



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

UTILIDAD DE LA HEMATOXILINA OXIDADA CON AGUA OXIGENADA COMO COLORANTE NUCLEAR EN EL MÉTODO DE COLORACIÓN DE PAPANICOLAOU EN FROTIS CERVICAL

Línea de investigación:

Salud Pública

Tesis para optar el Título de Especialista en Citología

Autor (a):

Puquio Santi, Abdón Ignacio

Asesor (a):

Lazón Mancilla, David Félix
(ORCID: 0000-0002-6842-9191)

Jurado:

Checa Chávez, Elena Ernestina
Guevara Vizcarra, María Eufrosina
Olivera Mejía, Nila

Lima - Perú

2021

Referencia:

Puquio Santi, A. (2021). Utilidad de la hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de coloración de papanicolaou en frotis cervical. [Tesis de segunda especialidad, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5488>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

UTILIDAD DE LA HEMATOXILINA OXIDADA CON AGUA OXIGENADA COMO COLORANTE NUCLEAR EN EL MÉTODO DE COLORACIÓN DE PAPANICOLAOU EN FROTIS CERVICAL

Línea de investigación: Salud Pública

Tesis para optar el Título de Especialista en Citología

Autor:

Puquio Santi, Abdón Ignacio

Asesor:

Lazón Mancilla, David Félix

(ORCID: 0000-0002-6842-9191)

Jurado:

Checa Chávez, Elena Ernestina

Guevara Vizcarra, María Eufrosina

Olivera Mejía, Nila

Lima – Perú

2021

Dedicatoria

A mi padre, con su experiencia de vida de más de un siglo, por sus enseñanzas y sus sabios consejos del que supe aprovechar y estoy experimentando en la vida.

Agradecimiento

A mi alma mater Universidad Nacional Federico Villarreal, su Facultad de Tecnología Médica a la plana de docentes y a su personal administrativo.

A mis asesores de Tesis, por la paciencia, sus consejos y enseñanzas sobre las metodologías aplicadas.

Al Centro Materno Infantil San José de Villa El Salvador, a su jefatura, a su Servicio de Citología y a todo su personal, lugar donde se realizó el presente trabajo.

ÍNDICE

Resumen	viii
Abstract	ix
I. Introducción	1
1.1 Descripción y Formulación del Problema.....	2
1.1.1.Descripción del Problema.....	2
1.1.2.Formulación del Problema	3
1.2. Antecedentes	3
1.2.1. Antecedentes Internacionales	3
1.2.2 Antecedentes Nacionales	5
1.3. Objetivos	6
1.3.1. Objetivo General	6
1.3.2. Objetivos Específicos	7
1.4. Justificación	7
1.5. Hipótesis	8
1.5.1. Hipótesis General	8
1.5.2. Hipótesis Específicas	8
II. Marco Teórico.....	9
2.1. Bases Teóricas sobre el Tema de Investigación	9
2.1.1. La Hematoxilina	9
2.1.2. Oxidación de la Hematoxilina	10
2.1.3. Oxidantes	12
2.1.4. Agua Oxigenada	14
2.1.5. Enlace del Colorante al núcleo celular.....	19
III. Método	25

3.1. Tipo de investigación.....	25
3.2. Ámbito Espacial y Temporal	26
3.3. Variables	27
3.3.1. Operacionalización de Variables.....	27
3.4. Población y muestra	28
3.5. Instrumentos	29
3.6. Procedimientos	31
3.7. Análisis de datos.....	34
3.8. Consideraciones Éticas.....	35
IV. Resultados	36
V. Discusión de los Resultados.....	48
VI. Conclusiones	50
VII. Recomendaciones	51
VIII. Referencias.....	52
IX. Anexos	55
Anexo A.....	55
Anexo B	56
Anexo C	57
Anexo D.....	58
Anexo E.....	61
Anexo F.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Validación del instrumento.....	30
Tabla 2 Confiabilidad del instrumento.....	31
Tabla 3 Grado de relación rho de Spearman	35
Tabla 4 Frecuencias y porcentajes de la coloración del borde nuclear.....	36
Tabla 5 frecuencias y porcentajes de la coloración de la cromatina.....	37
Tabla 6 frecuencias y porcentajes de la diferenciación del citoplasma.....	38
Tabla 7 frecuencias y porcentajes de la diferenciación del fondo del frotis.....	39
Tabla 8 Evaluación por categorías de las dos hematoxilinas.....	40
Tabla 9 Evaluación general de las dos hematoxilinas.....	41
Tabla 10 Evaluación cruzada de las hematoxilinas	41
Tabla 11 Estadísticos descriptivos de la evaluación general de los colorantes.....	42
Tabla 12 Correlación de Spearman de la evaluación general de los colorantes.....	43
Tabla 13 Correlación de Spearman de la Coloración del borde nuclear.....	44
Tabla 14 Correlación de Spearman de la coloración de la cromatina.....	45
Tabla 15 Correlación de Spearman de la diferenciación del citoplasma.....	46
Tabla 16 Correlación de Spearman de la diferenciación del fondo del frotis.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura molecular de la hematoxilina y hemateína	10
Figura 2 Mecanismo de oxidación de la hematoxilina a hemateína.....	11
Figura 3 Conversión de la hematoxilina a hemateína con yodato de sodio.....	13
Figura 4 Distribución de porcentajes de la coloración del borde nuclear.....	36
Figura 5 Distribución de porcentajes de la coloración de la cromatina.....	37
Figura 6 Distribución de porcentajes de la diferenciación del citoplasma.....	38
Figura 7 Distribución de porcentajes de la diferenciación del fondo del frotis.....	39
Figura 8 Evaluación por categorías de las dos hematoxilinas.....	40
Figura 9 Evaluación general de las dos hematoxilinas.....	41

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la utilidad de la hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical. El estudio fue de tipo descriptivo, de nivel aplicado y de diseño comparativo. La muestra estuvo conformada por 100 láminas de frotis cervical por duplicadas haciendo un total de 200 láminas; 100 par se colorearon con hematoxilina oxidada con agua oxigenada y 100 par se colorearon con hematoxilina de Harris como control Gold estándar. Los resultados mostraron la coloración del borde nuclear con hematoxilina oxidada con agua oxigenada fue del 97,75% y para hematoxilina de Harris fue 98%, la coloración de la cromatina con hematoxilina oxidada con agua oxigenada fue del 94,25% y para hematoxilina de Harris fue 98%, la diferenciación del citoplasma con hematoxilina oxidada con agua oxigenada fue del 95,75% y para hematoxilina de Harris fue 97,25%, la diferenciación del fondo del frotis con hematoxilina oxidada con agua oxigenada fue del 94,75% y para hematoxilina de Harris fue 97,75%. En conclusión, la hematoxilina de Harris alcanza un 97,75%, mientras que la hematoxilina oxidada con agua oxigenada es de un 95,62%; el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,546$); demuestra una correlación positiva considerable en la coloración general entre ambos colorantes, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto la hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

Palabras claves: frotis cervical, agua oxigenada, hematoxilina.

ABSTRACT

The present work was carried out with the objective of determining the utility of hematoxylin oxidized with hydrogen peroxide as a nuclear dye in the method of pap smear in cervical smears. The study was descriptive, applied level and comparative design. The sample consisted of 100 duplicated sheets of cervical smears to compare with Harris's hematoxylin. The results were: the coloration of the nuclear border with oxidized hematoxylin with hydrogen peroxide was 97.75% and for Harris hematoxylin it was 98%, the chromatin coloration with oxidized hematoxylin with hydrogen peroxide was 94.25% and for hematoxylin of Harris was 98%, the differentiation of the cytoplasm with oxidized hematoxylin with hydrogen peroxide was 95.75% and for Harris hematoxylin it was 97.25%, the differentiation of the background of the smear with oxidized hematoxylin with hydrogen peroxide was 94.75 % and for Harris hematoxylin it was 97.75%, it is concluded that Harris hematoxylin reaches 97.75%, while hematoxylin oxidized with hydrogen peroxide is 95.62%; Spearman's correlation coefficient ($Rho = 0.546$); It shows a considerable positive correlation in the general coloration between both dyes, and is statistically significant ($p = 0.000$). P value = 0.000 <0.05 therefore hematoxylin oxidized with hydrogen peroxide is useful as a nuclear dye in the method of Pap smear in cervical smears.

Key words: cervical smear, hydrogen peroxide, hematoxylin.

I.INTRODUCCIÓN

El óxido de mercurio actúa como agente oxidante en la preparación del colorante de hematoxilina, ya que el extracto natural que se obtiene del árbol de Campeche no es un colorante activo; primero debe ser oxidado para convertirse en hemateína que es el elemento ingrediente activo que por acción de un mordiente dará color a los núcleos celulares en los frotis de cérvix, la oxidación espontánea es muy lenta, y puede necesitar tiempo prolongado de hasta un año, esta actividad de oxidación se conoce como maduración y se consigue casi instantáneamente con el óxido de mercurio. Sin embargo, este agente es muy tóxico y dañino para la salud de la persona y el medio ambiente, por lo que se busca un sustituto que sea menos dañino. La hematoxilina es un colorante que se utiliza en tejidos y en la técnica de coloración de Papanicolaou de cérvix para la coloración de las estructuras nucleares a las que finalmente impregna una coloración violeta y tiñe fuertemente a los núcleos de estas células cervicales, dado que estos concentran ácidos nucleicos muy proporcionales en radicales negativos ácidos.

El mercurio un metal pesado que existe de forma natural en el medio ambiente y se encuentra en una gran variedad de compuestos. Una de las formas en las que se presenta el mercurio en el ambiente es en su presentación pura o también conocida como mercurio elemental conocido como mercurio metálico. Pocas veces se le encuentra en su estado puro, como metal líquido y más común en compuestos o sales inorgánicas en rocas y tierras, en salud está presente en los termómetros y reactivos.

El agua oxigenada tiene la capacidad de comportarse como oxidante o reductor, por lo que podría usarse como sustituto del óxido de mercurio, éste es un oxidante muy eficaz y muy estable por lo que es usado en la preparación del colorante de la hematoxilina de Harris para la coloración nuclear de las células cervicales en todos los laboratorios de citología del país.

1.1 Descripción y Formulación del Problema

1.1.1 Descripción del Problema

El óxido de mercurio es un reactivo que se utiliza en la preparación del colorante de hematoxilina como agente oxidante para acelerar el proceso de maduración, durante la ebullición de la hematoxilina se emanan vapores los que se diseminan en el medio ambiente conteniendo restos de mercurio los que son absorbidos mediante la respiración por el personal de salud, en el proceso de lavado de la coloración restos de hematoxilina se vierten en los sistemas de desagüe y finalmente el desecho de restos de hematoxilina en el medio ambiente fortifican más la contaminación ambiental por este elemento.

El mercurio en sus diferentes manifestaciones es un agente tóxico para el personal de salud, ambiental y del ecosistema, la exposición constante a través de la ingesta de alimentos contaminados, pescados, mariscos y vegetales, puede provocar cambios de personalidad general, en algunos sujetos pérdida de visión, memoria y afecciones auditivas, y principales órganos que afecta son los riñones y pulmones. Por alimentación de la leche materna los efectos son problemas de desarrollo psicomotor, retraso en el andar, en el hablar y fluidez de palabras, falta de coordinación, cegueras, ataques y convulsiones. Una fuente importante de contaminación es el sector salud, que contribuye a aumentar de manera importante el mercurio en el ambiental.

Estas sustancias también son consideradas una fuente importante de contaminación del aire y espacios cerrados, han sido identificadas como sustancias químicas preocupantes a nivel global por los gobiernos del mundo que en muchas reuniones de países interesados lograron acuerdos para minimizar la contaminación, debido a su contribución a problemas de salud ambientales a niveles internacionales.

1.1.2 Formulación del Problema

Problema general:

¿Cuál es la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical?

Problemas específicos:

- ¿Cuál es la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical?
- ¿Cuál es la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical?
- ¿Interfiere la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical?
- ¿Colorea la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada el fondo del frotis cervical?

1.2 Antecedentes

Investigaciones usando Agua oxigenada o llamada también peróxido de hidrógeno, como agente oxidante.

1.2.1. Ámbito internacional:

Fárez, Landi & Parra (2011), sustentaron su tesis “*reducir la cantidad de cianuro en las aguas residuales del galvanizado mediante un proceso de oxidación por peróxido de hidrogeno*”, cuyo objetivo fue la reducción de la cantidad de cianuro en aguas residuales, mediante un proceso de oxidación con peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el diseño de estudio fue experimental asignó un tiempo de retención y temperatura con tres tiempos (5, 15 y 180 minutos) y dos niveles (16°C y 26°C) respectivamente, los cuales fueron establecidos mediante pruebas preliminares. Se diseñó y construyó el equipo compuesto por un sistema de distribución que alimenta el agua a tratar hacia 3 cubas hechas de acero además de un sistema que controla la temperatura y un sistema de agitación, a mayor cantidad de peróxido de

hidrógeno agregada al agua, se obtienen mejores rendimientos de remoción; se emplearon dos moldes de peróxido de hidrógeno por cada mol de cianuro de sodio. La agitación dentro de las cubas de tratamiento es necesaria para permitir una mezcla homogénea entre el reactivo y el agua a tratar. Logrando que todas las moléculas de peróxido de hidrógeno cumplan con su función de agente oxidante. Los resultados finales evidenciaron que el mejor tratamiento, con un rendimiento de 74% se presenta a los 180 minutos con una temperatura de 26°C las condiciones óptimas necesarios para lograr este resultado son un pH de 10.

Landázuri & Muñoz (2013), en su investigación *“Disolución de Sulfuros Metálicos Utilizando Peróxido de Hidrógeno como Agente Oxidante en Medio Ácido”* su objetivo fue estudiar la lixiviación de sulfuros metálicos mediante la oxidación con peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) en medio de ácido sulfúrico como agente lixivante. El estudio fue de tipo experimental, los resultados fueron que se llevaron a cabo los experimentos variando la concentración de peróxido de hidrógeno como del ácido sulfúrico, controlando sus concentraciones aplicando métodos de titulación en el transcurso de los procesos, luego se analizó por espectrofotometría de absorción atómica la concentración de iones de hierro, cobre y cinc dispersos en los experimento alcanzando los valores altos de disolución para el hierro de un 6,53%, para el cobre un 37% y para el cinc el 48%. Como último procedimiento se hicieron experimentos usando el etilenglicol como agente químico dispersante del azufre elemental que se adhieren en la superficie de las partículas de sulfuros. Luego se probaron concentraciones diferentes de etilenglicol con la mezcla de concentraciones que resultó con gran rendimiento de los procedimientos anteriores encontrándolo que el éste peróxido se descompone más lentamente en presencia de etilenglicol, además, los resultados hallados sugieren que este compuesto controla la alta reactividad del peróxido de hidrógeno.

Acevedo & Gómez (2014), investigaron en su trabajo sobre *“oxidación de cianuro con peróxido de hidrógeno y precipitación de mercurio con sulfuro de sodio en efluentes*

provenientes de la minería de oro”. Cuyo objetivo fue Evaluar la eficiencia del método de oxidación con peróxido de hidrógeno para reducir la concentración de cianuro libre, y del sulfuro de sodio para precipitar mercurio iónico presentes en soluciones acuosas. El estudio fue experimental, teniendo como resultados que el uso de cobre como catalizador demostró tener una influencia significativa en la oxidación de cianuro con peróxido de hidrógeno. Con el peróxido de hidrógeno se logró una oxidación de cianuro cercana al 98,5% con la relación 1:2 de CN⁻: H₂O₂ y 100 ppm de catalizador de Cu⁺². Tal reducción se logró en un tiempo de 90 minutos. En las muestras, el uso del peróxido de hidrógeno permitió una oxidación de cianuro cercana al 100%. Estos resultados fueron similares a los obtenidos con soluciones sintéticas y demuestra la viabilidad técnica de la aplicación de peróxido de hidrógeno sobre la muestra de un efluente de minería.

1.2.2. Ámbito nacional:

Anculle & Puma (2015) sustentaron en su tesis, *aplicación del método de oxidación química con peróxido de hidrógeno (h₂o₂) para la reducción del cianuro presente en los efluentes de la planta de beneficios Sotrami s.a.* Cuyo objetivo fue minimizar el cianuro existente en el efluente usando la técnica de oxidación química usando peróxido de hidrógeno, y así reutilizar el agua tratada como en regadío y para los servicios higiénicos en las instalaciones de la Planta de Beneficio SOTRAMI S.A. El diseño fue experimental y factorial fue necesario establecer los factores a evaluar en la investigación, en este caso se evaluaron la influencia de la cantidad de volumen de h₂o₂ en la desintegración del cianuro en el efluente por ser el agente oxidante (volumen de peróxido de hidrógeno y tiempo de agitación). Conclusiones: el tratamiento en los efluentes líquidos de la Planta de Beneficio SOTRAMI S.A. utilizando el proceso con Peróxido de hidrógeno (H₂O₂), es factible ya que se encuentran los valores del efluente final por debajo de 1 ppm de cianuro, establecido en los límites permisibles de la legislación ambiental e internacional. Aplicando el método de oxidación

química con H_2O_2 en los efluentes con contenido de cianuro en Planta, se podría reusar el agua tratada para diferentes servicios: recirculación en el proceso de lixiviación, regadía en sus instalaciones. Se realizó el estudio cualitativo y cuantitativo de la solución cianurada por el método de Metales Traza ICP-OES. Se desarrolló el diseño experimental de dos niveles con dos factores, es así que nuestras variables a investigar fueron el volumen de Peróxido de Hidrógeno y el tiempo de agitación en el tanque, los que quedaron establecidos según el diseño experimental $2k = 2.2$. Los ensayos de detoxificación del efluente fueron llevados a nivel pruebas en banco, es decir se usó un volumen de muestra de 20 litros de relave y se retiraron las muestras respectivas para el análisis. Se realizó los análisis por el método de Oxidación Química con Peróxido de Hidrógeno, llegando a reducir el cianuro libre en la solución muestra a los valores de 0.3 y 0.21 ppm con un volumen de H_2O_2 de 84ml. Realizando la comparación de resultados en las pruebas en banco y a nivel laboratorio, se confirma que el método recomendado sería útil para iniciar la implementación de dicho tratamiento, en la planta de Beneficio SOTRAMI S.A.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.
- Determinar la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.
- Demostrar que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.

- Demostrar que la hematoxilina oxidada con agua oxigenada colorea el fondo del frotis cervical.

1.4 Justificación

El uso del óxido de mercurio es un ingrediente en la preparación del colorante de hematoxilina como oxidante para la coloración de Papanicolaou en los laboratorios de Citología de todo el país, pero la exposición prolongado a este reactivo, conduce a peligros para la salud de los profesionales y comunidad, causando en ellos toxicidad y contaminación al medio ambiente. Sin embargo, el sector gestor de la salud aún juega un papel importante como una de las principales fuentes de demanda de mercurio y emisiones globales, así son causante de intoxicaciones agudas como crónicas en poblaciones vulnerables como niños y gestantes de países en vías de desarrollo.

De ahí que el presente estudio pretende sustituir el uso del óxido de mercurio por el de agua oxigenada para disminuir la contaminación del ecosistema por parte de las instituciones de salud y por consiguiente demostrar que las coloraciones nucleares resulten ser adecuados para la interpretación correcta de los resultados, cabe señalar que el agua oxigenada de volumen 10 es un compuesto de bajo costo, no es tóxico, ni dañino para el medio ambiente.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis General

- a) Hi: la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.
- b) Ho: la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

1.5.2 Hipótesis Específicos

- La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.

- La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.
- La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.
- La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea el fondo del frotis cervical.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases Teóricas Sobre el Tema de Investigación

2.1.1 La Hematoxilina

La Hematoxilina es un extracto que se encuentra en la planta llamada *Haematoxylum campechianum* o el de palo de Campeche o palo de tinto descubierta en la región de Yucatán, México siglos atrás, siendo de origen vegetal y natural. Se utilizaba en la textilería para teñir mantas y vestimentas de los mayas, los españoles llevaron a Europa introduciendo a la industria del teñido de lana expandiéndose a países de Holanda, Francia e Inglaterra por lo que fue blanco de antojo de los piratas ingleses y franceses.

En la actualidad el palo negro o de Campeche se encuentra en extinción, debido a la tala indiscriminada, algunas comunidades indígenas tienen conocimiento por la gran capacidad de sanar afecciones de la salud como cólicos diarreas y úlceras gástricas.

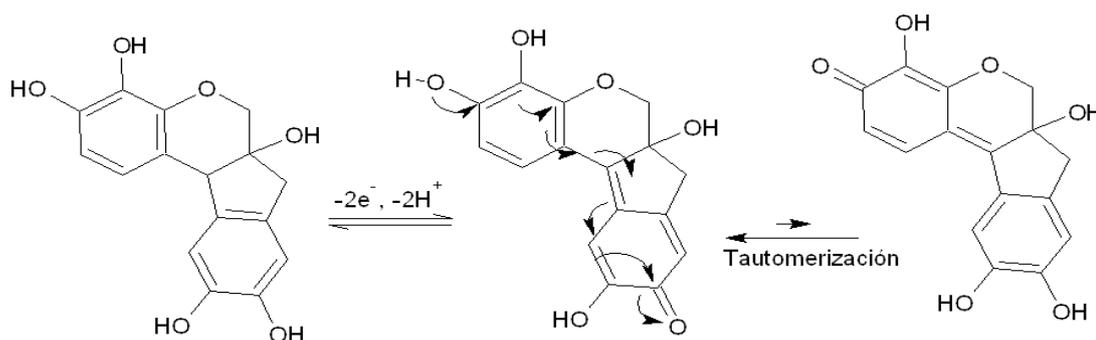
Ali, Orchard & Mallipin (2017), mencionan que la hematoxilina fue descubierta por los conquistadores españoles en la región de Yucatán, actualmente México moderno, en el siglo XVI y que los nativos mayas lo habían usado para teñir algodón y para detener afecciones de la diarrea, la hematoxilina se extrae a partir de las raíces del árbol y del corazón de este y del tronco de los árboles recién cortados, y obteniendo una solución naranja y rojiza con aplicación de agua caliente, que a continuación se purifica con aplicación de éter, se reseca y se cristaliza en agua, alternando, el extracto en solución se precipita en una solución con urea (p. 153).

Según el Instituto Nacional de Salud (INS, 2005), menciona que el Sulfato de potasio y aluminio, piedra de alumbre (alumbre comercial) es el mordiente; sin esta sustancia no daría color la hematoxilina, su color es ámbar claro. Suministra las cargas positivas, que actúan como puentes químicos para unirse a las cargas negativas de la hemateína y del ácido fosfórico de las cadenas de ADN nuclear, el ácido acetil glacial, es el diferenciador e incrementa la precisión de la tinción nuclear y estabiliza el colorante, también previene la oxidación; el

otros átomos de hidrógeno que podrían ser reemplazados, es decir, pueden ser oxidados. Cuando esto sucede, el colorante generalmente se vuelve inadecuado para su uso, por tanto, este proceso de sobreoxidación se intenta prevenir” (p.15).

Figura 2

Mecanismo de oxidación de Hematoxilina a Hemateína



Nota. Adaptado de Electrochemical oxidation of hematoxylin, (p.76) de Beiginejad, H, 2006

2.1.2.1 Oxidación Química. Llewellyn (2003), como se citó en Santos (2017), menciona que “para la oxidación química de la hematoxilina se emplea agentes oxidantes, el más usado es el yodato de sodio a razón de 40-150 mg por cada gramo de hematoxilina para la reacción completa de oxidación. El óxido de mercurio era a menudo una elección como oxidante, sin embargo, a sabiendas que es muy tóxico, se debe considerar su no utilización siempre que sea posible. Si por fuerza mayor es inevitable su uso, se deben en considerar en aplicar las precauciones de bioseguridad y la solución ya utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones del sistema de salud para evitar la contaminación del personal de salud y el medio ambiente” (p. 17).

La oxidación se realiza mediante el calentamiento de una solución de hematoxilina agregando el agente oxidante y que transcurre rápidamente y la solución puede ser utilizada tan pronto como se enfría, por otro lado, la oxidación puede tener lugar a producirse a temperatura ambiente durante algunos días con la mayoría de los oxidantes, si se requiere urgente una solución se puede preparar rápidamente mediante ebullición.

2.1.2.2 Oxidación Natural. Llewellyn Bryan D. (2013). Afirma que la oxidación natural y atmosférica era una práctica comúnmente utilizada en el pasado, con la creencia de que proporcionaba una solución más fiable y duradera. La maduración natural se consigue colocando la solución de hematoxilina en un matraz de gran tamaño, cerrándolo con un tapón sujeto con algodón, así se permite el pase de aire. El matraz con la solución de hematoxilina se deja en un lugar cálido, luminoso y aireado para que la oxidación tenga lugar, agitándose periódicamente. La oxidación puede tardar varios meses, y se determina probando la solución de vez en cuando. Cuando la solución da una tinción satisfactoria, se transfiere a una botella marrón y se tapa firmemente para su almacenamiento en la oscuridad para retardar la oxidación adicional, (p.6).

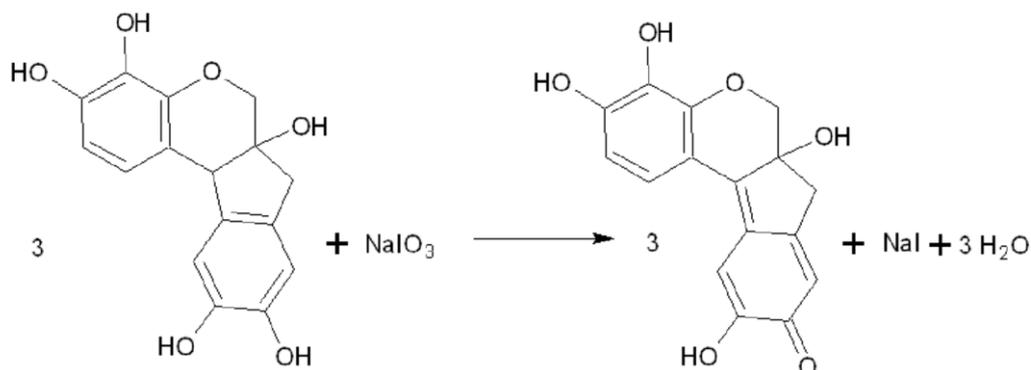
2.1.3 Oxidantes

Son conocidos como agentes oxidantes las sustancias que provocan oxidación en otros compuestos y producen reacciones de tipo electro-químicas tantas ganancias o pérdidas de electrones manifestando en lograr un estado energético estable de que el que oxida se reduce y gana electrones, y provoca oxidación del sustrato reductor provocando la pérdida de electrones del compuesto. Los elementos metálicos que tienden a ceder electrones, cuando forman compuestos tienen normalmente estados de oxidación positivos.

2.1.3.1 Yodato de Sodio. En cuanto a la reacción de oxidación de la hematoxilina utilizando yodato de sodio, como muestra la figura 3, Santos (2017) afirma que “tres moléculas de hematoxilina son oxidadas a tres moléculas de hemateína, mediante eliminación de dos átomos de hidrógeno y reordenamiento de enlaces y una molécula de yodato es reducido a yoduro, pasando de estado de oxidación +5 a -1, respectivamente, (p.18)

Figura 3

Conversión de hematoxilina a hemateína empleando yodato de sodio



Nota. Adaptado de Técnicas histológicas. Protocolos. Hematoxilina, <https://mmegias.web.uvigo.es/6-ncicas/protocolos/a-hematoxilina.php>.

2.1.3.2 Permanganato de Potasio. El permanganato potásico considerado como los oxidantes más versátiles, tiene amplio requerimiento y aplicaciones en uno de ellos como en desecho de materia orgánica.

El Permanganato de Potasio tiene acción de oxidar de manera natural elementos orgánicos e inorgánicos en condiciones de acidez, alcalinidad o a pH neutro, en soluciones líquidas o en ausencia de agua, por su poder oxidante, el permanganato potásico tiene acción como biocida de la micro fauna y micro flora residentes en las aguas (algas, hongos, bacterias), como destructor de la materia orgánica disuelta o en suspensión, como eliminador de olores fétidos y como agente de precipitación de metales de clase pesados al oxidar a estados superiores de valencia en los que son insolubles el Fe, Mn y otros. (Medialdea, 2005, p.130)

2.1.4 Agua Oxigenada

Es un líquido incoloro, de fácil acceso en concentraciones de uso comercial, se aplica en una variedad de productos de uso casero como blanqueadores, cremas dentales, desinfectantes, limpiadores, quitamanchas y desinfectantes de uso médico, ligada al hidrógeno

y según sus propiedades se puede aprovechar para oxidar o madurar algunos componentes de colorantes.

Gennaro (2003) Afirmó que el Peróxido de hidrógeno se prepara por electrólisis de una solución concentrada de ácido sulfúrico o de sulfato de amonio. Al estar en una concentración pura el peróxido de hidrógeno es estable, sin embargo, los preparados comerciales se deben estabilizar, para eso se agrega un preservador, por ejemplo, acetanilida. Se suelen agregar trazas de ácido mineral, como el ácido fosfórico, dado que la estabilidad aumenta en medio ácido.

Se aplica mucho en la industria, como para el blanqueo de telas papel y al 90% como componente de combustibles para naves y cohetes y para fabricación de espumas de caucho, en la investigación, se destina para medir la actividad de algunas enzimas, como la catalasa.

2.1.4.1 Propiedades físicas y Químicas del Agua Oxigenad. El agua oxigenada, un líquido polar, poderosamente oxidante, de olor propio penetrante, de aspecto transparente, ligero amarillento, poco más denso y similar a el agua, pero con el doble oxígeno (H_2O_2) pero de fácil mezcla en ella, es inestable, que provoca reacción lentamente al calor, se descompone en oxígeno y agua, un líquido altamente polar, fuerte enlazado con el hidrógeno

Guillespie (1990), como se citó en Hurtado (2016) afirma que el peróxido de hidrogeno (H_2O_2), se conoce también como agua oxigenada, dioxogen o dioxidano, es un compuesto químico en presentación de líquido y es altamente polar miscible con el agua en todas las proporciones. Es una molécula con propiedades débilmente acidas. Los átomos están enlazados en una estructura de enlaces covalentes apolares permitiendo una estructura por puentes de hidrogeno algo menor que del agua y, por lo tanto, se presenta como un líquido más viscoso que esta. (p.22)

Por una parte, no genera residuos que representen peligro para el medio ambiente, el reino animal o los seres humanos, solamente conocer su concentración para uso correcto y

manipulación adecuada.

2.1.4.2 Riesgos para la Salud. El agua oxigenada puede causar serias afecciones solo en uso de concentraciones altas como quemaduras, dermatitis e irritaciones en mucosas y epitelios se deben tomar la precaución de no exponer ni respirar el olor volátil del agua oxigenada concentrado, los provocará el sofoco, falta de aire y ahogos llevando hasta la pérdida de la conciencia.

Las quemaduras dérmicas ocasionadas por el expuesto prolongado, se deben tratar con cuidado de forma inmediata en estas situaciones, se recomienda enjuagar con abundante agua y al servicio de primeros auxilios, en caso necesario con atención profesional, dado que las concentraciones altas no están expuestas hacia la población, por ser de uso industrial.

En la medida de proteger nuestro medio ambiente se debe evitar verter los residuos de este componente a los desagües antes de hacerlo realizar un diluido con agua, en caso de derrames en suelos o áreas de sembrío y vegetación, contener el derrame con tierra o cubriendo con arena, no utilizar material inflamable como papel, cartón o aserrín y para eliminar antes de diluir usar depósitos de almacenamiento.

2.1.5 Mercurio

2.1.5.1 Compuestos de Mercurio. Según el Ministerio de Salud (MINSa, 2013) el Mercurio existe en tres formas: elemental, orgánico e inorgánico.

Mercurio elemental o metálico (HgO), es de forma líquida a temperatura ambiente y se convierte de líquido a vapor porque procede de la desgasificación de manera natural de la superficie terrestre como de la evaporación del mismo. Desde los 13 grados Celsius el mercurio elemental ya expresa vapores, lo que permite la fácil intoxicación ocupacional. Asimismo, en lugares domésticos cuando se quebrantan por accidente los termómetros de cristales y otros artefactos que contengan mercurio elemental, éste se evapora al exponer generando vapores de mercurio lentamente como

son más pesados que los aires tienden a permanecer contigua al piso o de la fuente de mercurio por tiempos prolongados, de esta forma entrar en los ductos de ventilación y se propagan a todo el hogar.

Mercurio orgánico o Metilmercurio, (MeHg), se forma partiendo de la metilación del mercurio mercúrico (Hg^{++}) por medio de procesos no enzimáticos o tanto por la acción de bacterias, es un componente potencialmente muy tóxico ya que se comporta como hidrofóbico y liposoluble, lo que le facilita acumularse en los diversos tejidos y órganos del cuerpo. Una vez que el metilmercurio es liberado al agua es llevado hacia la cadena alimentaria acuática, para ser consumido por los peces herbívoros donde comienza la acumulación y estos peces servirán de alimento a otros peces más grandes y a otros mamíferos marinos los cuales pueden ser consumidos por los humanos, siendo la principal causa de exposición no ocupacional. (p.02)

El mercurio inorgánico es sales, se presenta en cristales o polvo blanco, a diferencia del sulfuro de mercurio conocido como cinabrio es de coloración roja, la forma inorgánica se aplica en pilas, uso en laboratorios de química y en algunos desinfectantes; por los estragos que causa estos usos de compuestos inorgánicos están suspendidos.

2.1.5.2 Óxido de Mercurio (II). Para producir el óxido rojo de mercurio se debe llevar a elevadas temperaturas de 350 grados Celsius el mercurio metálico con el oxígeno, se conocen dos especies de óxidos de mercurio, la amarilla y la roja.

2.1.5.3 Efectos Sobre la Salud del Óxido de Mercurio. El óxido de mercurio es considerado una sustancia muy tóxica, que se absorbe por inhalación formando aerosol por vía respiratoria, absorción por piel y por ingesta, es irritante de piel y mucosas, el órgano más susceptible es el riñón que llega a las afecciones graves.

En el proceso de evaporación a 20 °C es de mucha amenaza. El óxido de mercurio se descompone a la exposición de la luz, el efecto de calefacción de los expuestos produce humos

muy tóxicos de mercurio y oxígeno, lo que incrementa el riesgo de incendio. Este elemento reacciona fuertemente con agentes reductores, como con el agua oxigenada, hidrógeno, magnesio, al entrar en calor (EcuRed, 2018).

2.1.5.4 Toxicidad del Mercurio Según Ministerio de Salud. MINSA (2013) afirma que el efecto tóxico del mercurio se encuentra en relación a su unión covalente con los grupos sulfidrilos (SH), también tiene gran afinidad a los grupos carboxilos, amidas, aminas y fosforilos, lo que contribuye a su efecto de toxicidad. A nivel de la membrana celular existen grupos sulfidrilos que son indispensables para las propiedades de permeabilidad y transporte de solutos de la membrana citoplasmática, estos grupos SH tienen una altísima afinidad por el mercurio. Los compuestos orgánicos de mercurio son inhibidores de la síntesis de proteínas, esto obedece a alteraciones del ARN de transferencia, por lo que se explica las aberraciones cromosómicas y anomalías congénitas que se observan en las intoxicaciones alimentarias con metilmercurio, mismo así afecta la homeostasia del ión calcio, incluso en exposición a corto plazo como a menor a 24 horas en el que produce la muerte neuronal. (p. 03)

2.1.5.5 Implicancias Para la Salud Humana del Mercurio. Muchos autores coinciden en que fue el primer suceso que se detectaron problemas de salud humana a causa del mercurio fue en finales de la década de 1950, por aquel una enfermedad no conocida surgió en la bahía de Minamata, en Japón, originando la muerte de más de 2000 habitantes (los afectados por la enfermedad fueron probablemente más de 8000). Esta tragedia de Minamata ha sido muy difundida en la literatura y medios masivos, al menos 10 empresas dedicadas al rubro de acetaldehído habían estado vertiendo metilmercurio, que eran restos del proceso industrial, a las aguas de la bahía durante más de cuatro décadas. El elemento tóxico que se diluyó en las aguas fue concentrándose hasta llegar a niveles muy altos (mediante bio concentración y bio acumulación) en peces, mariscos y moluscos de los que se alimentaban los habitantes asentada en la bahía. Las personas presentaron síntomas de intoxicación y afectos

adversos manifestándose también en la fauna doméstica y silvestre: perros, gatos, cerdos, ratas, estas especies empezaron a actuar erráticamente y morir, inmensa cantidad de peces muertos aparecieron flotando en la bahía. (Harada 2009)

La tasa de oxidación del mercurio elemental es fundamental para la química del mercurio atmosférico porque los compuestos de mercurio oxidado (tales como HgO y HgCl_2) que se producen son más solubles (y, por lo tanto, son recogidos con mayor rapidez por las nubes), menos volátiles (y, por lo tanto, recogidos con mayor rapidez por las partículas) y tienen una mayor velocidad de deposición. Por lo tanto, la oxidación puede aumentar los flujos de deposición seca y húmeda y también la deposición que se realiza por medio de la materia particulada. El mercurio oxidado también se puede reducir a mercurio elemental en las gotitas de la atmósfera, limitando de este modo la tasa general de oxidación y deposición. (Munthe citado en PNUMA, 2002).

2.1.5.6 Para la OMS, el Mercurio que Plantea Problema de Salud Pública. Según OMS (2017), el mercurio, en presentación de tiomersal (etilmercurio), se usa en dosis muy bajas y cumple la función de conservante en algunas vacunas y otros elaborados farmacéuticos. El metilmercurio es más tóxico que el etilmercurio, éste agente sufre rápido metabolismo por lo que no se acumula en los órganos. Esta institución ha estado siguiendo de cerca por más de una década los estudios científicos sobre la utilización del tiomersal como elemento conservante en algunas vacunas y ha determinado una sola conclusión: no hay evidencias de que la cantidad de tiomersal aplicada en las vacunas represente un riesgo para la salud humana.

2.1.5.7 Respuesta de la OMS. La OMS (2016), publica datos relevantes respecto a las consecuencias sanitarias de la variedad de formas de mercurio, además determina qué habitantes están en riesgo, elabora estrategias para disminuir la exposición y directivas para reemplazar los termómetros y esfigmomanómetros con contenido de mercurio en la atención de la salud, y ha facilitado la fabricación de un esfigmomanómetro libre de mercurio

homologado y de costo accesible; así mismo ha encabeza proyectos de buena gestión y fomenta la eliminación de residuos de la atención sanitaria.

2.1.6 Enlace del Colorante al Núcleo Celular

El mecanismo para unir la hemateína al núcleo celular, implica la unión covalente de los grupos hidroxilo de fosfatos del ADN y el ion aluminio, formando un complejo quelante, y posterior unión de éstas a las moléculas de la hemateína. Los iones de aluminio son atraídos firmemente a los aniones fosfato del ADN, con éstos forman complejos de coordinación; ya que los grupos fosfato del ADN presente en el nucleótido son fuertes ácidos (siendo como aniones a pH más bajo) que los grupos carboxilo de las proteínas del citoplasma celular.

Cada átomo de aluminio forma un complejo con dos oxígenos adyacentes de hemateína, de manera que el átomo metálico llega a interponerse entre el ADN y la hemateína, son investigaciones que apoyan los fundamentos de la atracción iónica entre cationes del tinte-metal y los aniones de la molécula de ADN, seguido por la formación de enlaces potentes de covalentes de metal y fosfato. (Kumar G. et al, 2010, p.31)

2.1.6.1 Coloración de Papanicolaou. Consiste en el uso de un colorante nuclear, como la hematoxilina y colorantes citoplasmáticos que compiten entre sí permitiendo una tinción policromática. La coloración de Papanicolaou es la técnica por excelencia de la citología general. Cuando una sustancia es incolora que no tiene absorción en el espectro visible, agregando algunos grupos no saturados, con doble ligadura denominados cromóforos, se pueden desplazar esas bandas hacia el espectro visible, entonces la sustancia presenta color, definimos como coloración a un proceso donde la célula son teñidas por una solución colorante, luego no pierde el color cuando es sometido al lavado con el disolvente usado al preparar el colorante.

2.1.6.2 Coloración Nuclear. La hematoxilina por especificidad su blanco de tinción son los núcleos, León M. (2013) afirma que “la hematoxilina posee carga positiva, se une a los

grupos fosfatos del ADN y ARN los cuales tienen carga negativa, a través de esta reacción se explica su afinidad por la cromatina nuclear, que se tiñe de color azul a violeta oscuro”. (p.40)

Para teñir los núcleos hay dos métodos, primero el progresivo que colorea el núcleo con el grado de intensidad deseada y segundo el regresivo que sobre colorea el núcleo con hematoxilina no acidificada, luego se puede remover el exceso utilizando una solución de ácido clorhídrico al 0,5%

En buena definición el colorante nuclear debe dar coloración perfecta al núcleo, penetrar hacia las estructuras de la cromatina y diferenciarlas en gránulos de distribución uniforme o grosera según sea el caso, colorear al mínimo el citoplasma y no cambiar en el transcurso de la coloración citoplasmática y mientras el nucléolo obtiene el tono variado de rojo, rosado o naranja.

2.1.6.3 Coloración del Citoplasma. La función del colorante citoplasmático es permitir la neta diferenciación entre células eosinófilas y cianófilas, sin dar matices intermedios; dar una coloración homogénea, estable y transparente y no disminuir la coloración del núcleo a causa de una acidez excesiva, así mismo el citoplasma presenta el color de tono amarillo o naranja, cuando hay presencia de queratina. Caso contrario el tono de color varía de verde, azul o gris. (INS, 2005, P.33)

La Eosina EA-36 es una solución policroma que permite diferenciar el epitelio escamoso simple, contiene colorante verde claro, pardo de Bismark, y el ácido fosfotúngstico presente en esta solución es quien determina la coloración del citoplasma, porque actúa como mordiente uniendo el verde claro con las proteínas de las células. Tiñe aquellas células que son metabólicamente activas como las parabasales, intermedia, columnares, histiocitos y leucocitos. Las células superficiales ya inactivas que se tiñen de color rosado con la eosina se describen como eosinófilas contrastando con las células parabasales, y las células intermedias que se tiñen de color

verde azul y son designadas cianófilas. (León M. 2013, p.43)

2.1.6.4 Orange G. Es un colorante cuya afinidad es proteica, ácido de tono amarillo a anaranjado, tiñe a las proteínas citoplasmáticas, colorear hematíes, cristales de hemosiderina, y células con citoplasma de presencia de queratina como son las células paraqueratósicas, coilocíticas y células de un carcinoma escamoso poco diferenciado, tienden una afinidad mínima de contraste con la eosina y en mucho menor afinidad con el Light Green.

2.1.6.5 Eosina. La Eosina es un ácido puro que posee una fuerte propiedad de unirse generalmente a proteínas, es un monómero que da una tinción rosa rosada a roja, cuya propiedad está basado en su polaridad negativa lo que le permite enlazarse con constituyentes celulares de carga positiva, también forman dímeros que da una coloración más anaranjada, colorea a las células superficiales de un tono rojo y a los eritrocitos de color naranja, a las proteínas del nucleolo colorea de un tono rojo. También puede dar color en su forma dimerizada a todas las estructuras que el Orange G tiñe de amarillo.

2.1.6.6 Light Green. El verde claro es un colorante ácido que requiere agregar el ácido fosfotúngstico como efecto mordiente en un medio ácido (pH) que permitirá ser efectivo al colorante en el EA-36, el colorante está constituido grupos básicos, es anfófilico A su vez el ácido fosfotúngstico tiene de función de contrastante con la eosina al entrar en tinción en unión a proteínas, coloreando el citoplasma de células intermedias, parabasales, basales, endocervicales y metaplásicas tiñiendo a ésta más intensa.

Borja G. (2000) afirma que “el citoplasma celular inmadura y en general son las metabólicamente activas, se tiñen de color azul pálido o azul verdoso porque los tiñe el light green, que es un colorante básico, estas células de este tono son denominados cianófilas”, también tienen gran afinidad por las células metaplásicas.

2.1.6.7 Pardo de Bismarck. Este colorante en las muestras de secreciones cervicales tiene afinidad por las mucinas al que colorea de pardo amarillento, estas mucinas están

compuestas de proteínas y azúcares ubicadas en el citoplasma de las células cancerosas propias de adenocarcinomas, también ayuda en el contraste al citoplasma de las células endocervicales y endometriales.

2.1.6.8 Frotis Cervical. Es un procedimiento que, con una acción de raspado o cepillado, se obtiene células del epitelio escamoso que son los que revisten el cuello uterino endo y exocervical para luego realizar un frotis en una monocapa del material en el portaobjeto, llevarlos a una fijación y luego proceder una coloración correctamente para su estudio e interpretación adecuada. Es una técnica de toma de muestra correcta de material de células exfoliada que se descaman.

Al frotis cervical se le debe dar énfasis de importancia, “la toma de muestra cervical no es sólo una rutina instrumentada, sino un procedimiento sistematizado y guiado clínicamente para obtener la información y material suficiente para que el citotecnólogo o patólogo, realizarán un diagnóstico preciso”. (Loustalot, Espinoza & Blas, 2006)

2.1.6.9 Obtención del Frotis Cervical. Previamente se le prepara a la paciente y solicitarle suba a la camilla de exploración y colocar en posición ginecológica, introducir el espéculo, visualizar el cuello uterino con la espátula de Ayre modificada o citobrush se realiza tomando la muestra suficiente del endocérvix y del exocérvix, se debe tomar en cuenta la técnica y considerar la exploración en zona de transformación.

Según afirma Loustalot, et, al (2006) para la toma exocervical, deslizar la espátula de Ayre por la parte bifurcada colocando en el orificio cervical haciendolo girar a la derecha 360° aplicando una ligera presión para sacar muestra del epitelio exocervical; para la porción endocervical introducir por el extremo cónico de la espátula en el canal cervical, aplicar una ligera presión girando a la izquierda 360° y luego extender la muestra en la laminilla portaobjeto para obtener el frotis cervical.

2.1.6.10 Fijación de Frotis Cervical. Es importante que la fijación sea muy rápida, si

demora este paso, los núcleos de las células pierden su estructura, lo que haría muy difícil el reconocimiento de los tipos celulares y sus cambios patológicos para los procesos de tinción nuclear como estructural para lectura. Para la fijación de la muestra en alcohol de 96% se requiere de un vaso de Koplín e introducir el frotis entre 15 a 30 minutos; la fijación del frotis cervical en los primeros 5 segundos posteriores a la toma, permite que se conserve en condiciones adecuadas. Otro fijador como en spray debe ser el pulverizador de neblina fina con una fórmula de glicol polietileno que permite una fijación rápida y de alta calidad de las distribuciones de células en citología y debe cubrir las células con una película gruesa y soluble que protege la morfología celular para su examen al microscopio.

III. MÉTODO

3.1 Tipo de Investigación

3.1.1. Según el tipo es: *Descriptivo*

Permite describir las características del fenómeno a estudiar que es de interés del investigador se llega a conocer situaciones, costumbres y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de las actividades y procesos, lleva a la predicción e identificación de las relaciones que existen entre dos o más variables.

Hernández, Fernández y Baptista (2010), mencionan “los estudios descriptivos buscan especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos otro cual fenómeno que se someta a un análisis. Es decir, lo único es pretender medir una información de manera independiente o conjunta sobre las variables a las que se refieren, esto es, su objetivo no es indicar cómo se relacionan éstas” (p.80).

3.1.2 Según el Enfoque es: *Cuantitativo*

Se usa recolección de datos para probar hipótesis, con base en la medición numérica y el procesamiento estadístico para probar teorías, características, utiliza estadísticas, prueba una hipótesis y hace análisis causa efecto.

Hernández, Fernández y Baptista (2010), utilizan la recolección de datos para responder preguntas de investigación y probar hipótesis establecidas anticipadamente y confía en la medición numérica, el conteo frecuente es en el uso de la estadística para aplicar con exactitud patrones de conducta en una población, (p. 4).

3.1.3 Según el Nivel es: *Aplicada*

Se encuentra muy relacionada con la investigación básica, requiere partir de conocimientos adquiridos pues ello va depender de los resultados y logros, está muy aclarado que toda investigación aplicada necesita de un marco teórico, interesando los hechos prácticos.

3.1.4 Diseño de Investigación: Comparativo

Se busca caracterizar un fenómeno o hecho en base a la información recogida de varias muestras, son estudios en el cual existen dos o más poblaciones y donde se requiere comparar algunas variables para contrastar una o varias hipótesis.

Sánchez & Reyes (2002), Parte de la consideración de dos o más investigaciones descriptivas simples, es recolectar información relevante en varias muestras con respecto a un mismo fenómeno o de datos recogidos, realizando una comparación de datos generales. (p. 86).

y se expresa de la siguiente manera:

M1: O x – O y ≠ ó = M2: O x – O y

M1= láminas coloreadas con el método de Hematoxilina de Harris

O x = Observación del núcleo

O y = Observación del citoplasma

≠ ó = Diferente o igual

M2 = láminas coloreadas con el método de Hematoxilina con agua oxigenada

O x = Observación del núcleo

O y = Observación del citoplasma

3.2 Ámbito Temporal y Espacial

3.2.1 Ámbito Temporal

La ejecución del estudio fue durante los meses de enero a marzo del 2019.

3.2.2 Ámbito Espacial

Se desarrolló en el Laboratorio Referencial de Citología del Centro Materno Infantil “San José” de la jurisdicción de la Red Integrada de Salud de Villa El Salvador, Lima.

3.3 Variables

3.3.1. Operacionalización de Variables

Variables	Dimensiones	Indicadores	Actividad	Categorías	Escala
Colorante de Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de Papanicolaou en frotis cervical	Borde nuclear	Coloración del borde nuclear	Observación del borde nuclear coloreado con Hematoxilina oxidada con agua oxigenada con microscopio óptico binocular	Calificación Malo (escala 1)	Discreta
	Cromatina	Coloración de la cromatina	Observación de la cromatina coloreado con Hematoxilina oxidada con agua oxigenada con microscopio óptico binocular	Calificación Regular (escala 2)	
	Citoplasma	Diferenciación del citoplasma	Observación del citoplasma sin interferencia con Hematoxilina oxidada con agua oxigenada con microscopio óptico binocular	Calificación Bueno (escala 3)	
	Fondo del frotis cervical	Diferenciación de fondo del frotis	Observación del fondo del frotis no coloreado con Hematoxilina oxidada con agua oxigenada con microscopio óptico binocular	Calificación Excelente (escala 4)	
Coloración de Hematoxilina de Harris en el método de Papanicolaou en frotis cervical	Borde nuclear	Coloración del borde nuclear	Observación del borde nuclear coloreado con Hematoxilina de Harris con microscopio óptico binocular	Calificación Malo (escala 1)	Discreta
	Cromatina	Coloración de la cromatina	Observación de la cromatina coloreado con Hematoxilina de Harris con microscopio óptico binocular	Calificación Regular (escala 2)	
	Citoplasma	Diferenciación del citoplasma	Observación del citoplasma sin interferencia con Hematoxilina de Harris con microscopio óptico binocular	Calificación Bueno (escala 3)	
	Fondo del frotis cervical	Diferenciación de fondo del frotis	Observación del fondo del frotis no coloreado con Hematoxilina de Harris con microscopio óptico binocular	Calificación Excelente (escala 4)	

3.4 Población y Muestra

3.4.1 Población Universo

El universo de las muestras comprendió las láminas de frotis cervical por duplicado, que fueron referidas al Laboratorio Referencial de Citología del Centro Materno Infantil de “San José” en el mes de marzo del 2019, que comprende a la micro red integrada de San José, que fueron 135 muestras/pacientes en el programa de Prevención de Cáncer de Cuello Uterino.

3.4.2 Muestras

Las muestras para el estudio fueron constituidas por 100 muestras de frotis cervical por duplicados, que representaron 200 muestras/paciente, de las cuales 100 fueron procesadas con hematoxilina oxidada con agua oxigenada y 100 pares con hematoxilina de Harris.

La muestra se caracterizó por una distribución amplio de grupo etario: >de 19 años = 11 muestras, de 20 a 29 años = 28 muestras, de 30 a 49 años = 46 muestras y < de 50 años = 15 muestras.

3.4.3 Tipo de Muestreo

Muestreo probabilístico por aleatorio simple.

Para el cual se utilizó la siguiente formula, teniendo en consideración un margen de error de 5% y un nivel de confianza del 95%.

$$n = \frac{N \times Z_a^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_a^2 \times p \times q}$$

Dónde:

n: Muestra

N: Tamaño poblacional

Z: Coeficiente del 95% de confidencialidad (1.96)

p: Probabilidad de éxito de 5% equivale a 0,50.

q:p: Probabilidad de fracaso de 5% equivale a 0,50. (0.5)

d: Error permisible del 5% equivale al 0.05.

Cálculo para caso en estudio:

$$n = \frac{135 \times (1,96)^2 \times 0,50 \times 0,50}{(135-1) \times (0,05)^2 + (1,96)^2 \times 0,50 \times 0,50}$$

$$n = \frac{135 \times 3,84 \times 0,50 \times 0,50}{134 \times 0,0025 + 3,84 \times 0,50 \times 0,50} = \frac{129,6}{1,295} = 100,07$$

Criterios de Inclusión:

- Láminas de frotis cervical con condición de satisfactoria para la evaluación.
- Láminas de frotis cervical con registro de identificación coincidente.
- Láminas de frotis cervical que presente su par por duplicado.

Criterios de Exclusión:

- Láminas de frotis cervical con muestra por escasa celularidad.
- Láminas de frotis cervical con muestra por contenido muy inflamatorio.
- Láminas de frotis cervical con muestra por contenido muy hemorrágico.
- Láminas de frotis cervical sin registro de identificación.

3.5 Instrumentos

Para evaluar la coloración de los frotis de cérvix se utilizó el instrumento de recolección de datos que se elaboró con ayuda de profesionales y se validó por juicio de expertos, así mismo se midió la confiabilidad del instrumento con una prueba piloto de 20 muestras.

Los parámetros de evaluación de los frotis coloreados se valoraron de acuerdo a 4 patrones de evaluación; cada patrón está conformado por 4 subcategorías o ítems, en una escala del 1 al 4, cada escala tiene valor de 25% generando en total 16 puntos equivalentes al 100%, (anexo B).

3.5.1 Validez y Confiabilidad del Instrumento

Validez de Contenido

Para Hernández, et al (2010), “la validez es el grado en que un instrumento en verdad

mide la variable que pretende medir” (p.201).

Se refiere al grado de satisfacción del instrumento de medición que mide la variable del estudio, de acuerdo con voces calificadas. Así mismo, para esta investigación se solicitó la validación del instrumento mediante el juicio de 03 expertos, (02 Anátomos Patólogos y 01 obstetra), docentes de trayectoria y con experiencia en el tema de investigación, el análisis efectuado por los expertos incluyó en la evaluación de los ítems del instrumento desarrollado.

Tabla 1

Validación de contenido del instrumento

Expertos	Indicadores			Dictamen	
	Pertinencia	Relevanci	Claridad	Suficiencia	Aplicabilidad
	a				
Dr. Carlos A. Gonzáles Müller	Si	Si	Si	Hay	Aplicable
Dra. Melvy L. Guerrero Quiroga	Si	Si	Si	Hay	Aplicable
Mg. Norma S. Casas Chávez	Si	Si	Si	Hay	Aplicable

Confiabilidad

Según Hernández, et al (2010), la confiabilidad de un instrumento de medición “es el grado en que un instrumento produce resultados consistentes y coherentes”, para la aplicabilidad en una investigación. (p. 200).

El instrumento después del análisis de validez se sometió a la validez de constructo, se aplicó la ficha de recolección de datos a 20 muestras piloto que no conformaron parte de la muestra, que representan un 20% de la muestra total a evaluar. Posteriormente, se obtuvo el coeficiente del Alfa de Cronbach (Alfa=0.895), el cual indica que el nivel de consistencia interna del instrumento para evaluar la coloración del núcleo y cromatina, así como no interferencia en la coloración del citoplasma y fondo del frotis cervical empleado es alto; y por consiguiente lo califica como idóneo y apto para su aplicación en este estudio.

Tabla 2*Resultados del análisis de confiabilidad del instrumento*

Coeficiente de alfa de Cronbach

Variable/Dimensión	Estadísticas de fiabilidad	
	Alfa de Cronbach	N de Elementos
Coloración del borde nuclear	0.895	20
Coeficiente alfa >.7 es aceptable		

Como se observa en la tabla 1, el coeficiente de Alfa de Cronbach es 0.895 muestra que el instrumento constituido por 20 ítems es confiable.

3.6 Procedimientos

Se solicitó el permiso a la Jefatura del Centro Materno Infantil “San José” de Villa El Salvador para la realización de la presente investigación. Una vez recibida la autorización se procedió a la aplicación de la técnica de ambos colorantes que es el objetivo de la investigación, para la tabulación de datos se clasificó toda la información para la elaboración de tablas y figuras de acuerdo a los resultados obtenidos.

Se utilizó los insumos, reactivos e instrumentos de la institución.

3.6.1 Preparación del colorante de Hematoxilina oxidada con agua oxigenada

Se procedió a preparar el colorante de Hematoxilina oxidada con agua oxigenada.

Componentes:

- Hematoxilina (cristales)..... 5 g
- Etanol al 100%50 ml
- Sulfato de amonio y aluminio.....100 g
- Agua destilada.....1000 ml
- Agua oxigenada 10 v..... 10 ml
- Ácido acético glacial40 ml

Preparación:

1. Disolver los cristales de hematoxilina en etanol.
2. Disolver el sulfato de amonio y aluminio en agua destilada por calentamiento.
3. Añadir la solución de hematoxilina a la solución de sulfato.
4. Llevar hasta inicio de ebullición, retirar y enfriar.
5. Agregar el agua oxigenada lentamente.
6. Agregar el ácido acético glacial.
7. Guardar la solución en frasco ámbar y dejar en reposo, filtrar para usar.

3.6.2 Coloración de Láminas de Frotis Cervical

Se procedió a colorear las 200 láminas de frotis cervical seleccionados en la batería de coloración siguiendo el protocolo del procedimiento de Papanicolaou solo que se colocó una cubeta más con hematoxilina oxidada con agua oxigenada para colorear 100 láminas par y la cubeta con hematoxilina de Harris estándar oxidada con óxido de mercurio para colorear las otras 100 láminas par, cabe mencionar que no se usó una batería nueva de colorantes de Hematoxilina de Harris.

Se aplicó el método de Papanicolaou modificado.

Pasos:

1. Alcohol etílico 96° (para remover el spray fijador).
2. Agua corriente (hidratación).
- 3a. Hematoxilina H₂O₂ (100 láminas par) x 5 minutos.
- 3b. Hematoxilina de Harris (100 láminas par) x 5 minutos.
4. 3 lavados en agua corriente.
5. Agua amoniacal.
6. 2 lavados en agua corriente.
7. Alcohol etílico 96° (deshidratación).

8. Orange G x 5 minutos.
9. Alcohol etílico 96° (lavados restos de Orang G)
10. Alcohol etílico 96° (2do lavados restos de Orang G)
11. EA 36 x 1 minuto.
12. Alcohol etílico 96° (lavados restos de EA 36)
13. Alcohol etílico 96° (2do lavados restos de EA 36)
14. Alcohol etílico Absoluta (deshidratación total)

Descargar y secar al aire.

3.6.3 Montaje

Para el montaje de láminas se usó resina sintética Entellán y laminillas cubreobjetos.

3.6.4 Evaluación de Láminas

Las láminas de frotis cervical coloreadas fueron enviadas para su evaluación al especialista Anatómo Patólogo Dr. Carlos Gonzáles Müller del Instituto de Patología y Biología Molecular “Arias Stella”, quien no conoció el tipo de Hematoxilina usado para cada lámina, a simple ciego, las cuales estuvieron diferenciados por el color de rotulo de identificación de lámina “Lila” y “azul”.

3.7 Análisis de Datos

Se elaboró una base de datos en Programa Excel 2016 para elaborar las tablas y cuadros, para la estadística descriptiva, se llevó a cabo el análisis de la información con el programa SPSS STATIC Versión 25, para las variables los datos se consignaron en tablas de frecuencia así como se emplearon las medidas descriptivas de tendencia central como son promedio, mediana y moda, finalmente se procedió contrastar la hipótesis general y específicos para ello cual se utilizó la prueba de coeficiente Rho de Spearman, al realizar un análisis descriptivo utilizando una tabla de contingencia y un gráfico de distribución, se reveló que las categorías de la variable “Hematoxilina con agua oxigenada” y de la variable “hematoxilina de Harris”

estarían asociadas.

Los datos se ordenaron en una matriz comparativa de los resultados que se obtuvieron de la coloración de la Hematoxilina con agua oxigenada comparativamente con el método de Hematoxilina de Harris como método estándar, teniendo en cuenta los criterios y parámetros establecidos en los esquemas para ambos métodos.

3.7.1 Coeficiente de Correlación de Rangos de Spearman

Para el análisis estadístico de los datos se realizó la prueba estadística del coeficiente de correlación de rangos de Spearman, ya que el propósito fue determinar la relación entre las dos variables de estudio.

Se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

r_s = Coeficiente de correlación de rangos de Spearman

d = Diferencia entre los rangos (X menos Y)

n = Número de datos

El coeficiente de correlación de Spearman es una medida no paramétrica de la correlación **de rango** para dependencia estadística del ranking entre dos variables.

Tabla 3

Grado de relación según coeficiente de correlación de Rho de Spearman

Rango	Relación
0.0	No existe correlación
0.01 a 0.10	Correlación positiva débil
0.11 a 0.50	Correlación positiva media
0.51 a 0.75	Correlación positiva moderada
0.76 a 0.90	Correlación positiva muy fuerte
0.91 a 1.0	Correlación positiva perfecta

Nota. Adaptado de Metodología de la Investigación, de Hernández R. Fernández C. 2010 (p. 312)

3.8 Consideraciones Éticas

La presente investigación utilizó conceptos e información perteneciente a diferentes autores, respetando la autoría de las citas utilizadas; asimismo se recolecto la bibliografía según norma APA.

La aplicación de la técnica y recolección de datos, se realizó en el establecimiento de salud mencionado, previa presentación de documentos y obteniendo la aceptación de realizar el trabajo siempre conservando el respeto al personal asistencial y a los colegas.

No maleficencia: durante el trabajo se tomó las precauciones para no causar molestias a personas ni daño a instrumentos. Beneficencia: los resultados de esta investigación están ceñidos a la verdad, aportará mejoras en la detección precoz del cáncer cérvico uterino.

IV: RESULTADOS

4.1. Resultados Descriptivos

4.1.1 Calidad de la Coloración del Borde Nuclear

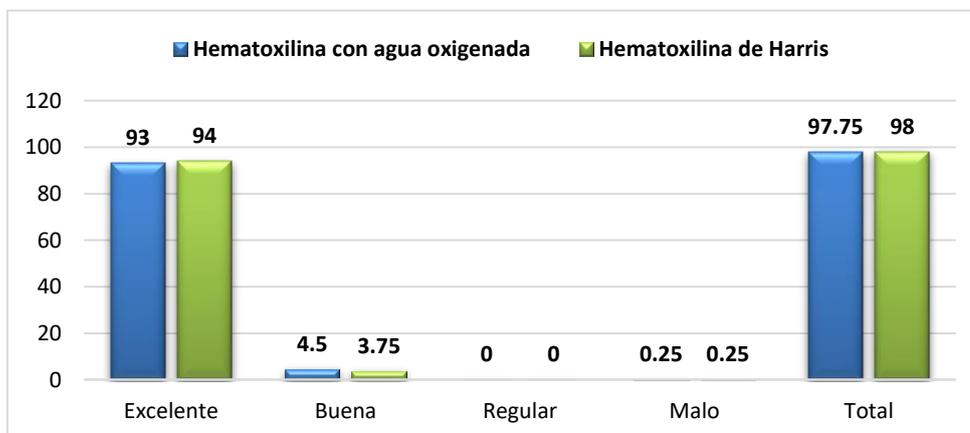
Tabla 4

Distribución de frecuencias y porcentajes de la calidad de la coloración del borde nuclear

	Hematoxilina con agua oxigenada			Hematoxilina de Harris		
	n	puntaje	%	n	puntaje	%
Excelente	93	372	93	94	376	94
Buena	6	18	4.5	5	15	3.75
Regular	0	0	0	0	0	0
Malo	1	1	0.25	1	1	0.25
Total	100	391	97.75	100	392	98.0

Figura 4

Distribución de frecuencias y porcentajes de la calidad de la coloración del borde nuclear



Nota: En la tabla y figura 4 se muestran la descripción referente a la variable coloración del borde nuclear; para la Hematoxilina con agua oxigenada presentó un 93% (n = 93) como excelente, 4,5% (n=6) como buena, no se evaluaron láminas con calidad de regular y 0,25% (n=1) como malo, evidenciando un total de 97,75%. Mientras para la Hematoxilina de Harris presentó un 94% (n= 94) como excelente, 3.75% (n=5) como buena, no se observó láminas con evaluación de regular y 0,25% (n=1) de categoría malo, evidenciando un total de 98% estos porcentajes hallados son con respecto al puntaje de láminas.

4.1.2 Calidad de la Coloración de la Cromatina

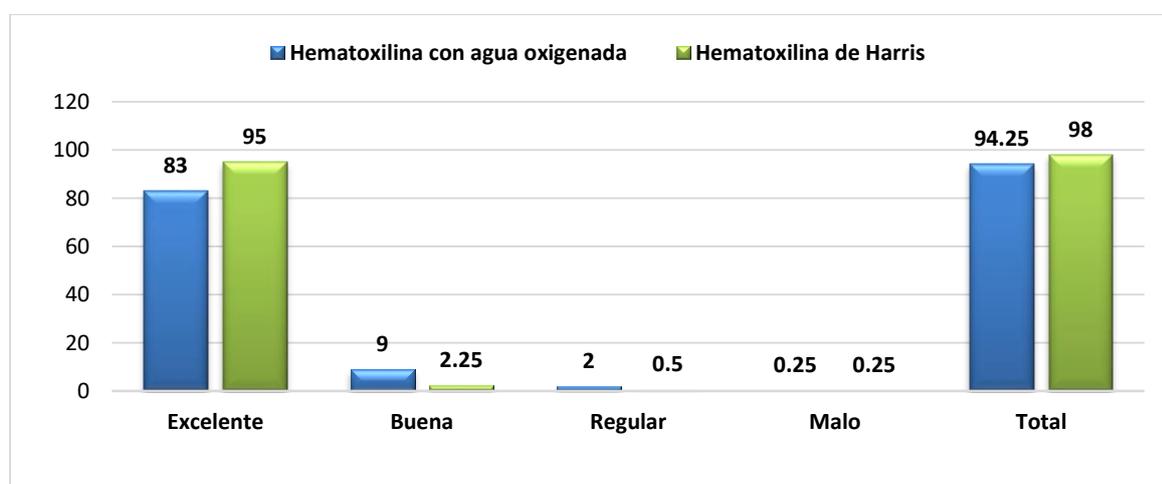
Tabla 5

Distribución de frecuencias y porcentajes de la Calidad de la coloración de la cromatina

	Hematoxilina con agua oxigenada			Hematoxilina de Harris		
	n	puntaje	%	n	puntaje	%
Excelente	83	332	83	95	380	95
Buena	12	36	9	3	9	2.25
Regular	4	8	2	1	2	0.5
Malo	1	1	0.25	1	1	0.25
Total	100	377	94.25	100	392	98

Figura 5

Distribución de frecuencias y porcentajes de la Calidad de la coloración de la cromatina



Nota : En la tabla y figura 5 se muestran la descripción referente a la variable coloración de la cromatina para las Hematoxilina con agua oxigenada presentó un 83% (n=83) como excelente, 9% (n=12) como buena, 2% (n=4) como regular y 0,25% (n=1) como malo, evidenciando un total de 94,25%, mientras para la Hematoxilina de Harris presentó un 95% (n=95) como excelente, 2,25% (n=3) como buena, 0,5% (n=1) como regular y 0,25% (n=1) como malo, evidenciando un total de 98%, estos porcentajes hallados son con respecto al puntaje de láminas.

4.1.3 Calidad de la Diferenciación del Citoplasma

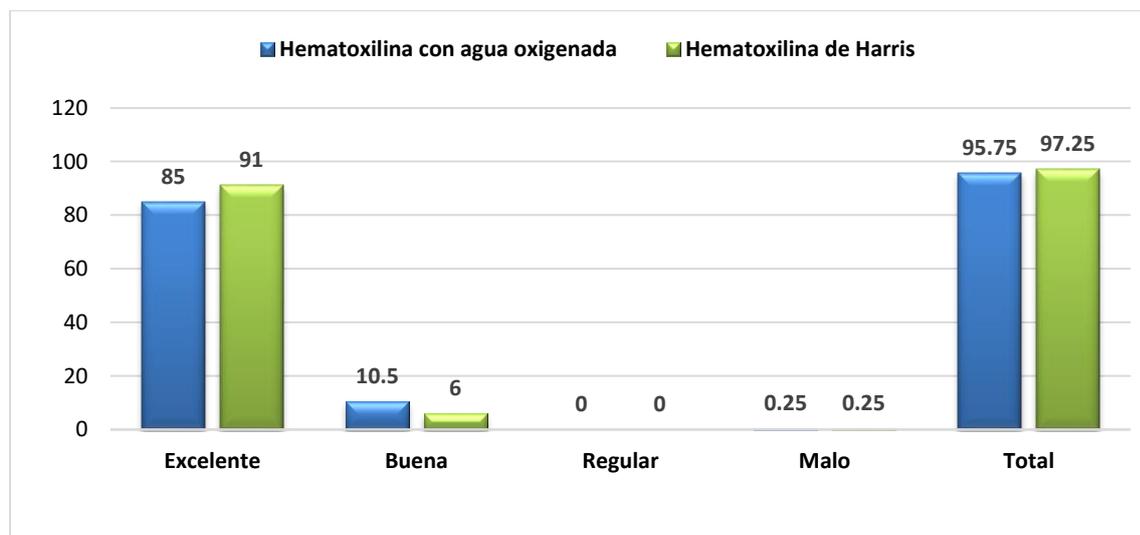
Tabla 6

Distribución de frecuencias y porcentajes de la diferenciación del citoplasma

	Hematoxilina con agua oxigenada			Hematoxilina de Harris		
	n	puntaje	%	n	puntaje	%
Excelente	85	340	85	91	364	91
Buena	14	42	10.5	8	24	6
Regular	0	0	0	0	0	0
Malo	1	1	0.25	1	1	0.25
Total	100	383	95.75	100	389	97.25

Figura 6

Distribución de frecuencias y porcentajes de la diferenciación del citoplasma



Nota: En la tabla y figura 6 se muestran la descripción referente a la variable diferenciación del citoplasma, para la Hematoxilina con agua oxigenada presentó un 85% (n=85) como excelente, 10.5% (n=14) como buena y 0.25% (n=1) como malo, evidenciando una evaluación total de 95,75%. Mientras para la Hematoxilina de Harris presentó un 91% (n=91) como excelente, 6% (n=8) como buena y 0.25% (n=1) como malo, evidenciando una evaluación total de 97,25%, estos porcentajes hallados son con respecto al puntaje de láminas.

4.1.4 Calidad de la Diferenciación del Fondo del Frotis

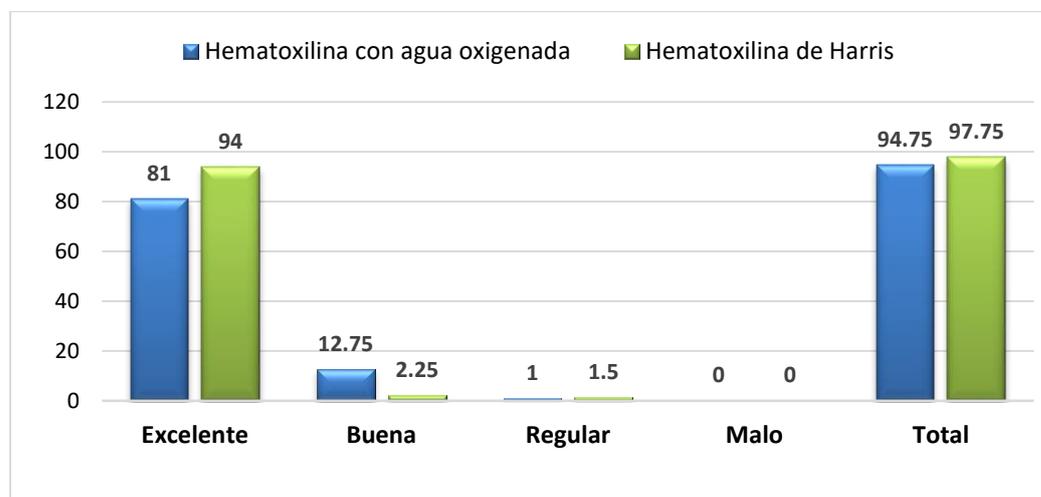
Tabla 7

Frecuencias y porcentajes de la calidad de la diferenciación del fondo del frotis

	Hematoxilina con agua oxigenada			Hematoxilina de Harris		
	n	puntaje	%	n	puntaje	%
Excelente	81	324	81	94	376	94
Buena	17	51	12.75	3	9	2.25
Regular	2	4	1	3	6	1.5
Malo	0	0	0	0	0	0
Total	100	379	94.75	100	391	97.75

Figura 7

Frecuencias y porcentajes de la calidad de la diferenciación del fondo del frotis



Nota: En la tabla y figura 7 se muestran la descripción referente a la variable diferenciación del fondo del frotis, para la Hematoxilina con agua oxigenada presentó un 81% (n=81) como excelente, 12.75% (n=17) como buena, 1% (n=2) como regular, evidenciando una evaluación total de 94,75%, mientras que para la Hematoxilina de Harris presentó un 94% (n=94) como excelente, 2,25% (n=3) como buena, 1,5% (n=3) como regular, evidenciando una evaluación total de 97,75%, estos porcentajes hallados son con respecto al puntaje de láminas.

4.1.5 Evaluación de la Hematoxilina con agua oxigenada y Hematoxilina de Harris

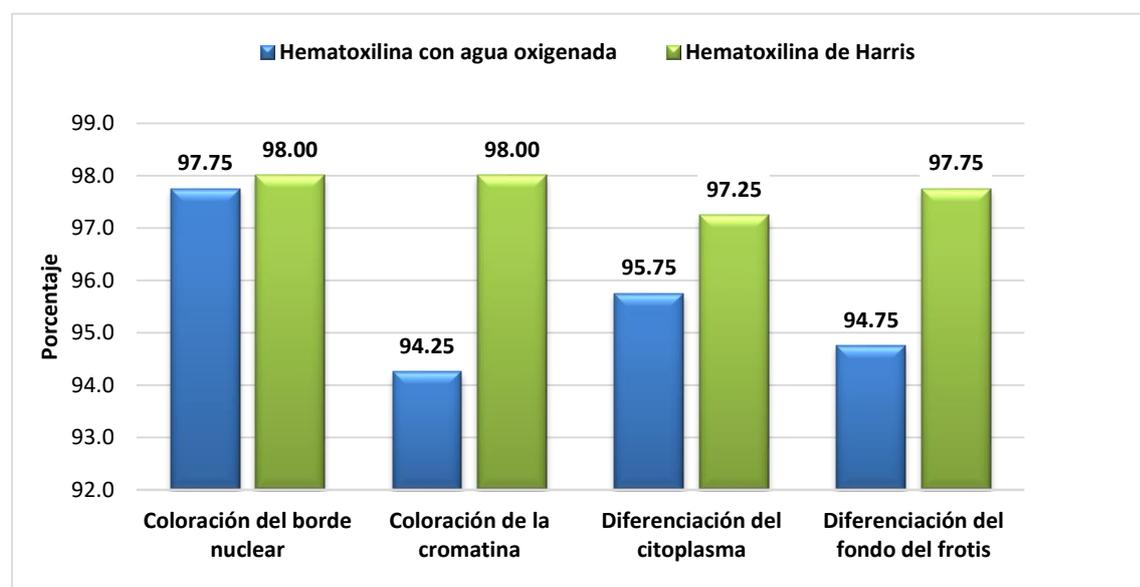
Tabla 8

Evaluación por categorías de las dos hematoxilinas

	Hematoxilina con agua oxigenada		Hematoxilina de Harris	
	puntaje	%	puntaje	%
Coloración del borde nuclear	391	97.75	392	98.0
Coloración de la Cromatina	377	94.25	392	98.0
Diferenciación del Citoplasma	383	95.75	389	97.25
Diferenciación del Fondo del frotis	379	94.75	391	97.75
Total	1,530	95.62	1,564	97.75

Figura 8

Evaluación por categorías de las dos hematoxilinas



Nota: En la tabla y figura 8 se muestra la descripción referente a la evaluación de las 04 categorías que demuestra similar evaluación de acuerdo a los porcentajes alcanzados, los que determinan un mínimo rango diferencial que va desde el 3,75% en la calidad de la coloración de la cromatina hasta un solo 0,25% en la coloración del borde nuclear, en la diferenciación del citoplasma solo hay una diferencia de 1,50% y en la diferenciación del fondo del frotis presenta una diferencia de 3%.

4.1.6 Evaluación General de Hematoxilina con Agua Oxigenada y Hematoxilina de Harris

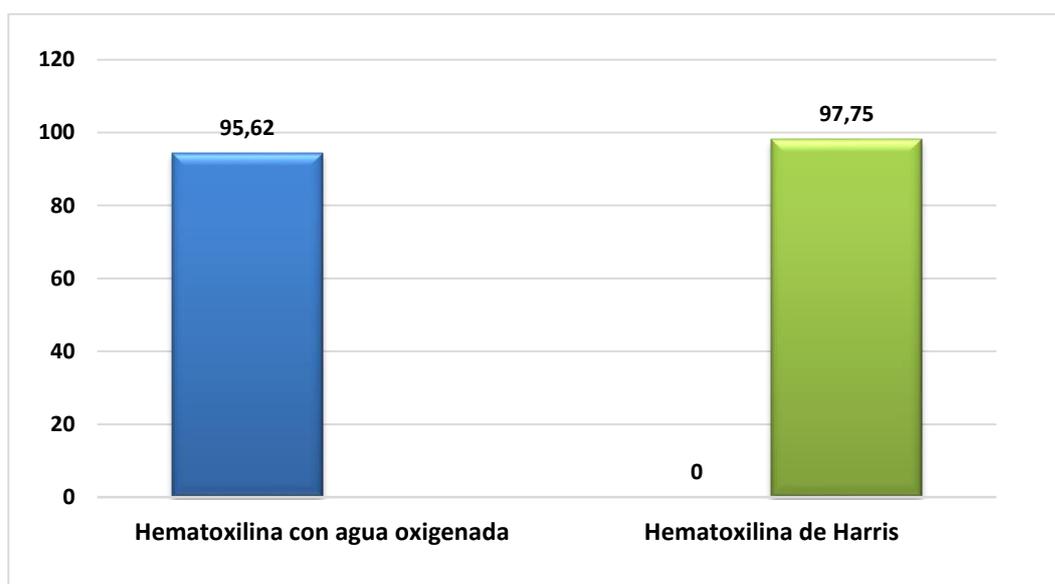
Tabla 9

Evaluación general de las dos Hematoxilinas

	Hematoxilina con agua oxigenada			Hematoxilina de Harris		
	n	puntaje	%	n	puntaje	%
Total	100	1,530	95,62	100	1,564	97,75

Figura 9

Evaluación general de las dos Hematoxilinas



Nota: En la tabla y figura 9 se muestra la descripción comparando las dos técnicas de coloración que se realizaron en las 200 láminas, se observó que la Hematoxilina con agua oxigenada alcanza un 95,62% mientras que la Hematoxilina de Harris un 97,75 % existiendo mínima diferencia de 2,13%.

4.2. Resultados Inferenciales

Probar la hipótesis y pruebas paramétricas y comparaciones.

4.2.1 Evaluación general de la Hematoxilina con agua oxigenada y Hematoxilina de

Harris

Tabla 10

Evaluación cruzada de las Hematoxilinas

		Evaluación general de la Hematoxilina de Harris							Total	
		5	10	12	13	14	15	16		
Evaluación general de la Hematoxilina Con agua oxigenada	5	Recuento	1	0	0	0	0	0	0	1
		% del total	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,0%
	10	Recuento	0	1	0	0	0	0	0	1
		% del total	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,0%
	12	Recuento	0	0	1	0	0	0	0	1
		% del total	0,0%	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,0%
	13	Recuento	0	0	0	1	0	0	2	3
		% del total	0,0%	0,0%	0,0%	1,0%	0,0%	0,0%	2,0%	3,0%
	14	Recuento	0	0	0	0	2	0	6	8
		% del total	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,0%	0,0%	6,0%	8,0%
	15	Recuento	0	0	0	0	0	8	16	24
		% del total	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	8,0%	16,0%	24,0%
	16	Recuento	0	0	0	0	0	0	62	62
		% del total	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	62,0%	62,0%
	Total	Recuento	1	1	1	1	2	8	86	100
		% del total	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	2,0%	8,0%	86,0%	100,0%

Tabla 11*Estadísticos descriptivos de la evaluación general de los colorantes*

		Evaluación general de la Hematoxilina h2o2	Evaluación general de la Hematoxilina de Harris
N	Válido	100	100
	Perdidos	0	0
Media		15,30	15,64
Error estándar de la media		,145	,137
Mediana		15,56 ^a	15,85 ^a
Moda		16	16
Desviación típ.		1,446	1,367
Varianza		2,091	1,869
Asimetría		-4,469	-5,879
Error estándar de asimetría		,241	,241
Curtosis		27,063	40,129
Error estándar de curtosis		,478	,478
Rango		11	11
Mínimo		5	5
Máximo		16	16
Suma		1530	1564

a. Se ha calculado a partir de datos agrupados.

Hipótesis General

H1: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

H0: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

Tabla 12

Coeficiente de correlación de Spearman de la evaluación general de las dos Hematoxilinas

		Correlaciones	
		Evaluación general de la Hematoxilina con agua oxigenada	Evaluación general de la Hematoxilina de Harris
Rho de Spearman	Evaluación general de la Hematoxilina con agua oxigenada	Coeficiente de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	,546**
		N	100
Evaluación general de la Hematoxilina de Harris	Evaluación general de la Hematoxilina de Harris	Coeficiente de correlación	,546**
		Sig. (bilateral)	1,000
		N	100

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Nota: La tabla 12 muestra el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,546$); donde existe una correlación positiva considerable en la coloración general entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que dice; la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

Toma de decisiones:

Existe correlación entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris. Por lo tanto, la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

4.2.2 Coloración del Borde Nuclear

Hipótesis específica 1

H1: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.

H0: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no es útil para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.

Tabla 13

Correlación de Spearman de la Coloración del borde nuclear

Correlaciones

			Coloración del borde nuclear con Hematoxilina-H2O2	Coloración del borde nuclear con Hematoxilina de Harris
Rho de Spearman	Coloración nuclear con Hematoxilina- H2O2	Coeficiente de correlación	1,000	,923**
		Sig. (bilateral)	.	,000
		N	100	100
	Coloración nuclear con Hematoxilina de Harris	Coeficiente de correlación	,923**	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	.
		N	100	100

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Nota: La tabla 13 muestra el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,923$); donde existe una correlación positiva perfecta en la coloración del borde nuclear entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que dice; la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.

4.2.3 Coloración de la Cromatina

Hipótesis específica 2

H1: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.

H0: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no es útil para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.

Tabla 14*Correlación de Spearman de la coloración de la cromatina*

correlaciones			Coloración de la cromatina con Hematoxilina-H2O2	Coloración de la cromatina con Hematoxilina de Harris
Rho de Spearman	Coloración de la cromatina con Hematoxilina-H2O2	Coefficiente de correlación	1,000	,521**
		Sig. (bilateral)	.	,000
		N	100	100
	Coloración de la cromatina con Hematoxilina de Harris	Coefficiente de correlación	,521**	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	.
		N	100	100

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Nota: La tabla 14 muestra el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,521$); donde existe una correlación positiva considerable en la coloración del borde nuclear entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que dice; la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.

4.2.4 Diferenciación del Citoplasma

Hipótesis específica 3

H1: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.

H0: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada si interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.

Tabla 15*Correlación de Spearman de la diferenciación del citoplasma*

		Correlaciones		
			Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina-H ₂ O ₂	Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina de Harris
Rho de Spearman	Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina-H ₂ O ₂	Coefic. de correlación	1,000	,755**
		Sig. (bilateral)	.	,000
		N	100	100
	Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina de Harris	Coefic. de correlación	,755**	1,000
		Sig. (bilateral)	,000	.
		N	100	100

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Nota: La tabla 15 muestra el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,755$); donde existe una correlación positiva considerable en la diferenciación del citoplasma entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que dice; La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.

4.2.5 Diferenciación del fondo del frotis

Hipótesis específica 4

H1: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea el fondo del frotis cervical.

H0: La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada si colorea el fondo del frotis cervical.

Tabla 16*Correlación de Spearman de la diferenciación del fondo del frotis*

Correlaciones			
		Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina-H2O2	Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina de Harris
Rho de Spearman	Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina-H2O2	Coef. de correlación	1,000
		Sig. (bilateral)	.
		N	100
	Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina de Harris	Coef. de correlación	,549**
		Sig. (bilateral)	,000
		N	100

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Nota: La tabla 16 muestra el coeficiente de correlación de Spearman (Rho = 0,549); donde existe una correlación positiva considerable en la diferenciación del fondo del frotis entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que dice; la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea el fondo del frotis cervical.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de la investigación demuestran que existe correlación entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris en la coloración nuclear de las células en frotis cervical; muestra el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,546$); donde resulta que existe una correlación positiva considerable, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$. Estos resultados permiten afirmar que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical.

Con ello se puede determinar que el agua oxigenada es un agente oxidante útil para oxidar inmediatamente el colorante de la Hematoxilina; este efecto oxidante fue demostrado por: Acevedo, Laura, Gómez, (2014), cuyo objetivo fue evaluar la eficiencia del método de oxidación con peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) para reducir la concentración de cianuro libre, y del sulfuro de sodio para precipitar mercurio iónico presentes en soluciones acuosas. Con el peróxido de hidrógeno se logró una oxidación de cianuro cercana al 98,5%.

Se evaluó la normalidad de la distribución de los datos, para lo cual se utilizó la prueba de Kolmogorov – Smirnov. Según los resultados los datos no tenían distribución normal. Por lo que se tomó la decisión de utilizar una prueba no paramétrica como el coeficiente de correlación de ρ (rho) de Spearman para analizar la correlación de las variables de estudio.

Al contrastar la hipótesis específica 1 se cumple con el objetivo propuesto y se concluye que el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,923$); muestra que existe una correlación positiva perfecta en la coloración del borde nuclear entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se afirma que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.

Según los resultados de la prueba de hipótesis específica 2, se comprobó que el

coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,521$); indica que existe una correlación positiva considerable en la coloración de la cromatina entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se confirma que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada es útil para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.

Según los resultados de la prueba de hipótesis específica 3, muestra el coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,755$); donde existe una correlación positiva considerable en la diferenciación del citoplasma entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se afirma que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.

Al contrastar la hipótesis específica 4, muestra el valor hallado del coeficiente de correlación de Spearman ($Rho = 0,549$); donde existe una correlación positiva considerable en la diferenciación del fondo del frotis entre la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada y la Hematoxilina de Harris, y es estadísticamente significativa ($p = 0,000$). Valor de $P = 0,000 < 0,05$ por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se afirma que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea el fondo del frotis cervical.

VI. CONCLUSIONES

- Según los resultados obtenidos se demuestra y se concluye que la acción oxidante obtenida con el agua oxigenada en el colorante de hematoxilina es muy similar a la acción oxidante del óxido rojo de mercurio de la hematoxilina de Harris, por lo que es útil como colorante nuclear.
- En los cuatro parámetros analizados podemos concluir que el mejor resultado alcanzado de una correlación positiva perfecta fue en la coloración del borde nuclear, lo que indica que la capacidad de adherencia de la hematoxilina en las estructuras nucleares es la misma en ambos colorantes.
- La hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea las estructuras citoplasmáticas de las células, evidenciando clara diferenciación de las células provenientes de los diferentes estratos del epitelio cervical.
- Se determina que la hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea las estructuras extracelulares como mucinas, hematíes, detritus del fondo del frotis cervical.
- Las estructuras de la cromatina coloreadas con la hematoxilina oxidada con agua oxigenada son nítidos y claras que permiten una diferenciación concisa para una buena interpretación del diagnóstico.

VII. RECOMENDACIONES

- Aplicar la hematoxilina oxidada con agua oxigenada en la coloración de núcleos de células en cortes histológicos y determinar su grado de afinidad.
- Comprobar las diferencias significativas en la aplicación del colorante de hematoxilina oxidada con agua oxigenada en frotis cervical frescos frente a frotis cervical fijados, ya que el trabajo fue aplicado a frotis fijados.
- Realizar estudios sobre la duración en almacenamiento de acción eficaz en el tiempo en días, meses y años.
- Las autoridades y gestores de salud recomienden la adquisición de hematoxilina sin componente de mercurio.
- Los Laboratorios de citología deben preparar sus propios colorantes de Hematoxilina usando oxidantes que no sean derivados del mercurio.
- Que las autoridades nacionales promuevan normas y leyes para disminuir y/o eliminar el uso de insumos, equipos o instrumentos que contengan el mercurio en los establecimientos de salud.

VIII: REFERENCIAS

- Acevedo Afanador, L. Gómez Álvarez, J. (2014). Oxidación de cianuro con peróxido de hidrógeno y precipitación de mercurio con sulfuro de sodio en efluentes provenientes de la minería de oro [Tesis de Licenciatura, Universidad Industrial de Santander]. Escuela de Química Bucaramanga, <http://noesis.uis.edu.co> handle
- Aguilar & Durán (2011) Química recreativa con agua oxigenada Centro de Ciencia Principia, Málaga, España pp 447. Revista <https://RevistasUca.es/index.php/eureka/article>
- Ali, Orchard & Mallipin (2017). Hematoxylin in History - The Heritage of
- Anculle Quispe, F & Puma Villanueva, S. (2015). Aplicación del método de oxidación química con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) para la reducción del cianuro presente en los efluentes de la planta de beneficios Otrami s.a. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional San Agustín]. Escuela de Ingeniería Química, <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/9712>
- Beiginejad, H. (2006). Electrochemical oxidation of hematoxylin – Experimental and theoretical studies in an aqueous acidic medium. Journal of Electroanalytical Chemistry. 76-83.
- EcuRed (2018). Oxido de Mercurio (II) (<http://Ecured.Cu/oxidomericurico.blogspot.com/>
- Fárez C, Landi P, Parra A, (2011). Reducir la cantidad de cianuro en las aguas residuales del galvanizado mediante un proceso de oxidación por peróxido de oxígeno [Tesis de Licenciatura Universidad Politécnica Salesiana] <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/1083>
- Gennaro, A. (2003). Remington Farmacia (20a ed.). Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- González, L. (2016). Estudio de la producción “in situ” de Peróxido de Hidrógeno mediante el uso de Células de Combustible Microbiana [Tesis de Maestría, Universidad

Politécnica de Cartagena]. <https://repositorio.uptc.es/handle/tfm-gon-est>.

- Harada, M. (2009). Lessons of Minamata disease--a man's worth. *Nihon Hansenbyo Gakkai zasshi Japanese journal of leprosy: official organ of the Japanese Leprosy Association* 78(1):55-60.
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2010). *Metodología de la investigación*. (5ª ed.) México: Editorial Mc Graw Hill.
- Hurtado, N (2016) efectividad del peróxido de hidrógeno al 3% como agente desinfectante sobre el biofilm del cepillo dental utilizado por estudiantes de sexto a décimo de básica de la unidad educativa saul'o, [Tesis de titulación, Universidad Central del Ecuador], <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6673>
- INS. (2005) Manual de Procedimientos para el Diagnostico en Citología Uterina, serie de normas técnicas N° 43 Lima, ed. CEPREDIM, p p. 31-33
- Kumar, G. L.; Kiernan, J.A.; Education Guide. *Special Stains and H & E*, 2ª ed.; Dako, North America, Carpintería, Estados Unidos, 2010
- Landázuri D., Muñoz G. J. (2013). *Disolución de Sulfuros Metálicos Utilizando Peróxido de Hidrógeno como Agente Oxidante en Medio* [Tesis de Licenciatura, Universidad San Francisco de Quito]. <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/2965>.
- León M. (2013) Manual de Procedimientos y Diagnostico de "Citología Cérvico vaginal" de la Caja Petrolera de Salud Departamental La Paz.
- Llewellyn B. D. (2009) *Nuclear staining with alum hematoxylin*. *Biotechnic & Biotechnic & Histochemistry*
- Llewellyn B.D.(2013) *Hematoxylin Formulae*, <https://stainsfile.info/downloads/hxformulas.pdf>
- Loustalot M, Espinoza R, Blas I, (2006). Manual de Procedimientos para la Toma de Muestra de Citología Cervical, Mexico D.F. Mexico 1 Edic. pp 11, 13, 21, 26

Medialdea JM., Arnáiz C. y Díaz E. (2005) Permanganato potásico: un potente y versátil oxidante,

https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/50410/TA_arnaiz_2005_permanganato.

MINSA,(2013) Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la intoxicación por mercurio RM N° 757, editorial Estrategia sanitaria.

<http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3245.pdf>

OMS, (2016). El mercurio y la salud. Nota descriptiva N° 361 centro de prensa

OMS, (2017). El mercurio y la salud. <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/mercury-and-health>

PNUMA (2002). Productos Químicos “Evaluación mundial sobre el mercurio” Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, Ginebra, Suiza, pp.303

Reyes, C., & Sánchez, H. (2002). Metodología y Diseño en la Investigación Científica. Lima, Perú: Edit. Universitaria.

Santos, S. (2017) Tinción Hematoxilina-Eosina 16-19, 22
<http://espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ>

Técnicas histológicas, (2019) Protocolos. Hematoxilina. <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/protocolos/a-hematoxilina.ph>

ANEXOS

Anexo A: Matriz de Consistencia

TEMA	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DEL ESTUDIO	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES DE ESTUDIO	INDICADORES	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN
<p><i>Título:</i></p> <p>UTILIDAD DE LA HEMATOXILINA OXIDADADA CON AGUA OXIGENADA COMO COLORANTE NUCLEAR EN EL MÉTODO DE COLORACIÓN DE PAPANICOLAOU EN FROTIS CERVICAL</p>	<p><i>Problema general:</i></p> <p>¿Cuál es la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical?</p> <p><i>Problemas específicos:</i></p> <p>¿Cuál será la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical?</p> <p>¿Cuál será la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical?</p> <p>¿Interferirá la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical?</p> <p>¿Coloreará la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada el fondo del frotis cervical?</p>	<p><i>1. Objetivo general:</i></p> <p>Determinar la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical</p> <p><i>2. Objetivos específicos:</i></p> <p>Determinar la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.</p> <p>Determinar la utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.</p> <p>Demostrar que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiera en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.</p> <p>Demostrar que la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea el fondo del frotis cervical.</p>	<p><i>Hipótesis general:</i></p> <p>La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada será útil como colorante nuclear en el método de coloración de Papanicolaou en frotis cervical</p> <p><i>Hipótesis específica:</i></p> <p>La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada será útil para la coloración del borde nuclear de las células en frotis cervical.</p> <p>La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada será útil para la coloración de la cromatina de las células en frotis cervical.</p> <p>La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no interfiere en la coloración del citoplasma de las células en frotis cervical.</p> <p>La Hematoxilina oxidada con agua oxigenada no colorea el fondo del frotis cervical.</p>	<p><i>1. Variables independiente</i></p> <p>1.1 Hematoxilina oxidada con agua oxigenada</p> <p><i>2. Variables dependientes:</i></p> <p>2.1. Borde nuclear</p> <p>2.2. Cromatina</p> <p>2.3. Citoplasma</p> <p>2.4. Fondo del frotis</p>	<p>Coloración del borde nuclear</p> <p>Coloración de la cromatina</p> <p>Diferenciación del citoplasma</p> <p>Diferenciación de fondo del frotis</p>	<p><i>1. Niveles de estudio:</i> Según el enfoque: Cuantitativo Según el nivel: Aplicada Según el tipo: Descriptivo</p> <p><i>1. Diseño:</i> comparativo</p> <p><i>Universo:</i> Láminas de cérvix que ingresan a Laboratorio Citología del CMI San José en marzo del 2019</p> <p><i>Muestra:</i> 100 láminas de frotis cervical por duplicado.</p> <p><i>Muestreo:</i> Probabilístico por aleatorio simple</p> <p><i>Análisis de datos:</i> Inferencial: SPSS Prueba de hipótesis X 2 y coeficiente de spearman</p>

Anexo B: Instrumento de Evaluación

A cada muestra de lámina por dimensión se le asignará un puntaje el que considere el

N°	Dimensiones / Items	Puntaje			
		1	2	3	4
	Dimensión 1. Calidad de la coloración del borde nuclear				
1	(1) Malo: no se distingue el borde nuclear				
2	(2) Regular: el borde nuclear muy pálido.				
3	(3) Bueno: el borde nuclear poco pálido.				
4	(4) Excelente: el borde nuclear de color morado-azul				
	Dimensión 2. Calidad de la coloración de la cromatina:				
5	(1) Malo: no se distingue los gránulos de cromatina.				
6	(2) Regular: poca distinción de los gránulos de cromatina.				
7	(3) Bueno: buena distinción de los gránulos de la cromatina.				
8	(4) Excelente: aspecto reticular y distribución clara de la cromatina				
	Dimensión 3. Calidad de diferenciación del citoplasma:				
9	(1) Malo: no hay diferenciación del citoplasma.				
10	(2) Regular: escasa diferenciación del citoplasma.				
11	(3) Bueno: diferenciación aceptable del citoplasma.				
12	(4) Excelente: clara diferenciación del citoplasma				
	Dimensión 4. Calidad de diferenciación de fondo del frotis				
13	(1) Malo: no hay diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis				
14	(2) Regular: escasa diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis				
15	(3) Bueno: diferenciación aceptable de estructuras y componentes de fondo del frotis				
16	(4) Excelente: clara diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis				

A cada muestra de lámina por dimensión se le asignará un puntaje el que considere el evaluador, que va de una escala de 1 a 4. Una muestra puede llegar a sumar hasta 16 en los 4 dimensiones.

Para la evaluación de cada lámina se considerará los siguientes valores

Malo	Regular	Bueno	Excelente	Evaluación total
Puntaje 1 = 25	Puntaje 2 = 50	Puntaje 3 = 75	Puntaje 4 = 100	sumatoria = valor/4

100 muestras en cada dimensión pueden alcanzar un valor de 400 = 100%

Anexo D:

Valores en el Instrumento de evaluación

Evaluación de la coloración de Hematoxilina con agua oxigenada vs Hematoxilina de Harris

Láminas de frotis de cérvix	Calidad de coloración del borde nuclear				Calidad de coloración de la cromatina				Calidad de diferenciación del citoplasma				Calidad de diferenciación del fondo del frotis				Valoración Total			
	Hematoxilina con agua oxigenada		Hematoxilina de Harris		Hematoxilina con agua oxigenada		Hematoxilina de Harris		Hematoxilina con agua oxigenada		Hematoxilina de Harris		Hematoxilina con agua oxigenada		Hematoxilina de Harris		Hematoxilina con agua oxigenada		Hematoxilina de Harris	
	/4	/100	/4	/100	/4	/100	/4	/100	/4	/100	/4	/100	/4	/100	/4	/100	/16	/100	/16	/100
1	4	100	4	100	3	75	3	75	3	75	3	75	4	100	4	100	14	87,5	14	87,5
2	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	3	75	4	100	4	100	15	93,75	15	93,75
3	4	100	4	100	2	50	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	14	87,5	16	100
4	3	75	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	15	93,75
5	3	75	3	75	4	100	4	100	3	75	3	75	4	100	4	100	14	87,5	14	87,5
6	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	16	100
7	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
8	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
9	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
10	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
11	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
12	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
13	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	3	75	4	100	4	100	15	93,75	15	93,75
14	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
15	1	25	1	25	1	25	1	25	1	25	1	25	2	50	2	50	5	31,25	5	31,25
16	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
17	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
18	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
19	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
20	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
21	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
22	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
23	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
24	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	3	75	4	100	4	100	15	93,75	15	93,75
25	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
26	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
27	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
28	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
29	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
30	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100

31	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
32	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
33	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
34	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
35	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
36	4	100	4	100	2	50	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	13	81,25	16	100
37	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
38	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
39	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
40	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
41	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
42	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	15	93,75	16	100
43	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
44	4	100	4	100	3	75	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	15	93,75
45	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
46	4	100	4	100	2	50	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	14	87,5	16	100
47	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
48	3	75	3	75	2	50	2	50	3	75	3	75	2	50	2	50	10	62,5	10	62,5
49	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
50	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	16	100
51	4	100	4	100	3	75	4	100	3	75	4	100	3	75	4	100	13	81,25	16	100
52	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
53	4	100	4	100	3	75	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	14	87,5	16	100
54	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
55	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
56	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
57	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
58	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
59	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	16	100
60	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
61	4	100	4	100	3	75	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	14	87,5	16	100
62	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	16	100
63	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
64	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
65	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	14	87,5	16	100
66	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
67	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
68	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	3	75	15	93,75	15	93,75
69	4	100	4	100	3	75	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	14	87,5	16	100
70	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	4	100	4	100	15	93,75	16	100
71	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
72	3	75	3	75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	15	93,75	15	93,75
73	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
74	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
75	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
76	3	75	3	75	3	75	3	75	3	75	3	75	3	75	3	75	12	75	12	75

77	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	4	100	15	93,75	16	100
78	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
79	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	3	75	3	75	15	93,75	15	93,75
80	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
81	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
82	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
83	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
84	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
85	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
86	3	75	4	100	4	100	4	100	3	75	3	75	3	75	3	75	2	50	13	81,25	13	81,25
87	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
88	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
89	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
90	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
91	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
92	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
93	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
94	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
95	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
96	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
97	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
98	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
99	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	4	100	16	100	16	100
Total	391	9775	392	9800	377	9425	392	9800	383	9575	389	9725	379	9475	391	9775	1530	9562,5	1564	9775		

CERTIFICADO DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

Validez de contenido del instrumento que mide la "Utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el Método de Coloración de Papanicolaou en frotis cervical".

Nº	Dimensiones / Items	Pertinencia		Relevancia		Claridad		Sugerencias y/o correcciones
		si	no	si	no	si	no	
	Dimensión 1. Calidad de la coloración del borde nuclear							
	Anexo E: (1) Malo: no se distingue el borde nuclear	X		X		X		
2	(2) Regular: el borde nuclear muy pálido.	X		X		X		
3	(3) Bueno: el borde nuclear poco pálido.	X		X		X		
4	(4) Excelente: el borde nuclear de color morado-azul	X		X		X		
	Dimensión 2. Calidad de la coloración de la cromatina							
5	(1) Malo: no se distingue los gránulos de cromatina.	X		X		X		
6	(2) Regular: poca distinción de los gránulos de cromatina.	X		X		X		
7	(3) Bueno: buena distinción de los gránulos de la cromatina.	X		X		X		
8	(4) Excelente: aspecto reticular y distribución clara de la cromatina	X		X		X		
	Dimensión 3. Calidad de diferenciación del citoplasma							
9	(1) Malo: no hay diferenciación del citoplasma.	X		X		X		
10	(2) Regular: escasa diferenciación del citoplasma.	X		X		X		
11	(3) Bueno: diferenciación aceptable del citoplasma.	X		X		X		
12	(4) Excelente: clara diferenciación del citoplasma	X		X		X		
	Dimensión 4. Calidad de diferenciación de fondo del frotis							
13	(1) Malo: no hay diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
14	(2) Regular: escasa diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
15	(3) Bueno: diferenciación aceptable de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
16	(4) Excelente: clara diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		

Precisar si hay suficiencia: Suficiente , no suficiente

Opinión de aplicabilidad: Aplicable , Aplicable después de corregir , no aplicable

Apellidos y Nombres del juez validador: Dr., (Mg.) Lic. GUERRERO QUIROGA MELVY LISSETTE..... DNI 000716382 (cc) Fecha: 05 de 04 2019..

Pertinencia: ítem corresponde al tema que estamos tratando de evaluar. ESPECIALISTA ANATOMIA PATOLOGICA.

Relevancia: ítem es apropiado para representar a la dimensión específica.

Claridad: ítem se entiende con claridad, es conciso, exacto y directo


 Dra. Melvy Guerrero
 Med. Patóloga Oncológica y Especialidad
 C.M.P. 66325 RNE

CERTIFICADO DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

Validez de contenido del instrumento que mide la "Utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el Método de Coloración de Papanicolaou en frotis cervical".

N°	Dimensiones / Items	Pertinencia		Relevancia		Claridad		Sugerencias y/o correcciones
		si	no	si	no	si	no	
Dimensioe 1. Calidad de la coloración del borde nuclear								
1	(1) Malo: no se distingue el borde nuclear	X		X		X		
2	(2) Regular: el borde nuclear muy pálido.	X		X		X		
3	(3) Bueno: el borde nuclear poco pálido.	X		X		X		
4	(4) Excelente: el borde nuclear de color morado-azul	X		X		X		
Dimensioe 2. Calidad de la coloración de la cromatina								
5	(1) Malo: no se distingue los gránulos de cromatina.	X		X		X		
6	(2) Regular: poca distinción de los gránulos de cromatina.	X		X		X		
7	(3) Bueno: buena distinción de los gránulos de la cromatina.	X		X		X		
8	(4) Excelente: aspecto reticular y distribución clara de la cromatina	X		X		X		
Dimensioe 3. Calidad de diferenciación del citoplasma								
9	(1) Malo: no hay diferenciación del citoplasma.	X		X		X		
10	(2) Regular: escasa diferenciación del citoplasma.	X		X		X		
11	(3) Bueno: diferenciación aceptable del citoplasma.	X		X		X		
12	(4) Excelente: clara diferenciación del citoplasma	X		X		X		
Dimensioe 4. Calidad de diferenciación de fondo del frotis								
13	(1) Malo: no hay diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
14	(2) Regular: escasa diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
15	(3) Bueno: diferenciación aceptable de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
16	(4) Excelente: clara diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		

Precisar si hay suficiencia: Suficiente , no suficiente

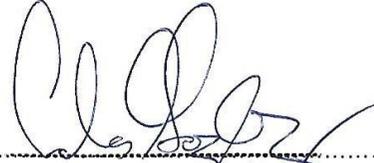
Opinión de aplicabilidad: Aplicable , Aplicable después de corregir , no aplicable

Apellidos y Nombres del juez validador: (Dr.) Mg., Lic. Gonzalez Muller, Carlos Alberto DNI. 10065440 Fecha: 9 de 5 de 2019

Pertinencia: ítem corresponde al tema que estamos tratando de evaluar.

Relevancia: ítem es apropiado para representar a la dimensión específica.

Claridad: ítem se entiende con claridad, es conciso, exacto y directo



 Firma de Carlos Alberto González Muller Especialidad
 Médico Especialista en
 Anatomía Patológica
 C.M.P. 35779 R.N.E. 16615

CERTIFICADO DE VALIDACION DE INSTRUMENTO

Validez de contenido del instrumento que mide la "Utilidad de la Hematoxilina oxidada con agua oxigenada como colorante nuclear en el Método de Coloración de Papanicolaou en frotis cervical".

N°	Dimensiones / Items	Pertinencia		Relevancia		Claridad		Sugerencias y/o correcciones
		si	no	si	no	si	no	
	Dimensioe 1. Calidad de la coloración del borde nuclear							
1	(1) Malo: no se distingue el borde nuclear	X		X		X		
2	(2) Regular: el borde nuclear muy pálido.	X		X		X		
3	(3) Bueno: el borde nuclear poco pálido.	X		X		X		
4	(4) Excelente: el borde nuclear de color morado-azul	X		X		X		
	Dimensioe 2. Calidad de la coloración de la cromatina							
5	(1) Malo: no se distingue los gránulos de cromatina.	X		X		X		
6	(2) Regular: poca distinción de los gránulos de cromatina.	X		X		X		
7	(3) Bueno: buena distinción de los gránulos de la cromatina.	X		X		X		
8	(4) Excelente: aspecto reticular y distribución clara de la cromatina	X		X		X		
	Dimensioe 3. Calidad de diferenciación del citoplasma							
9	(1) Malo: no hay diferenciación del citoplasma.	X		X		X		
10	(2) Regular: escasa diferenciación del citoplasma.	X		X		X		
11	(3) Bueno: diferenciación aceptable del citoplasma.	X		X		X		
12	(4) Excelente: clara diferenciación del citoplasma	X		X		X		
	Dimensioe 4. Calidad de diferenciación de fondo del frotis							
13	(1) Malo: no hay diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
14	(2) Regular: escasa diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
15	(3) Bueno: diferenciación aceptable de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		
16	(4) Excelente: clara diferenciación de estructuras y componentes de fondo del frotis	X		X		X		

Precisar si hay suficiencia: Suficiente , no suficiente

Opinión de aplicabilidad: Aplicable Aplicable después de corregir , no aplicable

Apellidos y Nombres del juez validador: Dr., (Mg.) Lic. Coscos (Horez) Sobina, Norma DNI. 089 42473 Fecha: 05 de 04 de 2019.

Pertinencia: ítem corresponde al tema que estamos tratando de evaluar.

Relevancia: ítem es apropiado para representar a la dimensión específica.

Claridad: ítem se entiende con claridad, es conciso, exacto y directo


 ... LIC. NORMA CASAS CHAVEZ ...
 Firma del especialista Informante y Especialidad

Anexo F: Pruebas cruzadas

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Coloración nuclear con Hematoxilina-H2O2 * Coloración nuclear con Hematoxilina de Harris	100	100,0%	0	0,0%	100	100,0%

Tabla cruzada Coloración nuclear con Hematoxilina-H2O2 * Coloración nuclear con Hematoxilina de Harris

		Coloración nuclear con Hematoxilina de Harris			Total	
		malo	bueno	excelente		
Coloración nuclear con Hematoxilina-H2O2	malo	Recuento	1	0	0	1
		% del total	1,0%	0,0%	0,0%	1,0%
bueno		Recuento	0	5	1	6
		% del total	0,0%	5,0%	1,0%	6,0%
excelente		Recuento	0	0	93	93
		% del total	0,0%	0,0%	93,0%	93,0%
		Recuento	1	5	94	100

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Coloración de la cromatina con Hematoxilina-H2O2 * Coloración de la cromatina con Hematoxilina de Harris	100	100,0%	0	0,0%	100	100,0%

Tabla cruzada Coloración de la cromatina con Hematoxilina-H2O2 * Coloración de la cromatina con Hematoxilina de Harris

Coloración de la cromatina con Hematoxilina de Harris	Total
---	-------

			malo	regular	bueno	excelente	
Coloración de la cromatina con Hematoxilina-H2O2	Malo	Recuento	1	0	0	0	1
		% del total	1,0%	0,0%	0,0%	0,0%	1,0%
	Regular	Recuento	0	1	0	3	4
		% del total	0,0%	1,0%	0,0%	3,0%	4,0%
	Bueno	Recuento	0	0	3	9	12
		% del total	0,0%	0,0%	3,0%	9,0%	12,0%
Excelente	Recuento	0	0	0	83	83	
	% del total	0,0%	0,0%	0,0%	83,0%	83,0%	
Total	Recuento	1	1	3	95	100	
	% del total	1,0%	1,0%	3,0%	95,0%	100,0%	

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina-H2O2 * Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina de Harris	100	100,0%	0	0,0%	100	100,0%

Tabla cruzada Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina-H2O2 * Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina de Harris

		Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina de Harris				Total
		malo	bueno	excelente		
Diferenciación del citoplasma con Hematoxilina-H2O2	Malo	Recuento	1	0	0	1
		% del total	1,0%	0,0%	0,0%	1,0%
	Bueno	Recuento	0	8	6	14
		% del total	0,0%	8,0%	6,0%	14,0%
	excelente	Recuento	0	0	85	85
		% del total	0,0%	0,0%	85,0%	85,0%
Total	Recuento	1	8	91	100	
	% del total	1,0%	8,0%	91,0%	100,0%	

Resumen de procesamiento de casos

Casos

	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina-H2O2 * Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina de Harris	100	100,0%	0	0,0%	100	100,0%

**Tabla cruzada Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina-H2O2 *
Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina de Harris**

		Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina de Harris			Total	
		regular	bueno	excelente		
Diferenciación del fondo del frotis con Hematoxilina-H2O2	Regular	Recuento	2	0	0	2
		% del total	2,0%	0,0%	0,0%	2,0%
	Bueno	Recuento	1	3	13	17
		% del total	1,0%	3,0%	13,0%	17,0%
	excelente	Recuento	0	0	81	81
		% del total	0,0%	0,0%	81,0%	81,0%
Total	Recuento	3	3	94	100	
	% del total	3,0%	3,0%	94,0%	100,0%	