido a que es la temperatura en la que la materia en estado sólido logra hacer su paso al estado líquido y los grados centígrados para llegar a este estado normalmente viene recomendada por la casa comercial que provee la parafina<sup>26-27</sup>.

Procesamiento de tejidos basado en aplicación de microondas sin uso de xilol.

En este procedimiento se utiliza un equipo que tiene como propósito reducir tiempo y por ende agilizando el procesamiento de tejidos, además proporciona condiciones seguras para el perito analista, para las muestras y para el medio ambiente. Con este equipo se pueden procesar desde uno hasta cuarenta y cinco casetas a la vez<sup>21</sup>.

Fijación: Este paso se lo realiza si las casetas con las muestras no se encuentren ya pre-fijadas, es decir para tejidos frescos que necesiten ser procesados de inmediato. Se deben colocar las casetas que contienen el fragmento de tejido en el Rack de casetas, y éste a su vez introducirlo en un envase con formol bufferado al 10%, o si las casetas contienen cortes de cerebro o cerebelo se debe utilizar formol bufferado al 20%, e introducir el envase en el equipo por 30 minutos<sup>21-24-25</sup>.

Deshidratación: Se lo realiza con etanol, el rack de casetas fijadas en formol bufferado debe ser sumergido en un envase con etanol al 95% por 10 veces, después introducir el rack de casetas en etanol al 100% y colocar en el equipo por 25 minutos<sup>21</sup>.

Aclarado: Se lo realiza con isopropanol, se debe pasar el rack de casetas al histomódulo determinado con isopropanol, inmediatamente después del paso anterior, sin pasar por alcohol ni agua. Colocarlo en el equipo durante 55 minutos<sup>21</sup>.

Infiltración: Se lo realiza con parafina en estado líquido, se debe tener lista la parafina en el vaso de precipitación, con el disco de calentamiento en la estufa bacteriológica para que ésta llegue a su punto de fusión y por ende se diluya y mantenerla a temperatura constante, mínima de 56°C. Introducir en la parafina derretida el rack de casetas y verificar que la parafina cubra todas las casetas e introducirlo al equipo durante 1 hora y 15 minutos<sup>21</sup>.

Al finalizar el procesamiento de tejido, en la pantalla del equipo saldrá un mensaje dando la opción de guardar el proceso que se realizó, lo cual permite la verificación posterior de los pasos para su verificación, en el caso de que se requiera algún tipo de comprobación.

### Inclusión

Se puede definir este paso como el encierro del fragmento de tejido en material de inclusión, en el que consiste que el tejido se impregne de formol bufferado, de modo que llene todas y cada una de sus cavidades y espacios tisulares e intracelulares, de tal forma que el formol proporcione a los tejidos la firmeza necesaria para realizar cortes lo suficientemente delgados de espesor además homogéneos<sup>26-28-29</sup>.

Este procedimiento se lo realiza en un equipo semi-automático llamado Histocentro, en el que se utiliza parafina de la mejor calidad como son las pastillas de parafina, que tienen un punto de fusión entre 56°C y 58°C. El equipo está programado para que la parafina y las partes que requieran calor lleguen a una temperatura máxima de 58°C. Es importante también verificar siempre que el reservorio de parafina se encuentre lleno y este en funcionando correctamente la plancha fría y la plancha caliente<sup>21-26-28-29</sup>.

En el proceso de inclusión se ocupan moldes de acero inoxidable de varias medidas, para permitir elegirlos según las necesidades de tamaño y cantidad de fragmentos de



tejidos que se van a incluir en cada uno de los bloques de parafina. El procedimiento se divide en diferentes pasos como son<sup>21-26-29</sup>:

- En el Histocentro se deben colocar las casetas.
- Se debe realizar una correcta orientación de tejidos, llenando con parafina casi en su totalidad del molde de acero inoxidable seleccionado, se debe tener la pinza que se va a utilizar previamente caliente, con ésta se va a realizar una presión ligera para que se vaya al fondo del molde el fragmento de tejido.
- Sellar con la caseta y colocar un poco más de parafina para asegurarla.
- Ubicar el molde que contiene el bloque de parafina realizado anteriormente en la plancha fría del Histocentro y dejar ahí por un tiempo mínimo de 10 minutos y un máximo de 2 horas.

### Microtomía

Para este procedimiento se utiliza un equipo mecánico denominado micrótopo, el mismo que permite obtener secciones de fragmentos de tejidos con un espesor micrométrico. Los micrótopos tienen diferentes mecanismos que permiten establecer el grosor de los cortes y además ocupan cuchillas elaboradas en metal, que deben ser cambiadas cada tres bloques de parafina trabajados. Se utiliza éste equipo para el estudio de secciones de tejidos para establecer su patología y por ende ayudar al médico legista a establecer un diagnóstico<sup>21-30</sup>.

El procedimiento comienza desde el momento en el que se coloca la cuchilla en el micrótopo, verificando el ángulo de la cuchilla y portabloque, como paso siguiente se coloca el bloque de parafina y se lo asegura, inmediatamente se procede con el desbaste, que significa que se va a retirar el exceso de parafina hasta llegar al tejido, en ese momento se va a observar cómo se empiezan a formar secciones sucesivas translucidas de tejido en forma de cinta, las cuales deben tener 3cm de largo, 2cm de ancho y máximo 3 micras de espesor para poder tener una mejor visualización microscópica de las estructuras internas<sup>21-30</sup>.

Una vez cortado el tejido en el micrótopo se lo coloca inmediatamente en el baño de flotación que se encuentra a una temperatura entre los 40°C a 45°C, lo cual producirá que el tejido en forma de cinta se extienda perfectamente gracias a la fusión de la hidrofobicidad de la parafina y el calor. Después se procede a realizar la pesca del mejor

corte de muestra y esto se lo hace introduciendo una placa portaobjetos en el agua y con un suave movimiento lograr que ésta se adhiera correctamente a la placa y como paso siguiente se debe colocar la placa portaobjetos en sentido vertical para que se escurra el exceso de agua<sup>21-24-28</sup>.

### Tinción hematoxilina – eosina

La tinción hematoxilina – eosina es una técnica valiosa dentro del proceso de análisis en estado postmortem, debido a que facilita al perito analista una observación microscópica detallada de las estructuras tisulares del tejido a estudio. Normalmente éste análisis es suficiente para ayudar al diagnóstico de la causa de muerte cuando existe alguna duda latente.

La tinción hematoxilina – eosina se la ha utilizado en esta área del conocimiento durante aproximadamente más de 100 años. Dicha tinción se forma en torno al uso de la hemateína, la cual se considera como el fruto de la oxidación de la hematoxilina (colorante básico) y su combinación con iones de aluminio. Esto da lugar a la formación del hemalumbre, que se encarga de teñir los núcleos celulares de color azul. A esto le prosigue la aplicación de una solución denominada eosina (colorante ácido), la cual se encarga de colorear las estructuras citoplasmáticas y los tejidos conectivos en varios tonos de rojo<sup>28-31-32-33-34</sup>.

### Hematoxilina

La hematoxilina proviene del árbol *Haematoxylum campechianum* que es proveniente de las Indias occidentales y América Central, por lo cual se considera como un colorante natural. Su nombre proviene de las palabras griegas<sup>33</sup>.

- Hematos: sangre
- Xylos: árbol

Para que el tinte sea útil, la hematoxilina tiene que oxidarse a hemateína, por exposición a la luz de forma natural o también se lo puede realizar de inmediato con oxidantes químicos como es el yodato de sodio. Posteriormente ésta hemateína se une a uno o algunos iones metálicos, como son el aluminio en forma de alumbre de amonio, alumbre de potasio o alumbre de sodio, dando como resultado el hemalumbre<sup>32-33-34</sup>.

La hematoxilina es de naturaleza catiónica o básica por lo que se encarga de teñir las estructuras aniónicas o ácidas del tejido de un color violeta azulado intenso, principalmente los ácidos nucleicos que se encuentran en los núcleos celulares. El retículo endoplasmático rugoso y el núcleo de los ribosomas poseen una gran simpatía por el hemalumbre por su alto contenido en ARN y ADN respectivamente. Por lo que se entiende que la hematoxilina tiñe los ribosomas, también la cromatina (material genético) y otras estructuras dentro del núcleo<sup>24-32-33</sup>. (Ver anexo 1)

En la actualidad, existen varios tipos de hematoxilinas, pero las más usadas en el mercado son:

- Hematoxilina de Carazzi. (Ver anexo 2)
- Hematoxilina de Ehrlich. (Ver anexo 3)
- Hematoxilina de Gill. (Ver anexo 4)
- Hematoxilina de Harris. (Ver anexo 5)
- Hematoxilina de Mayer. (Ver anexo 6)
- Hematoxilina de Weigert (Ver anexo 7)

#### Eosina

La eosina se encuentra en forma de polvo rojo cristalino, de uso ampliamente extendido en el ámbito industrial, desde la industria textil hasta el estudio biológico e histológico. Además la eosina es de naturaleza aniónica o ácida por lo que se encarga de teñir las estructuras catiónicas o básicas del tejido, dándoles una coloración rosácea a los citoplasmas, pared celular, colágeno, tejido conjuntivo y demás estructuras que rodean y sostienen a la célula<sup>29-32-33-34</sup>. (Ver anexo 1)

También es importante mencionar que la eosina es una molécula autofluorescente debido a sus átomos halógenos y es soluble en agua y en alcoholes, lo que proporciona la factibilidad y versatilidad para la tinción histopatológica<sup>33-34</sup>.

#### Protocolo de tinción hematoxilina – eosina

Una vez montadas las muestras sobre el portaobjetos se debe proceder a secarlas para evitar desprendimientos de la muestra, esto se lo realiza metiendo las placas porta objetos que contienen las muestras en la estufa a 60°C por 15 a 20 minutos o a 37°C por

24 horas. Una vez concluido el proceso de secado se procede con la tinción hematoxilina – eosina, la cual está conformada por los siguientes pasos<sup>33-35</sup>.

1. Desparafinado: Esto se considera como la etapa inicial en el proceso de tinción, y se considera de gran importancia debido a que la parafina debe ser eliminada para consentir que las soluciones acuosas se introduzcan en el tejido y esto normalmente se realiza utilizando xilol, pero se ha considerado que esta sustancia es altamente tóxica para el personal y el medio ambiente, por tal motivo se lo ha reemplazado por un producto sustituto del xilol llamado Neo-Clear y se utiliza en dos casetas diferentes de la siguiente forma: sustituto del xilol 1 por 10 minutos y sustituto del xilol 2 por 5 minutos<sup>21-33-35</sup>.
2. Hidratación: El tejido requiere de hidratación y esto se lo realiza mediante una variante decreciente de soluciones alcohólicas para asegurar que el sustituto del xilol se drene de una forma adecuada. Los portaobjetos se introducen en diferentes casetas que contienen soluciones de etanol con agua, en concentraciones decrecientes de la siguiente forma: 30 sumersiones de etanol 1 al 100%, 30 sumersiones de etanol 2 al 100%, 30 sumersiones de etanol al 95% y 30 sumersiones de etanol al 85%. Posterior a esto se debe lavar con agua corriente<sup>21-33-35</sup>.
3. Tinción de hematoxilina: Los portaobjetos son introducidos en solución de hemalumbre por 5 minutos para estar seguros que los sitios de unión nucleares disponibles se encuentren totalmente saturados. Siguiendo con el proceso, los portaobjetos deben ser lavados en agua corriente, después deben ser introducidos en una solución de alcohol ácido por 1 segundo para eliminar el exceso del colorante. Continuando se debe colocar los portaobjetos en carbonato de litio por 1 segundo para que suceda el viraje de color, de un rojo claro a un azul grisáceo y por último lavar con agua corriente<sup>21-33-35</sup>.
4. Tinción de eosina: Los portaobjetos deben ser introducidos en eosina por 5 minutos para distinguir los núcleos y citoplasmas en las células y posteriormente se debe enjuagar el exceso del colorante en agua corriente<sup>21-33-35</sup>.
5. Deshidratación: Los portaobjetos con las secciones de muestras teñidas se deben sumergir en una serie de soluciones alcohólicas crecientes que contienen etanol y agua, esto se realiza para eliminar el agua, debido a que esto puede refractar la luz, en el momento de la observación microscópica y se lo realiza de la siguiente forma:

30 sumersiones en etanol al 85%, 30 sumersiones en etanol al 95%, 30 sumersiones en etanol 2 al 100% y 30 sumersiones en etanol 1 al 100%<sup>21-33-35</sup>.

6. Aclarado: Para este paso se utiliza también el sustituto del xilol llamado Neo-Clear, para evitar la toxicidad del xilol como se lo menciona anteriormente. Este es el último paso de la tinción hematoxilina – eosina. Se deben colocar en dos casetas diferentes de la siguiente manera: 5 minutos en sustituto del xilol 2 y 5 minutos en sustituto del xilol 1. El Neo-Clear es un excelente agente limpiador que gracias a su acción da paso a que aumente el coeficiente de refracción<sup>21-33-35</sup>.

Por último, se debe realizar el montaje, y es necesario recordar que la placa no debe secarse después del aclarado. Por lo tanto inmediatamente después de la tinción hematoxilina – eosina se debe colocar una gota de Neo mount, el cual es un medio de montaje que se usa para este procedimiento en muestras histológicas, el mismo que produce una película clara y dura para proteger a la muestra, que además asegura que la placa se va a conservar por un período de tiempo largo. Sobre el Neo mount se debe colocar un cubre objetos grande con medidas de 25mm x 50mm y al colocarlo se debe tener cuidado de no formar burbujas sobre la superficie de la placa<sup>21-33-35</sup>.

El Neo mount tarda alrededor de 30 minutos en secarse completamente y una vez lista la placa a estudio se la lleva al microscopio para ser analizada y con esto se concluye la fase analítica. Lo que prosigue es la fase post analítica en donde se redacta el informe con los resultados que se obtuvieron y por último se almacenan las placas analizadas por si en el futuro vuelven a abrir alguno de los casos judiciales.

Una vez establecidos y analizados los protocolos que se utilizan dentro del laboratorio de histopatología forense para el procesamiento de las muestras, se considera pertinente y necesario determinar de dónde nace la problemática que existe en torno al tema del presente proyecto de investigación, debido a que es sumamente importante familiarizarse con los aspectos que rodean al ámbito forense.

La problemática que gira en torno al tema de investigación planteado comienza en la delincuencia y su incremento diario, debido a que lastimosamente afecta a todo el mundo, como lo menciona un artículo emitido por la Organización de las Naciones Unidas (ONU)<sup>38</sup>, el mismo que manifiesta que la cantidad de muertos, producto de la delincuencia y violencia supera notablemente al número de muertos que han sido

producto de conflictos y guerras. También es importante destacar que se considera a Centroamérica como una de las regiones más peligrosas en el mundo.

Por ende las ciencias forenses cada día se vuelve más importante e imprescindible en la sociedad actual y una de las áreas fundamentales es la histopatología forense la cual se encarga de analizar los cambios morfológicos en los diferentes órganos o tejidos y de esta manera emitir un informe pericial con contenido científico contundente que será fundamental para que el médico legista emita su criterio final sobre la causa de la muerte, y de esta manera esclarecer cualquier tipo de duda o discrepancia con respecto al fallecimiento del occiso.

Se considera de fundamental importancia conocer los pasos pertinentes para realizar un correcto trabajo en el área de histopatología forense, dando un realce a la correcta realización de la tinción hematoxilina - eosina, sin desmerecer el procedimiento previo a ésta, ya que también depende mucho el correcto procesamiento del tejido para obtener un óptimo resultado.

Debido a que ésta y la gran mayoría de áreas forenses son temas que apenas están introduciéndose en el Ecuador y existe un gran déficit de profesionales que posean los conocimientos necesarios para desenvolverse en dichas áreas, se considera importante realizar el presente trabajo de investigación que será de utilidad para todos aquellos profesionales graduados en la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico que se interesen por ésta hermosa área del conocimiento forense, que sin lugar a duda se puede considerar que tiene mucho futuro y un amplio campo de empleabilidad en nuestro país y en el mundo.

¿La técnica hematoxilina – eosina será una técnica eficaz en la observación histopatológica según estado postmortem?

Por todo lo antes mencionado, se considera que el objetivo del presente trabajo de investigación, es realizar una investigación bibliográfica acerca de la caracterización de la técnica hematoxilina – eosina en la observación histopatológica según estado postmortem y cómo se asocia a la histopatología clínica.

## **Capítulo II. MARCO METODOLÓGICO**

La presente investigación posee un enfoque cualitativo, porque se realizó una recopilación de información relacionada con la temática para interrogar a la interrogante y proceder a desarrollar una interpretación adecuada de los mismos.

Esta investigación, según su nivel se considera descriptiva, porque la información que contiene el presente trabajo de investigación está estrechamente ligada a la temática propuesta.

El diseño de la investigación es documental no experimental, porque se realizó una recopilación de estudios e información relacionados con la tinción hematoxilina – eosina en estado postmortem, y esto se lo realizó gracias a diferentes sitios oficiales de instituciones enfocadas en el estudio forense y otros sitios web confiables como son: Pubmed, Scielo, Google Scholar, Scopus, entre otros.

Según la secuencia temporal se considera que es transversal, ya que se delimitó a la hora de la búsqueda de información sobre la relación de la tinción hematoxilina – eosina en estado postmortem, en base a las nuevas investigaciones y estudios, lo cual se realizó durante el periodo junio – agosto 2020.

Por otro lado según la cronología de los hechos, se considera que el presente trabajo de investigación es de carácter retrospectivo, ya que el tema planteado y por ende su problemática, existen desde tiempo atrás y por lo tanto la recopilación de información se la realizó mediante archivos del pasado de fuentes fidedignas.

Según los métodos de estudio se determina que el proyecto de investigación se basa en métodos teóricos, debido a que para la obtención del conocimiento científico se incluyeron análisis – síntesis, histórico lógico, entre otros. De esta manera se realizó el proceso de inclusión y exclusión de la información para la elaboración del mismo.

El procedimiento que se utilizó para el desarrollo del presente trabajo de investigación fue arduo, comenzando desde una investigación bibliográfica en diferentes idiomas como: inglés, alemán, mandarín y español, tanto de libros, artículos, revistas, investigaciones, manuales, entre otros, que permitieron adquirir información confiable relacionada a la temática planteada.

La técnica utilizada para la recolección de información fue la observación indirecta, debido a que se recolectó información de investigaciones y datos de diferentes autores que realizaron sus estudios en el pasado y plasmaron sus resultados en forma de libros, artículos, tesis, entre otros.

El procesamiento estadístico, debido a que la investigación tiene datos netamente cualitativos, se lo realizó en forma de análisis e interpretación del contenido bibliográfico recolectado, señalando la fuente de la información, la cual se puede ver reflejada en la bibliografía.

Con respecto a las consideraciones éticas, se trabajó con todas las normas éticas y morales de la investigación bibliográfica, además se establece que no existe ningún tipo de conflicto bioético, debido a que no se utilizó ningún tipo de muestra para la realización del presente trabajo de investigación.

La población quedó conformada en su totalidad por 51 fuentes bibliográficas. En los que se abordó la temática del proceso que se realiza dentro del laboratorio de histopatología forense centrándose en el protocolo, utilización y caracterización de la tinción hematoxilina – eosina, publicados en libros obtenidos y descargados de la plataforma booksmédicos, revistas, páginas web confiables, artículos científicos e investigaciones, los cuales se encuentran disponibles en bases de datos como: Elsevier, Scopus, Scielo, Mendeley, entre otros. Además repositorios en bases regionales e internacionales que han tenido un impacto mundial.

Para la selección de la muestra se siguió un muestreo de carácter bibliográfico, en el que se emplearon datos científicos, para la realización del proyecto de investigación mediante el cual se escogieron 11 sitios web oficiales, 15 libros, 5 repositorios de tesis universitarias y 20 artículos científicos obtenidos de Pubmed, Scielo, Academia, Redalyc, Elsevier, Scopus y Mendeley.

Los criterios de inclusión que se tomaron en cuenta son:

- Información de actualidad, en lo posible de los cinco últimos años.
- Información referida a la tinción hematoxilina – eosina.
- Información referida al procesamiento de tejidos.
- Información referida al ámbito forense.
- Información referida a la histopatología forense.

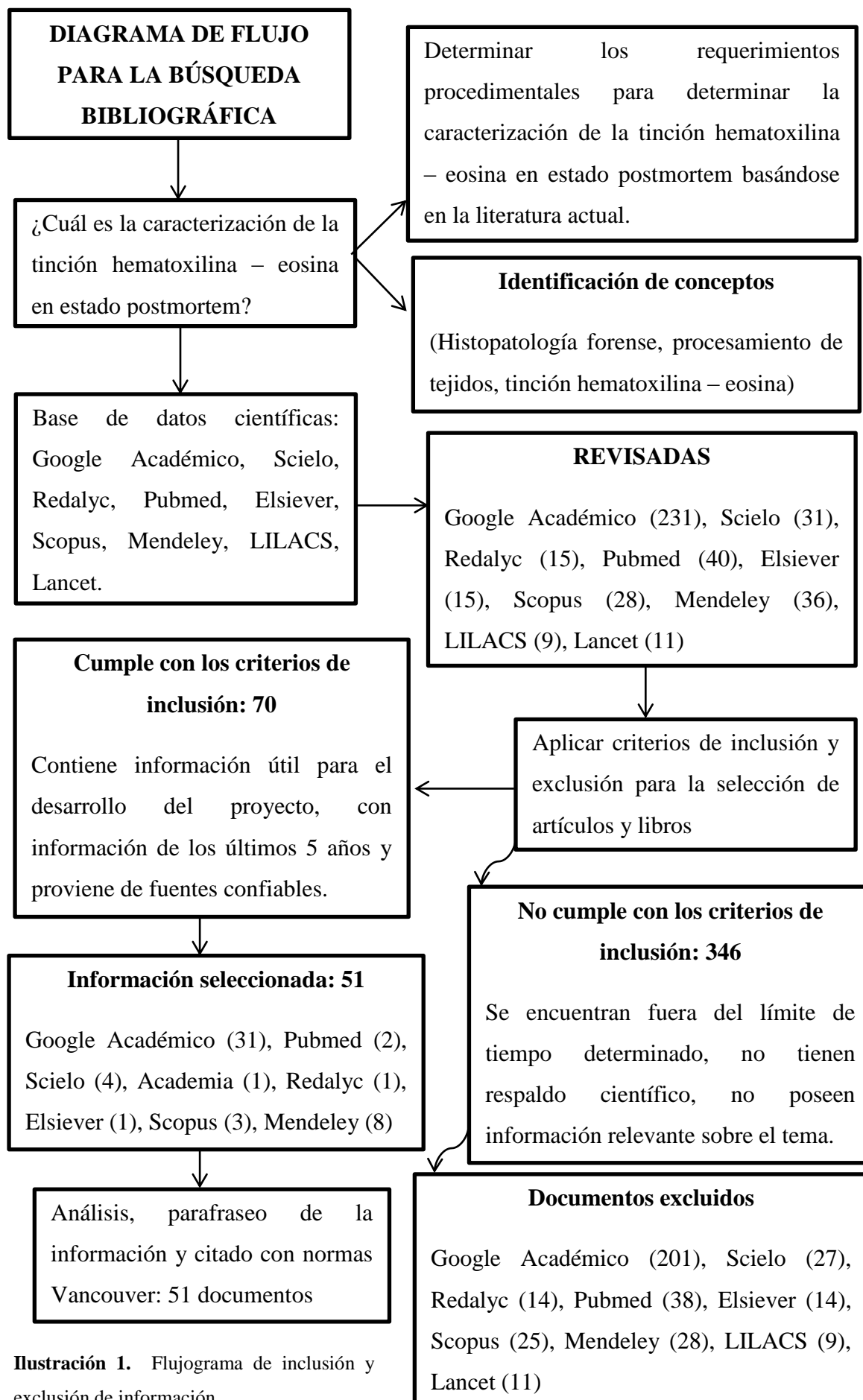


- Información que contenga investigaciones y estudios de actualidad sobre el tema.
- Información de sitios oficiales y plataformas de búsqueda confiables.
- Información en cualquier idioma como: español, inglés, mandarín, portugués, alemán.
- Artículos científicos de actualidad que aporten nuevos descubrimientos sobre el tema.

Los criterios de exclusión que se tomaron en cuenta son:

- Información sin relevancia en el tema propuesto.
- Información publicada antes del año 2015.
- Artículos científicos que no aportaban ninguna clase de innovación sobre el tema.
- Información de sitios web no confiables.
- Información que no determinaba sus autores.
- Información de diferentes idiomas como: inglés, español, portugués, mandarín, alemán, que no contengan la información necesaria.
- Sitios web oficiales que no proporcionen la información adecuada.

Las estrategias de búsqueda que se utilizaron fueron diferentes frases, palabras, como son: “Tinción hematoxilina – eosina en estado postmortem”, “Tinción hematoxilina-eosina”, “Laboratorio de histopatología forense”, “Importancia de la histopatología forense”, “Tinción hematoxilina – eosina en las ciencias forenses”, “Tinción hematoxilina – eosina función”, “Relación de la histopatología forense con la histología”, “Protocolo de tinción hematoxilina – eosina en estado postmortem”, “Procesamiento de tejidos en el laboratorio de histopatología forense”, “Tinción hematoxilina – eosina repositorios”, “Importancia de la tinción hematoxilina – eosina en el laboratorio de histopatología forense”, “Hematoxylin eosin staining in forensic histopathology”, “Hematoxylin eosin staining articles”, “Hematoxylin eosin staining”, “La histopatología forense y su relación con la histología”, “Sistema nacional de ciencias forense”, “Manual de la fiscalía general del estado”, “Estadísticas de mortandad por la delincuencia actual”, “Hematoxylin eosin staining in histology”, “Artículos de histopatología forense”.



**Ilustración 1.** Flujograma de inclusión y exclusión de información

### **Capítulo III. DESARROLLO**

La histopatología forense se centra en los conocimientos y procedimientos histológicos conocidos, los mismos que se detallan en el presente trabajo de investigación, el trabajo que se realiza en ésta área del conocimiento tiene como fin determinar cualquier tipo de lesión o enfermedad y por ende ayudar con el diagnóstico de la causa de muerte del occiso, debido a que gracias a la observación microscópica se puede despejar cualquier tipo de duda que se haya tenido en la observación macroscópica del órgano o tejido<sup>39</sup>.

Según una investigación realizada en el año 2005, existió un declive en la realización de autopsias y sus estudios histopatológicos posteriores, lo que llevó a un resultado poco confiable dentro de las estadísticas de mortandad y por ende es muy probable que al menos el 30% de los certificados de defunción emitidos alrededor del año 2005 sean erróneos<sup>40</sup>.

Además, vale la pena mencionar que los resultados que se obtienen al realizar una autopsia conjuntamente con los estudios histopatológicos determinan en más de un 20% hallazgos imprevistos clínicamente y a eso le sumamos un 5% de hallazgos valiosos que solo serían posibles de determinar con los estudios histopatológicos pertinentes<sup>39</sup>. Por tal motivo en la actualidad los gobiernos han invertido en el área forense, creando establecimientos especializados, en donde se realizan desde autopsias hasta análisis biológicos, toxicológicos e histopatológicos, lo cual ayuda a que exista un 100% de confiabilidad al emitir una causa de muerte.

Dentro del área de histopatología forense se realizan diferentes pasos, los cuales se han mencionado ordenadamente en el presente trabajo de investigación, uno de los más importantes para la observación microscópica es sin lugar a duda la tinción hematoxilina – eosina, la misma que se ha utilizado en el área de histología clínica durante décadas.

Por tal motivo se debe rescatar el valor de la tinción hematoxilina – eosina, según una nota emitida por Romano L. y Pedrosa V., en la cual ponen a consideración su opinión acerca de los exhaustivos ensayos de la literatura por tratar de desprestigiar el excelente trabajo que realiza la técnica de tinción hematoxilina – eosina, por lo tanto se considera que no existe en el mercado una técnica, tan rápida, tan eficaz en el momento de

colorear las diferentes estructuras tisulares del tejido, y a tan bajo costo como la tinción mencionada<sup>41</sup>.

La similitud de los protocolos de tinción se los puede determinar gracias a la comparativa realizada de técnicas de diferentes instituciones a nivel mundial, en las que principalmente se tomó en cuenta al Servicio Nacional de Ciencias Forenses<sup>21</sup> (Tabla 1), al que se tomó como referencia para determinar el procedimiento que se sigue en todos los centros forenses a nivel nacional y mundial, también se tomó en cuenta a diferentes instituciones para realizar la comparativa como son, el Hospital Nacional de la Mujer “Dra. María Isabel Rodríguez”<sup>42</sup> (Tabla 2), Hospital Santiago Oriente Dr. Luis Tisne Brousse<sup>43</sup> (Tabla 3) y la Universidad Nacional de Educación a Distancia<sup>32</sup> (Tabla 4).

**Tabla 1.** Protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Servicio Nacional de Ciencias Forenses.

Establecimiento	País	Procedimiento
Servicio Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses	Ecuador	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 minutos en xilol o sustituto de xilol 1</li> <li>• 5 minutos en xilol o sustituto de xilol 2</li> <li>• 30 sumersiones en etanol 1 al 100%</li> <li>• 30 sumersiones en etanol 2 al 100%</li> <li>• 30 sumersiones en etanol al 95%</li> <li>• 30 sumersiones en etanol al 85%</li> <li>• Lavar en agua corriente</li> <li>• 5 minutos en hematoxilina de Harris</li> <li>• Lavar en agua corriente</li> <li>• 1 sumersión en alcohol ácido</li> <li>• 1 sumersión en carbonato de litio</li> <li>• Lavar en agua corriente</li> <li>• 5 minutos en eosina</li> <li>• 30 sumersiones en etanol al 85%</li> <li>• 30 sumersiones en etanol al 95%</li> <li>• 30 sumersiones en etanol 2 al 100%</li> <li>• 30 sumersiones en etanol 1 al 100%</li> <li>• 5 minutos en xilol o sustituto del xilol 2</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 minutos en xilol o sustituto de xilol 1</li> </ul>
--	--	---

El protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Servicio Nacional de Ciencias Forenses, contempla los pasos establecidos por la histología, para la correcta tinción del tejido a estudio. El cual se divide en diferentes etapas:

- Desparafinado: Utilizan dos pasos con xilol. El xilol 1 durante diez minutos y el xilol dos durante cinco minutos.
- Hidratación: Utilizan cuatro pasos con etanol, con concentraciones decrecientes de: 100% - 100% - 95% - 85%.
- Tinción de hematoxilina: Utilizan hematoxilina de Harris por cinco minutos y posterior una sumersión en alcohol ácido para eliminar excesos de colorante y una sumersión en carbonato de litio para que se realice el viraje de color.
- Tinción de eosina: Utilizan eosina por cinco minutos.
- Deshidratación: Utilizan cuatro pasos con etanol, en forma de sumersiones, con concentraciones crecientes de: 85% - 95% - 100% - 100%.
- Aclarado: Utilizan dos pasos con xilol, durante 5 minutos cada uno.

**Tabla 2.** Protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Hospital Nacional de la Mujer “Dra. María Isabel Rodríguez”

Establecimiento	País	Procedimiento
Hospital Nacional de la Mujer “Dra. María Isabel Rodríguez”	El Salvador	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 minutos en xilol 1</li> <li>• 5 minutos en xilol 2</li> <li>• 5 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 5 minutos en etanol al 90%</li> <li>• 5 minutos en etanol al 80%</li> <li>• 10 minutos lavado con agua corriente</li> <li>• 2 minutos en hematoxilina de Harris</li> <li>• 2 segundos en carbonato de litio</li> <li>• 10 minutos lavado con agua corriente</li> <li>• 15 segundos en eosina</li> <li>• 3 sumersiones en etanol al 80%</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 sumersiones en etanol al 90%</li> <li>• 3 sumersiones en etanol al 100%</li> <li>• 5 segundos xilol 2</li> <li>• 5 segundos xilol 1</li> </ul>
--	--	---

El protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Hospital Nacional de la Mujer “Dra. María Isabel Rodríguez”, contempla los pasos establecidos por la histología, para la correcta tinción del tejido a estudio. El cual se divide en diferentes etapas:

- Desparafinado: Utilizan dos pasos por xilol, durante cinco minutos cada uno.
- Hidratación: Utilizan tres pasos por etanol durante cinco minutos cada uno, con concentraciones decrecientes de: 100% - 90% - 80%.
- Tinción de hematoxilina: Utilizan hematoxilina de Harris por dos minutos y paso siguiente se coloca dos segundos en carbonato de litio para que se realice el viraje de color.
- Tinción de eosina: Utilizan eosina por 15 segundos.
- Deshidratación: Utilizan tres pasos con etanol en forma de sumersiones, con concentraciones crecientes de: 80% - 90% - 100%.
- Aclarado: Utilizan dos pasos con xilol, durante cinco segundos cada uno.

**Tabla 3.** Protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Hospital Santiago Oriente Dr. Luis Tisne Brousse.

Establecimiento	País	Procedimiento
Hospital Santiago Oriente Dr. Luis Tisne Brousse	Chile	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 minutos en xilol 1</li> <li>• 5 minutos en xilol 2</li> <li>• 5 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 5 minutos en etanol al 80%</li> <li>• 5 minutos en etanol al 70%</li> <li>• Lavado con agua corriente</li> <li>• 14 minutos en hematoxilina de Harris</li> <li>• Lavar con agua corriente</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 a 3 segundos en alcohol ácido</li> <li>• Lavar con agua corriente</li> <li>• 1 minuto en carbonato de litio</li> <li>• Lavar con agua corriente</li> <li>• 3 minutos en eosina</li> <li>• Lavar con agua corriente</li> <li>• 5 minutos en etanol al 70%</li> <li>• 5 minutos en etanol al 80%</li> <li>• 5 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 5 minutos xilol 2</li> <li>• 5 minutos xilol 1</li> </ul>
--	--	---

El protocolo de tinción hematoxilina – eosina del Hospital Santiago Oriente Dr. Luis Tisne Brousse, contempla los pasos establecidos por la histología, para la correcta tinción del tejido a estudio. El cual se divide en diferentes etapas:

- Desparafinado: Utilizan dos pasos con xilol, cinco minutos cada uno.
- Hidratación: Utilizan tres pasos con etanol durante cinco minutos cada uno, con concentraciones decrecientes de: 100% - 80% - 70%.
- Tinción de hematoxilina: Utilizan hematoxilina de Harris por 14 minutos. Paso siguiente se coloca de uno a dos segundos en alcohol ácido para eliminar excesos de colorante y por último, se coloca un minuto en carbonato de litio para que se produzca el viraje de color.
- Tinción de eosina: Utilizan eosina durante 3 minutos.
- Deshidratación: Utilizan tres pasos con etanol durante cinco minutos cada uno, en concentraciones crecientes de: 70% - 80% - 100%.
- Aclarado: Utilizan dos pasos con xilol, durante tres minutos cada uno.

**Tabla 4.** Protocolo de tinción hematoxilina – eosina establecido en la Universidad Nacional de Educación a Distancia.

Establecimiento	País	Procedimiento
Autora: Sara Santos	España	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 minutos en xilol 1</li> </ul>

<p>Vidal Universidad Nacional de Educación a Distancia</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 minutos en xilol 2</li> <li>• 3 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 3 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 3 minutos en etanol al 90%</li> <li>• 3 minutos en etanol al 70%</li> <li>• Lavar con agua corriente</li> <li>• 10 minutos en hematoxilina de Harris</li> <li>• 20 segundos en alcohol ácido</li> <li>• 5 minutos lavado en agua corriente</li> <li>• 2 minuto en eosina</li> <li>• 2 minutos en etanol al 70%</li> <li>• 2 minutos en etanol al 90%</li> <li>• 3 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 3 minutos en etanol al 100%</li> <li>• 3 minutos xilol 2</li> <li>• 3 minutos xilol 1</li> </ul>
--	--	--

El protocolo de tinción hematoxilina – eosina establecido en la tesis para la obtención del título de master de Sara Santos Vidal, perteneciente a la Universidad Nacional de Educación a Distancia, contempla los pasos establecidos por la histología, para la correcta tinción del tejido a estudio. El cual se divide en diferentes etapas:

- Desparafinado: Utilizan dos pasos con xilol, cinco minutos cada uno.
- Hidratación: Utilizan cuatro pasos con etanol durante tres minutos cada uno, con concentraciones decrecientes de: 100% - 100% - 90% - 70%.
- Tinción de hematoxilina: Utilizan Hematoxilina de Harris durante 10 minutos y después veinte segundos en alcohol ácido para que se realice el viraje de color.
- Tinción de eosina: Utilizan eosina durante dos minutos.
- Deshidratación: Utilizan cuatro pasos con etanol durante tres minutos cada uno, con concentraciones crecientes de: 70% - 90% - 100% - 100%.
- Aclarado: Utilizan dos pasos con xilol, durante tres minutos cada uno.



Como se puede observar en las tablas 1, 2, 3 y 4, la técnica se basa en la unión de dos tintes, la hematoxilina y la eosina, los cuales se encargan de teñir tanto núcleos como citoplasmas respectivamente<sup>44</sup>. Por ende se determinó que la tinción realiza la misma función tanto en el área forense como en el área clínica, debido a que en las dos áreas se utiliza el mismo procedimiento, el cual contempla el desparafinado, la hidratación, la tinción de hematoxilina, la tinción de eosina, la deshidratación y el aclarado.

La variante que podemos observar es el tiempo, debido a que como en todo procedimiento histológico, va a variar según el laboratorio donde se lo realice. Además un factor importante a considerar, según Feldman A, y Wolfe D., para un óptimo resultado al utilizar la técnica de tinción hematoxilina – eosina es la calidad de los reactivos y el modo de preparación y conservación de los mismos. Sin embargo la calidad de la tinción también va a depender mucho de que se haya realizado un correcto procesamiento del tejido<sup>45</sup>.

Una vez establecido que la técnica de tinción hematoxilina – eosina no varía si se realiza con tejidos u órganos extraídos del cuerpo humano antemortem o postmortem, se puede mencionar nuevos estudios realizados con la ayuda de la tinción hematoxilina – eosina, que se los puede implementar sin lugar a duda en el laboratorio de histopatología forense para obtener mejor resolución en el momento de la observación microscópica.

Comenzamos mencionando un estudio realizado en base a la tinción hematoxilina – eosina, a la que los investigadores determinan como un estándar de oro dentro de los estudios histopatológicos. La investigación comenzó con la problemática que existe al teñir tejidos tumorales, debido a que es difícil teñir cualquier clase de tejido tumoral completo, con la tinción hematoxilina – eosina, y poder visualizar su distribución tridimensional de células en tumores sólidos, Por ello han creado un método de tinción hematoxilina – eosina modificado, al cual denominaron iHE (tinción de tejidos intacto con hematoxilina y eosina)<sup>46</sup>.

El método propuesto de tinción hematoxilina – eosina modificado, utiliza ondas de deslipidación y ultrasonido para que la permeabilidad tisular mejore notablemente y también ayuda a que la difusión del tinte sea más rápida (Tabla 5). Para éste estudio se utilizaron órganos de ratones, y los resultados obtenidos demostraron que el tejido completo se tiñó homogéneamente. El método iHE conjuntamente con tomografías de

corte microóptico (MOST), se pueden utilizar para tener imágenes tridimensionales y así lograr evaluar espacialmente la heterogeneidad intratumoral del tejido por completo<sup>46</sup>.

Otro estudio relacionado con la determinación de tumores colorrectales y su metástasis, determinó que la tinción hematoxilina – eosina es igual de eficiente y más rápida que otras tinciones inmunohistoquímicas que se utilizan para establecer la gemación del tumor colorrectal<sup>47</sup>, y si a esto le añadimos el nuevo método iHE, podría ser el inicio de una nueva forma de diagnóstico histopatológico tanto clínico, como forense, debido a que gracias a la nueva técnica de tinción hematoxilina – eosina modificada se podrá ayudar con gran precisión la fase de invasión tumoral y en el área forense ayudará a determinar cualquier anomalía en el órgano o fragmento de una manera más precisa.

**Tabla 5.** Método de tinción hematoxilina y eosina de tejidos intactos mediante deslipidación y ecografía.

<b>Año</b>	<b>Autores</b>	<b>Título</b>	<b>Procedimiento</b>
2018	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Yawu Li</li> <li>• Ning Li</li> <li>• Xiang Yu</li> <li>• Kai Huang</li> <li>• Ting Zheng</li> <li>• Xiaofeng Cheng</li> <li>• Shaoqun Zeng</li> <li>• Xiuli Liu</li> </ul>	Hematoxylin and eosin staining of intact tissues via delipidation and ultrasound	<p><b>Dispositivo contenedor:</b></p> <p>Se elaboró un envase hecho con acero inoxidable en un transductor ultrasónico y se colocó un radiador de aleación de aluminio abajo del transductor ultrasónico para consolidar que exista un intercambio de calor eficaz y rápido. También se adaptaron tubos de centrifuga elaborados de plástico en el envase de acero inoxidable.</p> <p>El envase se lo llenó con agua para una eficiente propagación de ondas de ultrasonido hacia los tejidos. El envase se lo envolvió en una almohadilla térmica elaborada con silicona para estar</p>

			<p>seguros que la temperatura sea estable en los tubos de centrífuga.</p> <p><b>Deslipidación</b></p> <p>Los tejidos a estudio se procesaron con ultrasonido. Posteriormente los tejidos se deshidrataron con etanol de concentraciones al 75%, 95% y 100%, cada uno por un tiempo de una hora y media, a 60°C-70°C.</p> <p>Como siguiente paso, los tejidos se introdujeron en diclorometano (DCM) a 40°C por cuatro horas y después se rehidrataron los tejidos con etanol al 100%, al 95%, al 75% y agua destilada por una hora y media y por último una hora a 60°C-70°C.</p> <p><b>Tinción hematoxilina-eosina</b></p> <p>Los tejidos se tiñeron con hematoxilina de Harris por seis horas, a temperatura de 60°C-70°C y posteriormente se lavaron con agua corriente, continuando con el proceso, se utilizó ácido acético al 10% y etanol al 85% en agua para diferenciar el tejido por dos veces por dos horas y diez horas y los tejidos se lavaron en agua corriente. En el proceso del paso a azulado, se</p>
--	--	--	--

			sumergieron los tejidos en una solución saturada de carbonato de litio durante doce horas y luego se lavó el tejido con agua corriente. Posteriormente se tiñó el tejido con eosina y se realizó la deshidratación con etanoles.
--	--	--	--

En China realizaron una investigación con veinte muestras orales de carácter patológico, las cuales contenían tejidos duros que requirieron decalcificación. La problemática que radica en éste estudio fue que los tejidos que se sometían a decalcificación no daban un resultado de tinción hematoxilina – eosina excelente, a comparación de tejidos que no se requirieron el proceso de decalcificación<sup>48</sup>.

Para solucionar ese problema en la calidad de la tinción hicieron varias pruebas, hasta obtener un resultado óptimo. Esto lo lograron remojando las muestras en una solución saturada de carbonato de litio como se lo puede observar en la (Tabla 6). Realizando éste procedimiento se consigue que la tinción hematoxilina – eosina realice un mejor trabajo al teñir el tejido, debido a que al realizar este procedimiento previo a la deshidratación, se logra neutraliza el ambiente ácido del tejido, que es producto del ácido utilizado para la decalcificación<sup>48</sup>.

Este procedimiento se lo puede aplicar sin lugar a duda en el área de histopatología forense, debido a que se procesan tejidos óseos que requieren ser decalcificados y al implementar este método se obtendrá una tinción hematoxilina – eosina con excelentes resultados, eso quiere decir que la hematoxilina y eosina estarán fuertemente teñidas, lo que nos dará como resultado la observación microscópica de núcleos y citoplasmas claros y brillantes.

**Tabla 6.** Método del programa de mejora del pre tratamiento del tejido decalcificado con ácido en tinción con hematoxilina – eosina.

Año	Autores	Título	Método
2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Yao L</li> <li>• Zhang M</li> </ul>	Improvement program on pretreatment of acid	Remojar las muestras que han sido

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Huang M</li> <li>• Wan Z</li> <li>• Zhang W</li> <li>• Yang X</li> <li>• Yang M</li> <li>• Chen Y</li> <li>• Tang Y</li> </ul>	decalcified tissue in hematoxylin-eosin staining	decalcificadas con ácido, en una solución saturada de carbonato de litio. Realizar éste procedimiento antes de la deshidratación.
--	---	--	---

Se ha comprobado la eficacia de la técnica de tinción hematoxilina – eosina, a través de varios estudios durante los últimos años, que además de su rol esencial dentro del laboratorio de histopatología forense, se debe mencionar que la calidad y reproducibilidad de la misma, son factores imprescindibles para dar seguimiento a la garantía de calidad del laboratorio.

La revista de estomatología de China occidental realizó un artículo al respecto, en el que hablan sobre el uso de la patología digital y análisis de imágenes en la última década. Gracias a estas herramientas se ha logrado rastrear la precisión de la tinción hematoxilina – eosina por densidad óptica tanto en componentes nucleares, como en componentes citoplasmáticos. Además se estableció el impacto que tiene sobre la tinción la fase pre analítica y analítica sobre los resultados que se obtienen en la densidad óptica<sup>49</sup>.

La técnica para verificar la calidad de tinción con la ayuda de la densidad óptica, sería de gran ayuda en el laboratorio de histopatología forense debido a que se podría determinar errores en la fase preanalítica de la tinción o fallas en los colorantes y reactivos utilizados. Lo mismo manifiestan Cardiff R, Miller C y Munn R, en su estudio, en el que utilizaron la técnica de tinción hematoxilina – eosina para obtener un fenotipado exacto y delineación de las características del tejido de ratones<sup>50</sup>, y para que esto sea posible aseguran se debe cumplir rigurosamente el protocolo de tinción y los reactivos deben ser actualizados y cambiarse frecuentemente, para asegurar su calidad.

Además es sumamente importante también la verificación de la fase analítica dentro del procesamiento de tejidos, como lo menciona Mark Wick en su artículo, en el que afirma que la calidad de la tinción hematoxilina – eosina, está estrechamente relacionado con

una correcta fijación, inclusión y microtomía<sup>51</sup>. Si cualquier paso del procesamiento del tejido a estudio no se cumple correctamente, es muy poco probable obtener un óptimo resultado al colorear el tejido.

## CONCLUSIONES

Se determinó la caracterización de la técnica de tinción hematoxilina – eosina en estado postmortem, estableciendo sus funciones, sus componentes, sus características y su importancia dentro del laboratorio de histopatología forense, debido a que sin la realización de la tinción hematoxilina – eosina sería imposible la visualización de las estructuras tisulares en el microscopio óptico.

Gracias a la tinción hematoxilina – eosina se pueden observar los núcleos de color violeta azulado intenso por acción de la hematoxilina y los citoplasmas, pared celular, colágeno, tejido conjuntivo y otras estructuras que rodean a la célula se observan de color púrpura rosáceo por la acción de la eosina, claro que también es muy importante los procedimientos previos a ésta debido a que se debe realizar un correcto procesamiento de tejidos para obtener un óptimo resultado al teñir el tejido a estudio, además también el resultado de tinción va a verse estrechamente relacionado con la calidad de los reactivos utilizados y de su correcta preparación y conservación.

Por otro lado, gracias a la comparación de protocolos de tinción hematoxilina – eosina realizada, se pudo determinar que la técnica de tinción no varía según estado antemortem y postmortem, debido a que la tinción hematoxilina – eosina tanto en la histopatología forense como en la histopatología clínica se basa en los mismos fundamentos que proporciona la histología clásica.

Otro factor a considerar es la escasa y nula información acerca de la histopatología forense en el campo de su desenvolvimiento interno por parte de los diferentes sistemas nacionales de medicina legal y ciencias forenses a nivel mundial, además de la escases de investigaciones recientes que se encuentren dentro del período establecido, por lo que da a entender que se deben realizar más investigaciones en este ámbito y aún más para establecer la gran importancia que tiene la tinción hematoxilina – eosina dentro del ámbito forense.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Criminalidad en Europa [Internet]. europapress.es. 2020 [consultado 25 Junio 2020]. Disponible en: <https://www.europapress.es/sociedad/noticia-espana-pais-seguro-cinco-datos-criminalidad-comparados-otros-paises-europa-20190321173055.html>
2. Instituto de Ciencias Forenses. Laboratorio de Histopatología. 2016 [Internet]. Puerto Rico. [consultado 25 Junio 2020]. Disponible en: <http://www.icf.gobierno.pr/nosotros.php>
3. Ministerio Público de la República de Honduras. 2017 [Internet]. Honduras. [consultado 25 Junio 2020]. Disponible en: <https://www.mp.hn/index.php/author-login/66-dic2017/2428-de-40-a-60-muestras-son-analizadas-mensualmente-en-el-laboratorio-de-histopatologia>
4. Fiscalía General del Estado. 2015 [Internet]. Ecuador. [consultado 25 Junio 2020]. Disponible en: <https://www.fiscalia.gob.ec/fiscalia-completo-la-apertura-de-8-centros-forenses-en-el-pais/>
5. Sabillón N. Revista de Ciencias Forenses de Honduras [Internet]. Pubmed 2015 [consultado 26 Junio 2020]. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RCFH/pdf/2015/pdf/RCFH1-2-2015-11.pdf>
6. Laborda Gálvez J, Laborda Gálvez J, Salguero Villadiego M; Blanco Pampín J (eds.). Histopatología Forense. Madrid: Ministerio de Justicia. Secretaría General Técnica. 2015. 389p. 376 Ilustraciones en color y tablas. ISBN: 978-84-7787-420-1. NIPO: 051-15-014-3. [Internet]. Scielo. 2020 [citado 23 Septiembre 2020]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-76062017000200115&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-76062017000200115&script=sci_arttext&tlng=en)
7. Radicación de la palabra Histopatología. [Internet]. 2020 [consultado 26 Junio 2020]. Disponible en: <http://etimologias.dechile.net/?histopatologia>
8. Álvarez P. Técnicas histológicas protocolos [Internet]. Academia. 2016 [citado 10 Julio 2020]. Disponible en: [https://www.academia.edu/30542346/T%C3%A9cnicas\\_histol%C3%B3gicas\\_PROTOCOLOS](https://www.academia.edu/30542346/T%C3%A9cnicas_histol%C3%B3gicas_PROTOCOLOS)
9. El-Nageh M, Maynard J, Corder S. Quality Systems for Anatomical and Forensic Pathology Laboratories [Internet]. Alexandría, Egipto: World Health Organization; 1999 [consultado 12 Julio 2020]. Disponible en:



- <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/119603/dsa36.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
10. Organización Mundial de la Salud. Anomalías Congénitas. [Internet]. 2016 [consultado 13 Julio 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/congenital-anomalies>
  11. González-Wilhelm L. Prueba pericial, litigación con peritos y medicina legal. 1st ed. Chile; 2018.
  12. Pérez Cepeda C. Contribución del estudio histopatológico a la Medicina Legal, casos estudiados de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Higiene - INSPI periodo 2008 - 2013 [Internet]. Universidad de Guayaquil. 2016 [consultado 14 Julio 2020]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/40854>
  13. Dettmeyer R. Forensic Histopathology Fundamentals and Perspectives. Alemania: Institute of Forensic Medicine; 2011.
  14. Ruiz L. La prueba pericial y su valoración en el proceso penal colombiano [Internet]. Redalyc. 2015 [consultado 14 Julio 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1514/151445901007.pdf>
  15. Honores Ortega B, Quizhpe Oviedo J, Honores Ortega B, Quizhpe Oviedo J. El peritaje desde la perspectiva del trabajo social [Internet]. Scielo. 2019 [consultado 14 Julio 2020]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1990-86442019000300267&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1990-86442019000300267&script=sci_arttext&tlng=es)
  16. Anadón Baselga M, Robledo Acinas M. Manual de criminalística y ciencias forenses. Madrid: Tébar Flores; 2017.
  17. Neira Montoya C, Sedano Gelvet E, Vilcarrromero V. M. Técnicas Microscópicas [Internet]. 2018 [consultado 16 Julio 2020]. Disponible en: [http://file:///C:/Users/user/Downloads/libro61%20\(1\).pdf](http://file:///C:/Users/user/Downloads/libro61%20(1).pdf)
  18. Fiscalía General del Estado. Sistema Especializado integral de investigación, de medicina legal y Ciencias Forenses Protocolo del centro de acopio. [Internet]. 2014 [consultado 16 Julio 2020]. Disponible en: [https://www.fiscalia.gob.ec/wp-content/uploads/2014/08/files\\_archivos%20AC\\_COIP%20073%20FGE\\_Area%20de%20Cadena%20de%20Custodia\\_14\\_\\_Protocolo\\_del\\_Centro\\_de\\_Acopio.pdf](https://www.fiscalia.gob.ec/wp-content/uploads/2014/08/files_archivos%20AC_COIP%20073%20FGE_Area%20de%20Cadena%20de%20Custodia_14__Protocolo_del_Centro_de_Acopio.pdf)
  19. Rodríguez Jorge R, Loy Vera B. Bases teóricas de las ciencias forenses contemporáneas y las competencias interdisciplinarias profesionales [Internet]. Scielo. 2016 [consultado 17 Julio 2020]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30432016000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432016000100002)

20. Funciones - Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses [Internet].  
Medicinalegal. 2020 [consultado 18 Julio 2020]. Disponible en:  
<https://www.medicinalegal.gov.co/objetivos-y-funciones>
21. Manual de protocolos y procedimientos de histopatología forense [Internet].  
[consultado 07 Agosto 2020]. Disponible en:  
[https://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/2\\_\\_Manual\\_de\\_Protocolos\\_y\\_Procedimientos\\_de\\_Hispatologia\\_Forense.pdf](https://www.fiscalia.gob.ec/files/archivos%20AC/COIP%20073%20FGE/Area%20Ciencias%20Forenses/2__Manual_de_Protocolos_y_Procedimientos_de_Hispatologia_Forense.pdf)
22. Vivar Días N. Manual de procedimientos en anatomía patológica. Quito, Ecuador: Roche; 2010.
23. Guerra Merino I. Libro blanco de la anatomía patológica en España, 2019. Madrid: SEAP-IAP, Sociedad Española de Anatomía Patológica = International Academy of Pathology; 2019.
24. Badía L, Ruiz F, González A. Técnicas en histología y biología celular + StudentConsult en español. 2nd ed. España; 2014.
25. Castaño López M, Días Portillo J, Paredes Salido F. La Patología a través del Laboratorio de Análisis Clínicos. 1st ed. España: Universidad de Cádiz; 2006.
26. Manuel Megías M. Técnicas Histológicas. 3. Inclusión en parafina. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. España: Universidad de Vigo. 2020 [consultado 19 Julio 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/3-parafina.php#:~:text=Vamos%20a%20describir%20los%20pasos,por%20mezclas%20de%20hidrocarburos%20saturados.&text=La%20parafina%20no%20es,est%C3%A1n%20formados%20principalmente%20por%20agua>
27. Parafina - EcuRed [Internet]. Ecured.cu. 2020 [consultado 20 Julio 2020]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Parafina>
28. MONTALVO ARENAS C. Técnica Histológica [Internet]. 2010 [consultado 21 Julio 2020]. Disponible en:  
[http://file:///C:/Users/user/Downloads/3\\_tecnica\\_histologica.pdf](http://file:///C:/Users/user/Downloads/3_tecnica_histologica.pdf)
29. Lecuona Rodríguez M. Compendio de histología médica y biología celular. Ámsterdam: Elsevier; 2015.
30. Manuel Megías M. Técnicas Hitológicas. 4. Corte. Microtomo de parafina. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. España: Universidad de Vigo. 2020

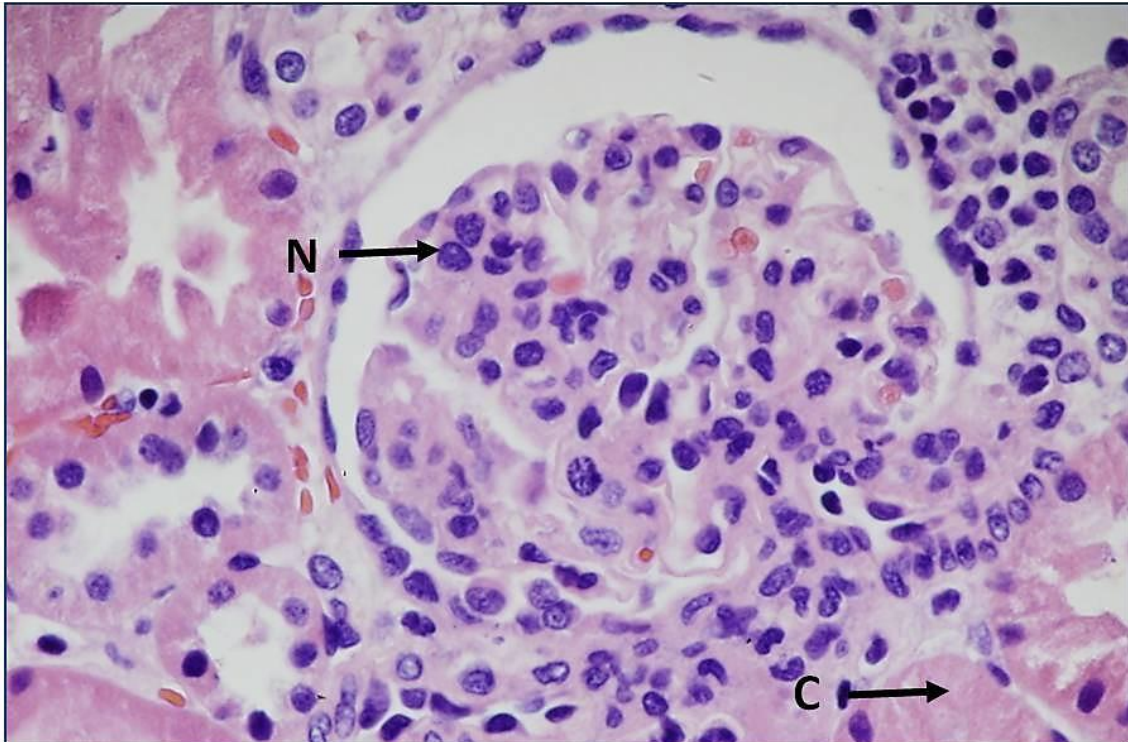
- [consultado 22 Julio 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/4-mparafina.php>
31. Peñafiel Méndez C. Metodología de integración virtual “HISTO-TEC-BLOG”, Para el aprendizaje de técnicas histológicas, en estudiantes del tercer semestre de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional De Chimborazo, en el periodo abril-octubre de 2016. [Internet]. Riobamba; 2017 [consultado 25 Julio 2020]. Disponible en: <http://file:///C:/Users/user/Downloads/UNACH-EC-IPG-BIO-2017-0011.pdf>
  32. Ross M, Pawlina W. Ross Histología Texto y Atlas. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2012.
  33. Santos Vidal S. Tinción Hematoxilina - Eosina [Internet]. Universidad Nacional De Educación a Distancia. 2017 [consultado 25 Julio 2020]. Disponible en: [http://e-espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos\\_Vidal\\_Sara\\_TFM.pdf](http://e-espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos_Vidal_Sara_TFM.pdf)
  34. Bryant P. [Internet]. Tissue sampling, processing and staining. 2020 [consultado 27 Julio 2020]. Disponible en: <https://tissuesampling.weebly.com/staining.html>
  35. Pilco V. Aplicación de agua de limón en reemplazo del xilol para comprobar su acción desparafinizante en los cortes de tejido coloreados con hematoxilina eosina en el laboratorio de histopatología de la facultad de ciencias médicas de la Universidad Central del Ecuador [Internet]. Universidad Central del Ecuador. 2015 [consultado 30 Julio 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8243/1/T-UCE-0006-052.pdf>
  36. Matos Rodríguez A, Ferro González B, Concepción Obregón T, Barrabes Mazón A, González León S, Matos Rodríguez A et al. Técnicas histológicas básicas en la formación del especialista de Histología [Internet]. Scielo. 2020 [consultado 01 Agosto 2020]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-31942019000200310](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942019000200310)
  37. Alarcón Herrera A, Soto Soto A, Gómez Guzmán Y. Calidad del servicio del laboratorio de anatomía patológica, citología e histología [Internet]. Universidad Cooperativa de Colombia. 2020 [consultado 01 Agosto 2020]. Disponible en: <https://repository.ucc.edu.co/handle/20.500.12494/17168>
  38. Organización de las Naciones Unidas. 2019. [Internet]. [consultado 02 Agosto 2020]. Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2019/07/1458941>

39. Parai J, Milroy C. The Utility and Scope of Forensic Histopathology [Internet]. Mendeley. 2018 [consultado 03 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/1f863845-c6e3-3ced-b598-de0526b768a3/>
40. Roulson J, Benbow E, Hasleton P. Discrepancies between clinical and autopsy diagnosis and the value of post mortem histology; a meta-analysis and review [Internet]. Mendeley. 2005 [consultado 05 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/40329ba3-8943-3eff-bc01-9dcca283cae1/>
41. Romano L, Pedrosa V. Re-claiming H&E: Back to the future [Internet]. Scopus. 2019 [consultado 06 Agosto 2020]. Disponible en: <https://pmj.bmj.com/content/96/1131/58>
42. Olivares Rogel A, Machuca de Castillo B, Linares de García M, de Delbosco M, Barrera Lazo S, Herrera de Guzmán R et al. Manual de procesos de anatomía patológica [Internet]. El Salvador; 2016 [consultado 09 Agosto 2020]. Disponible en: [http://file:///C:/Users/user/Downloads/MANUAL\\_ANATOMIA\\_PAT.pdf](http://file:///C:/Users/user/Downloads/MANUAL_ANATOMIA_PAT.pdf)
43. Amaro J, Calfuman A, Nuñez F, Jara R. Manual procedimientos anatomía patológica [Internet]. Chile; 2011 [consultado 09 Agosto 2020]. Disponible en: [http://200.72.129.100/transparencia/transparencia\\_activa/documentos/apato/Manual es%20Hasta%20Agosto%202012/Manual\\_procdimientos\\_anatomia\\_patologica\\_2011.pdf](http://200.72.129.100/transparencia/transparencia_activa/documentos/apato/Manual%20Hasta%20Agosto%202012/Manual_procdimientos_anatomia_patologica_2011.pdf)
44. Giri D. Hematoxylin and Eosin staining : principle, procedure and interpretation | LaboratoryInfo.com [Internet]. Mendeley. 2015 [consultado 11 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/4e7c65de-0d28-3a3d-baca-8bf646384702/>
45. Feldman A, Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining [Internet]. Mendeley. 2014 [consultado 12 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/479ce226-332f-306b-b9e5-e930185bd175/>
46. Li Y, Li N, Yu X, Huang K, Zheng T, Cheng X et al. Hematoxylin and eosin staining of intact tissues via delipidation and ultrasound [Internet]. Mendeley. 2018 [consultado 15 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/afed4a0c-01ca-3985-acf2-c24e09d7d699/>
47. Okamura T, Shimada Y, Nogami H, Kameyama H, Kobayashi T, Kosugi S et al. Tumor Budding Detection by Immunohistochemical Staining is Not Superior to Hematoxylin and Eosin Staining for Predicting Lymph Node Metastasis in pT1 Colorectal Cancer [Internet]. Mendeley. 2016 [consultado 15 Agosto 2020].

- Disponibile en: <https://www.mendeley.com/catalogue/d52733db-f164-33fd-b419-4fbfa51f63c4/>
48. Yao L, Zhang M, Huang M, Wan Z, Zhang W, Yang X et al. Improvement program on pretreatment of acid decalcified tissue in hematoxylin-eosin staining [Internet]. Mendeley. 2020 [cited 16 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/087063f2-3b7e-3409-888e-9618800eaa0f/>
49. Chlipala E, Bendzinski C, Chu K, Johnson J, Brous M, Copeland K et al. Optical density-based image analysis method for the evaluation of hematoxylin and eosin staining precision [Internet]. Mendeley. 2020 [consultado 17 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.mendeley.com/catalogue/149ce471-a8e5-3e47-90c6-d940d33ded9b/>
50. Cardiff R, Miller C, Munn R. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections [Internet]. Scopus. 2014 [consultado 17 Agosto 2020]. Disponible en: <http://cshprotocols.cshlp.org/content/2014/6/pdb.prot073411>
51. Wick M. The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology—An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory [Internet]. Pubmed, 2019 [citado 19 Agosto 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31230963/>

## ANEXOS

### Anexo 1. Visualización de la tinción hematoxilina – eosina



Riñón con tinción Hematoxilina Eosina

N= núcleo teñido con Hematoxilina

C= Citoplasma teñido con Eosina

**Fuente:** Baeza C. Tinciones Histológicas Básicas [Internet]. [consultado 19 Agosto 2020]. Disponible en: <http://tecnologiamedicaudd.weebly.com/tinciones-histoloacutegicas-baacutesicas>

### Anexo 2. Preparación del colorante Hematoxilina de Carazzi.

<b>COLORANTE HEMATOXILINA DE CARAZZI</b>	
La hematoxilina de Carazzi se considera una que realiza una buena tinción nuclear, la misma que proporciona una ligera tinción de fondo.	
<b>Procedimiento</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Agua destilada: 800ml</li><li>• Glicerol: 200ml</li><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 1g</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Yodato de sodio: 0.2g</li> <li>• Alumbre de potasio: 50g</li> </ul> <p>Como primer paso se debe combinar la hematoxilina con el glicerol. Disolver el yodato de sodio en una poca cantidad de agua. Preparar el alumbre en el resto. Mezclar bien las soluciones de hematoxilina y de alumbre y posterior añadir despacio poco a poco el yodato de sodio. Y por último paso filtrar.</p>
<b>Consejos</b>	<p>En secciones por congelación se sugiere realizar una doble tinción. La solución de hematoxilina se puede utilizar inmediatamente y dura por tres meses.</p>
<b>Productos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glicerol</li> <li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)</li> <li>• Yodato sódico (NaIO<sub>3</sub>)</li> <li>• Agua destilada</li> <li>• Alumbre de potasio (sulfato alumínico de potasio)</li> </ul>
<b>Materiales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balanza</li> <li>• Probeta</li> <li>• Agitador</li> <li>• Vasos de precipitación</li> <li>• Botellas color ambar con cierre hermético</li> </ul>

**Fuente:** Megías M, Molist P, Pombal M. [Internet]. Técnicas histológicas RECETAS. 2018 [consultado 20 Agosto 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>

### Anexo 3. Preparación del colorante Hematoxilina de Ehrlich.

<b>COLORANTE HEMATOXILINA DE EHRLICH</b>	
La hematoxilina de Ehrlich se considera que realiza una buena tinción nuclear.	
<b>Procedimiento</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 6g</li> <li>• Etanol 100°: 300ml</li> <li>• Agua destilada: 300ml</li> <li>• Glicerol: 300ml</li> <li>• Ácido acético glacial: 30ml</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfato de aluminio y potasio o amonio (alumbre de potasio o aluminio): 30g</li> <li>• Yodato sódico: 0.9g</li> </ul> <p>Como primer paso se debe disolver la hematoxilina en el etanol antes de agregar los demás ingredientes en el orden que aparece anteriormente. Mezclar durante toda la noche.</p> <p>El yodato sódico se añade para una oxidación rápida y así poder usar la solución inmediatamente que ha sido preparada. Pero esto si no se lo quiere utilizar se debe esperar a que la hematoxilina se oxide por sí misma, y esto puede tardar alrededor de 2 meses. Lo mencionado anteriormente es un método más lento pero la solución tendrá una vida útil más larga, de tal forma que puede ser utilizada durante varios años.</p>
<b>Consejos</b>	La cantidad de alumbre de aluminio o potasio es orientada puesto que ese componente debe saturar la solución. Por tal motivo, se considera que es suficiente cuando podemos apreciar el precipitado en el fondo del envase, lo que indicaría que la solución se encuentra saturada.
<b>Productos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agua destilada</li> <li>• Sulfato alumínico potásico o sulfato alumínico de amonio</li> <li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)</li> <li>• Yodato de sodio</li> <li>• Glicerina</li> <li>• Ácido acético glacial</li> </ul>
<b>Materiales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balanza</li> <li>• Probeta</li> <li>• Agitador</li> <li>• Vasos de precipitación</li> <li>• Botellas color ambar con cierre hermético</li> </ul>

**Fuente:** Megías M, Molist P, Pombal M. [Internet]. Técnicas histológicas RECETAS. 2018 [consultado 20 Agosto 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>



#### Anexo 4. Preparación del colorante Hematoxilina de Gill.

<b>COLORANTE HEMATOXILINA DE GILL</b>	
<p>La hematoxilina de Gill se considera que realiza una buena tinción nuclear, se puede emplear tinciones básicas conjuntamente con la eosina. Se considera que esta hematoxilina es más estable y también permite una reproducción de la tinción mucho más exacta. Su capacidad al momento de teñir los núcleos resalta y al no utilizar alcohol ni mercurio es buena como tinción de contraste de otras técnicas, como podemos mencionar la inmunocitoquímica.</p>	
<b>Procedimiento</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Agua destilada: 750ml</li><li>• Etilenglicol: 250ml</li><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 2g</li><li>• Yodato de sodio: 0.2g</li><li>• Sulfato de aluminio: 17.6g</li><li>• Ácido acético glacial: 20ml</li></ul> <p>Como primer paso se debe realizar la mezcla de los diferentes componentes en el orden establecido anteriormente, esto se lo debe realizar durante una hora aproximadamente. La solución obtenida se puede utilizar inmediatamente. Además vale la pena mencionar que tiene una vida útil mayor que otras hematoxilinas.</p> <p>Las cantidades de hematoxilina, sulfato de aluminio y yodato de sodio se pueden elevar para incrementar la fuerza de tinción, teniendo en cuenta las proporciones de los tres elementos, los otros elementos se mantienen constantes en sus medidas.</p>
<b>Consejos</b>	<p>En el caso de que se usen concentraciones altas de hematoxilina, sulfato de aluminio y yodato de sodio se puede utilizar diluida cinco veces con agua destilada.</p>
<b>Productos</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)</li><li>• Etilenglicol</li><li>• Yodato sódico (NaIO<sub>3</sub>)</li><li>• Sulfato de aluminio (Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>)</li><li>• Ácido acético glacial</li><li>• Agua destilada</li></ul>

<b>Materiales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balanza</li> <li>• Probeta</li> <li>• Agitador</li> <li>• Vasos de precipitación</li> <li>• Placa térmica</li> <li>• Botellas color ambar con cierre hermético</li> </ul>
-------------------	--

**Fuente:** Megías M, Molist P, Pombal M. [Internet]. Técnicas histológicas RECETAS. 2018 [consultado 20 Agosto 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>

### **Anexo 5.** Preparación del colorante Hematoxilina de Harris

<b>COLORANTE HEMATOXILINA DE HARRIS</b>	
<p>La hematoxilina de Harris se considera que realiza una buena tinción nuclear, se la utiliza mucho en citología para detectar células malignas, también en histología dentro del procesamiento de tejidos, en la tinción hematoxilina – eosina. Contiene óxido de mercurio, pero puede cambiarse por otra sustancia, el cual oxida la hematoxilina a hemateína, que la solución que realmente tiñe dentro de la tinción.</p>	
<b>Procedimiento</b>	<p>Variante con mercurio</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 5g</li> <li>• Sulfato de amonio y aluminio: 100g</li> <li>• Oxido de mercurio (HgO): 2.5g</li> <li>• Agua destilada: hasta 1000ml</li> </ul> <p>Variante sin mercurio</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 5g</li> <li>• Etanol 100°: 50ml</li> <li>• Sulfato de amonio y aluminio: 100g</li> <li>• Yodato sódico: 0.37g</li> <li>• Agua destilada: hasta 1000ml</li> </ul> <p>Preparación:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Disolver la hematoxilina en etanol (puede que sea necesario agregar un poco de agua destilada para su disolución total)</li> <li>2) Disolver el sulfato de amonio y aluminio en agua calentada.</li> </ol>

	<p>3) Mezclar las dos soluciones que se hicieron anteriormente, y llevar la solución resultante a una placa calefactora hasta su punto de ebullición.</p> <p>4) Quitar de la placa calefactora, dejar enfriar y añadir el óxido de mercurio o el yodato sódico muy lentamente y realizando una suave agitación.</p> <p>5) Solución con yodato sódico, calentar otra vez y llevar la solución hasta su punto de ebullición.</p> <p>6) Enfriar poniendo el vaso de precipitación con la solución en agua helada.</p> <p>7) Cuando se encuentre fría se debe filtrar la solución y guardarla en un frasco color ámbar para protegerla de la luz.</p>
<b>Consejos</b>	La solución es estable por varios meses. Para asegurarnos de su estado, antes de utilizarla, se echa una gota en papel filtro y debe aparecer un centro con una tonalidad marrón con un borde de color púrpura, si esto no sucede quiere decir que la solución ya no se considera útil.
<b>Productos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)</li> <li>• Etanol 100°</li> <li>• Óxido de mercurio (HgO)</li> <li>• Yodato sódico (NaIO<sub>3</sub>)</li> <li>• Sulfato de amonio y aluminio (AlNH<sub>4</sub>(SO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>)</li> <li>• Agua destilada</li> </ul>
<b>Materiales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balanza</li> <li>• Probeta</li> <li>• Agitador</li> <li>• Vasos de precipitación</li> <li>• Placa térmica</li> <li>• Botellas color ámbar con cierre hermético</li> </ul>

**Fuente:** Megías M, Molist P, Pombal M. [Internet]. Técnicas histológicas RECETAS. 2018 [consultado 20 Agosto 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>

## Anexo 6. Preparación del colorante Hematoxilina de Mayer.

<b>COLORANTE HEMATOXILINA DE MAYER</b>	
La hematoxilina de Mayer se considera que realiza una buena tinción nuclear. Normalmente se emplea en la tinción hematoxilina – eosina.	
<b>Procedimiento</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Agua destilada: 1000ml</li><li>• Sulfato alumínico potásico o sulfato alumínico de amonio: 50g</li><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 1g</li><li>• Yodato de sodio: 0.2g</li><li>• Ácido cítrico: 1g</li><li>• Hidrato de cloral: 50g</li></ul> Preparación: Añadir el sulfato hasta que esté completamente disuelto y después añadir la hematoxilina. Cuando la hematoxilina se encuentre completamente disuelta se añade el ácido cítrico, el hidrato de cloral y yodato de sodio. Por último se debe hervir por 5 minutos, dejar enfriar y filtrar.
<b>Consejos</b>	La solución puede ser utilizada inmediatamente después de su preparación.
<b>Productos</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Agua destilada</li><li>• Sulfato alumínico potásico o sulfato alumínico de amonio</li><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)</li><li>• Yodato de sodio</li><li>• Ácido cítrico</li><li>• Hidrato de cloral</li></ul>
<b>Materiales</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Balanza</li><li>• Probeta</li><li>• Agitador</li><li>• Vasos de precipitación</li><li>• Placa térmica</li><li>• Botellas color ámbar con cierre hermético</li></ul>

**Fuente:** Megías M, Molist P, Pombal M. [Internet]. Técnicas histológicas RECETAS. 2018 [consultado 20 Agosto 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>

## Anexo 7. Preparación del colorante Hematoxilina de Weigert.

<b>COLORANTE HEMATOXILINA DE WEIGERT</b>	
<p>La hematoxilina de Weigert o también conocida como hematoxilina férrica, se utiliza para teñir núcleos cuando se usa posteriormente una sustancia ácida. La hematoxilina se aplica conjuntamente con el mordiente que contiene aluminio potásico o aluminio amónico y por tanto no se elimina en la solución ácida posterior. La hematoxilina y el mordiente se deben almacenar por separado y se aplican al tejido al mismo tiempo. El color que resulta es púrpura muy oscuro o negro. Normalmente se utiliza en soluciones tricrómicas como el van Gieson.</p>	
<b>Procedimiento</b>	<p>Solución A (Hematoxilina)</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290): 1g</li><li>• Etanol 96°: 100ml</li></ul> <p>Solución B (Cloruro de Hierro)</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Cloruro de hierro (III): 1.16g</li><li>• Ácido clorhídrico (25%): 1ml</li><li>• Agua destilada: 99ml</li></ul> <p>Preparación:</p> <p>Los dos componentes se deben guardar por separado y solo se unen cuando se va a realizar la tinción. Se añade 100ml de la solución A a otros 100ml de la solución B, y se debe mezclar la solución resultante. El tiempo que dura la tinción va a depender de la técnica y tejido empleado.</p> <p>Después de la tinción con la solución de hematoxilina, y tras realizar el lavado en agua corriente por 30 minutos, se puede incubar las secciones en bicarbonato de sodio al 01% en agua destilada para que los núcleos tengan un color azulado.</p>
<b>Consejos</b>	<p>El tiempo para conseguir la tonalidad deseada va a depender de la coloración que queramos obtener, lo cual se puede controlar por la observación de las secciones al microscopio óptico.</p>
<b>Productos</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hematoxilina cristalizada (C.I. 75290)</li><li>• Cloruro de hierro (III)</li><li>• Ácido clorhídrico</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"><li>• Etanol 96°</li><li>• Agua destilada</li></ul>
<b>Materiales</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Balanza</li><li>• Probeta</li><li>• Agitador</li><li>• Vasos de precipitación</li><li>• Botellas color ámbar con cierre hermético</li></ul>

**Fuente:** Megías M, Molist P, Pombal M. [Internet]. Técnicas histológicas RECETAS. 2018 [consultado 20 Agosto 2020]. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-protocolos-s.pdf>