

## **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

### **EFICACIA DE UN NUEVO AGENTE DESPARAFINIZANTE EN COMPARACIÓN CON UN SUSTITUTO DE XILOL, CUSCO-2022**

**Línea de investigación:**

Salud pública

**Tesis para optar el título de Especialista en Histotecnología**

**AUTOR:**

Fuentes Borda, Jharol Cristian

**ASESOR:**

Sedano Gelvet, Eduardo Eulogio

(ORCID: 0000-0002-2131-0783)

**JURADO:**

Hurtado Concha, Arístides

Lagos Castillo, Moraima Angélica

Suarez Obregón, Evert Segundo

**LIMA – PERÚ**

**2023**

**Dedicatoria**

A Dios por ser mi guía espiritual.

A mis padres (Félix y Elvira) por estar siempre a mi lado.

A mi familia (Rosa Elvira, Alessia Elvira y Luis Pablo) por ser mi motivo de superación  
personal y profesional.

Y a mis hermanos y primos al saber que mis logros y triunfos también son los suyos.

### **Agradecimientos**

A todo el personal del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Regional Cusco, porque  
me motivaron a concluir esta investigación de tesis.

A mis expertos Dra. Mabel Aucca V y Dra. Jyskra Valdivia S, por su apoyo incondicional  
para la lectura de mis laminas histológicas.

Al Mg. Gian Carlos Ramírez Ubillus y al Mg Eduardo Eulogio Sedano Gelvet, por ser mi  
guía y recibir el apoyo constante para la elaboración de esta investigación.

## Índice

I. Introducción	1
1.1. Descripción y Formulación del Problema	2
1.2. Antecedentes	3
1.3. Objetivos	6
- Objetivo General	6
- Objetivos Específicos	7
1.4. Justificación	7
1.5. Hipótesis	8
II. Marco Teórico	9
2.1. Bases Teóricas sobre el Tema de Investigación	9
III. Método	15
3.1. Tipo de Investigación	15
3.2. Ámbito Temporal y Espacial	15
3.3. Variables	15
3.4. Población y Muestra	15
3.5. Instrumentos	16
3.6. Procedimientos	17
3.7. Análisis de Datos	18
3.8. Consideraciones Éticas	19
IV. Resultados	20
V. Discusión de Resultados	27
VI. Conclusiones	30
VII. Recomendaciones	31
VIII. Referencias	32
IX. Anexos	37

## Resumen

**Objetivo:** Determinar la eficacia de un nuevo agente desparafinizante en comparación con un sustituto de Xilol (Ottix Plus) para la coloración Hematoxilina-Eosina en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco. **Método:** Estudio cuasiexperimental que evaluó 132 bloques de parafina almacenados en el servicio de anatomía patológica del Hospital Regional del Cusco y provenientes del 2020. Se aleatorizaron la mitad hacia el aceite de coco y la otra hacia el sustituto de Xilol. Se calculó la eficacia para la desparafinización a través de un cuestionario que midió la calidad de la coloración para el método de Hematoxilina-Eosina.

**Resultados:** La mediana de los puntajes de las eficacias para el sustituto del Xilol en relación con el aspecto general, núcleo, citoplasma, y medio extracelular fueron 5, 2, 1 y 1, respectivamente. Por otro lado, la mediana de los puntajes de las eficacias para el aceite de coco en relación con el aspecto general, núcleo, citoplasma y medio extracelular fueron 2, 1, 0.5 y 1, respectivamente. La prueba de Mann-Whitney y el análisis de regresión determinaron que las eficacias para la desparafinización del sustituto de Xilol fueron significativamente mayores que las del aceite de coco para todos los aspectos evaluados. **Conclusiones:** El aceite de coco no sería un adecuado agente desparafinizante de cortes histológicos, y bajo estas condiciones de aplicación, no sería recomendable utilizarlo en el laboratorio de Histotecnología.

*Palabras clave:* técnicas histológicas, parafina, aceite de coco.

## Abstract

**Objective:** To determine the efficacy of a new deparaffinizing agent compared to a Xylol substitute (Ottix Plus) for Hematoxylin-Eosin staining in paraffin blocks from the Regional Hospital of Cusco. **Method:** Quasi-experimental study that evaluated 132 paraffin blocks stored in the pathological anatomy service of the Regional Hospital of Cusco and from 2020. Half were randomized to coconut oil and the other to the Xylol substitute. Efficacy for deparaffinization was calculated through a questionnaire that measured the quality of staining for the Hematoxylin-Eosin method. **Results:** The median efficacy scores for the Xylol substitute in relation to general appearance, nucleus, cytoplasm, and extracellular medium were 5, 2, 1 and 1, respectively. On the other hand, the median efficacy scores for coconut oil for overall appearance, nucleus, cytoplasm, and extracellular medium were 2, 1, 0.5, and 1, respectively. The Mann-Whitney test and the regression analysis determined that the efficiencies for deparaffinization of the Xylol substitute were significantly higher than those of coconut oil for all aspects evaluated. **Conclusions:** Coconut oil would not be a suitable deparaffinizing agent for histological sections, and under these application conditions, it would not be recommended to use it in the Histotechnology laboratory.

*Keywords:* histological techniques, paraffin, coconut oil.

## I. Introducción

La desparafinización es un fase en Histotecnología que se aplica para cualquier método de coloración, incluyendo el de Hematoxilina-Eosina, siempre y cuando las muestras histológicas hayan sido incluidas previamente con el medio de inclusión llamado parafina (García del Moral, 1993a).

Consiste en la eliminación de la parafina de los cortes histológicos, con el fin que se pueda producir una adecuada coloración posterior; debido a que la gran mayoría de colorantes, como la Hematoxilina y Eosina, no son solubles con la parafina (García del Moral, 1993a).

Para ello, se debe sumergir los cortes histológicos a dos o tres baños consecutivos de Xilol de 5 o 10 minutos de duración cada uno. Dado que el Xilol tampoco es miscible con el agua, debe ser eliminado en dos baños posteriores de alcohol absoluto, seguidos por una rehidratación en baños sucesivos de alcohol etílico a concentraciones decrecientes de 1 a 2 minutos de duración cada uno (García del Moral, 1993a).

No obstante, este producto es considerado tóxico, además de que es un producto controlado para su venta, en ese sentido, su accesibilidad es limitada para los laboratorios. Por ello, a lo largo de la historia se han propuesto diversos sustitutos naturales, ninguno con reportes de eficacias adecuadas comparables con esta sustancia. Por ese motivo, esta investigación abordó la aplicación y eficacia del aceite de coco como potencial agente desparafinizante para la coloración hematoxilina-eosina.

## 1.1. Descripción y formulación del problema

El método de coloración de Hematoxilina-Eosina tiene más de 100 años de existencia, y es el método de coloración de rutina más importante en todos los laboratorios de anatomía patológica a nivel mundial (Badulescu et al., 2016; Li et al., 2018).

Su importancia radica en que permite evidenciar características morfológicas en secciones tisulares de pacientes, mediante los cuales, se desea determinar si el tejido estudiado es patológico o no. Por ejemplo, permite describir la forma y tamaño del núcleo y citoplasma, detalles nucleares como el tipo de cromatina, presencia y cantidad de nucleolos, detalles citoplasmáticos como presencia de inclusiones y verificación de integridad del borde, entre otros. Entonces, este método de coloración es fundamental para el diagnóstico histopatológico (Chan, 2014; Walwyn et al., 2004).

Para ello, este método de coloración presenta diversos subprocesos durante su ejecución; los cuales son la desparafinización, desalcoholización, diferenciación y azulamiento, entre los más importantes. Estos subprocesos son compartidos entre las diferentes variantes de este método de coloración, y se distinguen solo por los tiempos de aplicación en estos y/o por los agentes químicos utilizados (Mallory, 1968; Montuenga et al., 2009).

Para el subproceso denominado desparafinización, este consiste en eliminar la parafina de los cortes histológicos; siendo el agente químico más utilizado para este subproceso, el Xilol, debido a su rápida acción y excelentes resultados (Lynch et al., 1972; McManus y Mowry, 1960b).

Sin embargo, este agente químico es sumamente tóxico, el cual puede ingresar al cuerpo por medio de los pulmones y almacenarse en el tejido adiposo (debido a su solubilidad en ella), especialmente en la grasa subcutánea con una vida media de 1 a 6 días. La exposición a niveles altos de Xilol durante períodos breves o prolongados puede producir dolores de cabeza, falta de coordinación muscular, mareo, confusión y alteraciones del equilibrio. También puede

causar irritación de la piel, los ojos, la nariz y la garganta; dificultad para respirar, retardo del tiempo de reacción a estímulos, alteraciones de la memoria, incluso pudiendo llegar a causar pérdida del conocimiento y la muerte (Kandyala et al., 2010; Rajan et al., 2019).

Por ese motivo, desde hace un par de décadas, las industrias y empresas relacionadas al tema, han creado diversos sustitutos de Xilol que superan esta desventaja de la toxicidad para el trabajador y generan resultados comparables con el Xilol. No obstante, presentan otras desventajas, como que presentan costos muy altos; al ser productos importados, el empleador debe esperar que haya productos disponibles; son inflamables y tóxicos para el medio ambiente.

Por los motivos mencionados, el presente plan de tesis formuló el siguiente problema:

¿Cuál será la eficacia de un nuevo agente desparafinizante en comparación con un sustituto de Xilol (Ottix Plus) para la coloración Hematoxilina-Eosina en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco?

## **1.2. Antecedentes**

Prema, et al., (2020) en su investigación que tuvo como objetivo “Evaluar la eficacia de una solución detergente para lavar platos al 1.7%, agua de limón al 95% y aceite de coco al 100% en comparación con el Xileno como agente desparafinizante durante la tinción con hematoxilina y eosina (H&E)”. Diseñaron un estudio observacional con 60 bloques de parafina; de los cuales, elaboraron 4 láminas histológicas por cada uno, y las evaluaron mediante 4 métodos de desparafinización para la coloración Hematoxilina-Eosina: Xilol (grupo A), solución detergente para lavar platos al 1.7% (grupo B), agua de limón al 95% (grupo C) y aceite de coco al 100% (grupo D). Se tuvo como principales resultados que se observó una tinción nuclear adecuada en el 100% de las láminas para los grupos A, B, C y D ( $p < 0.001$ ), mientras que se observó una tinción citoplásmica adecuada en el 93.3% para cada uno de los grupos A, C y D en comparación con el 100% para el grupo B ( $p > 0.05$ ). Además, una tinción

uniforme estuvo presente en el 80% para los grupos A y B y en el 73.3% para los grupos C y D ( $p>0,05$ ); la claridad de la tinción estuvo presente en el 86.6% para los grupos A y B, y en el 80% para los grupos C y D ( $p>0,05$ ); la nitidez de la tinción se observó en el 73.3% de los grupos A y D, 86.6% para el grupo B y 80% para grupo C ( $p>0.05$ ). La conclusión fue que la solución detergente para lavar platos, el agua de limón y el aceite de coco pueden ser utilizados como sustitutos más seguros y rentables del Xilol para la desparafinización en el procedimiento de tinción H&E (Prema et al., 2020).

Yadav, et al., (2019) en su investigación que tuvo como objetivo “Examinar la desparafinización de una solución detergente para lavar platos al (DWS) al 1,7% y el aceite mineral refinado (RMO) para reemplazar al Xileno”. Diseñaron un estudio observacional con 50 bloques de parafina; de los cuales, elaboraron 3 láminas histológicas por cada uno, y las evaluaron mediante 3 métodos de desparafinización para la coloración Hematoxilina-Eosina: Xilol (grupo A), DWS (grupo B) y RMO (grupo C). Se tuvo como principales resultados que la tinción citoplasmática ( $p=0.001$ ), la claridad ( $p=0.004$ ) y la nitidez ( $P=0.003$ ) resultaron ser superiores en las láminas sometidas a DWS (Grupo B) en comparación con el método convencional (Grupo A); la claridad ( $p=0,004$ ) fue mejor con RMO como agente desparafinizante (Grupo C) en comparación con el método convencional (Grupo A); la tinción nuclear y la uniformidad eran indistinguibles ( $p>0.05$ ). La conclusión fue que el DWS fue mejor que el Xilol y el RMO, ya que proporcionó una excelente tinción citoplásmica, buena claridad y nitidez; es barato, no tóxico y acorta el tiempo de tinción. Estos métodos de tinción sin xileno podrían resultar un hito en la transición hacia técnicas ecológicas en histopatología (Yadav et al., 2019).

Dineshshankar, et al., (2019) en su investigación que tuvo como objetivo “Sustituir el Xilol usado convencionalmente con queroseno en el procesamiento y tinción de tejidos”. Diseñaron un estudio observacional con 30 bloques de parafina; de los cuales, elaboraron 2

láminas histológicas por cada uno, y las evaluaron mediante 2 métodos de desparafinización para la coloración Hematoxilina-Eosina: Xilol (grupo B) y queroseno (grupo A). Se tuvo como principales resultados que el grupo A mostró una mejor morfología nuclear y citoplasmática, claridad, uniformidad y nitidez de tinción, que fue estadísticamente significativa con un valor de  $p$  de 0.001; mientras que el grupo B produjo una buena morfología nuclear y citoplasmática, claridad, uniformidad y nitidez de los resultados de tinción en comparación con el queroseno con un valor de  $p$  de 0.393, que fue estadísticamente no significativo. La conclusión fue que se mostró que el queroseno es equivalente al Xilol en el procesamiento de tejidos de rutina y la tinción H&E. Por tanto, sin perder la calidad de los detalles histológicos, el queroseno se puede utilizar en el laboratorio histopatológico como alternativa al Xilol. Esto ayudará a mantener un entorno de laboratorio saludable y no tóxico; aunque se tiene resultados positivos, son obligatorios estudios adicionales que incluya un tamaño de muestra más grande y con múltiples observadores (Dineshshankar et al., 2019).

Rathy, et al., (2018) en su investigación que tuvo como objetivo “Evaluar la eficacia del aceite de palma blanqueada como sustituto del Xilol”. Diseñaron un estudio observacional con 20 bloques de parafina; de los cuales, elaboraron 2 láminas histológicas por cada uno, y las evaluaron mediante 2 métodos de desparafinización para la coloración Hematoxilina-Eosina: Xilol (grupo I) y aceite de palma blanqueada (grupo II). Se tuvo como principales resultados que se obtuvo una tinción nuclear adecuada y citoplasmática para el 95% de las láminas para ambos grupos, y estadísticamente no se observaron diferencias ( $p > 0.05$ ). La intensidad de la tinción y la claridad fueron del 95% para el grupo I y de 100% para el grupo II ( $p > 0.05$ ); la uniformidad de la tinción fue del 95% para ambos grupos ( $p > 0.05$ ). La conclusión fue que la sustitución de Xilol con aceite de palma blanqueado como agente aclarante durante el procesamiento de tejidos y como agente desparafinizante durante la

tinción, proporciona una buena tinción, no es tóxico, peligroso o inflamable, además de ser biodegradable, económico, fácil de manejar y disponible (Rathy et al., 2018).

Muddana, et al., (2017) en su investigación que tuvo como objetivo “Evaluar si la miel pudiera ser un posible sustituto de la formalina y el aceite de oliva un posible sustituto del Xileno”. Diseñaron un estudio observacional con 30 bloques de parafina; de los cuales, elaboraron 2 láminas histológicas por cada uno, y las evaluaron mediante 2 métodos de fijación y desparafinización para la coloración Hematoxilina-Eosina: Formol y Xilol (grupo A); Miel y aceite de oliva (grupo B). Se tuvo como principales resultados que no se observaron cambios significativos en la contracción en ambos grupos de estudio; la mayoría de las muestras del Grupo B (67%) eran menos rígidas y pocas estaban a la par con el Grupo A (33%). La translucidez fue visiblemente mejor en todas las muestras del Grupo B (100%) en comparación con el Grupo A. Sin embargo, no hubo diferencia en la arquitectura celular en ambos grupos de estudio; también la calidad de la tinción fue casi la misma en ambos grupos de estudio, excepto en algunas secciones del Grupo B (17%) que fueron superiores a las del Grupo A. Finalmente, hubo menos áreas medias celulares y nucleares de células individuales en las láminas del Grupo A en comparación con el Grupo B, lo que sugiere una menor contracción celular en el Grupo B ( $p=0.002$ ; y  $p=0.001$ , respectivamente). La conclusión fue que la preservación de los tejidos por la miel da un resultado superior en comparación con el formol; además que el aceite de oliva es un agente desparafinizante eficaz comparable con el Xilol (Muddana et al., 2017).

### **1.3. Objetivos**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Determinar la eficacia de un nuevo agente desparafinizante en comparación con un sustituto de Xilol (Ottix Plus) para la coloración Hematoxilina-Eosina en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

Establecer la eficacia de un nuevo agente desparafinizante en comparación con un sustituto de Xilol (Ottix Plus) para la coloración Hematoxilina-Eosina en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco, para la dimensión del núcleo celular.

Determinar la eficacia de un nuevo agente desparafinizante en comparación con un sustituto de Xilol (Ottix Plus) para la coloración Hematoxilina-Eosina en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco, para la dimensión del citoplasma celular.

Precisar la eficacia de un nuevo agente desparafinizante en comparación con un sustituto de Xilol (Ottix Plus) para la coloración Hematoxilina-Eosina en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco, para la dimensión del medio extracelular.

### **1.4. Justificación**

El riesgo es definido, en el ámbito de salud, como la probabilidad de que ocurra un evento adverso, el cual, está relacionado con la peligrosidad del agente físico o químico involucrado (Blanco y Calleja, 2003).

Adicionalmente, se ha reportado que el tipo de laboratorio con mayor almacenaje de sustancias químicas en hospitales es el de anatomía patológica; siendo el Xilol, el agente químico con mayor frecuencia de uso en estos laboratorios (Blanco y Calleja, 2003). También se ha reportado que, con respecto a las condiciones laborales, existe ausencia de equipamiento de protección personal por parte del personal de salud (41.8%), el incumplimiento de las medidas de higiene (28.6%) y el problema de ventilación y escape de sustancias químicas (16.3%), entre los factores más predominantes (Rojas et al., 2006).

Entonces, la industria relacionada al tema ha creado diversos sustitutos a través de los años; uno de ellos es el Ottix Plus, el cual tiene origen italiano y es el que actualmente utiliza el Hospital Regional del Cusco. Como ventaja presenta que ha disminuido el problema de la toxicidad del Xilol, pero presenta otras desventajas: Es muy caro (puede llegar a costar hasta 5

veces el precio del Xilol), es inflamable y tóxico para el medio ambiente (*Ottix Plus 5 Lt / X0076 / Diapath*, s. f.). En ese sentido, el presente plan de tesis propone al aceite de coco orgánico, dado que es un producto ecológico y que no presenta ningún tipo de riesgo para el operador.

Además, las investigaciones previas que han probado diferentes variantes y concentraciones de aceite de coco (Buesa, 2000; Indu et al., 2014; Madhura et al., 2016; Premalatha et al., 2013; Rathy et al., 2018; Sermadi et al., 2014), ninguna ha validado sus instrumentos de medición, lo que generaría un potencial sesgo en los resultados; y tampoco ninguna ha sido diseñada como estudio experimental, siendo esto indispensable para generar la mayor evidencia científica.

Por lo tanto, si se demuestra objetivamente que este producto es comparable, se brindaría evidencia objetiva y útil para los laboratorios interesados en emplear un producto no tóxico, y, por ende, disminuir considerablemente el riesgo para los trabajadores de salud en este ámbito.

### **1.5. Hipótesis**

La eficacia del nuevo agente desparafinizante será igual o mayor en comparación con un sustituto de Xilol (*Ottix Plus*) en bloques de parafina provenientes del Hospital Regional del Cusco.

## II. Marco Teórico

### 2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1. Método de Coloración Hematoxilina de Harris-Eosina

**2.1.1.1. Hematoxilina de Harris.** Este colorante se prepara a partir de una sustancia natural, la cual es la hematoxilina extraída del árbol *Hematoxylon campechianum*, también conocido como palo de campeche o palo azul de Centroamérica. Inicialmente fue utilizado para teñir seda y lona, y en 1862 empezó a emplearse en la coloración de tejidos animales (García del Moral, 1968; Lillie y Conn, 1969b).

Para que esta hematoxilina pueda ser empleada como colorante en Histotecnología, ha de ser oxidada previamente hacia hemateína. Este proceso oxidativo, que puede ocurrir espontáneamente debido al contacto con el oxígeno atmosférico a lo largo de 4 a 6 semanas, o ser inducido de forma artificial y rápida a través del empleo de agente químicos de carácter oxidante (óxido rojo de mercurio, yodato de sodio, permanganato de potasio, entre otros), provoca la aparición sobre la molécula de un anillo paraquinónico que, actuando como cromóforo, le confiere la propiedad de teñir. Esta hemateína obtenida posee una carga electrostática débilmente ácida y una coloración rojo-vinosa (García del Moral, 1968; McManus y Mowry, 1960a; Sheehan y Hrapchak, 1980b).

Posterior a este proceso de oxidación, se debe incrementar su capacidad tintorial agregándole determinados grupos auxocromos que, además, le confieren un carácter fuertemente básico y son los responsables de su especificidad por los núcleos celulares, a estos agentes químicos que mejoran esta capacidad del colorante se les conoce como mordientes. Estas pueden ser sales bivalentes o trivalentes, por lo general en forma de alumbres, de tal modo que se formen diversas laca de hematoxilina de carácter catiónico y tonalidad azulada o negruzca dependiendo de la sal metálica utilizada. La laca de hematoxilina más utilizada es

la producida a partir del alumbre alumínico-potásico, conocida también por su forma genérica como hemalumbre (García del Moral, 1968; Mallory, 1968; Montuenga et al., 2009).

Una vez se hayan realizado todos los pasos anteriormente mencionados, este colorante final, llamado hematoxilina de Harris, es el más utilizado como coloración rutinaria de los núcleos celulares, debido fundamentalmente a su estabilidad (se conserva entre 6 a 12 meses) y a su facilidad de manejo. Por tratarse de una coloración regresiva requiere diferenciación ácida meticulosa para obtener la intensidad deseada, aunque esta diferenciación puede obviarse si se le adiciona cierta cantidad de ácido acético glacial a la solución final de hematoxilina, lo cual incrementa la especificidad de la coloración nuclear (García del Moral, 1968; Lynch et al., 1972).

**2.1.1.2. Eosina.** Este colorante es considerado como un colorante citoplasmático, los cuales, son menos específicos que los nucleares, debido a que se unen a los componentes extracelular de los tejidos, provocando su tinción simultánea (García del Moral, 1968; Lillie y Conn, 1969a).

La eosina forma parte de la familia de colorantes Xanténicos, es decir, en su estructura química presenta derivados hidroxixanténicos halogenados con tres grupos arilo. Además, la variante Eosina Yellowish es la más utilizada a nivel mundial en laboratorios de anatomía patológica. Esta presenta cuatro átomos de bromuro, lo cual lo convierte en un colorante con una capacidad de tinción más fuerte en comparación con otros miembros de esta familia, como la Eosina Bluewish (dos átomos de bromuro), pero más débil que la Floxina (cuatro átomos de bromuro y dos átomos de cloro) (García del Moral, 1968; Montuenga et al., 2009).

Adicionalmente, presenta autofluorescencia espontánea y colorea los tejidos de diversas tonalidades entre rojo y rosa. Comúnmente, se difunde fácilmente en las estructuras hísticas, sobre todo en las más compactas, a las cuales, debido a su carácter ácido, son atraídos

fuertemente hacia los radicales básicos de la histidina, lisina y arginina presentes en las proteínas tisulares (García del Moral, 1968; Mallory, 1968; Sheehan y Hrapchak, 1980b).

Este colorante puede emplearse en soluciones acuosas o alcohólicas, aunque son más solubles en la primera. No obstante, la adición de etanol a las diluciones de trabajo retarda el proceso de diferenciación de la coloración y lo hace, por lo tanto, más fácil para poder utilizarlo dado que el proceso de estandarización para el tiempo de coloración es más estable (García del Moral, 1968; Lynch et al., 1972).

**2.1.1.3. Importancia.** Aunque existen múltiples métodos de coloración para los diversos tipos de tejidos; los histólogos o patólogos, realizan un diagnóstico rutinario mediante un solo método de coloración: Hematoxilina - Eosina. La razón es por la excelente definición nuclear originada por la hematoxilina y al mismo tiempo, la extraordinaria riqueza de matices rosados y rojos que provoca la coloración con eosina (García del Moral, 1968; Sheehan y Hrapchak, 1980a).

En ese sentido, su importancia radica en que permite evidenciar características morfológicas tisulares y celulares presentes en tejidos de pacientes, a los cuales, se desea determinar si el tejido estudiado es patológico o no. Por ejemplo, permite describir la forma y tamaño del núcleo y citoplasma, detalles nucleares como el tipo de cromatina, presencia y cantidad de nucleolos, detalles citoplasmáticos como presencia de inclusiones y verificación de integridad del borde, entre otros. Entonces, este método de coloración es fundamental para el diagnóstico histopatológico (Chan, 2014; Walwyn et al., 2004).

Finalmente, existen múltiples variantes, según se emplee un tipo u otro de eosina y de hematoxilina. Dado a la accesibilidad de los reactivos utilizados para su preparación y a los excelentes resultados generados, la Hematoxilina de Harris y la Eosina Yellowish son las de elección en la mayoría de los laboratorios de anatomía patológica (García del Moral, 1968; Sheehan y Hrapchak, 1980a).

### **2.1.2. Desparafinización.**

Es un paso o subproceso para cualquier método de coloración, incluyendo el de Hematoxilina-Eosina, siempre y cuando las muestras histológicas (biopsias o piezas quirúrgicas) hayan sido incluidas previamente con el medio de inclusión llamado parafina (García del Moral, 1993a).

Consiste en la eliminación de la parafina de los cortes histológicos, con el fin que se pueda producir una adecuada coloración posterior; debido a que la gran mayoría de colorantes, como la Hematoxilina y Eosina, no son solubles con la parafina (García del Moral, 1993a).

Para ello, se debe sumergir los cortes histológicos a dos o tres baños consecutivos de Xilol de 5 o 10 minutos de duración cada uno. Dado que el Xilol tampoco es miscible con el agua, debe ser eliminado en dos baños posteriores de alcohol absoluto, seguidos por una rehidratación en baños sucesivos de alcohol etílico a concentraciones decrecientes de 1 a 2 minutos de duración cada uno (García del Moral, 1993a).

Cuando la sustancia para demostrar es una macromolécula soluble en agua (como el glucógeno), puede ser muy conveniente el colodionado de los portaobjetos para impedir que se disuelva la sustancia hidrosoluble en el agua de rehidratación o en la propia solución colorante. Este procedimiento se basa en la propiedad de membrana semipermeable que posee el colodión, que deja pasar el agua y moléculas pequeñas y retiene las de naturaleza proteica o polimérica (García del Moral, 1993a).

### **2.1.3. Xilol**

**2.1.3.1. Características.** También llamado Xileno y químicamente referido como dimetilbenceno, es un derivado del petróleo que está compuesto por tres isómeros: o-xileno, m-xileno, p-xileno. Es usado es en el sector industrial, así como también para el sector salud; en este último, tiene dos funciones en los laboratorios de anatomía patológica a nivel mundial:

la desalcoholización de muestras histológicas y la desparafinización de cortes histológicos incluidos previamente en parafina (García del Moral, 1993b).

Presenta las siguientes ventajas: Es el agente desalcoholizante y desparafinizante más rápido; endurece poco los tejidos; se elimina fácilmente del medio de inclusión; el punto óptimo de trabajo es fácil de determinar; es relativamente barato. Por otro lado, las desventajas son: Es tóxico; tiende a volver blanquecino el tejido, endurece si actúa mucho tiempo; tiende a la acidificación; no disuelve la celoidina; su uso es restringido y supervisado por entidades gubernamentales pertinentes, debido a partir de este reactivo se pueden hacer diferentes drogas (García del Moral, 1993b).

**2.1.3.2. Toxicidad.** Muchas agencias, incluida la Agencia para el Registro de Sustancias Tóxicas y Drogas (ATSDR) y La Agencia de Protección Ambiental, ambas provenientes de EE. UU., han establecido un nivel mínimo de riesgo para el xileno como 0,1 ppm con base en estudios en animales e informes de exposición ocupacional humana. Las autoridades de salud y seguridad en la mayoría de los países recomiendan un límite de umbral de 100 ppm de Xileno en la atmósfera de trabajo (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2007).

El Xileno se metaboliza hacia ácido metilhipúrico (MHA) que se puede medir en la orina del personal expuesto, en ese sentido, el índice de exposición biológica (BEI) del Xileno es de 1.5 g de MHA por gramo de creatinina (Rajan et al., 2019).

El límite de exposición ocupacional actual permisible, dado por la Administración de Seguridad y Salud (EE. UU.) para el xileno es una concentración de 100 ppm como promedio ponderado en el tiempo (TWA) por 8 horas (Kandyala et al., 2010). Los límites de exposición recomendados por el Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional (EE. UU.) para el xileno es de 100 ppm como TWA para un turno de trabajo de hasta 10 horas y un turno de 40

horas semanales, y de 200 ppm durante 10 minutos como límite a corto plazo (Kandyala et al., 2010).

La mayor parte del xileno que ingresa al cuerpo sale dentro de las 18 horas después de que la exposición finalice. Cantidades significativas de Xileno pueden acumularse en el cuerpo dependiente de la frecuencia de exposición; exposiciones agudas pueden ocasionar síntomas leves como mareos, pudiendo llegar a síntomas graves como congestión pulmonar grave con áreas focales de hemorragia interalveolar seguida de la muerte; exposiciones crónicas a menudo producen mareos, irritación a ojos, nariz y garganta (Rajan y Malathi, 2014).

### **III. Método**

#### **3.1. Tipo de investigación**

Estudio cuasiexperimental, debido a que las unidades de estudio no se seleccionaron de forma aleatoria, sino que fueron establecidos previamente por el investigador (Hernández Sampieri et al., 2014a).

#### **3.2. Ámbito temporal y espacial**

El presente plan de tesis se ejecutó desde abril a junio del 2022, y se llevó a cabo en el servicio de anatomía patológica del Hospital Regional del Cusco, ubicado en Av. de La Cultura s/n, F2GW+F39, Cusco 08003; distrito de Wanchaq, provincia y departamento de Cusco, Perú.

#### **3.3. Variables**

Definiciones y otras características de las variables en el anexo A (cuadro de operacionalización de variables).

#### **3.4. Población y muestra**

La población estuvo constituida por todos los bloques de parafina almacenados en el servicio de anatomía patológica del Hospital Regional del Cusco y provenientes del 2020. Esta fue una cantidad de 4264 bloques.

Al ser el primer estudio en evaluar este agente desparafinizante para el método de coloración de Hematoxilina-Eosina (por ende, sin los datos necesarios para poder realizar el cálculo de tamaño de muestra), primero, se realizó una prueba piloto con 100 muestras aleatorizadas a un determinado grupo de comparación (50 para el método convencional y 50 para el método nuevo de desparafinización), escogidas mediante un muestreo aleatorio simple a partir de la población de estudio (y con un 50% más para la prevención de la exclusión de muestras durante la evaluación por estos criterios de selección). Posterior a la elaboración de estas láminas, estas fueron entregadas al experto, y luego de las lecturas correspondientes, se ingresaron los datos correspondientes para realizar el cálculo de tamaño de muestra para esta

investigación basado en la comparación de dos medias independientes, dando como resultado de 132 muestras (Anexo B).

Posterior a la obtención de este tamaño de muestra final, se realizó también un muestreo aleatorio simple a partir de la población de estudio (y también con un 50% más para la prevención de la exclusión de muestras durante la evaluación por estos criterios de selección). Se escogió el muestreo aleatorio simple debido a que se analizaron datos recolectados que se encontraron adecuadamente enlistados (software del laboratorio), de tal manera, que cada bloque tuvo la misma probabilidad de ser escogido. Este cálculo de tamaño de muestra y muestreos se realizaron mediante el software EPIDAT versión 4.2. El esquema de aleatorización se realizó mediante el software STATA 17.0.

#### ***Criterios de inclusión***

- Bloques de parafina registrados en el software del servicio y durante el período especificado.

#### ***Criterios de exclusión***

- Bloques de parafina deteriorados o que no cuenten con tejido remanente, es decir, no adecuados para realizar nuevas cortes histológicos.

- Bloques de parafina que no se encuentren presentes en el archivador del laboratorio.

- Bloques de parafina con identificación dudosa o inadecuada (rótulo no coincide con el registro virtual del software del laboratorio o no es legible).

- Más de un bloque de parafina por tipo de muestra de la misma persona (se considerará solo uno, el primero seleccionado por el muestreo aleatorio; esto para evitar la repetición de información y así proveer de mayor variabilidad a los resultados del presente estudio).

### 3.5. Instrumentos

Con respecto a la variable dependiente, la técnica fue la encuesta y el instrumento fue el cuestionario (anexo C). Para las demás variables, la técnica fue la observación y el instrumento fue la ficha de recolección de datos (anexo D).

La validación solo aplicó para el primer instrumento (cuestionario), y se realizó con las 100 muestras escogidas aleatoriamente de la prueba piloto (referencias recomiendan entre 30 y 50 muestras por cada grupo a comparar para una prueba piloto) (Díaz Muñoz, 2020; Mora et al., 2015). Este proceso constó de dos partes: la validez y la confiabilidad.

- La validez de contenido se refiere al grado en que un instrumento refleja un dominio específico de contenido de lo que se mide (Hernández et al., 2014b). Esto se realizó mediante el denominado “juicio de expertos”, para ello, se obtuvo certificados de aprobación del instrumento por tres expertos en el área (anexo E).

- La confiabilidad interna consiste en evaluar si diferentes preguntas que supuestamente miden el mismo concepto tienen correlación (Hernández Sampieri et al., 2014c). Para ello, al juez con mayor experiencia se le pidió realizar la lectura de estas 100 láminas histológicas. Luego, los resultados de cada uno de los ítems se analizaron mediante el software STATA 17.0 (anexo F), emitiendo un coeficiente Alfa de Cronbach de 0.91 (valor mínimo aceptable para este estadístico es de 0.70).

### 3.6. Procedimientos

Posterior a la selección de los bloques tanto para la prueba piloto, como para la ejecución de esta tesis propiamente, se generaron los códigos de aleatorización mediante el software STATA 17.0, el comando usado fue: `ralloc block size treat, sav(Jharol) shape(long) osize(2) seed(8795) nsubj(#muestra) ntreat(2) trtlab(Nuevo Convencional)`. Estos códigos fueron utilizados para el rótulo de las láminas histológicas (ejemplo brindado en el anexo G), de tal forma, que ofrecieron cegamiento para el experto encargado de leer estas láminas.

Luego, a partir de estos bloques seleccionados, se procedió a ejecutar procedimientos iguales de microtomía y coloración de Hematoxilina-Eosina para ambos grupos de láminas, excepto, en la fase de desparafinización, ya que un grupo fue dirigido hacia el aceite de coco y el otro hacia el sustituto de Xilol (protocolos en el anexo H). En el caso del protocolo para el aceite de coco se utilizó el probado anteriormente por otros antecedentes (Chandraker et al., 2017; Saravanakumar et al., 2019; Sermadi et al., 2014).

Una vez obtenidas las láminas histológicas, estas se entregaron al azar, y la lectura fue realizada por el anatomopatólogo con mayor experiencia dentro de los que participaron en la validación del instrumento.

Después de ello, estos resultados fueron llevados hacia una ficha de recolección de datos, tipeados en un archivo de Excel, y finalmente, esta información fue importada hacia el software estadístico para el análisis respectivo.

### **3.7. Análisis de datos**

Se utilizó el software estadístico STATA 17.0 (licencia: 301709027730), y los valores  $p$  menores a 0.05 se consideraron como estadísticamente significativos.

Para la descripción de las variables cualitativas, se utilizaron las frecuencias relativas y absolutas. Para describir las variables numéricas, se utilizó la mediana y el rango intercuartil debido a que la distribución de los datos no fue normal. Esta normalidad de los datos se evaluó, en conjunto, a través de las siguientes características: Cercanía entre la media y mediana, sesgo cercano a 0, curtosis cercana a 3, y mediante la observación de gráficos de histogramas y cuantil-cuantil.

Con el fin de evaluar si se encuentran diferencias significativas entre estas eficacias según el tipo de agente desparafinizante utilizado, se utilizó la prueba de Mann-Whitney (debido a la no normalidad de los datos mencionado en el párrafo anterior), y para ajustar por

el tipo de muestra, se utilizaron modelos lineales generalizados con familia de distribución binomial y función enlace log (análisis multivariado).

### **3.8. Consideraciones éticas**

El presente proyecto de investigación no utilizó consentimientos informados debido a que no necesitará la participación de sujetos humanos. Asimismo, recibió aprobación de la Facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional Federico Villarreal (anexo I), así como también del hospital Regional del Cusco (anexo J).

## IV. Resultados

### 4.1. Flujograma de la selección de las unidades participantes

Para la prueba piloto, posterior a la ejecución del muestreo a partir de la población de estudio, se excluyeron 14 bloques de parafina en total: 2 bloques que no se encontraron en el archivador, 8 bloques deteriorados no aptos para realizar nuevos cortes histológicos, 3 bloques repetidos provenientes de la misma persona y tipo de muestra, y 1 bloque con identificación dudosa o inadecuada.

Para el análisis de este estudio propiamente, posterior a la ejecución del muestreo a partir de la población de estudio, se excluyeron 21 bloques de parafina en total: 5 bloques que no se encontraron en el archivador, 10 bloques deteriorados no aptos para realizar nuevos cortes histológicos, 3 bloques repetidos provenientes de la misma persona y tipo de muestra, y 3 bloque con identificación dudosa o inadecuada.

### 4.2. Descripción de los resultados

Mediante la **tabla 1**, se puede observar que la mediana de los puntajes de las eficacias para la desparafinización del sustituto del Xilol en relación con el aspecto general, núcleo, citoplasma y medio extracelular fueron 5, 2, 1 y 1, respectivamente. Por otro lado, la mediana de los puntajes de las eficacias para la desparafinización del aceite de coco en relación con el aspecto general, núcleo, citoplasma y medio extracelular fueron 2, 1, 0.5 y 1, respectivamente.

Además, los tipos de muestra más frecuentes fueron los provenientes de contenido endouterino (10.4%), estómago (9.8%), próstata (9.8%), trompa de Falopio (9.8%) y útero (9.1%). Finalmente, la comparación visual de estos métodos se puede observar en la **figura 1**.

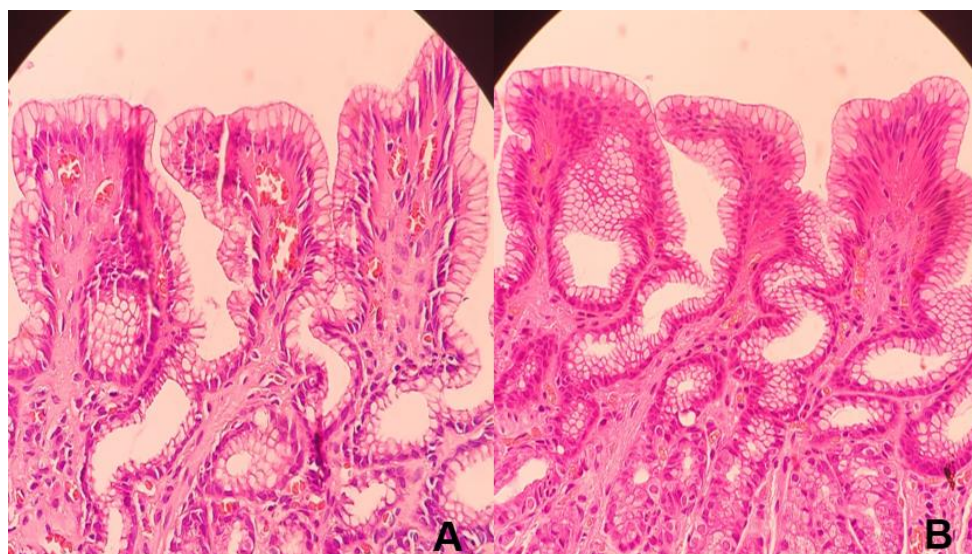
**Tabla 1***Características de la muestra estudiada (n=132).*

<b>Eficacia del agente desparafinizante (puntaje)</b>	<b>Mediana (rango intercuartil)</b>
<b>Sustituto de Xilol (Ottix Plus)</b>	
Global	5 (3, 6)
En el núcleo	2 (1, 2)
En el citoplasma	1 (1, 2)
En el medio extracelular	1 (1, 2)
<b>Aceite de coco</b>	
Global	2 (2, 3)
En el núcleo	1 (1, 1)
En el citoplasma	0.5 (0, 1)
En el medio extracelular	1 (0, 1)
	<b>N (%)</b>
<b>Tipo de muestra</b>	
Apéndice cecal	9 (6.8)
Cérvix	4 (3.0)
Contenido endouterino	14 (10.4)
Epiplon	2 (1.5)
Estómago	13 (9.8)
Ganglio axilar	1 (0.8)
Ganglio cervical	2 (1.5)
Ganglio inguinal	2 (1.5)
Intestino delgado	3 (2.3)
Intestino grueso	9 (6.8)
Líquido pleural	1 (0.8)
Mama	4 (3.0)
Ovario	1 (0.8)

Peritoneo	2 (1.5)
Piel	6 (4.6)
Placenta	2 (1.5)
Próstata	13 (9.8)
Pulmón	1 (0.8)
Riñón	3 (2.3)
Tejido bronquial	1 (0.8)
Tejido hepático	1 (0.8)
Tejido ósea - fémur	2 (1.5)
Tejido pleural	1 (0.8)
Trompa de falopio	13 (9.8)
Tumor intrabdominal	1 (0.8)
Tumor pélvico blando	1 (0.8)
Útero	12 (9.1)
Vejiga	1 (0.8)
Vesícula biliar	7 (5.3)

### Figura 1

*Comparación entre los agentes desparafinizantes.*



*Nota.* A: Aceite de coco. B: Sustituto de Xilol (Ottix Plus). Estómago (40x).

### 4.3. Análisis entre el agente desparafinizante utilizado según las otras variables

La prueba de hipótesis de Mann-Whitney determinó que se encontraron diferencias significativas de las eficacias para la desparafinización entre el sustituto de Xilol y el aceite de coco en todos los aspectos (**tabla 2**):

- El puntaje global para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) en comparación con el aceite de coco.

- El puntaje en el núcleo para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) en comparación con el aceite de coco.

- El puntaje en el citoplasma para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) en comparación con el aceite de coco.

- El puntaje en el medio extracelular para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) en comparación con el aceite de coco.

Adicionalmente, dado que se escogió el diseño con la mayor evidencia científica (experimental), la asignación aleatoria del tipo de muestra con respecto al agente desparafinizante utilizado, mostró que sí se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.039$ ) entre las frecuencias de los diferentes tipos de muestra que fueron designados hacia el sustituto de Xilol con respecto al aceite de coco (este resultado se muestra como imagen en el anexo K, dado que no se consideró pertinente mostrarlo en la tabla 2 al presentar demasiadas categorías, y así se evitó hacer la tabla innecesariamente más grande).

Entonces, debido a que la aleatorización no funcionó para volver comparables los tipos de muestras asignados hacia los agentes desparafinizantes (equidad en frecuencias evidenciado mediante un valor  $p$  no significativo), se procedió a ajustar por esta variable mediante un análisis multivariado:

- El promedio del puntaje global para la desparafinización dado por el aceite de coco fue 49% menor ( $p < 0.001$ ) en comparación con el promedio del puntaje global para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol, bajo el mismo tipo de muestra (**tabla 3**).

- El promedio del puntaje en el núcleo para la desparafinización dado por el aceite de coco fue 44% menor ( $p = 0.003$ ) en comparación con el promedio del puntaje en el núcleo para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol, bajo el mismo tipo de muestra (**tabla 4**).

- El promedio del puntaje en el citoplasma para la desparafinización dado por el aceite de coco fue 61% menor ( $p < 0.001$ ) en comparación con el promedio del puntaje en el citoplasma para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol, bajo el mismo tipo de muestra (**tabla 5**).

- El promedio del puntaje en el medio extracelular para la desparafinización dado por el aceite de coco fue 43% menor ( $p = 0.008$ ) en comparación con el promedio del puntaje en el medio extracelular para la desparafinización dado por el sustituto de Xilol, bajo el mismo tipo de muestra (**tabla 6**).

**Tabla 2.**

*Tabla de contingencia entre el agente desparafinizante utilizado según las otras variables (n=132).*

Eficacia para la desparafinización (puntaje*)	Agente desparafinizante		P†
	Sustituto de Xilol	Aceite de coco	
<b>Global</b>	5 (3, 6)	2 (2, 3)	<0.001
<b>En el núcleo</b>	2 (1, 2)	1 (1, 1)	<0.001

<b>En el citoplasma</b>	1 (1, 2)	0.5 (0, 1)	<0.001
-------------------------	----------	------------	--------

<b>En el medio extracelular</b>	1 (1, 2)	1 (0, 1)	<0.001
---------------------------------	----------	----------	--------

*Nota.* \*Mediana (rango intercuartil). †Prueba de Mann-Whitney.

**Tabla 3**

*Análisis multivariado entre la eficacia global y el agente desparafinizante utilizado.*

<b>Variable</b>	<b>Coefficiente*</b>	<b>p</b>
<b>Agente desparafinizante</b>		
Sustituto de Xilol	Ref.	
Aceite de coco	0.51	<0.001

*Nota.* \*Ajustado por la variable tipo de muestra.

**Tabla 4**

*Análisis multivariado entre la eficacia en el núcleo y el agente desparafinizante utilizado.*

<b>Variable</b>	<b>Coefficiente*</b>	<b>p</b>
<b>Agente desparafinizante</b>		
Sustituto de Xilol	Ref.	
Aceite de coco	0.56	0.003

*Nota.* \*Ajustado por la variable tipo de muestra.

**Tabla 5**

*Análisis multivariado entre la eficacia en el citoplasma y el agente desparafinizante utilizado.*

<b>Variable</b>	<b>Coficiente*</b>	<b>p</b>
<b>Agente desparafinizante</b>		
Sustituto de Xilol	Ref.	
Aceite de coco	0.39	<0.001

*Nota.* \*Ajustado por la variable tipo de muestra.

**Tabla 6**

*Análisis multivariado entre la eficacia en el medio extracelular y el agente desparafinizante utilizado.*

<b>Variable</b>	<b>Coficiente*</b>	<b>p</b>
<b>Agente desparafinizante</b>		
Sustituto de Xilol	Ref.	
Aceite de coco	0.57	0.008

*Nota.* \*Ajustado por la variable tipo de muestra.

## V. Discusión de Resultados

Los puntajes generados por el aceite de coco en comparación con el sustituto de Xilol fueron menores para todas las dimensiones evaluadas (aspecto global, núcleo, citoplasma, y medio extracelular), en ese sentido, se demostró que su eficacia es estadísticamente menor en comparación con el sustituto de Xilol, e inclusive, esta menor eficacia se mantuvo comparando entre los mismos tipos de muestras. Estos resultados discrepan con todas las referencias que han evaluado también ello (Chandraker et al., 2017; Prema et al., 2020; Saravanakumar et al., 2019; Sermadi et al., 2014).

La diferencia con el primero (Chandraker et al., 2017) podría deberse a varios factores: se analizó un tamaño de muestra pequeño (25 muestras), además de que no justificó por qué se evaluó este tamaño de muestra (potencia estadística cuestionable); todas estas muestras fueron tejidos blandos de la cavidad oral (validez externa muy limitada); finalmente, solo realizó un análisis desde un punto de vista cualitativo (resultados subjetivos), es decir, se compararon imágenes de los resultados del aceite de coco versus el Xilol.

La diferencia con el segundo (Prema et al., 2020) podría deberse a diversas características: se analizó un tamaño de muestra pequeño (15 muestras), además de que no justificó por qué se evaluó este tamaño de muestra (potencia estadística cuestionable); no reportó los tipos de muestra que evaluó; finalmente, evaluó diversas dimensiones (adecuada tinción en el núcleo y citoplasma, claridad y uniformidad de la tinción), pero no validó este instrumento, lo que implicaría un potencial sesgo de medición.

La diferencia con el tercero (Saravanakumar et al., 2019) podría deberse a varias condiciones: se analizó un tamaño de muestra pequeño (15 muestras), además de que no justificó por qué se evaluó este tamaño de muestra (potencia estadística cuestionable); todas estas muestras fueron tejidos blandos de la cavidad oral (validez externa muy limitada);

finalmente, evaluó diversas dimensiones (detalles celulares y nucleares, y la calidad de la tinción), pero no validó este instrumento, lo que implicaría un potencial sesgo de medición.

La diferencia con el cuarto (Sermadi et al., 2014) podría deberse a varias condiciones: se analizó un tamaño de muestra pequeño (60 muestras), además de que no justificó por qué se evaluó este tamaño de muestra (potencia estadística cuestionable); todas estas muestras fueron tejidos blandos de la región de la cabeza y cuello (validez externa muy limitada); finalmente, evaluó diversas dimensiones (detalles nucleares, citoplasmáticos y la calidad de la tinción), pero no validó este instrumento, lo que implicaría un potencial sesgo de medición.

Además, se utilizó el mismo protocolo de desparafinización de tres referencias (Chandraker et al., 2017; Saravanakumar et al., 2019; Sermadi et al., 2014) tanto en temperatura (60°) como en tiempos (dos cambios de 10 minutos cada uno), lo que también podría haber generado que estos estudios reporten que la eficacia del aceite de coco sea adecuada para la desparafinización. No obstante, independientemente de esta heterogeneidad, la calidad de los resultados de los antecedentes mostrados es muy baja, tanto por tamaños de muestra pequeños, como en sesgos de medición (sin validación de instrumentos) y de selección (sin aleatoriedad en la selección de las muestras), en ese sentido, no serían confiables los resultados reportados por estas investigaciones.

Adicionalmente, lo que pudo haber generado que esta tesis encontrara una eficacia menor para el aceite de coco, estaría, aparentemente, en el protocolo utilizado (2 cambios de 10 minutos cada uno a 60°C). Este protocolo de desparafinización fue el mismo que mencionan tres antecedentes (Chandraker et al., 2017; Saravanakumar et al., 2019; Sermadi et al., 2014). Además, en la prueba piloto también se encontraron resultados análogos (una mediana de eficacia para el aceite de coco de 2 puntos, el cual fue menor a la mediana de 4 puntos por el sustituto del Xilol), lo que indica que este proceso fue realizado adecuadamente. En ese sentido, dado que se ha utilizado el mismo protocolo que otros estudios mencionaron como “eficaz”, el

problema sería la calidad muy baja de los resultados de estos antecedentes, tanto por tamaños de muestra pequeños, como en sesgos de medición (sin validación de instrumentos) y de selección (sin aleatoriedad en la selección de las muestras). Esto demuestra que no se debe confiar en una información solamente por estar publicado en una revista indexada, se deben identificar las limitaciones, y comprobar en un nuevo estudio que supere estas desventajas, si es que estos resultados son ciertos. Precisamente, eso es lo que se realizó en esta tesis.

Como fortalezas de esta investigación, esta es la primera en el mundo en desarrollar el diseño que provee la mayor evidencia científica (estudio experimental con aleatorización), además de superar las desventajas presentadas en los estudios anteriores, como validación del instrumento de medición y realizar un muestreo aleatorio en diversos tipos de muestras.

Como potencial limitación es que esta investigación probó y comparó un solo protocolo de desparafinización. Se escogió ese protocolo debido a que fue el más frecuente usado por la mayoría de los antecedentes, además de que este protocolo teóricamente es “adaptable” para la gran mayoría de laboratorios. En contraste, otro antecedente (Prema et al., 2020) ejecutó esta desparafinización a 90° por 2 cambios de 2 minutos cada uno; pero de qué vale que “aparentemente” se esté realizando una mejor desparafinización, si es que ese protocolo no va a poder ser replicado en los laboratorios de Histotecnología convencionales, ya que muy pocos tienen disponibles estufas que lleguen a esta temperatura, además de que después de este proceso, se debe esperar a que el material se enfríe para poder manipularlo, y ahí también se estaría perdiendo tiempo.

## VI. Conclusiones

- La eficacia para la desparafinización del aceite de coco fue menor en comparación con un sustituto del Xilol para todas las dimensiones evaluadas (aspecto general, núcleo, citoplasma y medio extracelular).
- Por lo tanto, el aceite de coco no sería un adecuado agente desparafinizante de cortes histológicos, y bajo estas condiciones de aplicación, no sería recomendable utilizarlo en el laboratorio de Histotecnología.

## **VII. Recomendaciones**

- Se recomienda probar otros protocolos de desparafinización para el aceite de coco, principalmente, enfocándose en duplicar o triplicar el número de cambios por esta sustancia, y comparándolo con otros sustitutos de Xilol que existen comercialmente.
- Se recomienda poder replicar lo encontrado en esta tesis, mediante la generación de nuevos estudios con el mismo diseño (estudio experimental, ya que este recién es la primera investigación que abordó este problema), y que se pruebe esta alternativa ecológica, tanto para la coloración de rutina, como para otros protocolos especiales (PAS, tricrómicas, entre otros).

### VIII. Referencias

- Badulescu, O., Hultoana, R., Mocanu, M., Iancu, C., & Georgescu, S. (2016). The Importance of Hematoxylin Eosin Staining Technique in Accurate Diagnosis of Tumors. *Revista de Chimie -Bucharest- Original Edition-*, 67, 1382-1384.
- Blanco Saenz, R., & Calleja Amador, C. E. (2003). Identificación de peligros en el manejo de sustancias químicas en hospitales de la Caja Costarricense de Seguro Social. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 24(3-4), 115-125. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-29482003000200004&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482003000200004&lng=en).
- Buesa, R. J. (2000). Mineral Oil: The Best Xylene Substitute for Tissue Processing Yet? *Journal of Histotechnology*, 23(2), 143-149. <https://doi.org/10.1179/014788800794813246>
- Chan, J. K. C. (2014). The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *International Journal of Surgical Pathology*, 22(1), 12-32. <https://doi.org/10.1177/1066896913517939>
- Chandraker, R., C.Rathod, V., Chandraker, N., Pundir, S., Dixit, S., & Desai, V. (2017). Comparison Between Xylene And Coconut Oil In Tissue Processing. *Modern Medical Laboratory Journal*, 2(1), 96-99. <https://doi.org/10.30699/mmlj17.1.3.96>
- Díaz Muñoz, G. (2020). Metodología del estudio piloto. *Revista chilena de radiología*, 26(3), 100-104. <https://doi.org/10.4067/S0717-93082020000300100>
- Dineshshankar, J., Saranya, M., Tamilthangam, P., Swathiraman, J., Shanmathee, K., & Preethi, R. (2019). Kerosene as an alternative to xylene in histopathological tissue processing and staining: An experimental study. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 11(6), 376. [https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS\\_38\\_19](https://doi.org/10.4103/JPBS.JPBS_38_19)

- García del Moral, R. (1968). Fundamentos generales de coloración. En *Laboratorio de Anatomía Patológica* (Primera edición, pp. 126-129).
- García del Moral, R. (1993a). Fundamentos generales sobre procesamiento histológico de los tejidos. En *Laboratorio de Anatomía Patológica* (Primera edición, pp. 21-22).
- García del Moral, R. (1993b). Métodos y técnicas de inclusión. En *Laboratorio de Anatomía Patológica* (Primera edición, pp. 68-69).
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2014a). Concepción o elección del diseño de investigación. En *Metodología de la Investigación* (Quinta edición, pp. 137-144). MCGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2014b). Recolección de datos cuantitativos. En *Metodología de la Investigación* (Quinta edición, pp. 201-203). MCGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2014c). Recolección de datos cuantitativos. En *Metodología de la Investigación* (Quinta edición, p. 200). MCGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES.
- Indu, S., Ramesh, V., Indu, P., Prashad, K., Premalatha, B., & Ramadoss, K. (2014). Comparative efficacy of cedarwood oil and xylene in hematoxylin and eosin staining procedures: An experimental study. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, 5(2), 284-287. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.136167>
- Kandyala, R., Raghavendra, S., & Rajasekharan, S. (2010). Xylene: An overview of its health hazards and preventive measures. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 14(1), 1-5. <https://dx.doi.org/10.4103/0973-029X.64299>
- Li, Y., Li, N., Yu, X., Huang, K., Zheng, T., Cheng, X., Zeng, S., & Liu, X. (2018). Hematoxylin and eosin staining of intact tissues via delipidation and ultrasound. *Scientific Reports*, 8(1), 12259. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30755-5>

- Lillie, R. D., & Conn, H. J. (1969a). Fluorescent and Related Dyes. En *H. J. Conn's Biological Stains: A Handbook on the Nature and Uses of the Dyes Employed in the Biological Laboratory* (Eighth edition, pp. 241-245).
- Lillie, R. D., & Conn, H. J. (1969b). Natural Dyes. En *H. J. Conn's Biological Stains: A Handbook on the Nature and Uses of the Dyes Employed in the Biological Laboratory* (Eighth edition, pp. 341-347).
- Lynch, M., Stanley, R., Mellor, L., Spare, P., & Inwood, M. (1972). Tinción de los cortes. En *Métodos de Laboratorio* (Segunda edición, pp. 1150-1154).
- Madhura, M., Bhavana, V., Kumar, B., Suma, S., & Sarita, Y. (2016). Bleached vegetable oil as a suitable bio-safe alternative to xylene: An exploratory study. *Journal of Advanced Clinical & Research Insights*, 3(6), 185-189. <https://doi.org/10.15713/ins.jcri.135>
- Mallory, F. (1968). Dyes, Solutions and Nuclear Staining Methods. En *Pathological Technique* (First edition, pp. 69-72).
- McManus, J., & Mowry, R. (1960a). The Nucleus. En *Staining Methods, Histological and Histochemical* (First edition, pp. 74-75).
- McManus, J., & Mowry, R. (1960b). Treatment of Sections Before and After Staining. En *Staining Methods, Histological and Histochemical* (First Edition, pp. 47-52).
- Montuenga, L., Esteban, F., & Calvo, A. (2009). Procesamiento de muestras para microscopía óptica y tinciones. En *Técnicas en Histología y Biología Celular* (Primera edición, pp. 75-76).
- Mora, E. A., Carrasco, A. A. S., Muñoz, V. P. M., Salinas, R. S., Huerta, S. C., Noriega, E. P., & Landeros, E. A. (2015). Características de la prueba piloto: Revisión de artículos publicados en enfermería. *Revista de Enfermería Neurológica*, 14(3), 169-175. <https://doi.org/10.37976/enfermeria.v14i3.212>

- Muddana, K., Muppala, J., Dorankula, S., Maloth, A., Kulkarni, P., & Thadudari, D. (2017). Honey and olive oil as bio-friendly substitutes for formalin and xylene in routine histopathology. *Indian Journal of Dental Research: Official Publication of Indian Society for Dental Research*, 28(3), 286-290. [https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR\\_246\\_16](https://doi.org/10.4103/ijdr.IJDR_246_16)
- Ottix Plus 5 lt | X0076 | Diapath*. (s. f.). Recuperado 25 de noviembre de 2021, de <https://www.diapath.com/product/ottix-plus-5-lt-x0076-572>
- Prema, V., Prasad, H., Srichinthu, K., Kumar, S., Rajkumar, K., & Marudhamani, C. (2020). Biofriendly Substitutes for Xylene in Deparaffinization. *J Pharm Bioallied Sci*, 12(1), S623-630.
- Premalatha, B., Patil, S., Rao, R., & Indu, M. (2013). Mineral oil--a biofriendly substitute for xylene in deparaffinization: A novel method. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 14(2), 281-286. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1314>
- Rajan, S., Narasimhan, M., Rao, K., & Jacob, T. (2019). Toxicity of xylene in occupationally exposed workers: A high-performance liquid chromatography analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(2), 303-306. [https://dx.doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP\\_297\\_18](https://dx.doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_297_18)
- Rathy, R., Asari, S., Mustafa, A., & Rajendran, H. (2018). Bleached Palm Oil as a Bio-friendly Substitute for Xylene: A Comparative Study. *Oral and Maxillofacial Pathology Journal*, 9(2), 63-69.
- Rojas, E. I., Domínguez Odio, A., Rodríguez, J. C., Macías, B., García, L., Clapé, O., Berenguer, C. A., & Fong, O. (2006). Identificación y prevención de riesgos de origen químico en centros laborales de Santiago de Cuba. *Salud de los Trabajadores*, 14(1), 71-75.
- Saravanakumar, P., Bharanidharan, R., Ramadoss, R., Aravind, & Kumar, Ar. (2019). Efficacy of “groundnut oil” and “coconut oil” as a substitute for “xylene” in clearing tissues

- samples – A comparative study. *SRM Journal of Research in Dental Sciences*, 10(4), 194-196. [https://doi.org/10.4103/srmjrds.srmjrds\\_53\\_19](https://doi.org/10.4103/srmjrds.srmjrds_53_19)
- Sermadi, W., Prabhu, S., Acharya, S., & Javali, S. (2014). Comparing the efficacy of coconut oil and xylene as a clearing agent in the histopathology laboratory. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*, 18(1), 49-53. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.141348>
- Sheehan, D., & Hrapchak, B. (1980a). General Staining Considerations. En *Theory and Practice of Histotechnology* (Second edition, pp. 130-131).
- Sheehan, D., & Hrapchak, B. (1980b). Nuclear and Cytoplasmic Stains. En *Theory and Practice of Histotechnology* (Second edition, pp. 139-142).
- T Rajan, S., & Malathi, N. (2014). Health hazards of xylene: A literature review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 8(2), 271-274. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/7544.4079>
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. (2007). *Toxicological Profile for Xylene*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp71.pdf>
- Walwyn, V., Iglesias, C. M., Almarales, M. R., Acosta, N., Mera, A., & Cabrejas, M. O. (2004). Utilidad de técnicas histológicas para el diagnóstico de infección en piezas anatómicas. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 33(2). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0138-65572004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0138-65572004000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Yadav, S., Mallya, V., & Khurana, N. (2019). Xylene-free staining: Is it possible and practical? *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, 62(2), 274-278. [https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM\\_39\\_18](https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_39_18)

## IX. Anexos

Anexo A: Cuadro de operación de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
Eficacia para la desparafinización	Medido mediante la valoración de enunciados referentes a la calidad de la imagen histológica observada, y apuntado en un cuestionario propio de esta investigación	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el núcleo	Numérica	Intervalo	0-2 puntos
		Puntaje de calidad de la imagen histológica en el citoplasma	Numérica	Intervalo	0-2 puntos
		Puntaje de calidad de la imagen histológica en el medio extracelular	Numérica	Intervalo	0-2 puntos
Agente desparafinizante	Medido según la observación del registro (código) que se utilizará para el proceso de aleatorización y apuntado mediante una ficha de recolección de datos	Unidimensional	Cualitativa	Nominal	Convencional (Sustituto Xilol: Ottix Plus)  Nuevo (Aceite de coco orgánico)

Anexo B: Cálculo de tamaños de muestra – Software Epidat 4.2.

### [1] Tamaños de muestra. Comparación de medias independientes:

#### Datos:

Varianzas:	Distintas
Diferencia de medias a detectar:	0,900
Desviación estándar esperada:	
Población 1:	1,620
Población 2:	2,020
Razón entre tamaños muestrales:	1,00
Nivel de confianza:	95,0%

#### Resultados:

Potencia (%)	Tamaño de la muestra		
	Población 1	Población 2	Total
80,0	66	66	132

Anexo C: Cuestionario.

### **1. Identificación de la lámina histológica**

2.3. Código:

2.4. Fecha de la evaluación: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

2.5. Suma total de puntajes:

### **2. Secciones**

#### **2.1. Puntaje de calidad de la imagen histológica en el núcleo celular**

El COLOR reportado en núcleos celulares mediante el método de coloración Hematoxilina de Harris-Eosina es AZUL O MORADO y una INTENSIDAD adecuada PERMITE PRINCIPALMENTE: Reconocer el tamaño del núcleo y al comparar esto en un mismo tipo de células, también poder especificar si los núcleos son homogéneos o heterogéneos; reconocer si el borde nuclear está intacto o no; reconocer la presencia o no de nucleolos.

Marque una sola opción con respecto al puntaje de calidad de la imagen histológica en los núcleos celulares observados en esta lámina histológica:

- a) Excelente, el color e intensidad fueron los esperados. (2 puntos)
- b) Buena, el color fue el esperado, pero la intensidad no. (1 punto)
- c) Mala, el color y la intensidad no fueron los esperados. (0 puntos)

#### **2.2. Puntaje de calidad de la imagen histológica en el citoplasma celular**

El COLOR reportado en citoplasmas celulares mediante el método de coloración Hematoxilina de Harris-Eosina es ROSADO A ROJO y esta INTENSIDAD varía dependiendo de la cantidad de proteína presente (como en los miocitos y hematíes) o el grado de maduración de la célula. Además, si esta intensidad es la adecuada, PERMITE PRINCIPALMENTE: Reconocer el tamaño del citoplasma y al comparar esto en un mismo tipo de células, también se puede especificar si los citoplasmas son homogéneos o heterogéneos; reconocer si el borde del citoplasma está intacto o no; reconocer la presencia o no de inclusiones.

Marque una sola opción con respecto al puntaje de calidad de la imagen histológica en los citoplasmas celulares observados en esta lámina histológica:

- a) Excelente, el color e intensidad fueron los esperados. (2 puntos)
- b) Buena, el color fue el esperado, pero la intensidad no. (1 punto)
- c) Mala, el color y la intensidad no fueron los esperados. (0 puntos)

### **2.3. Puntaje de calidad de la imagen histológica en el medio extracelular**

El COLOR del medio extracelular mediante el método de coloración Hematoxilina de Harris-Eosina es ROSADO A ROJO (por la eosina) con excepción de algunos pocos tejidos donde esto cambia, por ejemplo, la matriz cartilaginosa de la tráquea es AZUL O MORADA (por la hematoxilina) y una INTENSIDAD adecuada PERMITE PRINCIPALMENTE: Reconocer el tejido conjuntivo (fibras colágenas, elásticas, moco, entre otros); diferenciar a las células de este medio extracelular (contraste), de tal manera, que en la visualización no exista obstrucción entre estos.

Marque una sola opción con respecto al puntaje de calidad de la imagen histológica en el medio extracelular observada en esta lámina histológica:

- a) Excelente, el color e intensidad fueron los esperados. (2 puntos)
- b) Buena, el color fue el esperado, pero la intensidad no. (1 punto)
- c) Mala, el color y la intensidad no fueron los esperados. (0 puntos)

Anexo D: Ficha de recolección de datos.

<b>1. Código de la lámina histológica (el cual representa al tipo de agente desparafinizante utilizado):</b>
<b>2. Eficacia total emitida:</b> _____ puntos
<b>3. Eficacia en el núcleo:</b> _____ puntos
<b>4. Eficacia en el citoplasma:</b> _____ puntos
<b>5. Eficacia en el medio extracelular:</b> _____ puntos

## Anexo E: Validez del instrumento - Juicio de expertos.

32

Anexo N°3: Validación a través del juicio de expertos

**CARTA DE PRESENTACIÓN**

Magíster/Doctor:

..... Med. Jyskra Valdivia Salas .....Presente:

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTOS

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y, asimismo, hacer de su conocimiento que, siendo egresado del programa de segunda especialidad en Histotecnología de la Facultad de Tecnología Médica - Universidad Nacional Federico Villarreal, requiero validar el instrumento con el cual recogeré la información necesaria para desarrollar mi investigación.

El título de mi proyecto de investigación es "EFICACIA DE UN NUEVO AGENTE DESPARAFINIZANTE EN COMPARACIÓN CON UN SUSTITUTO DE XILOL, CUSCO-2022", y siendo imprescindible contar con la aprobación de profesionales especializados para aplicar el instrumento en mención, he considerado conveniente recurrir a usted, ante su connotada experiencia en temas de patología, histología e histopatología.

El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Instrumento.
- Certificado de validez de contenido del instrumento.

Atentamente,

Jharel C. Fuentes Berdo 

Nombre y firma

44944547

DNI

## CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO

N	DIMENSIONES/ítem	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
		Sí	No	Sí	No	Sí	No	
1	DIMENSIÓN 1							
	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el núcleo	X		X		X		
2	DIMENSIÓN 2							
	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el citoplasma celular	X		X		X		
3	DIMENSIÓN 3							
	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el medio extracelular	X		X		X		

Observaciones (precisar si hay suficiencia):

Opinión de aplicabilidad:      Aplicable (X)      Aplicable después de corregir ( )      No aplicable ( )

Apellidos y nombres del juez validador: Dr/Mg. VALDIVIA SALS, IYSKIRA.....

DNI: 42477380

Especialidad del validador: Médico ANATOMOPATOLOGA

06 de Diciembre del 2021

<sup>1</sup>Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

<sup>2</sup>Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión exacto y directo.

<sup>3</sup>Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

**Nota:** Suficiencia, se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

  
Jyska Valdivia Salas  
ANATOMO PATOLOGA  
CMP 59323 RNE 34872

Firma del Experto Informante.

## CARTA DE PRESENTACIÓN

Magister/Doctor:

**MABEL AUCCA VITORINO**

Presente:

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTOS

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y, asimismo, hacer de su conocimiento que, siendo egresado del programa de segunda especialidad en Histotecnología de la Facultad de Tecnología Médica - Universidad Nacional Federico Villarreal, requiero validar el instrumento con el cual recogeré la información necesaria para desarrollar mi investigación.

El título de mi proyecto de investigación es "EFICACIA DE UN NUEVO AGENTE DESPARAFINIZANTE EN COMPARACIÓN CON UN SUSTITUTO DE XILOL, CUSCO-2022", y siendo imprescindible contar con la aprobación de profesionales especializados para aplicar el instrumento en mención, he considerado conveniente recurrir a usted, ante su connotada experiencia en temas de patología, histología e histopatología.

El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Instrumento.
- Certificado de validez de contenido del instrumento.

Atentamente,



Jharol Cristian Fuentes Borda  
DNI : 44944547

## CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO

N	DIMENSIONES/ítem	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
		Sí	No	Sí	No	Sí	No	
	<b>DIMENSIÓN 1</b>							
1	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el núcleo	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 2</b>							
2	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el citoplasma celular	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 3</b>							
3	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el medio extracelular	X		X		X		

Observaciones (precisar si hay suficiencia):

Opinión de aplicabilidad:           Aplicable ( X )           Aplicable después de corregir ( )           No aplicable ( )

Apellidos y nombres del juez validador: Dr/Mg. MABEL AUCCA VITORINO

DNI: 40335557

Especialidad del validador: Anatomía Patológica y Laboratorio Clínico.

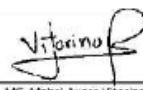
<sup>1</sup>Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

<sup>2</sup>Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión exacto y directo.

<sup>3</sup>Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

Nota: Suficiencia, se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

20 de Diciembre del 2021

  
 MC. Mabel Auca Vitorino  
 Patología y Laboratorio Clínico  
 CMP 50361 - RNE 26969  
 INSN-SB

Firma del Experto Informante.

## CARTA DE PRESENTACIÓN

Magister/Doctor:

Carlos Andres Pachas Vicuña

Presente:

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTOS

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y, asimismo, hacer de su conocimiento que, siendo egresado del programa de segunda especialidad en Histotecnología de la Facultad de Tecnología Médica - Universidad Nacional Federico Villarreal, requiero validar el instrumento con el cual recogeré la información necesaria para desarrollar mi investigación.

El título de mi proyecto de investigación es "EFICACIA DE UN NUEVO AGENTE DESPARAFINIZANTE EN COMPARACIÓN CON UN SUSTITUTO DE XILOL, CUSCO-2022", y siendo imprescindible contar con la aprobación de profesionales especializados para aplicar el instrumento en mención, he considerado conveniente recurrir a usted, ante su connotada experiencia en temas de patología, histología e histopatología.

El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Instrumento.
- Certificado de validez de contenido del instrumento.

Atentamente,



Jharol Cristian Fuentes Borda  
DNI : 44944547

## CERTIFICADO DE VALIDEZ DE CONTENIDO DEL INSTRUMENTO

N	DIMENSIONES/ítem	Pertinencia <sup>1</sup>		Relevancia <sup>2</sup>		Claridad <sup>3</sup>		Sugerencias
		Sí	No	Sí	No	Sí	No	
	<b>DIMENSIÓN 1</b>							
1	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el núcleo	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 2</b>							
2	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el citoplasma celular	X		X		X		
	<b>DIMENSIÓN 3</b>							
3	Puntaje de calidad de la imagen histológica en el medio extracelular	X		X		X		

Observaciones (precisar si hay suficiencia):

Opinión de aplicabilidad:           Aplicable ( X )           Aplicable después de corregir ( )           No aplicable ( )

Apellidos y nombres del juez validador: Dr/Mg. Carlos Pachas Vicuña

DNI: 42461770

Especialidad del validador: Medico Anatómo Patólogo

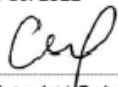
<sup>1</sup>Pertinencia: El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

<sup>2</sup>Relevancia: El ítem es apropiado para representar al componente o dimensión exacto y directo.

<sup>3</sup>Claridad: Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

Nota: Suficiencia, se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

20 de Enero del 2022

  
 Dr. Carlos Andrés Pachas Vicuña  
 CMP: 53538  
 Patólogo Clínico : RNE 26047  
 Anatómo Patólogo: RNE 36479

Firma del Experto Informante.

## Anexo F: Confiabilidad - Alfa de Cronbach

```
. alpha PUNTAJENUCLEO PUNTAJECITOPLASMA PUNTAJEMEDIOEXTRACELULAR
```

```
Test scale = mean(unstandardized items)
```

```
Average interitem covariance:    .3559933  
Number of items in the scale:      3  
Scale reliability coefficient:      0.9137
```

## Anexo G: Esquema de aleatorización

StratID	block	size	SeqInBlk	treat
1	1	4	1	SustXilol
1	1	4	2	Aceitecoco
1	1	4	3	SustXilol
1	1	4	4	Aceitecoco
1	2	4	1	Aceitecoco
1	2	4	2	SustXilol
1	2	4	3	SustXilol
1	2	4	4	Aceitecoco
1	3	2	1	Aceitecoco
1	3	2	2	SustXilol
1	4	2	1	SustXilol
1	4	2	2	Aceitecoco
1	5	2	1	SustXilol
1	5	2	2	Aceitecoco
1	6	4	1	SustXilol
1	6	4	2	Aceitecoco
1	6	4	3	SustXilol
1	6	4	4	Aceitecoco
1	7	4	1	Aceitecoco
1	7	4	2	Aceitecoco
1	7	4	3	SustXilol
1	7	4	4	SustXilol
1	8	2	1	Aceitecoco
1	8	2	2	SustXilol
1	9	4	1	Aceitecoco
1	9	4	2	SustXilol

## Anexo H: Protocolos de coloración

- A partir de los bloques seleccionados, se realizaron cortes a 3 micras (láminas pavonadas convencionales, sin ningún tipo de aditivo adicional), y se colocaron estas láminas en una estufa a 85°C durante 20 minutos. Luego, se desparafinó mediante dos cambios en aceite de coco a 60°C por 10 minutos cada uno; o dos cambios por Ottix Plus por 5 minutos cada uno. Posteriormente, se hidrató mediante dos cambios en alcohol absoluto (5 minutos cada uno) y dos cambios en alcohol de 70° (5 minutos cada uno), y se procedió a colorear el método de Hematoxilina de Harris-Eosina:

- Las láminas se colocaron en Hematoxilina de Harris durante 5 minutos, y se lavaron en agua corriente durante 1 minuto. Después, se diferenciaron con alcohol ácido (2 sumergidas). Posteriormente, se realizó el azulamiento mediante agua amoniacal (5 sumergidas), y se lavaron en agua corriente durante 1 minuto.

- Finalmente, las láminas se colocaron en Eosina Yellowish-Floxina durante 2 minutos.

- Se deshidrató mediante 1 paso por alcohol de 70° durante 1 minuto, y dos cambios en alcohol de 96° durante 1 minuto cada uno.

- Se secaron las láminas mediante el uso de un ventilador, y se montó mediante Entellán.

## Anexo I: Aprobación por la Facultad de Tecnología Médica – UNFV.



Universidad Nacional  
**Federico Villarreal**

Facultad de Tecnología Médica

“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

“OFICINA DE GRADOS Y GESTIÓN DEL EGRESADO”

El Agustino, 25 de enero de 2022.

OFICIO N°0071-2021-OGGE-FTM-UNFV

Magister  
EDUARDO EULOGIO SEDANO GELVET  
Docente de la Facultad de Tecnología Médica  
Presente.-

Es grato dirigirme a usted saludándolo cordialmente, para hacer de conocimiento que ha sido designado **ASESOR DE LA TESIS** titulada: **EFICACIA DE UN NUEVO AGENTE DESPARAFINIZANTE EN COMPARACIÓN CON UN SUSTITUTO DE XILOL, CUSCO-2022**, presentado por el Lic. **JHAROL CRISTIAN FUENTES BORDA**, para obtener el Título de **ESPECIALISTA EN HISTOTECNOLOGÍA**.

Asimismo, que de acuerdo a la R.R. N°2900-2018-CU-UNFV de fecha 25.06.2018 en el artículo 49°, que a la letra dice: De aprobarse, se otorga al egresado, bachiller, titulado o maestro un plazo de hasta un año calendario para su presentación y posterior sustentación.

El desarrollo de la Tesis debe de estar de acuerdo a la Guía de presentación de trabajos de investigación, remitido por el VRIN con OFICIO MÚLTIPLE N° 009-2021-ORC-BC-VRIN-UNFV, que se adjunta

Una vez revisado y con las correcciones hechas, usted procederá a firmar el Informe Final de la Asesoría de Tesis. A fin de que continúe el trámite.

Agradeciendo su apoyo y colaboración, sea oportuna la ocasión para expresar mi especial deferencia y estima.

Atentamente

Mg. Angelica Lagós Castillo  
Jefa  
Oficina de Grados y Gestión del Egresado


Adj. Plan de Tesis digital  
Anexo III  
Modelo de cartula  
Guía de presentación de trabajos de Investigación  
MALC/Vonne

Jr. Río Chepén N° 290 – El Agustino  
Teléfono: 7480888 – IP 8605 Telefax: 3627477

## Anexo J: Aprobación por el Hospital Regional del Cusco.

**CDI** Oficina de Capacitación, Docencia e Investigación  
Hospital Regional del Cusco

"Año de la Soberanía Nacional"



Cusco, **03 MAR 2022**



**PROVEIDO N° 022 2022-GORE CUSCO/ GERESA/HRC/CDI.DE.**

Visto, el Expediente N° 2413 seguido por: **JHAROL CRISTIAN FUENTES BORDA**, identificada con DNI N° 44944547, quien solicita autorización para aplicación de Instrumento de Investigación en el Servicio de: Anatomía Patológica mediante prueba piloto con aceite de coco sobre tejidos histopatológicos -2020.

La presente petición cuenta con la **Aceptación** de Jefa del Servicio de Anatomía Patología

En ese sentido, esta Dirección **Autoriza** la aplicación de dicho instrumento  
Se adjunta el Recibo N° 0020230

Atentamente

  
  
GOBIERNO REGIONAL CUSCO  
GERENCIA REGIONAL DE SALUD CUSCO  
HOSPITAL REGIONAL CUSCO  
**Med. Rosalinda Valencia**  
DIRECTOR EJECUTIVO  
CMP 44214 RNE 23649

c.c. Archivo  
JPV/SAP  
02.03.22

Anexo J: Relación entre el tipo de muestra y el agente desparafinizante utilizado.

CODIGO MUESTRA	MEDIO DESPARAFINIZANTE		Total
	0	1	
1	0 0.00	9 13.64	9 6.82
2	3 4.55	1 1.52	4 3.03
3	5 7.58	9 13.64	14 10.61
4	0 0.00	2 3.03	2 1.52
5	3 4.55	10 15.15	13 9.85
6	1 1.52	0 0.00	1 0.76
7	1 1.52	1 1.52	2 1.52
8	2 3.03	0 0.00	2 1.52
9	2 3.03	1 1.52	3 2.27
10	7 10.61	2 3.03	9 6.82
11	0 0.00	1 1.52	1 0.76
12	2 3.03	2 3.03	4 3.03
13	0 0.00	1 1.52	1 0.76
14	2 3.03	0 0.00	2 1.52
15	4 6.06	2 3.03	6 4.55
16	2 3.03	0 0.00	2 1.52
17	6 9.09	7 10.61	13 9.85
18	0 0.00	1 1.52	1 0.76

18	0 0.00	1 1.52	1 0.76
19	1 1.52	2 3.03	3 2.27
20	0 0.00	1 1.52	1 0.76
21	1 1.52	0 0.00	1 0.76
22	0 0.00	2 3.03	2 1.52
23	1 1.52	0 0.00	1 0.76
24	9 13.64	4 6.06	13 9.85
25	1 1.52	0 0.00	1 0.76
26	0 0.00	1 1.52	1 0.76
27	8 12.12	4 6.06	12 9.09
28	1 1.52	0 0.00	1 0.76
29	4 6.06	3 4.55	7 5.30
Total	66 100.00	66 100.00	132 100.00

Pearson  $\chi^2(28) = 42.4994$  Pr = 0.039