



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Salud Pública y Desarrollo Social
Departamento de Salud Pública
Trabajo de Investigación – Histotecnología



LA MIEL COMO SUSTITUTO DE LA FORMALINA EN LA FIJACIÓN TISULAR HISTOLÓGICA

Autores:

Ascanio Zurysadai
Aular Yendry
Rodríguez Andrea

Tutor: José Núñez

Docente de asignatura:

Milagros Castillo

VALENCIA, SEPTIEMBRE DE 2023



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Salud Pública y Desarrollo Social
Departamento de Salud Pública
Trabajo de Investigación – Histotecnología



CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designados para examinar el trabajo de investigación titulado:

LA MIEL COMO SUSTITUTO DE LA FORMALINA EN LA FIJACIÓN TISULAR HISTOLOGICA

Presentado por los bachilleres:

Ascanio Zurysadai
Aular Yendry
Rodríguez Andrea

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha: 21/09/2023



Profesor

Profesor

Profesor



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Salud Pública y Desarrollo Social
Departamento de Salud Pública
Trabajo de Investigación – Histotecnología



LA MIEL COMO SUSTITUTO DE LA FORMALINA EN LA FIJACIÓN TISULAR HISTOLÓGICA

Autores:

Ascanio Zurysadai
Aular Yendry
Rodríguez Andrea

Tutor: Prof. José Núñez

Docente de la asignatura:

Msc. Milagros Castillo
Año: 2023

RESUMEN

El formol a pesar de ser el fijador por excelencia que se utiliza en los laboratorios anatomopatológicos, presenta desventajas en su uso a nivel estructural y químico de la muestra, asimismo, cómo la prejudicialidad que presenta su uso a nivel laboral. Por lo tanto, se evaluaron sustitutos funcionales en base a pruebas documentales, en este caso, la miel. El **Objetivo General** del presente estudio fue: Analizar las propiedades de la miel como sustituto de la formalina en la fijación tisular. **Metodología:** Es una investigación de enfoque cualitativo, diseño documental, tipo descriptivo y modalidad Revisión Sistemática. Utilizando las bases de datos Curious, Journal of Cytology, Joanna Briggs Institute Reviewer's Manual, Public Library of Science (PLOS) Medicine. Scielo, Dialnet, Medline, y el Departamento de seguridad y salud de Estados Unidos. Se incluyeron 10 estudios finales con información acerca de: propiedades de la miel como fijador, calidad de tinciones consiguientes y comparación en cuanto a la formalina. **Conclusiones:** Se demostró que las ventajas superan a las desventajas, observándose los detalles morfológicos con la tinción de rutina, resultados similares a los obtenidos con la fijación en formol. Por lo cual, se recomienda como un fijador potencial para el uso en los laboratorios de anatomía patológica.

Palabras Clave: miel, formol, formalina, fijador, alternativa, anatomopatología, histotecnología.



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Salud Pública y Desarrollo Social
Departamento de Salud Pública
Trabajo de Investigación – Histotecnología



HONEY AS A SUBSTITUTE FOR FORMALIN IN HISTOLOGICAL TISSUE FIXATION

Authors:

Ascanio Zurysadai
Aular Yendry
Rodríguez Andrea

Tutor: Prof. José Núñez

Subject Teacher:

Msc. Milagros Castillo
Date: 2023

ABSTRACT

Formaldehyde, despite being the quintessential fixative used in pathology laboratories, has disadvantages in its structural and chemical level of the sample, showing the prejudice presented by its use at the work level. Therefore, functional substitutes were evaluated based on documentary evidence, in this case, honey. The General Objective of this study was: Analyze the properties of honey as a substitute for formalin in tissue fixation. Methodology: It is a research with a qualitative approach, documentary design, descriptive type and Systematic Review modality. Using the databases Curious, Journal of Cytology, Joanna Briggs Institute Reviewer's Manual, Public Library of Science (PLOS) Medicine. Scielo, Dialnet, Medline, and the US Department of Safety and Health. Final 10 studies are included with information about: properties of honey as a fixative, quality of resulting stains and comparison in terms of formalin. Conclusions: Similar results emerged that the advantages outweigh the disadvantages, observing the morphological details with routine staining, results to those obtained with formalin fixation. Therefore, it is recommended as a potential fixative for use in pathology laboratories.

Keywords: honey, formaldehyde, formalin, fixative, alternative, pathology, histotechnology.

INTRODUCCIÓN

La fijación tisular es un proceso utilizado para preservar la composición química y morfológica de un tejido, evitando que este sea degradado por los procesos de autólisis y putrefacción, ocasionados por las enzimas hidrolíticas y las bacterias, respectivamente. Además, permite la resistencia del tejido a los procesos posteriores de la técnica ejecutada por los histotecnólogos, hasta obtener un preparado histológico. Este último, será visualizado por el médico anatomopatólogo para realizar el diagnóstico histopatológico, en consecuencia, el diagnóstico dependerá de diversos factores, pero la fijación tisular será la base para estudios posteriores.¹

Para tales fines, se han utilizado diversas soluciones fijadoras, dentro de las cuales se encuentran el formol, líquidos de Bouin, Carnoy, Zenker, alcohol etílico, glutaraldehído, entre otros.² Sin embargo, el más utilizado es el formol tamponado al 10%. El formol es un compuesto químico dentro del grupo de los aldehídos que fija las proteínas a través de la reticularización, el formol se diluye al 10% y se neutraliza con sales de fosfato monobásico de sodio y fosfato dibásico de sodio, las cuales mantienen el pH del fijador, similar al fisiológico, favoreciendo su difusión gradual en el tejido hasta alcanzar las células más internas.³

Por tal razón, el formol es el fijador más utilizado por los laboratorios de anatomía patológica hasta la fecha, debido a sus bajos costos, comodidad en el manejo, alto grado de precisión y adaptabilidad para la preparación de otras mezclas fijadores a base de formol. Aunado a lo anterior, diversos estudios respaldan su efectividad en la preservación de la composición y morfología tisular.⁴

Sin embargo, ha presentado desventajas en relación con su efecto sobre las técnicas posteriores, especialmente cuando ocurren entrecruzamientos entre las proteínas ocasionando una disminución de la disponibilidad de los epítomos que puedan unirse al anticuerpo durante la inmunohistoquímica; o la fragmentación de los ácidos nucleicos para estudios de patología molecular.⁵ En el mismo orden de ideas, los profesionales de la

histotecnología se exponen durante su jornada laboral a este reactivo, quienes dentro de sus funciones tienen que preparar los reactivos químicos, la descripción macroscópica de piezas anatómicas, realizar la secuencia de pasos de una biopsia para el estudio de los tejidos.⁶

De este modo, en el caso particular del personal que labora en el embalsamamiento de cadáveres, así como, en los departamentos de anatomía, también se encuentran expuestos al formol. Incluso los estudiantes de las carreras relacionadas con las ciencias de la vida y la salud. La exposición al formol causa irritación de las mucosas nasal, faríngea y laríngea, así como a nivel ocular, dermatitis por contacto y cefalea; mientras que sus efectos a largo plazo causan leucemia mieloide, cáncer de senos paranasales, cavidad nasal y cáncer de nasofaringe. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer clasifica al formol dentro del grupo 1, es decir, “carcinógeno para el ser humano”, debido a su genotoxicidad al causar daños en el ADN.⁷⁻⁹

Sus efectos adversos aumentan a medida que incrementa la concentración del formol, el incremento de la temperatura dentro del laboratorio causa la volatilización y exposición al reactivo por inhalación durante la jornada laboral.¹⁰ Por tal razón, la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (The Occupational Safety and Health Administration, OSHA), ha planteado la necesidad de encontrar alternativas eficientes para seguir laborando en medida mundial en los laboratorios de anatomía patológica, disminuyendo la exposición al formaldehído y otros compuestos nocivos para la salud.¹¹

En este sentido, se han propuesto alternativas de reducir los artefactos y desventajas ocasionadas por la fijación tisular con formaldehído; así como sus efectos sobre los trabajadores de los laboratorios de anatomía patológica.¹² Con respecto a los efectos sobre estudios posteriores, se han planteado el uso de fijadores que no entrecruzan las proteínas, llamados fijadores alternativos como el uso de los alcoholes y la criopreservación (congelación), reactivos menos tóxicos,¹³ aunque no se han encontrado diferencias significativas en relación con el uso de la formalina. En el caso de su efecto sobre la salud y sobre el ambiente, se han plantado alternativas ecológicas tales como el uso de la miel

de abeja y la azúcar morena como fijadores tisulares.¹⁴

Al mencionar la miel como fijador potencial, se contextualiza la misma como una sustancia viscosa muy dulce de color amarillenta producida por las abejas del género *Apis mellaris* dentro del cual se localizan ecosistemas con características de bosques. La miel contiene propiedades antibacterianas debido a las inhibinas (peróxido de hidrógeno, flavonoides y ácidos fenólicos) presentes, contiene proteínas, enzimas y aminoácidos, también es una fuente natural de antioxidantes, los cuales son sustancias naturales que evitan la formación de óxidos causantes de la descomposición de las células, siendo esta la propiedad que se toma como base para realizar esta investigación.

Así mismo, un estudio realizado en la India por la Universidad Dental de Navodaya en el 2015, por Lalwani et al¹⁵, demostró la evaluación de la miel como fijador alternativo para el tejido oral, miel procesada y sin procesar, comparándola con la fijación en formalina. Utilizaron un total de 12 tejidos diferentes, los cuales fueron fijados con miel al 10% sin procesar (pH 3,6), miel al 10% procesada (pH 4,6) y formol tamponado al 10% (pH 7,2-7,4), durante 24 horas. Las muestras fueron procesadas y teñidas con Hematoxilina-Eosina para su revisión y posterior análisis estadístico.

Al igual que el estudio llevado a cabo por la Universidad de Calabar en Nigeria en el 2018 por Udonkang et al¹⁶, quienes evaluaron la miel como fijador y sustituto más seguro de la formalina en histología. A través de un estudio experimental evaluaron la calidad de la tinción nuclear y citoplasmática, así como la preservación de la morfología del tejido posterior a una fijación con concentraciones de miel entre los 20 y 100% y la formalina tamponada al 10% durante 48 h. Encontrando que las concentraciones de miel, mayores al 70% evitaron la putrefacción tisular después de las 72 h. Además, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la fijación con miel (70-100%) y la formalina.

Por dichas razones, observaron que no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los tejidos fijados en miel procesada y sin procesar en comparación con la formalina.

Es decir, que la morfología tisular no se alteró debido al uso de la miel, concluyendo que la miel procesada y sin procesar pueden usarse como una alternativa segura para la formalina.¹⁶ Dicho estudio respalda la presente investigación al proponer un protocolo alternativo al uso de la formalina a través de la miel como fijador tisular, en un lapso de tiempo similar al indicado para el formol, sin la presencia de artefactos que distorsionen la morfología tisular.

En Venezuela durante el año 2019, Jaspe et al¹⁷ realizaron una investigación documental sobre las alternativas menos nocivas para la salud, que reemplacen la utilización del formaldehído como fijador de elección en laboratorios de anatomía patológica; encontraron que la miel y el azúcar morena disminuyen los riesgos ocupacionales derivados de la exposición al formaldehído, con resultados a nivel de la técnica similares a los obtenidos con la fijación de rutina. Mientras que, a nivel comercial, existen sustancias libres de formol, tales como KINFix y Glyoxall los cuales contienen alcohol. Aunque no poseen en un 100% las ventajas en comparación con la formalina, son opciones que en materia de salud ofrecen un beneficio para el personal del laboratorio. En consecuencia, sus hallazgos respaldan la importancia de utilizar sustitutos del formol para minimizar los riesgos de cáncer a largo plazo.

Otras investigaciones más actuales reafirman el trabajo de los estudios anteriormente mencionados, tales como el de la Universidad Dental de Meenakshi Ammal de la India, llevado a cabo por Sabarinath et al¹⁸ durante el año 2020; esto autores llevaron a cabo un estudio comparativo entre la fijación de extendidos citológicos de mucosa oral, con alcohol y miel al 10%, la fijación con cada compuesto fue de 30 minutos y posteriormente teñidos con hematoxilina-eosina. Tres observadores revisaron los extendidos, evaluando la calidad de la tinción y la preservación de la morfología celular. Concluyendo que la miel puede ser utilizada como fijador alternativo al alcohol en citopatología. Sin embargo, aclaran la introducción de artefactos durante el proceso de fijación tisular, alterando la morfología de las estructuras y la calidad de la tinción.

Con base en todo lo anterior, el interés de la presente investigación se fundamenta en

describir el uso de la miel de abeja como alternativa al formol, a través de una revisión documental de trabajos científicos primarios; para respaldar el uso de la miel, siendo un compuesto natural, económico y de fácil adquisición en relación con la formalina. Aporte que será de utilidad para futuras investigaciones en el área, y que impactarán sobre el estado de salud del personal de anatomía patológica, docentes y estudiantes; lo cual se respalda desde el punto de vista jurídico por lo establecido en la Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo.¹⁹

De esta forma, se encuentra que las empresas, dentro de las cuales se incluyen los laboratorios de anatomía patológica, deben contar con servicios de seguridad y salud en el trabajo, dentro de sus funciones asegurar la protección del personal contra toda condición que perjudique su salud producto de la actividad laboral, entonces la presente investigación contribuirá al plantear una alternativa que promueva la seguridad y salud en el trabajo, así como la prevención de accidentes y enfermedades ocupacionales debido a la exposición del formol.

Con base en todo lo anteriormente descrito, la presente investigación se planteó como objetivo general: Analizar las propiedades de la miel como sustituto de la formalina en la fijación tisular. Para tales fines, se plantearon como objetivos específicos: describir las propiedades de la miel como fijador tisular, identificar las ventajas y desventajas de la miel como fijador tisular, y describir los protocolos publicados sobre el uso de la miel.

METODOLOGÍA

El presente estudio se ubica dentro de una investigación documental tipo descriptiva y modalidad revisión sistemática, con base en fuentes primarias de alto nivel científico, las cuales aportan información sobre el progreso científico del uso de fijadores alternativos a la formalina. Page et al.,²⁰ explican que las revisiones sistemáticas de la literatura científica proporcionan la síntesis del estado del conocimiento de un campo de estudio, a partir del cual se pueden identificar nuevos hallazgos u orientaciones que mejoren la

práctica de los profesionales. En este sentido, la investigación presentada, se trata de una RS cualitativa, al cumplir con el protocolo adecuado.²¹

Por tal razón, se realizó una revisión de literatura desde el año 2011 hasta 2022, mediante la búsqueda en las bases de datos de PubMed, Embase, Scopus, Redalyc y Google Scholar, las cuales publican artículos científicos evaluados por pares con un alta estándar de calidad a nivel internacional, mientras que Redalyc agrupa estudios desarrollados en América Latina, así como Google Scholar.

En el mismo orden metodológico, como criterio de inclusión se consideraron artículos científicos y tesis publicadas en inglés, español y portugués, disponibles electrónicamente y de acceso libre. Para la búsqueda de los documentos objeto de análisis, se emplearon las palabras claves “miel como fijador tisular”, “sustitutos de formalina” y “Fijadores tisulares sin formalina”, como descriptores.

En la búsqueda se identificaron 46 artículos, según los descriptores utilizados. Se leyeron los títulos y resumen, reduciendo el número de artículos a 18 porque se vinculan con el objeto de estudio. Se seleccionaron 10 artículos que cumplieron con los criterios de inclusión anteriormente mencionados (Figura 1). Por último, la información fue clasificada según los siguientes criterios: 1) Resultados obtenidos en los artículos (características morfológicas y calidad de la tinción), 2) Explicación del fundamento de la miel como fijador y 3) Protocolos utilizados (reactivos y tiempo que duró la fijación) (Anexo A, matriz de recolección de información).

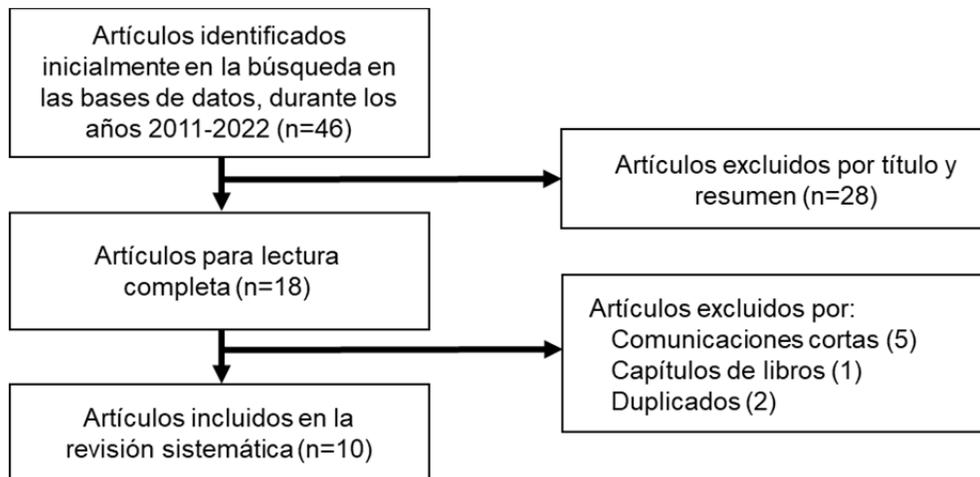


Figura 1: Algoritmo para la selección de los artículos.

Por último, para la síntesis de la información, se utilizó el procedimiento de la meta-agregación de la guía de JBI para revisiones sistemáticas de estudios cualitativos²². Primeramente, se extrajo la información de cada artículo según los ítems del anexo A, a través de literatura crítica de los estudios seleccionados; y seguidamente, se unieron los hallazgos identificados para su presentación y discusión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Iniciando con el análisis de las propiedades de la miel como sustituto de la formalina en la fijación tisular, en la Tabla 1 se presentan las propiedades, sus fundamentos como fijador, características químicas y el compuesto que cumple la función. En tal sentido, la miel actúa como un fijador ácido que deshidrata los tejidos, es decir, a nivel de las proteínas que conforman a los tejidos, extrae su capa de agua precipitando las proteínas²²⁻²⁷, además causa un cambio en el estado coloidal de las mismas^{14,23,27}. Como consecuencia, los tejidos se endurecen preservando las características morfológicas y químicas para sus estudios histopatológicos.

Tabla 1: Propiedades de la miel como sustituto de la formalina en la fijación tisular.

Ref	Propiedades de la miel	Fundamento	Características	Compuestos
22-27	Deshidrata los tejidos	Extrae la capa de agua y como consecuencia precipitan las proteínas. Endurece los tejidos por la extracción brusca del agua	Alta osmolaridad	Glucosa y fructosa
14-27	Es un fijador ácido	Cambia el estado coloidal de las proteínas	pH ácido (3,2-4,5)	Ácido ascórbico, ácidos fenólicos
14,15	Antibacteriana	Produce la muerte de las bacterias	Producción de enzimas y otros compuestos	Peróxido de hidrógeno, fenol, inhibina, flavonoides

Fuente: propia de la investigación.

En el mismo orden de ideas, la miel está compuesta por fructosa y glucosa, estos carbohidratos por su alta concentración poseen una alta osmolaridad que deshidrata los tejidos, asociado al efecto de su pH ácido por la presencia del ácido ascórbico y fenólicos que desestabilizan las moléculas de proteína, produciendo su precipitación y evitando la autólisis^{14-16,22,25}. Además, la miel tiene propiedades antimicrobianas que producen la muerte de las bacterias, evitando la putrefacción de los tejidos¹⁵. Reconociendo los compuestos presentes en la miel, se resalta su baja toxicidad para el histotecnólogo²⁶.

Un estudio asociado a lo anteriormente descrito menciona que se han identificado varias sustancias en la miel con propiedades antimicrobianas; dichos estudios han encontrado que la principal actividad antimicrobiana se debe a la presencia de peróxido de hidrógeno producido por la enzima glucosa-oxidasa. También, los fitoquímicos, especialmente los flavonoides y ácidos aromáticos y los antioxidantes fenólicos son reconocidos por inhibir un amplio rango de bacterias Gram positivas y Gram negativas.²³

En segundo lugar, en relación con las ventajas y desventajas de la miel como fijador tisular, en la Tabla 2 se agruparon en categorías las características morfológicas, es decir, la visualización de las estructuras citoplasmáticas y nucleares como primeros elementos utilizados para la descripción histológica de un tejido; y por el otro lado, la calidad de la tinción utilizada (Hematoxilina-Eosina o tinción de rutina). Para ambas categorías se buscó agrupar sus ventajas y desventajas, encontrándose en más de la mitad de los artículos una estructura citoplasmática y nuclear bien definidas y conservadas, de igual forma ocurrió con la calidad de la tinción, siendo buena, intensa y clara^{15,16,19,23-27}.

Tabla 2: Ventajas y desventajas de la miel como fijador.

Referencia	Categorías	Ventajas	Desventajas
14-27	Características morfológicas (Detalles citoplasmáticos y nucleares)	Bien definidas y conservadas	Mal definidas Descomposición tisular
14-27	Calidad de la tinción (Hematoxilina-Eosina)	Excelente: buena, intensa y clara	Satisfactorio: Áreas de tinción desigual No se logró la tinción

Fuente: propia de la investigación.

Ahora bien, como desventajas de la miel se encontró en un caso, que las estructuras tisulares fueron mal definidas, observándose una tinción con áreas desiguales¹⁴; y en un segundo estudio, la miel a base de agua (miel al 10%) causó la descomposición tisular impidiendo el procesamiento del material²².

En un estudio comparativo realizado por autores se menciona que , aunque el etanol y sus diversas concentraciones se han utilizado ampliamente en los laboratorios de histopatología, tiene muchas desventajas bien conocidas. Sin embargo, la miel tiene muchas ventajas y desventajas sobre el etanol como se desprende del estudio realizado, que incluye la viscosidad de la miel como factor influyente en la penetración del fijador al tejido, el nivel de pH según como se use su concentración y la dilución con antifúngicos, cuyos factores modifican la muestra de estudio, sin embargo, se menciona que son más las ventajas en cuanto a su función que lo que podría perjudicar la operatividad del mismo. Por lo tanto, se revela que cualquier frotis citológico en el que sea necesaria la preservación de los detalles celulares puede evaluarse de manera adecuada y eficiente con la fijación en miel sin procesar al 20%, que es igual y tan bueno como el etanol.²⁴

En tercer lugar, para describir los protocolos publicados sobre el uso de la miel, se

consideraron dos elementos, el reactivo utilizado y su concentración, y el tiempo de fijación, es decir, el tiempo que duró el tejido en ese fijador. En la tabla 3, se presentan las variables del protocolo que se exteriorizaron en ambas categorías, encontrándose que la concentración de la miel al 10% fue la más frecuente, seguida de la de 20%. Aunque se presentó cada una de las variables, un único caso de miel al 10% reportó la descomposición del tejido, por lo cual no se logró una tinción, recomendando la mezcla de miel de abeja + alcohol absoluto. Por otro lado, la fijación durante 24h, fue la más frecuente.

Tabla 3: Protocolos sobre el uso de la miel como fijador tisular.

Referencia	Categorías	Variables del protocolo
14-27	Reactivo (miel) Concentración	10% 20% 50%, 70%, 90% y 100% 10% + Alcohol absoluto 10% + Formalina tamponada neutra
14-27	Tiempo de fijación	30min 24h 48h 72h 3, 6, 12 meses

Fuente: propia de la investigación.

En líneas generales, en los protocolos propuestos se observó que la miel concentrada se diluyó con agua, en el caso particular de la miel al 10% se mezcló 10 mL de miel y 90 mL de agua caliente para diluirla. Se dejó enfriar y se midió el pH, los tejidos se sumergieron en el fijador durante 24 horas a temperatura ambiente^{22,23}. Dentro de las muestras fijadas, cuatro estudios utilizaron tejidos animales con fines experimentales (mucosa bucal de cabra¹⁴; corazón, intestino, pulmones, riñones y cerebro de cabra¹⁶; corazón de cerdo²²; hígado, riñón y estómago de rata²⁵). En tejidos humanos, se evaluó en epitelio oral, linfóide, glándula salival, grasa, músculo y piel¹⁵; frotis de mucosa bucal¹⁹; encía^{23,24};

endometrio, mama, placenta, útero, epiplón, glándula suprarrenal, estómago y pulmón²⁷.

Mencionando la particularidad obtenida en el estudio realizado por Kaur et al. Los frotis de las 300 muestras citológicas se fijaron por separado en etanol al 95 % y miel natural sin procesar al 20 % durante un mínimo de 15 minutos y luego se tiñeron con tinción de Papanicolaou (Pap).²³

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La miel de abeja presenta un mecanismo de fijación combinado, porque deshidrata los tejidos y cambia el estado coloidal de las proteínas, confiriéndole mayor dureza, impidiendo los procesos de autólisis. Aunado a un efecto antibacteriano que impide el crecimiento de las bacterias que pudieran descomponer los tejidos.

Se demostró que las ventajas superan a las desventajas, observándose los detalles morfológicos con la tinción de rutina, resultados similares a los obtenidos con la fijación en formol. Por lo cual, se recomienda como un fijador potencial para el uso en los laboratorios de anatomía patológica.

Para tales fines, se encontró en los protocolos que el uso de la miel al 10%, durante un tiempo de 24 horas, ofrece resultados similares al uso del formol. En tal sentido, se recomienda su uso a esa concentración y el tiempo de duración puede ser igual o mayor a las 24 horas, dependiendo el tipo de muestra. Además, se recomienda la estandarización del protocolo por cada laboratorio.

La presente investigación por tratarse de una revisión sistémica cualitativa, no evaluó las diferencias entre las distintas concentraciones de miel de abeja y el uso de otros compuestos fijadores (alcohol absoluto y formalina tamponada); así como, las variabilidades que se pudieron presentar en relación con las características morfológicas (detalles citoplasmáticos y nucleares) y la calidad de la tinción (Hematoxilina-Eosina), desde el punto de vista estadístico para demostrar si existió una diferencia significativa entre las observaciones de los preparados histológicos según los protocolos utilizados.

REFERENCIAS

1. Vazzano J, Sinclair W, Zehr B, Allenby P. Formalin pre-fixation improves autopsy histology. [Internet] *Autops Case Rep.* 2021; 11:e2021291. [fecha de acceso 17 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.4322%2Facr.2021.291>
2. Howat W, Wilson B. Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. *Methods.* [Internet] 2014; 70(1):12-19. [fecha de acceso 17 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.1016%2Fj.ymeth.2014.01.022>
3. Thavarajah R, Mudimbaimannar V, Elizabeth J, Krishnamohan U, Ranganathan K. Chemical and physical basics of routine formaldehyde fixation. *J Oral Maxillofac Pathol.* [Internet] 2012; 16(3):400-405. [fecha de acceso 19 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.4103%2F0973-029X.102496>
4. Ellenburg J, Kolettis P, Drwiega J, Posey A, Goldberg M, Mehrad M, Giannico G, Gordetsky J. Formalin versus Bouin solution for testis biopsies: Which is the better fixative?. *Clin Pathol.* [Internet] 2020; 13:2632010X19897262. [fecha de acceso 19 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.1177%2F2632010X19897262>
5. Rahman A, Sultana N, Ayman U, Bhakta S, Afrose M, Afrin M, Haque Z. Alcoholic fixation over formalin fixation: A new, safer option for morphologic and molecular analysis of tissues. *Saudi J Biol Sci.* [Internet] 2022; 29(1):175-182. [fecha de acceso 20 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.1016%2Fj.sjbs.2021.08.075>
6. Nuñez J, Calzolaio V. Fuentes de aprendizajes y criterios para la acreditación de competencias del personal de anatomía patológica. *Revista Electrónica de Investigación e Innovación.* [Internet] 2020; 5(2):8-20. [fecha de acceso 20 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.5281/zenodo.3759809>
7. Kang D, Kim H, Jung J, Lee C, Ahn Y, Seo Y. Formaldehyde exposure and leukemia risk: a comprehensive review and network-based toxicogenomic approach. *Genes Environ.* [Internet] 2021; 43:13. [fecha de acceso 22 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.1186%2Fs41021-021-00183-5>
8. Adamović D, Čepić Z, Adamović S, Stošić M, Obrovski B, Morača S, Vojinović M. Occupational exposure to formaldehyde and cancer risk assessment in an anatomy laboratory. *Int J Environ Res Public Health.* [Internet] 2021; 18(21):11198. [fecha de

- acceso 24 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.3390%2Fijerph182111198>
9. Protano C, Buomprisco G, Cammalleri V, Pocino R, Marotta D, Simonazzi S, Cardoni F, Petyx M, Lavicoli S, Vitali M. The carcinogenic effects of formaldehyde occupational exposure: A systematic review. *Cancers (Basel)*. [Internet] 2022; 14(1):165. [fecha de acceso 24 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.3390%2Fcancers14010165>
 10. Tiruneh C. Acute adverse effects of formaldehyde threated cadaver on new innovative medical students and anatomy staff members in the dissection hall at Wollo University, Northeast Ethiopia. *Adv Med Educ Pract*. [Internet] 2021; 12:41-47. [fecha de acceso 24 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.2147%2FAMEP.S291755>
 11. Tupper C, Garg R. OSHA formaldehyde safety. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available [fecha de acceso 24 de febrero de 2023] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK580491/>
 12. Cazzato G, Caporusso C, Arezzo F, Cimmino A, Colagrande A, Loizzi V, Cormio G, et al. Formalin-fixed and paraffin-embedded samples for next generation sequencing: Problems and solutions. *Genes (Basel)*. [Internet] 2021; 12(10):1472. [fecha de acceso 26 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.3390%2Fgenes12101472>
 13. Frasilho S, Sanchez I, Yoo C, Antunes L, Bellora C, Mathieson W. Do tissues fixed in a non-crosslinking fixative require a dedicated formalin-free processor?. *J Histochem Cytochem*. [Internet] 2021; 69(6):389-405. [fecha de acceso 26 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.1369%2F00221554211017859>
 14. Page M, McKenzie J, Bossuyt P, et al. 14. Patil S, Premalatha B, Rao R, Ganavi B. Revelation in the field of tissue preservation – A preliminary study on natural formalin substitutes. *J Int Oral Health*. 2013; 5(1):31-38
 15. Lalwani V, Surekha R, Vanishree M, Koneru A, Hunasgi S, Ravikumar S. Honey as an alternative fixative for oral tissue: An evaluation of processed and unprocessed honey. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. [Internet] 2015; 19(3):342-347. [fecha de acceso 28 de febrero de 2023] Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0973-029X.174641>
 16. Udonkang MI, Ubi KA, Inyang IJ. Honey as fixative and safer substitute for formalin in histology. *Int J Med Lab Res*. 2018; 3 (3):11-7.

17. Jaspe M, Perlaza G, Villegas A. Alternativas menos nocivas para la salud, que reemplacen la utilización del formaldehído como fijadores de elección en laboratorios de anatomía patológica [Informe monográfico]. Universidad de Carabobo. 2019.
18. Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo. Gaceta de la República Bolivariana de Venezuela, número 38.236 del 26 de julio de 2005.
19. Sabarinath B, Sundaraman P, Sivapathasundharam B. Honey as a cytological fixative: A comparative study with etanol EJMCM. [Internet] 2020; 7(9):1015-1019. [fecha de acceso 28 de febrero de 2023] Disponible en: https://ejmcm.com/pdf_4750_e8b27faeb8f7e9ecd0326f21d900ef7c.html
20. Page M, McKenzie J, Bossuyt P, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Systematic Reviews*, 2021; 10(89). <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01626-4>
21. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman D & Prisma Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Public Library of Science (PLOS) Medicine*. 2009; 6(7):873-880. <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2010.02.007>
22. Lockwood C, Porrit K, Munn Z, Rittenmeyer L, Salmond S, Bjerrum M, et al. Chapter 2: Systematic review of qualitative evidence. In: Aromataris E, Munn Z, editors. *Joanna Briggs Institute Reviewer's Manual* [Internet]. The Joanna Briggs Institute; 2017. Available from: <https://reviewersmanual.joannabriggs.org/>
23. Estrada H, Gamboa M, Chaves C, Arias M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Evaluación de su carga microbiológica. *ALAN* [Internet]. 2005 Jun [citado 2023 Jun 14]; 55(2): 167-171. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200010&lng=es.
24. Singh, Amita; Hunasgi, Santosh; Koneru, Anila; Vanishree, M; Ramalu, Surekha; Manvikar, Vardendra. Comparison of honey with ethanol as an oral cytological fixative: A pilot study. *Journal of Cytology* 32(2):p 113-117, Apr–Jun 2015. | DOI: 10.4103/0970-9371.160563

25. Priyadarshi A, Kaur R, Issacs R (August 18, 2022) Honey as a Cytological Fixative: A Comparative Study With 95% Alcohol. *Cureus* 14(8): e28149. doi:10.7759/cureus.28149

Anexo A



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Salud Pública y Desarrollo Social
Departamento de Salud Pública
Trabajo de Investigación – Histotecnología

Título: La miel como sustituto de la formalina en la fijación tisular histológica

Autores: Ascanio Zurysadai, Aular Yendry y Rodríguez Andrea

Tutor: José Nuñez

N° Ref	Autor(es)	Año	Título	Muestra	Fundamento de la miel como fijador (justificación)	Resultados obtenidos		Protocolos utilizados	
						Características morfológicas	Calidad de la fijación	Reactivos	Tiempo de fijación
14	Paul S. Prasadula B, Rao R, Ganani B.	2013	A preliminary study on natural formalin substitutes.	carne fresca de cabra (muestra fresca, 5 muestras)	Las propiedades de la miel, como la alta osmolaridad, el bajo pH y la presencia de componentes como el posido de hidrógeno y la lisozolima, contribuyen a sus efectos antisépticos y antibacterianos.	los datos de 4 tipos morfológicos y nucleares fueron satisfactorios.	tiñidos H-E. Se realizaron cortes de tinción de vegetal	miel al 20%	24hrs
15	Lubani V, Suresha R, Vardhore M, Kotecha A, Hemaaga S, Ravikumar S.	2015	Honey as an alternative fixative for oral tissue. An evaluation of processed and unprocessed honey.	36 tejidos humanos incluyendo epitelio oral, hígado, glándula salival, grasa, músculo y piel	Se ha descubierto que la miel previene la autólisis, y que los tejidos que se procesan en ella durante un mínimo de 30 días no muestran ningún signo de putrefacción microbiana. La propiedad de endosmosis del tejido se hace similar en relación a los fijadores que actúan induciendo todo los tejidos.	4 tipos morfológicos y nucleares, frotis de carilagos observados.	tiñidos H-E con miel sin procesar o con sueltos a diferentes de miel procesada	Grupo A - 10% miel sin procesar (pH: 3.6) - Se maceraron 10 ml de miel para sin procesar (pH: 3.6) con 100 ml de agua de estada. Grupo B - 10% miel procesada (pH: 5.05) - Se maceraron 10 ml de miel para procesada (Dabur: pH:4.6) con 100 ml de agua de estada. Grupo C - 10% NBF (pH: 7.2-7.4) Grupo B - 10% procesado honey (pH: 5.05) - 10 ml of pure processed honey (Dabur: pH:4.6) was mixed with 100 ml of distilled water. Group C - 10% NBF (pH: 7.2-7.4).	24hrs
16	Udaykang M, Uthika, Iyengar D.	2018	Honey as fixative and safe substitute for formalin in histology.	tejidos frescos de conejillo: musculo, pulmones, riñones, y vesiga de cabra	Las propiedades presentes en la miel son similares como cualquier fijador a osmolar y permeabilidad. Otras sustancias no orgánicas son etileno acético, ácido fólico, flavonoides y extracto de Maltol productos. Estos son similares pero con los tejidos al preservar la permeabilidad lipídica	músculo y citoplasmas bien definidos, conservación adecuada de la morfología tisular.	tiñidos H-E, hemato, internay y cito	Miel en concentraciones 20%, 30%, 50% y 100%	4hrs
19	Sabarinath B, Sandharan P, Sivaprasantharam R.	2020	Honey as a cytological fixative: A comparative study with ethanol (FJNCM)	30 muestras de frotis de muestra bucal	La miel se ha utilizado para el tratamiento de úlceras y escaras a estos infecciones superficiales que surgen de quemaduras y heridas por sus propiedades antibacterianas y cicatrizantes. Su uso es beneficioso a los fructos. Revisar al refinamiento de estas propiedades de la miel que hacen que sea útil en día como medicamento. El uso de la miel en la fijación histopatológica o citológica de rutina aún es discutible	músculo y citoplasmas bien notados	tiñidos H-E citoplasmas más precisos, tinción nuclear con pocos artefactos	Miel al 10%	30 min
22	Piatek-Koziej K., Helda J., Koziej M., Tyrak K., Jasińska K., Borena A., Walecha J., Hella M.	2019	Fixative properties of honey solution as a formaldehyde substitute in cardiac tissue preservation	30 muestras de cordón	Gracias a sus propiedades deshidratantes, protectoras y propiedades antibacterianas, se demostró que los adyuvantes naturales como van e fuertemente papavina o mentol de tejido en preservación histológica con una eficiencia similar a la formalina. Sin embargo, no se ha demostrado si estos fijadores son aptos para muestras humanas.	La solución de miel a base de agua no logró preservar en las muestras de cordón descomposición de tejidos se observó una vascularización de la fijación.	no hubo tinción a demostrar	Miel de abeja natural al 10% en etanol absoluto --- solución de miel a base de alcohol, miel de abeja natural al 10% en agua de estada --- solución de miel a base de agua	24 horas, 72 horas, una semana, 3 meses, 6 meses y 12 meses desde el comienzo de la inmersión tisular en el fijador.
23	Siti R, Pata CD, Harjantoro VC, Shachlana R, Sidihami S, Sitawata S	2016	Bee Honey As A Less-toxic Fixative	30 muestras de orquí y tejido pulmonar	La conservación de una muestra humana, en trabajo en su mayoría a el cadáver en miel. Sus propiedades antibacterianas dan como resultado la baja actividad de agua que causa la deshidratación, además del efecto del posido de hidrógeno y alta acidez. Esta combinación de alta acidez causa un proceso hiperosmótico y antibacteriano. El efecto hace que la miel sea una forma plausible de conservar un cadáver humano en una muestra.	estructuras nucleares y citolitos morfológicos	Tinción de hematoxilina y eosina (H&E)	10 ml de forma concentrada de miel con 90 ml de agua caliente	24hrs
24	Siti R, Pata CD, Harjantoro VC, Shachlana R, Sidihami S, Sitawata S	2017	Bee Honey as a Safer Alternative for Routine Formalin Fixation in cardiac tissue preservation	10 muestras de tejido histopatológico de orquí	Desde antes se ha demostrado que la miel de abeja exhibe propiedades antibacterianas y potencial para preservar compuestos sin causar ningún efecto nocivo en su uso. En la antigüedad, la miel se usaba para conservar la carne por varios días. Así, considerando estas propiedades de la miel, utilizamos la miel como fijador para la conservación del tejido para estudiar sus características celulares usando varios tiñidos y compararlo su eficacia con la actual formalina utilizada.	mantuvo las estructuras nucleares y celulares.	Tinción de hematoxilina y eosina (H&E)	10% de miel concentrada - 10 ml de miel para forma concentrada de miel mezclada con 100 ml de agua caliente	24hrs

25	Abuhabib N., AlDhaif R., Alhosni H., Al Waked L., AlSimani S.	2021	Efficiency of natural honey as a tissue fixative in histopathology	incrustos de hígado, riñón y estómago de ratas, tres piezas de cada órgano (9 muestras)	<p>El miel es un mezcla de azúcares y otros compuestos como: vitaminas, oligoelementos, vitaminas como: vitamina C, de ácido ascórbico, peróxido de hidrógeno, piridoxina, pantoico, niacina, vitamina E y otros. Entre otros compuestos confiere a la miel distintas propiedades que son: anti-inflamatorias, anti-infecciosas, efectos anti-tóxicos, anti-oxidantes y antioxidantes que se conocen desde hace varios siglos.</p>	<p>mucosa y eóplima celular bien de fígado</p>	Tinción de hematoxilina y eosina (H&E)	10% miel de Sumer y 10% miel de calabaza agua salubre	24hrs
26	Karimhan D., Sarosh R., Jantabharan M., Sariloh V., Arand T., Thiemy M.	2017	Analysis of Fixative Properties of Three Eco-friendly Substances: A Comparison with Formalin	10 muestras de tejido hepático de cerdo	<p>La literatura existente apunta a estudios que exploran la posibilidad de sustancias naturales como el azúcar, jengibre, etc. para emplear los tejidos. Estas sustancias ecológicas son poca toxicidad también es más fácilmente disponibles. El objetivo de este estudio fue explorar la posibilidad de encontrar el mejor fijador es naturales a formalina en histopatología de ratas.</p>	<p>muestra de las estructuras mucosas y celulares.</p>	Tinción de hematoxilina y eosina (H&E)	Solamente al 20% de miel, jengibre, y azúcar y formalina al 10%.	24hrs
27	N.Okan, F. Silva, F. Çakalıoğlu & B. Türker	2011	Honey as a substitute for formalin?	endometrio, mama, placenta, útero, epiflón, suprapúbica, esófago y pulmón (8 muestras)	<p>Se ha demostrado que la miel de abeja preserva la morfología tisular de la misma manera en la que la formalina lo hace. La miel también tiene propiedades de deshidratación y efectos protectores además de anti-bacterianos que se conocen desde hace siglos.</p>	<p>la morfología celular es tal vez conservada en todos los demás tejidos fijados con fijador de miel</p>	Tinción de hematoxilina y eosina (H&E)	Miel al 10% en agua destilada	24hrs