


SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACION, MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES.

MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE.

El presente documento establece el procedimiento técnico y científico en el desarrollo de los estudios histopatológicos, instituyendo un conjunto sistematizado de acciones a seguir por los responsables de Histopatología, del Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses, a través de una secuencia ordenada, como apoyo a la Administración de Justicia Penal.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	4
OBJETIVOS.....	5
ALCANCE.....	5
RESPONSABILIDADES.....	6
MARCO LEGAL.....	7
PROTOCOLO PARA LA OBTENCION DE MUESTRAS.....	10.
PROTOVOLO PARA ESTUDIO DE ORGANOS Y TEJIDOS A PARTIR DE PLACAS HISTOLÓGICAS.....	14
PROTOCOLO PARA DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE PIEZAS ANATÓMICAS.....	16
PROTOCOLO PARA ESTUDIO DE DIATOMEAS.....	19
DISPOSICIONES GENERALES.....	27
ANEXO 1	
FORMATO DE CONTROL DE CALIDAD EN MANEJO DE ORGANOS Y TEJIDOS.....	29
ANEXO 2 FORMATO PARA SOLICITUD DE ANALISIS HISTOLOGICOS.....	
	31
ANEXO 3 FORMATO DE EXTRACTO INFORME PERICIAL HISTOPATOLOGICO.....	
	34
GLOSARIO.....	35
BIBLIOGRAFIA	37

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 4 de 37
---	---	--------------


INTRODUCCION

El presente manual integra los procedimientos para el ejercicio de toma de muestras y análisis histopatológico a emplearse para determinar la naturaleza de la patología en un tejido, se realiza en el Laboratorio de Histopatología del Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses.

Dada su naturaleza, el estudio histopatológico de un órgano o tejido debe efectuarse observando un método técnico, estableciéndose criterios de manejo desde la obtención de la muestra hasta la entrega del resultado por el médico forense a la autoridad competente, cumpliendo el protocolo de preparación, conservación, identificación, traslado y recepción, que culmina con la elaboración de un informe pericial, dentro de los parámetros requeridos por el especialista o de la autoridad competente, dentro de una investigación penal.

La puesta en vigor del sistema acusatorio, que se sustenta en la oralidad tiende a abordar la transparencia del procedimiento y contribuye a que sea más ágil y sencillo.

En el esquema procesal penal el valor probatorio de los indicios, es de vital importancia; un adecuado manejo del lugar de los hechos o escena del delito garantiza el éxito de la investigación.

	<p>SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE</p>	<p>Pág. 5 de 37</p>
---	---	---------------------

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL

Normar el procedimiento técnico y científico en el desarrollo de los estudios histopatológicos, estableciendo un conjunto sistematizado de acciones que deben seguir los responsables de Histopatología, a través de una secuencia ordenada, como apoyo a la Administración de Justicia Penal.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 1.- Estandarizar procedimientos técnicos - científicos antes y durante la realización de los estudios histopatológicos de órganos y tejidos obtenidos en cadáveres y / o personas víctimas de agresión física.
- 2.- Garantizar la integridad de los indicios biológicos sometidos a estudio histopatológico y garantizar sus resultados, dentro de una investigación penal.
- 3.- Proteger la salud ocupacional de los profesionales en esta área, dando cumplimiento a las normas de seguridad.

ALCANCE

El presente manual está dirigido a todas y todos los funcionarios del Sistema, en el proceso de realización de estudios histopatológicos.

RESPONSABILIDAD

1. Médico Legista:

Obtención de la muestra;


Monitoreo y revisión del informe.

2. Peritos en Histopatología:

Ejecución y control de calidad.

3. Médico Anatómo Patólogo.

Diagnostico por lectura de placas histológicas

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 7 de 37
---	---	--------------

MARCO LEGAL

CONSTITUCION DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR

Art. 76, numeral 4, sobre las garantías básicas que aseguran el debido proceso establece: “Las pruebas obtenidas o actuadas con violación de la Constitución o la ley no tendrán validez alguna y carecerán de eficacia probatoria”.

Art. 169.- El sistema procesal es un medio para la realización de la justicia. Las normas procesales consagrarán los principios de simplificación, uniformidad, eficacia, Inmediación, celeridad y economía procesal, y harán efectivas las garantías del debido proceso. No se sacrificará la justicia por la sola omisión de formalidades.


Art. 195, “la Fiscalía dirigirá de oficio o a petición de parte, la investigación preprocesal y procesal penal...la Fiscalía organizará y dirigirá un sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses”.

CÓDIGO ORGÁNICO INTEGRAL PENAL

Art 442.- La Fiscalía dirige la investigación preprocesal y procesal penal e interviene hasta la finalización del proceso.

Art 443.- Atribuciones de la Fiscalía.- La Fiscalía ejerce las siguientes atribuciones:
1. Organizar y dirigir el Sistema especializado integral de investigación, de medicina legal y ciencias forenses...

Art. 448.- Organización y dirección.- En materia preprocesal y procesal penal, la Fiscalía organizará y dirigirá el Sistema especializado integral de investigación, de

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 8 de 37
---	---	--------------

medicina legal y ciencias forenses que prestará servicios especializados de apoyo técnico y científico a la administración de justicia.

El Sistema contará con el apoyo del organismo especializado de la Policía Nacional y personal civil de investigación, quienes llevarán a cabo las diligencias necesarias para cumplir los fines previstos en este Código, ejecutarán sus tareas bajo la dirección de la Fiscalía y dependerán administrativamente del Ministerio del ramo.

Art. 449.- Atribuciones.- Son atribuciones del personal del Sistema especializado integral de investigación, medicina legal y ciencias forenses:


6. Vigilar, resguardar, proteger y preservar el lugar donde presuntamente se comete la infracción y recoger los resultados, huellas, señales, armas objetos, instrumentos y demás vestigios.

Art. 459.- Actuaciones.- Las actuaciones de investigación se sujetarán a las siguientes reglas:

3. Las diligencias de investigación deberán ser registradas en medios tecnológicos y documentales más adecuados para preservar la realización de la misma y formará parte del expediente fiscal.


Art. 461.- Actuaciones en caso de muerte.- Cuando se tenga noticias de la existencia de un cadáver o restos humanos, la o el fiscal dispondrá:

3. "...Los peritos tomaran las muestras correspondientes, las cuales serán conservadas"

	<p>SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE</p>	<p>Pág. 9 de 37</p>
---	---	---------------------

Art. 511.- Las y los peritos deberán:

1. Ser profesionales expertos en el área, especialistas titulados o con conocimientos, experiencia o experticia en la materia y especialidad, acreditados por el Consejo de la Judicatura.
2. Desempeñar su función de manera obligatoria, para lo cual la o el perito será designado y notificado con el cargo.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 10 de 37
---	---	---------------

PROTOCOLO PARA LA OBTENCION DE MUESTRAS

Rotulación.

Para la rotulación del envase de envío se debe usar papel engomado sobre el cual se escribirá, con letra legible, los siguientes datos:


- nombre completo del usuario,
- número de cédula,
- identificación de pieza anatómica,
- número de contenedores,
- fecha de toma de muestra; y,
- nombre del responsable de la muestra tomada.

Obtención de la Muestra.

La toma de muestra de tejidos, es responsabilidad del Perito Médico Legista como consta en el Artículo 461 literal 3 del Código Orgánico Integral Penal, así como la solicitud del examen con su respectiva cadena de custodia y copia del protocolo de autopsia en caso que se requiera; cumpliendo con estos requisitos el laboratorio de Histopatología conservara el código del caso recibido, y asignara un nuevo número de registro interno del Laboratorio que comenzará por el 001 el 01 de enero de cada año.

La solicitud de análisis histopatológico deberá llevar los siguientes datos:

- Número de cédula del cadáver.
- Nombres y Apellidos del cadáver.
- Copia del documento de identidad: Cédula, partida de nacimiento, licencia de conducir u otros (si los hubiere).
- Tipo de muestra/órgano y especificar si es derecho, izquierdo, anterior, posterior, etc.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 11 de 37
---	---	---------------


- Número de piezas.
- Número de contenedores con muestras del cadáver.
- Causa de Muerte
- Intervención efectuada (especificar si es autopsia o usuario vivo).
- Especificar datos de historia clínica, si procede de una casa de salud.
- Adjuntar protocolo de autopsia, si procede de otra ciudad,
- Número de expediente.
- Fecha de toma de muestra.
- Nombre del Médico Legista que realiza la toma de muestra.

NOTA: Es importante realizar el estudio Histopatológico dentro de los diez primeros días, de haber obtenido la muestra, para evitar cambios morfológicos que podrían ocurrir aun estando la muestra en fijador Bufferado.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

El especialista del Sistema, deberá:

- Colocar el fragmento de tejido obtenido, en un envase de vidrio o plástico transparente de boca ancha, tapa hermética, adecuado al tamaño de la pieza;
- Si la muestra es grande, se preparará en doble bolsa transparente con formalina y luego se depositará en el frasco de plástico de mayor tamaño,
- Los órganos de diámetro superior a los 4 cm se recomiendan realizar múltiples cortes en secciones a lo largo del mismo, para facilitar la preservación completa de la pieza,


	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 12 de 37
---	---	---------------

- No introducir la muestra del órgano a presión dentro del envase, puesto que cuando llega al laboratorio ya fijado, el mismo se ha endurecido y ha aumentado su volumen entre un 10-20%, siendo imposible extraerla,
- La muestra debe fijarse en formol al 10% tamponado para cualquier pieza anatómica,
- El tejido cerebral necesita ser fijado 30 días en un volumen de al menos 10 veces mayor.
- No congelar, ni refrigerar los órganos.
- Al perito o responsable de la recepción de muestras en el laboratorio, se recomienda un lugar adecuado, libre del tránsito de personas y bien ventilado. El operador debe usar: gorro para protección de cabello, mascarilla facial de medio rostro con filtro clase B según la norma Internacional UNE-EN 14387:2004, guantes de manejo, mandil, gafas protectoras transparentes sin color, zapatos de trabajo y ejecutar su labor bajo una campana extractora de gases debido al efecto tóxico del formol.
- El responsable de recibir la muestra en el laboratorio, debe comprobar que las bolsas o cajas tengan los recipientes originales, intactos correctamente rotulados.
- Si la muestra procede de un lugar distinto al centro forense, el transporte debe efectuarse en medios adecuados, a fin de evitar daños y alteraciones.


TRASLADO INTERNO DE MUESTRAS.

Para el traslado interno de muestras en el centro forense, se observarán las siguientes recomendaciones:

- Debe realizarse en un contenedor que tenga capacidad para la totalidad de los órganos a analizar,

	<p>SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE</p>	<p>Pág. 13 de 37</p>
---	---	----------------------

- Por cada caso se deberá llevar un formulario de solicitud médica correspondiente, e ir registrada en cuaderno del departamento de Tanatología designado para tal efecto,
- El médico legista que obtuvo las muestras, debe entregarlas al laboratorio de histopatología, en un plazo no mayor a 24 horas hábiles.
- Los datos obtenidos en el formato físico, serán registrados además, en un soporte digital, conforme lo dispuesto en el Código Orgánico Integral Penal.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 14 de 37
---	---	---------------

PROTOCOLO PARA ESTUDIO DE ÓRGANOS Y TEJIDOS A PARTIR DE PLACAS HISTOLÓGICAS.

FASE PREANALÍTICA.

Recepción: Revisar que coincida los datos del pedido con la muestra.

Preservación: Examinar que el líquido fijador sea el adecuado y la cantidad proporcional al tamaño de la muestra.

Rotulación: Colocar número de muestra a: solicitud de examen, al envase, caseta, y placa histológica.


FASE ANALÍTICA.

Macroscopía.

Obtención del material:

- ❖ Revisar que el tejido esté correctamente fijado con formol al 10%,
- ❖ En caso de ser tejido cerebral deberá haberse fijado por 30 días en formol al 10% en rebanadas,
- ❖ En caso de ser tejido óseo se debe preparar una solución al 10% de ácido nítrico en solución alcohólica para descalcificación y dejar 48 horas para luego procesar.

- ❖ Extraer el tejido del recipiente y colocar en la mesa de trabajo que debe estar provista de materiales tales como: bisturí, cuchillo, regla, balanza de precisión, pinzas, cámara fotográfica, tabla de cortar, de un color que haga contraste con las piezas anatómicas, casetas de inclusión,

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 15 de 37
---	---	---------------

lápiz de carbón 2B, toallas de papel absorbentes. Esta mesa de trabajo debe estar bajo una campana extractora de vapores.


❖ Con un testigo métrico se procederá a tomar la primera fotografía, debemos documentar los cambios patológicos que se observan en el tejido para hacer comparaciones con la parte normal de los mismos.

NOTA: La fotografía debe tener la máxima calidad donde se puedan apreciar pequeños detalles de las muestras estudiadas y deben ser documentadas y archivadas por casos.

❖ Realizar suficientes cortes de los órganos a estudiar que deben de tener un grosor de hasta 3 mm.

❖ Se debe procesar en la misma caseta tejido sano y patológico para hacer una comparación y establecer conclusiones, dependiendo de la zona de transición macroscópica normal y patológica.

❖ Posteriormente a esto se colocan las casetas con las muestras en otro recipiente con formol Bufferado al 10% dependiendo la muestra a estudiar.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 16 de 37
---	---	---------------

PROTOCOLO PARA DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE PIEZAS ANATÓMICAS

Las medidas se toman en los ejes mayores y en centímetros.

Entre varias muestras se tomara el tamaño referencial entre el mayor y el menor.

El peso del material se tomará en gramos.

En la descripción se emplearan direcciones referenciales como: longitudinal, transversal, oblicua, tangencial, central o parte media, bordes superior, inferior, superficial o profundo, etc.

A efectos de entendimiento del texto de los informes periciales, se considera las siguientes definiciones:

MASA.- Porción voluminosa e irregular de uno o varios tejidos solidos o quísticos, sólido-quístico.

FRAGMENTO.- Porción única o múltiple de tejido que puede ser membranosa, mucoide, hemorrágico, espículas, etc.


FORMA.- Romboidal, rectangular, cuneiforme, esférica, oval, poliploide, cilíndrica, acintada, discoidal, etc.

COLOR.- Los más comunes son el blanco, nacarado, rosado, cristalino, cetrino, amarillo, rojo vinoso, verde, café, negro, etc.

SUPERFICIE.- Esta puede ser lisa, rugosa, nodular, vellosa, fungosa, encapsulada, vegetante, plegada, costrosa, brillante, etc.

ASPECTO EXTERIOR.- Sólido o compacto, granular o grumoso, caseoso, fibroso, semifluida, purulento, turbio, hemorrágico, necrótico, liquido claro, limpio, translucido, etc.

CONSISTENCIA.- Dura, (hueso) firme (próstata) blanda (lipoma) gelatinosa (quiste ovario), mucoide (mixoma) fluctuante o renitente (quiste), etc.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 17 de 37
---	---	---------------

CONTENIDO.- Liquido, purulento, grumoso, gelatinoso, hemorrágico, turbio, sebáceo, etc.

PROLIFERACION.- Vegetación sésil, pediculada, hipertrófica

Para las descripciones de la patología especialmente de piel y como dijimos anteriormente, la descripción macroscópica es complementaria para la investigación microscópica por ello recordamos la familiarización con la terminología siguiente:

RONCHA.- elevación circunscrita de la piel, pasajera de color rojo blanquecino de 0.5 hasta 10 cm. de diámetro, formada por edema local, ejemplo: urticaria común.

ESCAMA.- Lesión que presenta laminillas córneas, epiteliales delgadas y desecadas que suelen resultar de carnificación imperfecta; Ej.: escamas de psoriasis.

LIQUENIFICACION.- Engrosamiento y aumento de los detalles y las arrugas normales de la piel, que suelen depender de rascaduras persistentes, Ej.: en la neurodermatitis localizada.

GRIETA O FISURA.- Solución de continuidad en la piel, que suele extenderse hasta la parte superior del corion; Ej.: fisura sobre los nódulos en la dermatitis crónica por contacto.

EXCORIACION.- Área traumatizada ocasionada por el mismo paciente, por lo regular “excavada” o lineal, Ej.: arañazo después de una picadura de insecto.


TELANGIECTASIA.- Dilatación localizada de vasos sanguíneos superficiales y aislados; Ej.: nevus arácnico.

MACULA.- Mancha circunscrita, no palpable y que no sobresale de la piel (peca)

PAPULA.- Lesión sólida, circunscrita que sobresale de la piel palpable y de hasta 5mm de diámetro mayor (barro del acné)

NODULO.- Lesión circunscrita, solida, elevada, cuyo diámetro excede de 5mm. Ej.: nevus pigmentado.

VESICULA.- Lesión circunscrita y elevada de la piel que contiene líquido y alcanza hasta 5mm de diámetro. Ej.: herpes simple.

	<p>SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE</p>	<p>Pág. 18 de 37</p>
---	---	----------------------

AMPOLLA.- Lesión circunscrita y elevada de piel que contiene líquido y cuyo diámetro es mayor de 5mm. Ej.: dermatitis por contacto dependiente de hiedra venenosa, pénfigo.

PUSTULA.- Lesión circunscrita y elevada de la piel, hasta 3mm de diámetro que contiene pus, Ej.: pústula de acné.

PROTOCOLO PARA ESTUDIO DE DIATOMEAS EN MUESTRAS OBTENIDAS A PARTIR DE CADÁVERES CON ETIOLOGÍA MÉDICO LEGAL: ASFIXIA POR SUMERSIÓN.

El estudio de diatomeas como examen complementario en el diagnóstico de asfixia por sumersión es de gran valor. Las diatomeas son algas con caparazón silíceo, de diferentes tipos, dependiendo de la zona donde se ubiquen (ríos, mares, agua potable, etc.) el análisis de diatomeas debe realizarse en tejidos como la médula ósea del fémur o en órganos paraquimentosos como pulmón, hígado, riñón y cerebro.

Para evitar contaminación o alteración de la muestra, la limpieza del material es indispensable, tomando en consideración los siguientes aspectos:


Tratamiento del material de vidrio:

1. Para eliminar todo resto de sílice (inclusive las diatomeas ambientales) todo material de vidrio a utilizar debe ser tratado con una solución 1M de CO_3Na_2 (15 g de CO_3Na_2) en 1l de H_2O bidestilada durante 24 hs.
2. Volcar la solución bicarbonatada.
3. Enjuagar repetidamente con H_2O bidestilada.
4. Secar únicamente con estufa, nunca con papel.

Fijación de diatomeas

Muestra de agua

1. Centrifugar la muestra 10 min. a 3200 rpm. Hasta concentrar en 2ml.
2. Agregar 2 ml de ácido sulfúrico.
3. Agregar permanganato de potasio (solución densa poner agua destilada y disolver el permanganato pero deben quedar cristales).

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 20 de 37
---	---	---------------

4. Dejar enfriar y agregar H₂O₂ 30v gota a gota, hasta que la solución pase a un color blanco o traslucido.
5. Agregar ácido clorhídrico 10%.
6. Centrifugar 3 o 4 veces con agua bidestilada a 3000rpm durante 20 min.
7. Llevar a volumen final 2 ml de muestra
8. Tomar 0,5 ml de la muestra y realizar preparados.

Otra metodología


1. Centrifugar la muestra 10 min. a 3200 rpm hasta concentrar en 2ml.
2. Incubar con ácido nítrico durante 30 min. a 70°C.
3. Lavar 2 veces con agua pura y 2 veces con etanol puro por centrifugación a 32000 rpm durante 10 min.
4. Llevar a volumen final 2 ml de muestra
5. Tomar 0,5 ml de la muestra y realizar preparados.

Muestra de tejido

1. 3 gr de tejido + 5ml de ácido nítrico
2. Colocar a baño térmico hasta que el preparado se torne transparente
3. Enfriar. Centrifugar 10 min.
4. Eliminar el sobrenadante y agregar agua bidestilada.
5. Centrifugar 10 min. y eliminar el sobrenadante y concentrar a 2ml de muestra.
6. Tomar 0,5 ml de la muestra y realizar preparados.

Otra metodología

- 1 50gr medula + 50ml de ácido hervir 48 hs
2. Centrifugar 30 min.
3. Repetir pasos 4 a 6

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 21 de 37
---	---	---------------

Procesamiento de Tejidos en Procesador Manual:

Este proceso se lo puede realizar de manera manual o en cualquier procesador de tejidos.

Fijación.

- 1.- Envase con formol al 10% tiempo de 1 hora.

Deshidratación.

- 2.- Envase con etanol al 95% tiempo 1 hora.
- 3.- Envase con etanol al 95% tiempo 1 hora.
- 4.- Envase con etanol al 100% tiempo 1 hora.
- 5.- Envase con etanol al 100% tiempo 1 hora.
- 6.- Envase con etanol al 100% tiempo 1 hora.
- 7.- Envase con alcohol Isopropílico tiempo 1 hora.
- 8.- Envase con alcohol Isopropílico tiempo 1 hora.

Aclarado.

- 9.- Envase con Tolueno, xilol o Sustituto de xilol tiempo 1 hora.
- 10.- Envase con Tolueno o xilol o Sustituto de xilol tiempo 1 hora.

Infiltración.

- 11.- Envase con parafina derretida (Punto de Fusión hasta 62°C) tiempo 1 hora.
- 12.- Envase con parafina derretida (Punto de Fusión hasta 62°C) tiempo 1 hora.

- **NOTA:** La temperatura máxima que debe estar expuesta la parafina no debe ser mayor a 62°C, dependiendo de las recomendaciones de la casa comercial proveedora.


Procesamiento en el Microondas.

Formol buferado al 10 % (2500 mL reutilizables)	25 minutos para fijación.
Enjuagar los casetes en 2500 ml de etanol al 70 %	10 sumergidas
Enjuagar los casetes en 2500 ml de etanol al 96 %	10 sumergidas
Etanol al 100 % (2500 ml reutilizables)	25 minutos para deshidratación
Isopropanol (2500 ml reutilizables)	55 minutos para deshidratación
Parafina (2500 ml reutilizables)	1 hora 15 minutos infiltración

Inclusión.

Se observará los siguientes pasos:

- Se coloca las casetas en el Histocentro,
- Proceder a orientar los tejidos, llenando la cubeta de acero inoxidable con parafina, realizando una ligera presión con la pinza para que el tejido se vaya al fondo
- Si el tejido es tubular, orientar la luz del tubo hacia arriba,
- Volver a llenar la cubeta con parafina y sellar con la caseta,
- Ubicar en la parte fría del Histocentro,
- Dejamos de 10 minutos a 2 horas máximo.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 23 de 37
---	---	---------------


Recomendaciones:

- La inclusión debe ser precisa ya que una mala inclusión puede hacer la Microtomía mucho más difícil.
- No llenar en exceso el molde de inclusión, puesto que da lugar a una sujeción inestable en el micrótopo y origina cortes de distinto espesor u otros problemas.
- Cualquier exceso de parafina en la parte exterior del molde de inclusión deberá ser eliminado antes de sujetarlo, para asegurarse de que el bloque está fijado con firmeza durante el seccionamiento.
- Para evitar pérdidas de tejidos los bloques no deben mojarse,
- No devastar los bloques para realizar los cortes al siguiente día
- Sacar los bloques de la superficie helada y llevar al micrótopo.

Corte Histológico en el Micrótopo.

En el micrótopo vamos a desbastar que es retirar el exceso de parafina.

- Colocar el material tisular previamente incluido en parafina (casete) sobre el portabloques, esta muestra avanzara hacia la cuchilla de bajo perfil gracias a un mecanismo regulable.
- Sacar el exceso de parafina con movimientos de abajo hacia arriba.
- Se devasta a 25 micras,
- Realizar el corte colocando una cuchilla nueva DE BAJO PERFIL y ocuparla por partes. Por cada tres bloques se usa una cuchilla,
- Asegurar el porta cuchillas y los tornillos,
- Los cortes deberán ser de 3 a 5 micras para evitar tejidos muy gruesos al momento de la observación.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 24 de 37
---	---	---------------

- El tejido sale del micrótomó en forma de cinta y se coloca en el baño de flotación.

Pesca de tejido en baño de flotación.

- La cinta que sale del micrótomó se la coloca en el baño de flotación que está a 42°C
- Pescar la mejor muestra,
- Introducir la placa en el agua y con un movimiento suave, conseguir que la muestra se adhiera a la placa,
- Escurrir el exceso de agua de la placa en forma vertical,
- Llevar a la plancha caliente a 60°C por 15 minutos,
- Colocar la muestra en el porta placas; y,
- Llevarla a la batería de tinción.

Tinción:

Se realiza en cajas de vidrio de 500 ml para tinción horizontal. Este procedimiento, comprende los siguientes pasos:

1.- Desparafinación.


- Tolueno, xilol o sustituto de Xilol.

2.- Hidratación.

- Isopropanol, Etanol.

3.- Coloración.

- Hematoxilina (Harris o Mayer)
- Eosina.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 25 de 37
---	---	---------------

4.- Viraje de color.

- Agua Amoniacal, Carbonato de Litio, Agua Tibia, Alcohol Acido.

5.- Deshidratar.

- Etanol, Isopropanol.

6.- Aclaramiento.

- Tolueno, xilol o sustituto de Xilol.

Montaje.


- La placa no debe secarse después del aclaramiento.
- Con un cubre objetos grandes 25mm x 50 mm colocar una gota de resina y luego el cubre objeto cuidando que no se formen burbujas sobre toda la superficie de la placa
- Trasladar las placas al microscopio para su posterior lectura.

Informe de Anatomía Patológica:

El o los peritos debidamente acreditados por el Consejo Nacional de la Judicatura serán los encargados de realizar el Informe Pericial según el Artículo 511 del Código Orgánico Integral Penal.

El informe deberá contener:

- Numero de informe pericial;
- Fecha de experticia
- Datos del cadáver: nombre, edad, sexo
- número de expediente.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 26 de 37
---	---	---------------

- Fiscal o autoridad que designa el caso,
- Identificación del material estudiado.
- Método de inclusión y método de coloración.
- Observación macroscópica.
- Observación Microscópica,
- Conclusiones.

Entrega de Resultados.

El analista del laboratorio de histopatología, deberá entregar el informe pericial con los resultados a la autoridad que solicitó la experticia.

Almacenamiento y Conservación de evidencias histopatológicas.

- Realizado el estudio correspondiente, las piezas anatómicas quedaran almacenadas en su recipiente original en las bodegas del Laboratorio de Histopatología, por el periodo mínimo de 6 meses o hasta que la Autoridad competente autorice su entrega o destrucción.
- Los bloques y placas procesadas serán conservados en los archivadores del laboratorio de histopatología.
- Las muestras que no sean derivadas al área de Histopatología de inmediato, deberán permanecer en formol Bufferado al 10% en el departamento de Tanatología hasta que sean entregadas al perito correspondiente bajo cadena de custodia.

DISPOSICIONES GENERALES

CANTIDAD APROXIMADA DE REACTIVOS USADOS EN CADA PLACA:


Parafina derretida	10 ml por bloque
Etanol absoluto	7.5 ml por placa
Formol al 37%	270 ml de formol al 37% con 730 ml de agua destilada para preparar un litro de formol al 10%
Fosfato dibásico de na	6.5 g para 1 litro de formol al 10%
Fosfato monobásico de na	4 g para 1 litro de formol al 10%
Carbonato de litio	1 g en 1000 ml de agua
Resina	2 gotas por placa
Eosina	1.5 ml por placa
Hematoxilina	1.5 ml por placa
Xilol	6 ml por placa
Isopropanol	6 ml por placa
Hcl en solución alcohólica al 1%	1.5 ml (opcional)

Terminología explicativa del cuadro anexo:

ETANOL: Sirve para deshidratación e hidratación del tejido.

FORMOL AL 10% BUFERADO: Sirve para fijar los tejidos y evitar autolisis.

CARBONATO DE LITIO: Sirve para provocar el viraje de color.

	<p>SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE</p>	<p>Pág. 28 de 37</p>
---	---	----------------------

EOSINA: Colorante acidófilo.

HEMATOXILINA: Colorante basófilo.

RESINA: Sirve para hacer el montaje de la placa y observar al microscopio.

ALCOHOL ISOPROPÍLICO: Sirve para la deshidratación de los tejidos.

XILOL: Sirve para aclaramiento del tejido.

TOLUENO: Sirve para aclaramiento y desparafinación del tejido.

ÁCIDO CLORHÍDRICO: En solución alcohólica sirve para decolorar la placa histológica y prepararla para la tinción.

- Ante cualquier duda respecto al manejo del material biológico que puede ser sometido a estudio, en relación a cantidad, calidad o bien relacionado con algún aspecto especial de los procedimientos, se recomienda llamar al analista del Laboratorio de Histopatología para asesoramiento.
- A más de las normas de bioseguridad, establecidas en el presente manual, se aplicará las previstas en el Manual de Bioseguridad del Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud.
- Los órganos y tejidos materia de pericias histopatológicas, no están sujetas a la disposición del artículo 83 de la Ley Orgánica de Salud.

A N E X O Nº 1.

SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACION, MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES. LABORATORIO DE HISTOPATOLOGÍA.

FORMATO DE CONTROL DE CALIDAD EN EL MANEJO DE ÓRGANOS Y TEJIDOS.


Fecha de la evaluación:.....

Nombre del Observador:.....

OBJETIVOS:

Evaluar el cumplimiento de la norma de manejo de órganos y tejidos en el Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses.

Nº	REQUISITO EVALUADO	SI	NO
1	Identifica con nombre y 2 apellidos del usuario la muestra biológica		
2	Existe concordancia de identificación de muestra biológica con orden del examen		
3	Contiene solución fijadora adecuada en tipo y volumen.		
4	Transporta la muestra en recipiente cerrado en forma segura. (Bolsa plástica sellada, frasco con tapa atornillada, o contenedor con tapa hermética)		

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 30 de 37
---	---	---------------

- La pauta se considera cumplida si están todos los elementos evaluados.

.....

FIRMA DEL OBSERVADOR

ANEXO Nº 2

FORMATO PARA SOLICITUD DE ANALISIS HISTOPATOLOGICO

Completar toda la información

Requerimiento médico legal
de:

☐ Autopsia

Se solicita el estudio

de: _____

(muerte súbita, traumatismo, TCE, vitalidad, anafilaxia, heridas, embarazo, aborto, intoxicación monóxido, electricidad, etc.)

Se adjuntan los siguientes datos para orientar la investigación:

Edad

aproximada: _____ Profesion: _____ Sexo _____

La muerte se estima ocurrida el: _____ Lugar donde
falleció: _____

Posible causa de

muerte: _____

Datos de la Historia Clínica y tratamiento (si se
conocen): _____

Datos anatomopatológicos macroscópicos encontrados en el
cadáver: _____

Otros datos de

interés: _____

Informe de autopsia:

☐ Envía

Se enviara con ☐ posterioridad

CADENA DE CUSTODIA

Fecha:/...../.....

Las muestras han sido envasadas y etiquetadas

por:.....

Fecha de remisión de muestras al

laboratorio:...../...../.....

Condiciones de almacenaje hasta su envío:.....(llenar si procede)

Transporte efectuado por:.....Firma:.....

Recibe en el

laboratorio:.....Cargo:.....

Fecha:...../...../.....Hora:.....Firma:.....

☐ Cerebro

☐ Músculos

☐ Páncreas

☐ Intestino

☐ Hígado

☐ bazo

☐ Pulmón

☐ Útero y anexos

☐ Riñón

☐ Corazón

☐ Estómago

☐

Otros:.....

Se solicita que una vez concluidos los análisis, los resultados se remitan

a:.....

.....

Fecha:.....

Nombre de Médico/a

Legal:.....

Firma de Médico/a

Legal:.....


Acreditación al CNJ:.....

Correo electrónico:.....

A N E X O Nº 3
FORMATO DE EXTRACTO INFORME PERICIAL HISTOPATOLOGICO

Estudio histopatológico	Nombre del cadáver	Sexo	Edad
Autopsia <input type="checkbox"/>			
Exhumación <input type="checkbox"/>			
Médico forense que solicita pericia	Autoridad		Hora de recolección
Nº autopsia	Fecha de solicitud	Fecha de recolección	Cadáver
Causa básica de la muerte	Manera de muerte	Número único de expediente	

Muestra	Método de inclusión	Método de tinción
Hallazgo macroscópico relevante	Microscópico	Conclusiones

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 34 de 37
---	---	---------------

Nota: Se conservan las imágenes macroscópicas, microscópicas y placas en caso de que las autoridades requieran que sean analizadas por un médico patólogo.

FOTOGRAFIAS (anexos)

Nombres y Apellidos del Analista
Analista

Nombres y Apellidos del

Perito acreditado CNJ


Perito Acreditado CNJ

Firma

Firma


Correo electrónico

Correo electrónico


	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 35 de 37
---	---	---------------

GLOSARIO

- **Fase-analítica:** Desarrollo de análisis
- **Histología:** Ciencia que estudia todo lo relacionado con los tejidos orgánicos
- **Macroscopía:** Que puede apreciarse a simple vista, sin necesidad del microscopio.
- **Micrótopo:** Instrumento de corte que permite obtener rebanadas muy finas de material, conocidas como secciones.
- **Patología:** Parte de la medicina que estudia las enfermedades.
- **Patólogo Forense:** Médico especialista en patología, experto en manera y causa de muerte.
- **Post-analítica:** Fase después del análisis
- **Pre-analítica:** Fase previa al análisis.
- **Cadena de Custodia:** Es el conjunto de actividades y procedimientos secuenciales que se aplican en la protección y aseguramiento de los indicios y/o evidencias físicas y digitales, desde la localización en la escena del delito o lugar de los hechos, hasta su presentación ante el Juzgador y/o disposición final. (según manual de cadena de custodia del sistema integral de investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses).
- **Tinción:** Es una técnica auxiliar utilizada en microscopia para mejorar el contraste en la imagen vista al microscopio.
- **Inclusión en parafina:** Es una perfusión de la misma en los tejidos para crear un medio homogéneo, que permita la realización de los cortes de menor grosor con gran facilidad. Y una precisión mayor que cuando son realizados en congelación.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 36 de 37
---	---	---------------

- **Desbastar:** es quitar o eliminar la tosquedad o rudeza de alguien o algo. O gastar, disminuir, debilitar.
- **Deshidratación:** Los tejidos contienen gran cantidad de agua como intra y extra celular, que debe ser eliminada utilizando una sustancia que se pueda mezclar con el agua y que se pueda tener afinidad con ella de manera que pueda penetrar bien en las células, se logra utilizando alcoholes de distinta concentración.
- **Aclaramiento Histológico:** Es la técnica utilizada para lograr una forma ligeramente translúcida de un tejido incluido en parafina en el que se extrae el alcohol usando un compuesto que altera el índice de refracción de la misma, como es el xilol.
- **Fijación:** Es una técnica histológica que detiene la muerte celular que se produce cuando todos los procesos vitales celulares se han detenido de forma irreversible.
- **Buffer o Tampón Químico:** es un sistema constituido por un ácido débil y su base conjugada o por una base y un ácido conjugado que tiene capacidad tamponante, es decir, que puede oponerse a grandes cambios de PH en una disolución acuosa.
- **Tanatología:** Es una disciplina integral que estudia el fenómeno de la muerte en los seres humanos, aplicando métodos científicos o técnicas forenses, tratando de resolver y enfrentar las situaciones conflictivas que suceden en torno a ellas.

	SISTEMA ESPECIALIZADO INTEGRAL DE INVESTIGACIÓN, DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES MANUAL DE PROTOCOLOS Y PROCEDIMIENTOS DE HISTOPATOLOGIA FORENSE	Pág. 37 de 37
---	---	---------------

BIBLIOGRAFIA:

- Ross y Pawlina, 2007, editorial Medica Panamericana, Quinta Edición; Buenos Aires. “*Histología texto y atlas color con biología celular y molecular*”.
- Robbins y Cotran, 2007, editorial Elsevie, Primera Edición, España. “*Atlas de Anatomía Patológica*”.
- Organización Mundial de la Salud, 2005, Tercera Edición, Ginebra. “*Manual de Bioseguridad en el Laboratorio*”
- Código Orgánico Integral Penal, 2014, editorial Jurídica el Forum, Ecuador. “*Código Orgánico Integral Penal*”.
- Ley Orgánica de Salud, Norma Ley 67, registro oficial suplemento 423, 2014 “Ley Orgánica”.
- Manual de Cadena de Custodia, 2014. Sistema Especializado Integral de Investigación, Medicina Legal y Ciencias Forenses Ecuador.

Fecha de elaboración:	Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
2- 06-2014	Técnicos del Laboratorio de Histopatología	Dra. Ibis Orejuela, JML Mesa Interinstitucional	