



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

AGUARDIENTE COMO ALTERNATIVA EN LA COLORACIÓN DE  
HEMATOXILINA-EOSINA EN EL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN II-1

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el Título Profesional de Especialista en Histotecnología

**Autor:**

Villanueva Sosa, Adán Joél

**Asesora:**

Hurtado Concha, Arístides

ORCID: 000-0003-2384-4735

**Jurado:**

Cruz Gonzales, Gloria Esperanza

Rojas León, Roberto Eugenio

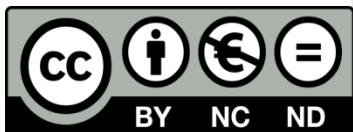
Sedano Gelvet, Eduardo Eulogio

**Lima - Perú**

**2023**

**Referencia:**

Villanueva, A. (2023). Aguardiente como alternativa en la coloración de hematoxilina-eosina en el hospital general de Jaén II-1 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/6648>



**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**

# **AGUARDIENTE COMO ALTERNATIVA EN LA COLORACIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA EN EL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN II-1**

**Línea de Investigación:**

**Salud Pública**

Tesis para optar el Título de Especialista en Histotecnología

**Autor:**

Villanueva Sosa, Adán Joel

**Asesor:**

Hurtado Concha, Arístides  
(ORCID: 000-0003-2384-4735)

**Jurado:**

Cruz Gonzales, Gloria Esperanza  
Rojas León, Roberto Eugenio  
Sedano Gelvet, Eduardo Eulogio

**Lima – Perú**

**2023**

## **Dedicatoria**

A mi dios bendito que el todo lo ve. A mis padres por su sacrificio constate y por estar siempre a mi lado. A mi hija Maryory y a mi esposa por su paciencia y su apoyo.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Federico Villarreal por la oportunidad brindada en la especialización como histotecnólogo, a los médicos patólogos Fabio Pérez Garfias, Katherine Giuliana Gómez Rázuri, licenciado TM. Jesús Manuel Purihuaman Garcia por la evaluación de juicios de expertos. A la Dra. Roció del pilar López Rodríguez, por su participación como experta en la observación de las láminas de estudio. A la Dr. Diana Mercedes Bolívar Joo directora del hospital general de Jaén II-2, por la autorización del proyecto de tesis y a los técnicos que laboran en el laboratorio de Anatomía Patológica Tec. Popuche Requejo Charly Omar, Tec. Davila Bautista Deanira del Hospital General de Jaén II-2, por su apoyo en buscar e identificar las muestras.

## Índice

Resumen.....	ix
Abstract.....	x
I. Introducción.....	1
1.1. Descripción y formulación del problema.....	2
1.2. Antecedentes .....	4
1.3. Objetivos .....	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos .....	4
1.4. Justificación.....	5
1.5. Hipótesis principal .....	5
II. Marco teórico .....	6
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación .....	6
2.1.1. En relación del aguardiente.....	6
2.1.2. En relación del alcohol.....	8
2.1.3. En relación con el método de coloración de hematoxilina-eosina.....	9
2.1.4. En relación con la hidratación en el método de coloración de hematoxilina-eosina.....	10
2.1.5. En relación con la deshidratación en el método de coloración de hematoxilina-eosina .....	11

2.1.6. Tipos de enlace con el tejido.....	11
III. Método .....	13
3.1. Tipo de Investigación.....	13
3.2. Ámbito temporal y espacial .....	13
3.3. Variables .....	13
3.4. Población y muestra .....	14
3.5. Instrumentos .....	15
3.6. Procedimientos .....	15
3.7. Análisis de datos .....	17
3.8. Consideraciones éticas .....	17
IV. Resultados.....	19
V. Discusión de resultados.....	23
VI. Conclusiones.....	25
VII. Recomendaciones .....	26
VIII. Referencias.....	27
IX. Anexos .....	32
Anexo A. Matriz de consistencia .....	32
Anexo B: Cuadro de operación de variables.....	34
Anexo C: Cálculos de tamaños de muestra – Software Epidat 4.2.....	35
Anexo D. Guía de recolección de datos. ....	36

Anexo E. Esta fue validada por tres jueces expertos .....	38
Anexo F: Aprobación por la directora y el jefe del Laboratorio de Anatomía Patológica.	44
Anexo G: Protocolos de los métodos de coloración. ....	45
Anexo H: Solicitud de participación del observador. ....	47
Anexo I. Procedimientos para la coloración con alcohol de 96% y 100% .....	48
Anexo J. Procedimientos para la coloración con aguardiente de caña de azúcar .....	49



**Índice de tablas**

Tabla 1 Comparación de la fuerza relativa de los enlaces entre el tinte y los componentes del tejido .....	12
Tabla 2 Características de la muestra estudiada. ....	20
Tabla 3 Tabla de contingencia entre el agente hidratante y deshidratante utilizado y las calidades de la coloración emitidas. ....	22

## Índice de figuras

Figura 1. Comparación entre los agentes hidratantes y deshidratantes. ....	21
Figura 2. Evidencia de la prueba piloto respecto a la coloración convencional y alternativo .....	50
Figura 3 Tejidos en parafina, que participan en el plan piloto.....	52
Figura 4 Concentración de alcohol del aguardiente de caña de azúcar. ....	53
Figura 5 Batería de coloración con aguardiente de caña de azúcar. ....	54
Figura 6 Medición del pH del aguardiente de caña de azúcar. ....	55
Figura 8 Equipo de procesar de tejidos. ....	56

## Resumen

**Objetivo:** Determinar la calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* en comparación con las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina. **Método:** Estudio no experimental, transversal y descriptivo – comparativo, se analizó la información estadística de forma estructurada con la finalidad de cuantificar el problema de investigación. **Resultados:** La prueba de hipótesis de Wilcoxon determinó que no se encontraron diferencias significativas de los puntajes de calidad de la coloración entre el Etanol y el Aguardiente, tanto para el aspecto global ( $p=0.083$ ), así como también como para el núcleo y el citoplasma ( $p=0.157$  y  $p=0.371$ , respectivamente). No obstante, para el medio extracelular, el puntaje de calidad de coloración del etanol fue significativamente mayor ( $p=0.025$ ) en comparación con el aguardiente. **Conclusión:** La calidad de la coloración generada en el núcleo y citoplasma por el aguardiente fue comparable con el etanol en secciones de tejidos hidratados y deshidratados. La calidad de la coloración generada en el medio extracelular por el aguardiente fue menor en comparación con el etanol. La calidad de la imagen histológica global generada por el aguardiente fue comparable con el etanol. Lo que implicaría que pueda utilizarse esta alternativa ecológica en los laboratorios de Histotecnología sin inconvenientes en el diagnóstico general.

**Palabras clave:** Aguardiente, alcohol, coloración, hematoxilina y eosina

## Abstract

**Objective:** To determine the coloring quality of sections of tissues hydrated and dehydrated with sugarcane brandy compared to tissue sections treated with 96% and 100% alcohols in the hematoxylin – eosin coloring method. **Method:** Non-experimental, cross-sectional and descriptive – comparative study, statistical information was analyzed in a structured way in order to quantify the research problem. **Results:** Wilcoxon's hypothesis test determined that no significant differences were found in coloration quality scores between Ethanol and Brandy, both for the overall appearance ( $p=0.083$ ), as well as for the nucleus and cytoplasm ( $p=0.157$  and  $p=0.371$ , respectively). However, for the extracellular medium, the coloration quality score of ethanol was significantly higher ( $p=0.025$ ) compared to brandy. **Conclusion:** The quality of the coloration generated in the nucleus and cytoplasm by the brandy was comparable with ethanol in sections of hydrated and dehydrated tissues. The quality of the coloration generated in the extracellular medium by the spirit was lower compared to ethanol. The quality of the overall histological image generated by the spirit was comparable to ethanol. This would imply that this ecological alternative can be used in Histotechnology laboratories without inconvenience in the general diagnosis.

**Key Words:** Aguardiente, alcohol, dye, hematoxylin and eosin

## I. Introducción

Al examinarse con el microscopio, los cortes finos de tejidos no teñidos tienen más o menos el mismo índice de refracción, por lo cual es difícil reconocerlos, cuando iluminamos una preparación sin teñir no se producen cambios apreciables en la longitud de onda de la luz que lo atraviesa, no permitiendo esencialmente distinguir los diferentes componentes del tejido. Es así que las diferentes estructuras que componen una sección histológica coloreada, permiten crear artificialmente un contraste de los distintos elementos o aspectos del tejido (Montuenga *et al.*, 2014). El propósito de la tinción es poder facilitar visualmente las diferentes estructuras y mejorar el contraste de los componentes celulares y tisulares bajo el microscopio de luz (Sepúlveda, 2014). Por lo cual, la demostración de varios productos, inclusiones o microorganismos celulares exige fundamentalmente el uso de procedimientos de tinción especializados.

Existen una serie de técnicas tinción, utilizadas con frecuencia variable en los laboratorios de patología, por lo que podemos subdividir las ficticiamente en tenciones de uso frecuente o rutina y tinciones de uso poco frecuente. Como tales, constituyen uno de los pilares importantes del trabajo diario del histotecnólogo, que incluyen conocimientos teóricos y prácticos imprescindibles y necesarios. La tinción de rutina por excelencia es la coloración con hematoxilina y eosina, es la más empleada en todos los hospitales del mundo por poseer gran poder de resolución, por ser una técnica económica, eficiente y fácil de realizar (Torres *et al.*, 2011).

La técnica de coloración de hematoxilina eosina, es un procedimiento de coloración de rutina en el laboratorio de anatomía patológica y que está constituido por *alcoholes de 96% y 100%*, estos alcoholes tienen como fundamento ayudar en el proceso de hidratar y deshidratar de los tejidos. Estos alcoholes son relativamente caros para un laboratorio de anatomía patológica, en comparación con el *aguardiente de caña de azúcar*, que es producto más económico. El

*aguardiente de caña de azúcar* es un producto más comercializado y común en la sierra y selva de nuestro territorio, por la accesibilidad que se tiene a la materia prima, la caña de azúcar, al cual es más factible de destilar y comercializar. El alcohol industrial es muy escaso en estas zonas por el difícil acceso y mucho menos se cuenta con material y reactivos para su elaboración.

Por lo anterior mencionado, la presente investigación tiene como propósito demostrar que la calidad de la coloración en las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratado con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina.

### **1.1. Descripción y formulación del problema**

La técnica de coloración hematoxilina-eosina, Gil (2021) indica que es la unión de dos colorantes, siendo un colorante básico la hematoxilina y colorante ácido la eosina y que permite distinguir efectivamente los núcleos y citoplasmas. Mientras que el Portal Química (2021) hacen mención que la hematoxilina – eosina, es esencialmente una prueba de rutina histológica y que tiene como finalidad teñir los tejidos y hacerles observables a través de un microscopio, la hematoxilina ayuda a colorear los núcleos de color morado o azul, mientras la eosina colorea de color rosado el citoplasma y otras las fibras de colágeno de color rojo.

Mientras que El Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martí Ferreyra – INMEC (2021) manifiestan que es una coloración topográfica rutinaria que permite esencialmente poder distinguir la morfología de las células y tejidos, donde principalmente existen una serie de variantes respecto al tipo de eosina y hematoxilina. Esto es respaldado por La Sociedad Argentina de Citología – SAC (2019) informan que la coloración de hematoxilina – eosina es una técnica de excelencia de la citología que es fundamental para la recolección del material correspondiente y

adecuada para el proceso de coloración, lo cual requiere de una serie de procedimientos bajo la utilización del *alcohol de 96% y 100%*.

En la coloración hematoxilina – eosina se emplea los *alcoholes de 96% y 100%*, el cual es utilizado en el laboratorio de anatomía patológica desde hace mucho tiempo de forma regular, dichos alcoholes tienen la finalidad de hidratar y deshidratar los tejidos de dicha coloración. Este producto es elaborado de manera industrial por el mecanismo de destilación y para alcanzar mayor concentración usan químicos que son dañinos para el personal que lo elabora y los personales que lo emplean de manera prolongada, dicho producto no es amigable con el medio ambiente. El alcohol industrial fue creado como disolventes de pinturas, entre ellas lacas y barnices. Así mismo, el alcohol industrial por su efecto provoca irritación y llega a dañar la piel, irritación de los ojos y la inhalación, provocando náuseas y mareos.

El alcohol industrial es un producto que es caro y poco accesible en las zonas más alejadas del territorio peruano. En cambio, el *aguardiente de caña de azúcar* es un producto natural y es amigable con el medio ambiente y es un producto más común por estas zonas de la sierra y selva del Perú. Proponiendo el aguardiente de caña de azúcar como alternativa en la coloración hematoxilina - eosina como medio de hidratación y deshidratación, con esta propuesta se encontraría una solución a la problemática del desabastecimiento del alcohol en los centros de salud y hospitales y crear un precedente para su utilización para el desarrollo efectivo de la coloración hematoxilina – eosina.

Por lo cual está tesis, se centra en encontrar una alternativa en la hidratación y deshidratación de la coloración hematoxilina- eosina y que no cuenta con precedentes de estudio claros, planteando el siguiente problema principal.

Por los motivos mencionados, esta tesis formuló el siguiente problema:

¿Cuál será la calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* en comparación con las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina - eosina?

## **1.2. Antecedentes**

La búsqueda de referencias bibliográficas no ha permitido encontrar ningún artículo científico relacionado con el tema (*aguardiente* como medio hidratante y deshidratante en método de coloración hematoxilina – eosina y en otros métodos de coloración). Lo cual hace que esta tesis sea considerada como inédita.

## **1.3. Objetivos**

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

Determinar la calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* en comparación con las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina.

### ***1.3.2. Objetivos específicos***

Determinar la calidad de la coloración del núcleo de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* en comparación con las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina.

Establecer la calidad de la coloración del citoplasma de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* en comparación con las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina.

Precisar la calidad de la coloración del medio extracelular de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* en comparación con las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina.



#### **1.4. Justificación**

La presente investigación involucra una justificación práctica, debido a que trata de remplazo de los *alcoholes de 96% y 100%* que es habitual en el laboratorio de anatomía patológica, la exposición a estos productos conlleva problemas a la salud de los profesionales, produciéndose irritación a la piel, ojos y mareos. Es por este motivo que se propone usar el *aguardiente de caña de azúcar* en la coloración hematoxilina - eosina, estableciendo una serie de acciones y procedimiento que validen su utilización a diferencia del alcohol tradicional o estándar.

Como se mencionó en el párrafo anterior, en este trabajo de investigación se busca encontrar una alternativa de hidratación y deshidratación utilizando el aguardiente de caña de azúcar en la coloración hematoxilina - eosina. Al finalizar esta tesis, se tendrá claro en emplear el *aguardiente de caña de azúcar* como hidratante y deshidratante en la coloración de hematoxilina – eosina. El *aguardiente de caña de azúcar* sería una excelente alternativa en casos de no contar con *alcohol 96% y 100%* industrial, debido a la poca accesibilidad a los pueblos y bajo presupuesto de los hospitales.

En la sierra y selva de nuestro territorio, el *aguardiente de caña de azúcar* es un producto de fácil de conseguir y que ayudaría a reducir el atraso de resultados de los pacientes, procedimientos médicos y tener un diagnóstico preciso y oportuno. Además, que el estudio, servirá como referencia para futuros especialistas en histología y tecnólogo médico, siendo de relevancia e importancia.

#### **1.5. Hipótesis principal**

La calidad de la coloración en las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con *aguardiente de caña de azúcar* serán iguales a las secciones de tejido tratados con *alcoholes de 96% y 100%* en el método de coloración hematoxilina – eosina

## II. Marco teórico

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

#### 2.1.1. *En relación del aguardiente*

La historia hace referencia que el aguardiente se difundió por los territorios de Persia, Siria, Egipto y Sicilia. En Europa el aguardiente comienza en el siglo XIII, en el país de Italia, en donde buscaban encontrar el elixir, así extrayendo del espíritu mágico presente en el vino y aseguraran su vida eterna. Dando origen a agua de vida y así empezando la destilación en todo Europa (Idict, 2019).

El aguardiente es una bebida alcohólica destilada de un fermentado alcohólico. Existe gran variedad de sustancias orgánicas agrícolas cuya pasta o zumo fermentado es usado para su extracción, dentro de lo que son: frutas, cereales, hortalizas y granos. Provenientes de multitud de plantas ricas en sacarosa, que es elemento esencial en la elaboración de la bebida, ya que a partir de esta surge el etanol, siendo en principio el aguardiente, alcohol diluido en agua. Así mismo, el aguardiente puede referirse prácticamente a cualquier bebida alcohólica obtenida por destilación, pero se les aplica mayoritariamente a aquellas que poseen entre 28% y 60% de grado o volumen de alcohol (Idict, 2019).

Mientras que la fabricación de bebidas destiladas se esparció por toda Europa y el mundo, dando paso a una gran variedad de sabores, colores y aromas, que se dan en función del tipo de destilación, de materia prima destilada y de aditivos. Estas propiedades cambian de una cultura a otra de acuerdo a las costumbres, así como el uso mismo del término aguardiente. Los aguardientes también se clasifican de acuerdo con su añejamiento o aroma y son cuatro tipos diferentes: Los jóvenes: Se podrá distinguir estos aguardientes porque presentan un color claro o cristalino. Los añejos: Estos se colocan en toneles de roble durante algún tiempo, por lo que sabrás que son

añejados al ver que cuentan con un color amarillento. Los aromáticos: Tienen un aroma producto a uvas, tales como moscatel o malvasía. Los Aromatizados: Para la elaboración se maceran hierbas medicinales, como el mirto, y se caracterizan por tener un color rojo o violeta (Ortiz, 2013).

La caña de azúcar tiene como nombre científico *Saccharum Officinarum*, es una planta que crece con tallos gruesos y fibrosos que llegan a crecer 3 a 5 metros de alto, que contienen una gran cantidad de sacarosa para la obtención de azúcar, se adaptan a casi todo tipo de suelo y los favorece los suelos francos, profundos y bien drenados, requieren gran cantidad de agua para su crecimiento y crece en climas tropicales y subtropicales (Ramírez, 2008).

La germinación es un proceso importante que se da entre 7 a 10 días después de la siembra y es un crecimiento lento. El macollamiento comienza alrededor de los 35 a 40 días después del platón, y se caracteriza por el brote de los tallos, siendo de gran importancia para el rendimiento. Rápido crecimiento es la etapa de formación y elongación, alcanzando su máxima área foliar en donde presenta gran material, de hoja seca. Maduración es la etapa donde la caña de azúcar sintetiza y acumula gran cantidad de sacarosa en los tallos, este desarrollo tiene como máximo 2 a 3 meses. Cosecha es la actividad de la recolección de la caña en donde ha dejado de crecer y las hojas se marchitan y caen, esto sucede entre los once y los dieciséis meses después de la plantación y se quema para facilitar la cosecha (El Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar, 2015).

Las cañas de azúcar son lavadas y cortadas en pequeños pedazos que pasan por unos molinos para la extracción del jugo, al terminar el procesamiento se agrega una cierta cantidad de agua para así facilitar la extracción del jugo. La destilación más común es en alambiques en donde se vierte el mosto y se aplica calor, para después de un tiempo el alcohol comienza a evaporarse y

este llega al condensador, y se obtiene un producto con mayor grado de alcohol. Añejamiento se realiza en recipientes de madera que le permite un aguardiente más potente (Pinterest, s.f.).

### **2.1.2. En relación del alcohol**

El etanol, también conocido como alcohol etílico, es un tipo de compuesto químico que se obtiene por presión y temperatura en un punto de ebullición de 78°, que tiene como característica ser un líquido incoloro e inflamable, cuando se disuelve en agua se suele utilizar para bebidas alcohólicas, su olor, color y sabor se debe a las diferentes sustancias químicas que se agregan (Cornejo, 2016).

El alcohol etílico tiene la siguiente fórmula  $C_2H_5OH$  o más conocido como etanol, que es una fuente de energía renovable y biodegradable, que es un líquido incoloro y de aroma agradable. Por destilación fraccionada el alcohol un puede llegar a más de 96° debido a que se mezcla con agua durante la evaporación. Para la obtención de grandes cantidades de alcohol se mezcla con un tipo de hongos llamado Sacaromicetos o también llamado levadura de cerveza que producen alcohol más dióxido de carbono. Para la industria de producción de alcohol no solo emplean la caña de azúcar, también material rico en almidón de maíz (Alvarez, 2011).

Hay dos formas de preparar alcohol etílico o etanol, un gran porcentaje de fabricación proviene de sacarosa de la caña de azúcar o también material rico en almidón y madera de árboles cítricos. En la preparación industrial, mediante hidratación catalítica de etileno proveniente del petróleo, que es gas incoloro y mezclado con ácido sulfúrico que funciona como catalizador, se produce alcohol etílico. El siguiente a la levadura de cerveza se le añade ácido sulfúrico, penicilina, fosfatos de amonio, sulfato de zinc, sulfato de magnesio, para así obtener 4 moléculas de alcohol (Alvarez, 2011).

### **2.1.3. En relación con el método de coloración de hematoxilina-eosina**

En función a la coloración de hematoxilina – eosina, esta es una de las técnicas más frecuentes y mayormente empleadas no solo con base en la citología, sino también en la histología, la cual comprende dos aspectos o partes relevantes en función a la tinción celular y citoplasmática. De esta manera, la hematoxilina – eosina, es una técnica con procedimientos que permite la aplicación en la coloración de núcleos, que se pueden visualizar a través del microscopio fotónico. Existen una serie de variantes, en función a la hematoxilina que se requiera o utilice:

**2.1.3.1. Hematoxilina.** Existen varios tipos de hematoxilina, pero la más empleada son la de Harris, que se emplea para determinar que, si la muestra se seca en el aire, así también la de Carazzi, que se emplea si la muestra se fija a través del alcohol de 96°, donde se colorea en el núcleo celular permitiendo una visualización de color azul o azul oscuro.

**2.1.3.2. Eosina.** Es principalmente el colorante que se emplea para su contraste, donde se colorea el citoplasma celular, para su visualización a través de tonos rosáceos o anaranjados. Así mismo, la coloración de hematoxilina – eosina, consiste en la tinción: a) Los núcleos a través de una hematoxilina, en función previamente oxidada y transformada respecto a hemateina, por lo cual se le añade una sustancia mordiente para la formación de una laca, donde los núcleos son coloreados en azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, permitiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se emplean. b) El citoplasma y material extracelular, esencialmente se utiliza la eosina basada en conferir los diferentes grados de color rosado (Velasco *et al.*, 2012).

De acuerdo al procedimiento para lograr la coloración hematoxilina – eosina, se tienen en cuenta las siguientes fases y procesos: La toma de la muestra: Es la calidad en la que una célula o principalmente un tejido refleja una imagen con las características morfológicas para su

procesamiento. La fijación: Es un proceso que tiene como propósito de mantener la estructura morfológica de las células y tejidos sin generar algunos cambios considerables. La inclusión: Son los tejidos que se han fijado para poder establecer cierta consistencia y dureza, los tejidos se infiltrarán a través de sustancias de inclusión para que adquieran una mayor dureza para ser sometido a cortes o láminas delgadas y transparentes. La microtomía o conocido como obtención de los cortes: Se basa en los tejidos y parafinas que se basa en la integración de un bloque, la cual dispone de la consistencia y dureza necesaria para la obtención de secciones delgadas y transparentes (Gorodner, 2013).

La coloración o tinción: Es el proceso que consiste en la coloración de la célula o tejido tisular, la cual mantienen un color a través de una sustancia colorante, siendo coloreado al ser lavada con un líquido que permita la disolución del colorante, en cuanto a este procedimiento se dispone de los siguientes criterios: desparafinar los cortes, hidratar los cortes en baños decrecientes de alcohol, colorear con la solución de hematoxilina, lavado en agua destilada, diferenciar, para eliminar el exceso de colorante, virar al color azul, empleando soluciones, colorear con una solución alcohólica o acuosa de eosina, deshidratar en baños crecientes de alcohol etílico y diafanizar o aclarar empleando xilol. El Montaje: Es un proceso relacionado con la tinción de cortes que se centra en aquellas condiciones de protección para poder ser utilizados las veces necesarias sin que estos muestren un deterioro (Gorodner, 2013).

#### ***2.1.4. En relación con la hidratación en el método de coloración de hematoxilina-eosina***

En función a la hidratación con respecto al método de coloración, se basa principalmente en que la muestra debe ser sumergida mediante baños continuos de xilol y etanol para la concentración de manera descendente de 100° hasta los 70° para finalmente emplear el recurso de agua. En esta parte se sumerge la muestra en hematoxilina, comprendiendo un tiempo de 10

minutos. Posteriormente de unas lavadas con agua y alcohol para la eliminación de la hematoxilina, se tiñe esencialmente en 30 segundos en eosina. Finalmente, se efectuarán baños con alcohol a través de la concentración creciente, permitiendo deshidratar la muestra, estableciendo una fijación respecto a la observación de la muestra a través del microscopio (Montalvo, 2010).

#### ***2.1.5. En relación con la deshidratación en el método de coloración de hematoxilina-eosina***

Se basa en la extracción del agua respecto al tejido para que la parafina pueda ocupar un espacio en función a que el material no se deshidrate lo suficientemente, así mismo se debe emplear una variedad de alcoholes en concentración de manera creciente de 70°, 80°, 96°, 100°. En la cual las piezas se dejan en una serie de crecientes de alcohol, permitiendo adaptar el tiempo que corresponda en el contenido de agua basado en la pieza, tamaño y fundamentalmente de la pureza de los alcoholes. Por lo tanto, la pieza debe permanecer en capas superiores, en la cual el tiempo, varía respecto a las características del tamaño, que puede comprender de 1 a 2 horas en alcohol (Montalvo, 2010).

#### ***2.1.6. Tipos de enlace con el tejido***

La unión del colorante y el tejido no es diferente a otro enlace químico y los mecanismos dependen de las mismas fuerzas que ocurren en los compuestos orgánicos. Las clases principales de interacciones (enlaces) son iónicas, covalentes e hidrófobas (Tabla 1). Cada tipo de enlace tiene sus propias características y fuerzas de enlace.

**Tabla 1**

*Comparación de la fuerza relativa de los enlaces entre el tinte y los componentes del tejido*

Tipo de enlace	Fuerza (kcal mol <sup>-1</sup> )
- Enlace iónico	40 - 100
- Enlace covalente	32 - 212
- Interacciones hidrofóbicas	4 - 8
- Enlace hidrógeno	2 - 7
- Fuerzas de Van der Waals	1 - 2

*Fuente:* Clases principales de interacciones

El enlace iónico: El enlace iónico es la forma de enlace más importante en la mayoría de los tintes de histología, implicando interacciones electrostáticas entre iones de carga opuesta. Uno de los iones es un ion fijado a la sección del tejido y el otro, al colorante. Las interacciones iónicas son fuerzas de largo alcance y los tintes pueden ser atraídos a los tejidos a distancias relativamente largas. El enlace covalente: Los enlaces covalentes son enlaces fuertes y no son fáciles de romper una vez formados. No parecen ser relevantes en muchas de las reacciones de tinción. La interacción hidrofóbica: Las interacciones hidrofóbicas no son enlaces químicos debido a que sostienen los colorantes en los tejidos por la exclusión de agua de las regiones con grupos hidrofóbicos. La exclusión de agua estabiliza los dos grupos involucrados en los cambios de entalpía y entropía. El enlace de hidrógeno: Es una fuerza de atracción entre un átomo hidrógeno de una molécula y un átomo pequeño con alta electronegatividad de otra molécula. Tienen un limitado rango y solo se formarán si los dos grupos que interaccionan están lo suficientemente juntos para ser atraídos. Las fuerzas van der Waals: Son fuerzas intermoleculares de corto alcance y tienen efecto si los dos átomos implicados están entre 0.12 y 0.2 nm de distancia (Santos, 2017).



### **III. Método**

#### **3.1. Tipo de investigación**

Estudio es experimental, transversal y descriptivo – comparativo, se analizó la información estadística de forma estructurada con la finalidad de cuantificar el problema de investigación.

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

De acuerdo con la temporalidad para el desarrollo de la investigación, esta se llevará a cabo en 90 días después de la aprobación del proyecto del año 2021. Siendo donde se efectuará la investigación, el área de Anatomía Patológica del Hospital General de Jaén II – 1 de Enero – Diciembre 2021, perteneciente al departamento de Cajamarca, Provincia de Jaén, Distrito de Jaén.

#### **3.3. Variables**

Sus definiciones, dimensiones e indicadores a evaluar entre otras características de las variables (Anexo B).

##### **3.3.1. Calidad de la coloración (Variable Dependiente)**

###### **3.3.1.1. Definición operacional.**

Medido mediante la valoración de enunciados provistos por una encuesta propia de esta investigación, y la cual se encuentra dividida en 3 secciones.

###### **3.3.1.2. Dimensiones**

Evaluación de la calidad de la imagen de los núcleos de las secciones de tejidos.

Evaluación de la calidad de la imagen de los citoplasmas de las secciones de tejidos.

Evaluación de la calidad de la imagen del medio extracelular de las secciones de tejidos.

###### **3.3.1.3. Indicador**

Escala de evaluación: Pobre, Regular, Bueno.

### **3.3.2. Agente hidratante y deshidratante empleado en la coloración de hematoxilina-eosina (Variable Independiente)**

#### **3.3.2.1. Definición operacional**

Medido según la observación del registro (código) que se utilizará para el proceso de aleatorización y apuntado mediante una ficha de recolección de datos.

#### **3.3.2.2. Dimensiones**

No presenta dimensiones, dado que no es una variable compleja convencional hematoxilina – eosina.

#### **3.3.2.3. Indicador**

Código asignado durante el proceso de aleatorización, que identifica qué láminas histológicas fueron hidratadas y deshidratadas por el agente utilizado.

### **3.4. Población y muestra**

La población estuvo conformada por todos los bloques de parafina de biopsias biopsias y piezas quirúrgicas provenientes del 2021, y almacenados en el servicio de anatomía patológica del Hospital General de Jaén II-1. Esta fue una cantidad de 4881 bloques.

Al ser el primer estudio en evaluar este agente hidratante y deshidratante en el método de coloración de Hematoxilina-Eosina (por ende, sin los datos necesario para poder realizar el cálculo de tamaño de muestra), primero, se realizó una prueba piloto con 50 muestras asignadas mediante un muestreo aleatorio simple a partir de la población de estudio. Se elaboraron dos láminas histológicas por cada bloque de parafina, estas fueron entregadas al experto y posterior a las lecturas correspondientes, se ingresaron los datos correspondientes para realizar el cálculo de tamaño de muestra para esta investigación basado en la comparación de dos medias emparejadas, dando como resultado 108 muestras (Anexo C).

Posterior a la obtención de este tamaño de muestra final, se realizó también un muestreo aleatorio simple a partir de la población de estudio. Se escogió el muestreo aleatorio simple debido a que se analizaron datos recolectados que se encontraron adecuadamente enlistados (software del laboratorio), de tal manera, que cada bloque tuvo la misma probabilidad de ser escogido. Este cálculo de tamaño de muestra y muestreos se realizaron mediante el software EPIDAT versión 4.2.

### ***Criterios de inclusión***

- Bloques de parafina registrados en el software del servicio durante el 2021.

### ***Criterios de exclusión***

- Bloques de parafina que no se encuentren presentes en el archivador del servicio.
- Bloques de parafina deteriorados o que no cuenten con tejido remanente, es decir, no aptos para realizar las nuevas secciones a estudiar.
- Bloques de parafina con identificación dudosa o inadecuada (rótulo no coincide con el registro virtual del software del laboratorio o no es legible).
- Más de un bloque de parafina de la misma persona y del mismo órgano (se consideraría la primera dada por el muestro aleatorio para evitar la repetición de información).

## **3.5. Instrumentos**

Se utilizó una guía de recolección de datos para esta investigación (anexo D). Esta fue validada por tres jueces expertos (anexo E).

## **3.6. Procedimientos**

Esta investigación, previo a recolectar los datos, fue aprobado por la Facultad de Tecnología Médica de la Universidad Nacional Federico Villareal y por el Hospital General de Jaén (anexo F).

Este proceso consistió, primero, en la ejecución de una prueba piloto mediante 50 muestras como se comentó en la sección de población y muestra. Se elaboraron dos láminas histológicas por cada bloque de parafina, y en cada una se aplicó un solo método de hidratación y deshidratación (*aguardiente de caña de azúcar, alcohol de 96 y 100%*). Los protocolos realizados se encuentran en el anexo G.

Un par de días previo a la lectura de las láminas para la prueba piloto, el investigador principal entregó al observador (medico anatomopatólogo, solicitud de participación en el anexo H) diversos casos con el método de hidratación y deshidratación utilizando el *aguardiente de caña de azúcar* y el *alcohol de 96% y 100%*, los cuales utilizaron para un entrenamiento previo. Esta acción se realizó con el fin de disminuir la probabilidad de reporte de falsos positivos o negativos, principalmente, por el riesgo de no saber reconocer la calidad de la imagen bajo este método nuevo coloración.

Luego de estos días, se retiraron las láminas controles, y se procedió con la lectura oficial. Se entregaron al azar estas láminas al médico anatomopatólogo, el cual, las observaron de forma independiente, y llenaron la información sobre los códigos de las láminas y las características histológicas (calidad de la coloración en el núcleo, calidad de la coloración del citoplasma, calidad de la coloración del medio extracelular.) en la ficha de recolección de datos.

El algoritmo de codificación de las láminas fue creado por el investigador de este estudio, y consistió en un número que representa el tipo de método utilizado (pobre como 0, regular como 1 bueno como 2) multiplicado por 2; seguido del orden del bloque proveniente de lista de los seleccionados, y finalmente, seguido de la suma de 0, 1, y 2 a estos números anteriores, respectivamente. Esto se realizó de tal forma que el observador no logre identificar qué caso corresponde a un determinado método de coloración, y así, disminuir la influencia de corroborar

lecturas por métodos distintos. Por ejemplo, el caso 1 presentó los códigos de 21PQ-026-3; 21PQ-050; 21PQ-248-4 para los métodos de hidratación y deshidratación utilizando el *aguardiente de caña de azúcar* y el *alcohol de 96% y 100%*, respectivamente.

El observador, es un médico anatomopatólogo con años de experiencia, por estas condiciones de experto fueron consideradas para los cálculos de la capacidad diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud). Finalmente, la información provista en las fichas de recolección de datos fue tipeada en una base de datos en Excel, e importada posteriormente al software estadístico.

### **3.7. Análisis de datos**

Se utilizó el software estadístico STATA 17.0 (licencia: 301709027730), y los valores p menores a 0.05 se consideraron como estadísticamente significativos. Para la descripción de las variables cualitativas, se utilizaron las frecuencias relativas y absolutas; y para las variables cuantitativas, se utilizaron la media y la desviación estándar.

Para evaluar las diferencias significativas entre el puntaje de calidad de coloración y el agente hidratante/deshidratante se utilizó la prueba de Wilcoxon debido a que esta permite evaluar ello tomando en cuenta que la data fue pareada (dos láminas provenientes del mismo bloque de parafina y cuya entrega de láminas fue por cada par) y que estos datos no siguieron una curva de distribución normal (prueba no paramétrica).

### **3.8. Consideraciones éticas**

El presente proyecto de investigación no utilizó consentimientos informados debido a que no necesitará la participación de sujetos humanos. La recolección de los datos solo abarcó información relevante a las variables involucradas en este estudio, esto mediante el uso de la ficha de recolección de datos. Por lo tanto, el esquema de esta ficha evitó incluir datos personales que

puedan afectar la confidencialidad, como: nombres del paciente, dirección, teléfonos o algún otro tipo de información personal que permita identificar al paciente.

## IV. Resultados

### 4.1. Flujoograma de los muestreos

Durante la ejecución del muestreo para la prueba piloto (n=50), a partir de la población de estudio (N=4881), se excluyeron 7 bloques de parafina en total: 5 muestras repetidas (más de un bloque de parafina de la misma persona y del mismo órgano), 1 muestra que no se encontró en el archivador, y 1 muestra muy desgastada (no apta para nuevos cortes). No hubo exclusión de bloques de parafina por el criterio sobre identificación dudosa o inadecuada.

Durante la ejecución del muestreo final de este estudio (n=108), a partir de la población de estudio (N=4881), se excluyeron 9 bloques de parafina en total: 3 muestras que no se encontraron en el archivador, y 1 muestra muy desgastada (no apta para nuevos cortes), y 5 muestras repetidas (más de un bloque de parafina de la misma persona y del mismo órgano). No hubo exclusión de bloques de parafina por el criterio sobre identificación dudosa o inadecuada.

### 4.2. Descripción de los resultados

Mediante la **tabla 2**, se puede observar que la media de los puntajes de la calidad de la coloración para el aguardiente en relación con el aspecto general, núcleo, citoplasma y medio extracelular fueron 5.7, 1.9, 1.8 y 1.8, respectivamente. Por otro lado, la media de los puntajes de la calidad de la coloración para el etanol en relación con el aspecto general, núcleo, citoplasma y medio extracelular fueron 5.8, 2.0, 1.9 y 1.9, respectivamente

Además, los tipos de muestra más frecuentes fueron los provenientes de próstata (17.6%), útero (14.8%) y apéndice cecal (13.5%). Finalmente, la comparación visual de estos métodos se puede observar en la **figura 1**.

**Tabla 2***Características de la muestra estudiada (n=108).*

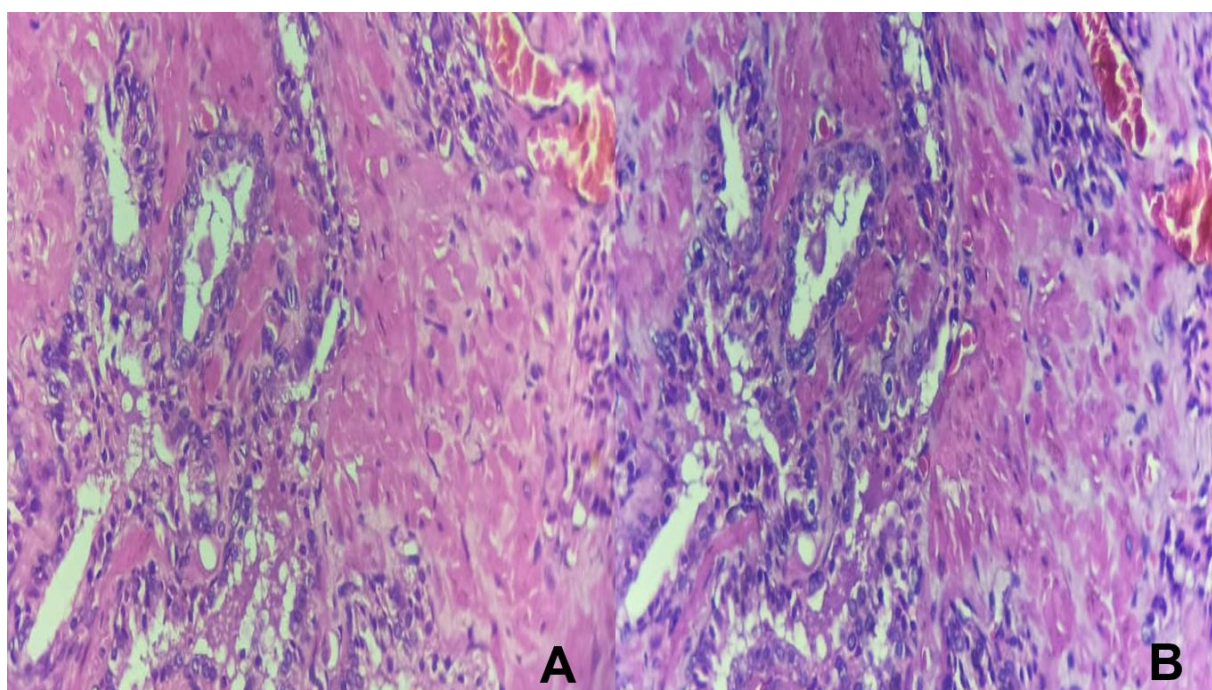
<b>Calidad de la coloración (puntaje)</b>	<b>Media <math>\pm</math> Desviación estándar</b>
<b>Aguardiente</b>	
Global	5.7 $\pm$ 0.7
En el núcleo	1.9 $\pm$ 1.3
En el citoplasma	1.8 $\pm$ 0.4
En el medio extracelular	1.8 $\pm$ 0.1
<b>Etanol</b>	
Global	5.8 $\pm$ 0.4
En el núcleo	2.0 $\pm$ 0.0
En el citoplasma	1.9 $\pm$ 0.3
En el medio extracelular	1.9 $\pm$ 0.7
	N (%)
<b>Tipo de muestra</b>	
Próstata	19 (17.6)
Útero	16 (14.8)
Apéndice cecal	14 (13.5)
Vesícula biliar	10 (9.3)
Biopsia de cérvix	11 (10.2)
Restos endouterinos	9 (8.7)
Trompa uterina	5 (4.6)
Ovario	2 (1.9)
Cono de cérvix	3 (2.8)
Epiplon	2 (1.9)
Miembro inferior (amputación)	2 (1.9)



Tumor de partes blandas	1 (0.9)
Riñón	2 (1.9)
Biopsia de piel	2 (1.9)
Íleon terminal	1 (0.9)
Biopsia de rodilla	1 (0.9)
Piel queuloide	1 (0.9)
Mama	1 (0.9)
Colon	1 (0.9)
Quiste axilar	1 (0.9)
Quiste hepático	1 (0.9)
Biopsia de tibia	1 (0.9)
Endometrio	1 (0.9)
Placenta	1 (0.9)

**Figura 1.**

*Comparación entre los agentes hidratantes y deshidratantes.*



*Nota.* A: Etanol. B: Aguardiente. Tejido prostático (40x).

#### 4.3. Análisis entre los puntajes de la calidad de la coloración según el agente utilizado

La prueba de hipótesis de Wilcoxon determinó que no se encontraron diferencias significativas de los puntajes de calidad de la coloración entre el Etanol y el Aguardiente, tanto para el aspecto global ( $p=0.083$ ), así como también como para el núcleo y el citoplasma ( $p=0.157$  y  $p=0.371$ , respectivamente).

No obstante, para el medio extracelular, el puntaje de calidad de coloración del etanol fue significativamente mayor ( $p=0.025$ ) en comparación con el aguardiente.

#### Tabla 3

*Tabla de contingencia entre el agente hidratante y deshidratante utilizado y las calidades de la coloración emitidas (n=108).*

Calidad de la coloración (puntaje)	Agente hidratante y deshidratante utilizado		p†
	Etanol <sup>a</sup>	Aguardiente <sup>a</sup>	
<b>Global</b>	5.8 ± 0.4	5.7 ± 0.7	0.083
<b>En el núcleo</b>	2.0 ± 0.0	1.9 ± 1.3	0.157
<b>En el citoplasma</b>	1.9 ± 0.3	1.8 ± 0.4	0.371
<b>En el medio extracelular</b>	1.9 ± 0.7	1.8 ± 0.1	0.025

\*Media ± desviación estándar. †Prueba de Wilcoxon.

## V. Discusión de resultados

La prueba de hipótesis de Wilcoxon determinó que no se encontraron diferencias significativas de los puntajes de calidad de la coloración entre el Etanol y el Aguardiente, para las dimensiones de aspecto global, núcleo y el citoplasma, pero no para el medio extracelular. Es decir, el aguardiente podría utilizarse en reemplazo del etanol sin ningún inconveniente para caracterizar las primeras dimensiones.

Con respecto al núcleo, la composición de esta, principalmente, a base de cromatina, hace que este pueda atraer colorantes básicos como la Hematoxilina de Harris. Además, con respecto al citoplasma, la composición de esta, principalmente, a base de proteínas, hace que este pueda atraer colorantes ácidos como la Eosina. Entonces, para que puedan generarse ambas coloraciones de calidad, se requiere de fases previas como la hidratación. En este caso, la composición del aguardiente alrededor de 47° demuestra ser más que suficiente para lograr una calidad de coloración adecuada mediante los tres cambios de 15 minutos cada uno que requiere el protocolo. Esto implicaría ahorro y trámites engorrosos para el laboratorio (especialmente, al evitar comprar alcohol absoluto).

Además, en lo que fue la fase de deshidratación, el uso de aguardiente se basó en un protocolo de cuatro cambios de 1 minutos cada uno, que demostró ser compatible también con el medio de montaje (Entellán), y que tanto para las dimensiones de núcleo y citoplasma, resultó ser comparable con la calidad de coloración generada por el etanol. Por otro lado, sí se encontraron diferencias significativas del puntaje de calidad de coloración entre el etanol y el aguardiente para el medio extracelular. Esto podría explicarse dado que, a diferencia del citoplasma, que predominantemente tiene proteínas, el medio extracelular está compuesto con diversas biomoléculas (carbohidratos y lípidos), propias del tejido conjuntivo, muscular, entre otros; lo

cual, estaría influenciando en que la fase de hidratación generada por el aguardiente no sea suficiente en base al protocolo generado, para poder cumplir con una adecuada calidad de coloración.

No obstante, al tener más dimensiones consideradas como adecuadas (núcleo y citoplasma, en comparación con el medio extracelular), es entendible porqué la calidad de coloración a nivel global fue totalmente comparable con el etanol, lo que significaría que se podría utilizar uno u otro en un laboratorio de Histotecnología, a pesar de las ligeras diferencias generadas en la descripción de las características del medio extracelular.

Como fortalezas del estudio, se tiene que aguardiente de caña de azúcar, siendo esta una bebida alcohólica que contienen una gran cantidad de sacarosa para la obtención de azúcar (Ramírez, 2008), puede utilizarse como alternativa eficiente. Mientras que el etanol es un tipo de compuesto químico que se obtiene por presión y temperatura en un punto de ebullición tiene como característica ser un líquido incoloro e inflamable, el cual, es usualmente utilizado para procedimientos médicos, químicos y entre otros (Cornejo, 2016). El aguardiente de caña de azúcar es un producto común y accesible por estas zonas y bajo costo en comparación con el alcohol industrial, es amigable con el medio ambiente y para el personal de la salud que lo manipula.

Como potenciales limitaciones, se tiene que el hecho que haber obtenido un puntaje de calidad de coloración menor generado por el aguardiente de caña azúcar en comparación el etanol podría haberse dado porque posterior a la deshidratación con caña de azúcar, el tiempo de secado en medio ambiente, previo al montaje, es mucho más prolongado que el etanol, lo que generaría que no se estén secas de forma uniforme para todas las láminas presentes en la canastilla. En ese sentido, se recomienda poder utilizar otra forma de secado que haga este proceso más uniforme, como un ventilador, o una estufa.

## **VI. Conclusiones**

- 6.1. La calidad de la coloración generada en el núcleo y citoplasma por el aguardiente fue comparable con el etanol en secciones de tejidos hidratados y deshidratados.
- 6.2. La calidad de la coloración generada en el medio extracelular por el aguardiente fue menor en comparación con el etanol.
- 6.3. La calidad de la imagen histológica global generada por el aguardiente fue comparable con el etanol. Lo que implicaría que pueda utilizarse esta alternativa ecológica en los laboratorios de Histotecnología sin inconvenientes en el diagnóstico general.

## **VII. Recomendaciones**

- 7.1. Se recomienda utilizar otras formas de secado posterior a la fase de deshidratación, como un secado usando un ventilador o una estufa.
- 7.2. Se recomienda poder replicar lo encontrado en esta tesis, mediante la generación de nuevos proyectos de investigación, y que se prueba esta alternativa ecológica, tanto para la coloración de rutina, como para otros protocolos especiales (PAS, tricrómicas, entre otros). Posterior a ello, a los hospitales del sector público como privado, que puedan ampliar el uso de esta alternativa barata y ecológica.

## VIII. Referencias

- Alvarez, Y. (2011). *Alcohol Etilico (Etanol) (Proceso Artesanal)*. Nicaragua: monografias.com. Obtenido de <https://www.monografias.com/trabajos94/alcohol-etilico/alcohol-etilico.shtml#:~:text=Para%20preparar%20alcohol%20et%C3%ADlico%20se,todo%20si%20esta%20es%20purificada.>
- Arteaga, P. M. (2016). *Aplicaciones del Alcohol Etilico*. Mexico: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Obtenido de <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/prepa3/n5/m7.html>
- Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar. (2015). *Ficha Técnica del cultivo de la caña de azúcar (Saccharum Officinarum L.)*. SAGARPA. Obtenido de [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha\\_Tcnica\\_Ca\\_a\\_de\\_Azucar.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/141823/Ficha_Tcnica_Ca_a_de_Azucar.pdf)
- David, M. M. (2017). *Uso del Colorante Natural Ácido Carmínico al 10% obtenido de Dactylopius coccus (Cochinilla), en reemplazo de la Hematoxilina en la Técnica de Coloración HematoxilinaEosina, en tejidos de riñón de ovinos, Cajamarca*. Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca. Obtenido de <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1159/TESIS%20COMPLETA%20DAVID%20MANOSALVA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Eleonora, E. (s.f.). *Método y Técnicas de recolección de la información*. Honduras: Universidad Nacional Autónoma de Honduras. Obtenido de <http://www.bvs.hn/Honduras/Embarazo/Metodos.e.Instrumentos.de.Recoleccion.pdf>
- Elizabeth, P. O. (2015). *Aplicación de Agua de Limón en reemplazo del Xilol, para Comprobar su Acción Desparafinizante en los Cortes de Tejido Coloreados con Hematoxilina Eosina en*

- el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del E.* Ecuador: Universidad Central del Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8243/1/T-UCE-0006-052.pdf>
- Enciclopedia de Ejemplos. (2019). *Cómo se obtiene el Alcohol Etilico*. Ejemplos. Obtenido de <https://www.ejemplos.co/alcohol-etilico/>
- Gallardo, E. (2017). *Metodología dde la Investigación* (Primera ed.). Huancayo, Perú: Universidad Continental.
- Gil, M. (2021). *Tinción de hematoxilina-eosina: características, usos, técnicas*. Obtenido de La tinción de hematoxilina – eosina: <https://www.lifeder.com/tincion-hematoxilina-eosina/>
- Gorodner, O. Z. (2013). *Histología: Métodos e Instrumentos de Estudio de la Histología*. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste. Obtenido de [https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/histologia\\_med\\_ca t2/GUIA%201%20%202013.pdf](https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/histologia_med_ca t2/GUIA%201%20%202013.pdf)
- Hernández, R., & Mendoza, P. (2018). *Metodología de la investigación cuantiativa, cualitativa y mixta* (Primera ed.). Ciudad de México, México: Mc Graw Hill Education.
- Hernández, R., Fernández, C., & Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación* (Sexta ed.). Ciudad de México, México: McGrawh-Hill.
- Herrera, C. M. (2011). *Formula para Cálculo de la Muestra Poblaciones Finitas*. Hospital Roosevelt, Guatenala. Obtenido de <https://investigacionpediahr.files.wordpress.com/2011/01/formula-para-cc3a1lculo-de-la-muestra-poblaciones-finitas-var-categorica.pdf>
- Idict, C. (04 de Julio de 2019). *Aguardiente*. Obtenido de EcuRED: <https://www.ecured.cu/Aguardiente>



- Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martí Ferreyra - INMEC. (2021). *Hematoxilina-eosina*. Obtenido de Fundamentación de la hematoxilina: <https://inimec.conicet.gov.ar/tinciones/>
- Montalvo, E. (2010). *Técnica histológica*. Obtenido de [http://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/3\\_tecnica\\_histologica.pdf](http://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/3_tecnica_histologica.pdf)
- Montuenga, L., Esteban, F., & Calvo, A. (2014). *Técnicas en histología y biología celular* (Segunda ed.). Barcelona, España: ELSEVIER. Obtenido de <https://www.elsevier.com/books/tecnicas-en-histologia-y-biologia-celular/montuengabadia/978-84-458-2520-4>
- Ortiz, D. H. (21 de Octubre de 2013). *El conoedor*. Obtenido de Tipos de Aguardiente: <https://revistaelconoedor.com/aguardiente-amplia-clasificacion/>
- Pérez, L. J. (2014). *Cómo Calcular el Coeficiente Alfa de Cronbach*. Venezuela: Mis blogs. Obtenido de <https://asesoriatesis1960.blogspot.com/2014/07/coeficiente-alfa-de-cronbach.html>
- Pico, O. V. (2015). *“Aplicación de Agua de Limón en reemplazo del Xilol, para Comprobar su Acción Desparafinizante en los Cortes de Tejido Coloreados con Hematoxilina Eosina en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador: Universidad Central del Ecuador*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8243/1/T-UCE-0006-052.pdf>
- Pinterest. (s.f.). *Aguardiente de caña ¡bebida antigua de calidad!* Obtenido de Los vinos: <https://www.losvinos.com.ar/licores/aguardiente-de-cana/>
- Portal Química. (2021). *Hematoxilina - Eosina*. Obtenido de <https://www.quimica.es/enciclopedia/Eosina.html>

- Ramírez, M. Á. (2008). *Caña de azúcar*. Honduras: Servicio Holandés de Cooperación al Desarrollo SNV. Obtenido de <http://www.bibalex.org/Search4Dev/files/289330/120295.pdf>
- Reidl, M. L. (2013). *Metodología de investigación en educación médica*. México: Scielo. Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-50572013000200007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-50572013000200007)
- Reyes, M. (2016). *Metodología de la investigación* (Sexta ed.). Centro de México, México: Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales (FLACSO).
- Santa Cruz, S. O. (2014). *Validación del extracto del exocarpo de Renealmia alpina (kumpia) como colorante nuclear tisular*. Lima: Universidad Wiener. Obtenido de <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/96/061%20004%20EAP%20TECNOLOGIA%20SANTA%20CRUZ%20Crev.LB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Santos, V. S. (2017). *Tinción Hematoxilina-Eosina*. España: Universidad Nacional de Educación a Distancia Máster Universitario en Ciencia y Tecnología Química. Obtenido de [http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos\\_Vidal\\_Sara\\_TFM.pdf](http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos_Vidal_Sara_TFM.pdf)
- Sedano, G. E., & Ramirez, U. G. (2021). *Técnica e instrumento de recolección de datos*. Lima : Universidad Nacional Federico Villareal.
- Sepúlveda, J. (2014). *Instructivo de Laboratorio: Histología, Biología Celular y Tissular* (Quinta ed.). México: Hill Interamericana Editores S.A. de C.V.
- Sociedad Argentina de Citología - SAC. (2019). *Fichas de coloración*. Obtenido de <http://sociedaddecitologia.org.ar/sac/fichas-coloracion-de-papanicolau/>

Torres, J., Martínez, A., Fernández, P., & González, R. (2011). *Metodología y Técnicas de Trabajo en el Laboratorio de Patología Anatómica. Errores frecuentes y su solución*. Málaga, España: Fesitess Andalucía. Obtenido de <https://docplayer.es/7723463-Metodologia-y-tecnicas-de-trabajo-en-el-laboratorio-de-anatomia-patologica-errores-frecuentes-y-su-solucion.html>

Uriol, B. P. (2004). *Aplicación del Colorante del Maíz Morado en la Tinción Nuclear de Células Presentes en un Corte Histológico*. Lima: Universidad Mayor de San Marcos. Obtenido de [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/825/Uriol\\_bp%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/825/Uriol_bp%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Velasco, D., Espinosa, P., & Sanz, J. (2012). *Procesamiento citológico y tisular*. Madrid, España: ARÁN. Obtenido de <https://ediciones.grupoaran.com/upload/books/muestras/libros/LIBTSAPC06.pdf>

Verónica, E. P. (2015). *“Aplicación de Agua de Limón en Reemplazo del Xilol, para Comprobar su Acción Desparafinizante en los Cortes de tejido Coloreados con Hematoxilina Eosina en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la universidad Central del Ecuador: Universidad Central del Ecuador.*

Wikipedia. (8 de Marzo de 2011). *La enciclopedia libre*. Obtenido de Aguardiente: <https://es.wikipedia.org/wiki/Aguardiente>

## IX. Anexos

## Anexo A. Matriz de consistencia

Título de la Tesis	Problema Principal	Objetivo General	Hipótesis General	Metodología
“El Aguardiente de caña de azúcar como una alternativa en el Método de coloración de Hematoxilina-Eosina”	¿Cuál será la calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar en comparación con las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina?	Demostrar que la calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina – eosina.	La calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán iguales a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina	<p><b>Según el enfoque:</b> Cuantitativo.</p> <p><b>Nivel de la investigación:</b> Descriptivo - comparativo.</p> <p><b>Tipo de investigación:</b> Aplicada</p> <p><b>Método:</b> Observacional.</p> <p><b>Diseño:</b> Experimental – transversal.</p> <p>Su diseño se representa de la siguiente forma</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 10px auto;"> <math display="block">M_1: O_x - O_y \neq \text{ó} =</math> </div> <p><b>Población:</b> 108 casos entre biopsias y piezas quirúrgicas</p> <p><b>Muestra:</b> Representativa.</p> <p><b>Técnica:</b> Encuesta.</p>
	<b>Problema Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>	
	- ¿Cuál será la calidad de la coloración de los núcleos de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar en comparación con las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina?	- Demostrar que la calidad de la coloración de los núcleos de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina – eosina.	- La calidad de la coloración de los núcleos de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán iguales a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina – eosina. - La calidad de la coloración del citoplasma de las secciones de	

	<p>- ¿Cuál será la calidad de la coloración del citoplasma de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar en comparación con las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina?</p> <p>- ¿Cuál será la calidad de la coloración del medio extracelular de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar en comparación con las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina?</p>	<p>- Demostrar que la calidad de la coloración del citoplasma de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina.</p> <p>- Demostrar que la calidad de la coloración del medio extracelular de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina.</p>	<p>tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán iguales a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina.</p> <p>- La calidad de la coloración del medio extracelular de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán iguales a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina - eosina.</p>	<p><b>Instrumentos:</b> Cuestionario</p> <p><b>Valides:</b> Juicio de expertos.</p> <p><b>Análisis de Datos:</b> Los datos obtenidos se calcularán y se formarán cuadros, tablas y gráficos utilizando el programa Excel 2016 y el programa estadístico software EPIDAT versión 4.2.</p>
--	---	---	--	--

Elaborado por el autor.

### Anexo B: Cuadro de operación de variables

<b>Variables</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Tipo de Variable</b>	<b>Escala de Medición</b>	<b>indicador</b>
<b>Calidad de la coloración</b> (Variable Dependiente)	Medido mediante la valoración de enunciados provistos por una encuesta propia de esta investigación, y la cual se encuentra dividida en 3 secciones.	Evaluación de la calidad de la imagen de los núcleos de las secciones de tejidos.	Cuantitativo	Ordinal	Escala de evaluación: Pobre, Regular, Bueno
		Evaluación de la calidad de la imagen de los citoplasmas de las secciones de tejidos	Cuantitativo	Ordinal	Escala de evaluación: Pobre, Regular, Bueno
		Evaluación de la calidad de la imagen del medio extracelular de las secciones de tejidos	Cuantitativo	Ordinal	Escala de evaluación: Pobre, Regular, Bueno
<b>Agente hidratante y deshidratante empleado en la coloración de hematoxilina-eosina</b> (Variable Independiente)	Medido según la observación del registro (código) que se utilizará para el proceso de aleatorización y apuntado mediante una ficha de recolección de datos.	No presenta dimensiones, dado que no es una variable compleja convencional hematoxilina – eosina.			Código asignado durante el proceso de aleatorización, que identifica qué láminas histológicas fueron hidratadas y deshidratadas por el agente utilizado.

*Fuente:* Clases principales de interacciones.

**Anexo C: Cálculos de tamaños de muestra – Software Epidat 4.2.****[1] Tamaños de muestra. Comparación de medias emparejadas:****Datos:**

Desviación estándar esperada:	
Población 1:	0,400
Población 2:	0,420
Coefficiente de correlación:	0,600
Diferencia de medias a detectar:	0,100
Nivel de confianza:	95,0%

**Resultados:**

Potencia (%)	Número de pares
80,0	108

## Anexo D. Guía de recolección de datos.

Grupo "A". Alcohol de 96% y 100%



**UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL**  
**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**  
**UNIDAD DE POSGRADO**  
**SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOTECNOLOGÍA**

Estimado (a) doctor (a) esta escala presente una serie de afirmaciones que hacen referencia a como percibes la coloración empleada. Conteste, observando la lámina histológica colorada, por el que se te pregunta.

Valoración:

Por ejemplo, si se te está preguntando en relación con la coloración de los detalles del núcleo y quisieras responder que esta es excelente, podrías contestar así:

Pobre	Regular	Bueno
0	1	2

Por ejemplo, si se te está preguntando en relación con la coloración de los detalles del núcleo y quisieras responder que esta es excelente, podrías contestar así:

Pobre	Regular	<del>Bueno</del>
0	1	<del>2</del>

Recuerda que no existe respuesta correcta o incorrecta, solo responde de forma espontánea a todas las situaciones. Si tienes alguna duda preguntame.

Objetivo:

El objetivo, Demostrar que la calidad de la imagen histológica de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina – eosina de esta prueba es que nos ayudes a evaluar el método de coloración, diciéndonos como ves las láminas histológicas.

Calidad de la tinción	Nuclear	Citoplasmático	Medio extracelular
1. Pobre	No se distingue núcleo.	No se distingue citoplasma	Dificulta observar todas las estructuras histológicas.
2. Regular	Núcleos pálidos	Citoplasma pálido	Dificulta observar algunas estructuras histológicas.
3. Bueno	Núcleos de color morado.	Citoplasma rosado	Facilita observar todas las estructuras histológicas.

Código de la lámina:	Calidad de la coloración (Grupo A)			
	Pobre	Regular	Buena	Puntaje
Calidad de la imagen histológica en el núcleo	0	1	2	
Calidad de la imagen histológica del citoplasma	0	1	2	
Calidad de la imagen histológica del medio extracelular.	0	1	2	
			Total	



## Grupo "B". Aguardiente de caña de azúcar.



**UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL**  
**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**  
**UNIDAD DE POSGRADO**  
**SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOTECNOLOGÍA**

Estimado (a) doctor (a) esta escala presente una serie de afirmaciones que hacen referencia a como percibes la coloración empleada. Conteste, observando la lámina histológica colorada, por el que se te pregunta.

Valoración:

Por ejemplo, si se te está preguntando en relación con la coloración de los detalles del núcleo y quisieras responder que esta es excelente, podrías contestar así:

Pobre	Regular	Bueno
0	1	2

Por ejemplo, si se te está preguntando en relación con la coloración de los detalles del núcleo y quisieras responder que esta es excelente, podrías contestar así:

Pobre	Regular	Bueno
0	1	<del>2</del>

Recuerda que no existe respuesta correcta o incorrecta, solo responde de forma espontánea a todas las situaciones. Si tienes alguna duda pregúntame.

Objetivo:

El objetivo, Demostrar que la calidad de la imagen histológica de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar serán comparables a las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina – eosina de esta prueba es que nos ayudes a evaluar el método de coloración, diciéndonos como ves las láminas histológicas.

Calidad de la tinción	Nuclear	Citoplasmático	Medio extracelular
1. Pobre	No se distingue núcleo.	No se distingue citoplasma	Dificulta observar todas las estructuras histológicas.
2. Regular	Núcleos pálidos	Citoplasma pálido	Dificulta observar algunas estructuras histológicas.
3. Bueno	Núcleos de color morado.	Citoplasma rosado	Facilita observar todas las estructuras histológicas.

Código de la lámina:	Calidad de la coloración (Grupo B)			
	Pobre	Regular	Buena	Puntaje
Calidad de la imagen histológica en el núcleo	0	1	2	
Calidad de la imagen histológica del citoplasma	0	1	2	
Calidad de la imagen histológica del medio extracelular.	0	1	2	
			Total	

## Anexo E. Esta fue validada por tres jueces expertos



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
UNIDAD DE POSGRADO  
SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGIA

### Anexo N° 5: Ficha de Validación del Instrumento.

#### Evaluación de juicio de expertos

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento para la investigación, titulada "El Aguardiente de caña de azúcar como una alternativa en el Método de coloración de Hematoxilina-Eosina". En razón a ello se le adjunta el instrumento motivo de evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

#### I. Datos generales.

- 1.1. Apellidos y nombres del experto: *PÉREZ GARFIAS FABIO*
- 1.2. Grado académico *Medico Cirujano*
- 1.3. Apellido y Nombre del evaluador (juicio del experto): *PÉREZ GARFIAS FABIO*
- 1.4. Institución donde labora: *Hospital General de JAEN*
- 1.5. Especialidad del Evaluador: *ANATOMIA PATOLÓGICA*

#### II. VALIDACIÓN

Marque con una (X) en SI o no, en cada criterio según su opinión.

1. ¿El instrumentó de recolección de datos está orientado al problema de investigación?  
Sí  No   
Observación:.....  
Sugerencias:.....
2. ¿En el instrumento de recolección de datos se aprecia las variables de la investigación?  
Sí  No   
Observación:.....  
Sugerencias:.....
3. ¿Los instrumentos de la recolección de datos facilitaran el logro de los objetivos de la investigación?  
Sí  No   
Observación:.....  
Sugerencias:.....
4. ¿Los instrumentos de recolección de datos se relacionan con la o las variables de estudio?



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
 FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
 UNIDAD DE POSGRADO  
 SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGIA

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

5. ¿El instrumento de recolección de datos presenta la cantidad de ítems apropiados?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

6. ¿La redacción del instrumento de recolección de datos es coherente?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

7. ¿El diseño del instrumento de recolección de datos facilitará el análisis y procesamiento de los datos?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

8. ¿Del instrumento de recolección de datos, usted eliminaría algún ítem?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

9. ¿Del instrumento de recolección de datos, usted agregaría algún ítem?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

10. ¿El diseño del instrumento de recolección de datos será accesible a la población sujeto de estudio?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

11. ¿La recolección del instrumento de recolección de datos es clara, sencilla y precisa para la investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

  
**Fabio Pérez Garfias**  
 Médico Anatómo Patólogo  
 CMP 59901 RNE 31990



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
 FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
 UNIDAD DE POSGRADO  
 SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGIA

**Anexo N° 5: Ficha de Validación del Instrumento.**

**Evaluación de juicio de expertos**

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento para la investigación, titulada "El Aguardiente de caña de azúcar como una alternativa en el Método de coloración de Hematoxilina-Eosina". En razón a ello se le adjunta el instrumento motivo de evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

**I. Datos generales.**

1.1. Apellidos y nombres del experto:

1.2. Grado académico

1.3. Apellido y Nombre del evaluador (juicio del experto): *Gómez Rázuri, Katherine Giuliano*

1.4. Institución donde labora: *Hospital General de Jaén*

1.5. Especialidad del Evaluador: *Anatomía patológica*

**II. VALIDACIÓN**

Marque con una (X) en SI o no, en cada criterio según su opinión.

1. ¿El instrumentó de recolección de datos está orientado al problema de investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

2. ¿En el instrumento de recolección de datos se aprecia las variables de la investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

3. ¿Los instrumentos de la recolección de datos facilitaran el logro de los objetivos de la investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

4. ¿Los instrumentos de recolección de datos se relacionan con la o las variables de estudio?

*Katherine G. Gómez Rázuri*  
 Dra. Katherine G. Gómez Rázuri  
 MÉDICO CIRUJANO  
 ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA  
 C.M.P. 73505



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
 FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
 UNIDAD DE POSGRADO  
 SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGIA

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

5. ¿El instrumento de recolección de datos presenta la cantidad de ítems apropiados?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

6. ¿La redacción del instrumento de recolección de datos es coherente?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

7. ¿El diseño del instrumento de recolección de datos facilitará el análisis y procesamiento de los datos?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

8. ¿Del instrumento de recolección de datos, usted eliminaría algún ítem?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

9. ¿Del instrumento de recolección de datos, usted agregaría algún ítem?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:..Evaluación... calidad de la imagen nuclear.....

10. ¿El diseño del instrumento de recolección de datos será accesible a la población sujeto de estudio?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

11. ¿La recolección del instrumento de recolección de datos es clara, sencilla y precisa para la investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

*[Firma]*  
 Dra. Katherine B. Gómez Razzari  
 MÉDICO CIRUJANO  
 ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA  
 C.M.P. 73505

Firma y sello del experto



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
 FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
 UNIDAD DE POSGRADO  
 SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGIA

### Anexo N° 5: Ficha de Validación del Instrumento.

#### Evaluación de juicio de expertos

Estimado profesional, usted ha sido invitado a participar en el proceso de evaluación de un instrumento para la investigación, titulada "El Aguardiente de caña de azúcar como una alternativa en el Método de coloración de Hematoxilina-Eosina". En razón a ello se le adjunta el instrumento motivo de evaluación y el presente formato que servirá para que usted pueda hacernos llegar sus apreciaciones para cada ítem del instrumento de investigación.

#### I. Datos generales.

1.1. Apellidos y nombres del experto:

1.2. Grado académico

1.3. Apellido y Nombre del evaluador (juicio del experto): Purificación García Jesús Manuel

1.4. Institución donde labora: HOSPITAL GENERAL DE JOEN

1.5. Especialidad del Evaluador: Tecnólogo Médico - Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

#### II. VALIDACIÓN

Marque con una (X) en SI o no, en cada criterio según su opinión.

1. ¿El instrumentó de recolección de datos está orientado al problema de investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

2. ¿En el instrumento de recolección de datos se aprecia las variables de la investigación?

Sí  No

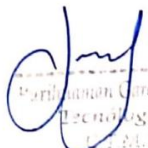
Observación:.....  
 Sugerencias:.....

3. ¿Los instrumentos de la recolección de datos facilitaran el logro de los objetivos de la investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

4. ¿Los instrumentos de recolección de datos se relacionan con la o las variables de estudio?

 15  
 Purificación García Jesús Manuel  
 Tecnólogo Médico  
 I. D. M. P. 8538



UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL  
 FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA  
 UNIDAD DE POSGRADO  
 SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGIA

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

5. ¿El instrumento de recolección de datos presenta la cantidad de ítems apropiados?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

6. ¿La redacción del instrumento de recolección de datos es coherente?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

7. ¿El diseño del instrumento de recolección de datos facilitará el análisis y procesamiento de los datos?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

8. ¿Del instrumento de recolección de datos, usted eliminaría algún ítem?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

9. ¿Del instrumento de recolección de datos, usted agregaría algún ítem?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

10. ¿El diseño del instrumento de recolección de datos será accesible a la población sujeto de estudio?

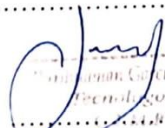
Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

11. ¿La recolección del instrumento de recolección de datos es clara, sencilla y precisa para la investigación?

Sí  No

Observación:.....  
 Sugerencias:.....

  
 Juan Carlos García Jesús Manuel  
 Tecnólogo Médico  
 ..... 8379 .....  
 Firma y sello del experto

**Anexo F: Aprobación por la directora y el jefe del laboratorio de anatomía patológica.**



GOBIERNO REGIONAL DE CAJAMARCA  
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD  
HOSPITAL GENERAL JAÉN  
"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"



Jaén, 17 de Febrero del 2022

**CARTA N° 119 - 2022-GR.CAJ-DRS.HGJ/D-UADEI**

**SR. ADÁN JOEL VILLANUEVA SOSA**

Lic. En Tecnología Médica

SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOLOGÍA- FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

UNIDAD DE POSGRADO-UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLAREAL

**Asunto: Autorización para Recolectar datos en el servicio de Laboratorio de Anatomía Patológica**



Es grato dirigirme a Usted, para saludarle cordialmente y comunicarle que, en coordinación con el Jefe de la Unidad de Apoyo a la Docencia e Investigación, se le concede **autorización** para recolectar datos en el Servicio de Laboratorio de Anatomía Patológica y así ejecutar su Proyecto de Investigación titulado **"AGUARDIENTE COMO ALTERNATIVA EN LA COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA EN EL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN II-1"**

Para tal cumplimiento, la presente autorización tiene vigencia de 60 días, a partir de la fecha.

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente

Diana Mercedes Bolívar Joo  
HISTÓLOGO (TEL. 051) / C.M.P. 19404  
DIRECTORA EJECUTIVA



**Anexo G: Protocolos de los métodos de coloración.**

\*Coloración con el método de hidratación y deshidratación con alcohol de 96% y 100%

- A partir de los bloques seleccionados, se realizaron cortes a 3 micras (láminas pavonadas convencionales, sin ningún tipo de aditivo adicional), y se colocaron estas láminas en una estufa a 80°C durante 60 minutos. Luego, se desparafinó mediante tres cambios en Neo-clear, primero Neo-clear (30 minutos), los dos Neo-clear (15 minutos cada uno), se hidrató mediante tres cambios en alcohol absoluto (15 minutos) y dos cambios en alcohol de 96° (15 minutos), y por último agua de caño por 2 minutos.

- Las láminas se colocaron en Hematoxilina de Harris durante 3 minutos con 40 segundos, y se lavaron en agua corriente durante 1 minuto. Posteriormente, se realizó el azulamiento mediante carbonato de litio durante 15 segundos, y se lavaron en agua corriente durante 30 segundos.

- Finalmente, las láminas se colocaron en Eosina hidrosoluble durante 40 segundos, y se lavaron en agua corriente durante 15 segundos.

- Se deshidrató brevemente mediante dos cambios en alcohol de 96° y dos cambios en alcohol absoluto (cambios rápidos – entre 2 y 3 segundos).

- Se secaron las láminas al ambiente, y se montó en resina sintético.

\*Coloración con el método de hidratación y deshidratación con aguardiente de caña de azúcar.

- A partir de los bloques seleccionados, se realizaron cortes a 3 micras (láminas pavonadas convencionales, sin ningún tipo de aditivo adicional), y se colocaron estas láminas en una estufa a 80°C durante 60 minutos. Luego, se desparafinó mediante tres cambios en Neo-clear, primero Neo-clear (30 minutos), los dos Neo-clear (15 minutos cada uno), se hidrató mediante tres cambios con aguardiente de caña de azúcar (15 minutos cada uno), y por último agua de caño por 2 minutos.

- Las láminas se colocaron en Hematoxilina de Harris durante 3 minutos con 40 segundos, y se lavaron en agua corriente durante 1 minuto. Posteriormente, se realizó el azulamiento mediante carbonato de litio durante 15 segundos, y se lavaron en agua corriente durante 30 segundos.

- Finalmente, las láminas se colocaron en Eosina hidrosoluble durante 40 segundos, y se lavaron en agua corriente durante 15 segundos.

- Se deshidrató brevemente mediante cuatro cambios en aguardiente de caña de azúcar (cambios rápidos – entre 2 y 3 segundos).

- Se secaron las láminas al ambiente, y se montó en resina sintético.

**Anexo H: Solicitud de participación del observador.**

Jaén, 25 de Abril del 2022

Lic. TM. Adán Joel Villanueva Sosa,

De mi consideración:

Yo, Dra. Roció del pilar López Rodríguez, Médico Anatomopatólogo C.M.P 56416; R.N.E 37382 identificado con DNI: 4222244, tengo a bien dirigirme a usted para saludarlo cordialmente y, asimismo, infórmale que acepto participar, como observadora en su plan de investigación "AGUARDIENTE COMO ALTERNATIVA EN LA COLORACIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA EN EL HOSPITAL GENERAL DE JAÉN II-1", de la segunda especialidad en histotecnología – UNFV.

Sin otro particular, agradezco su atención.

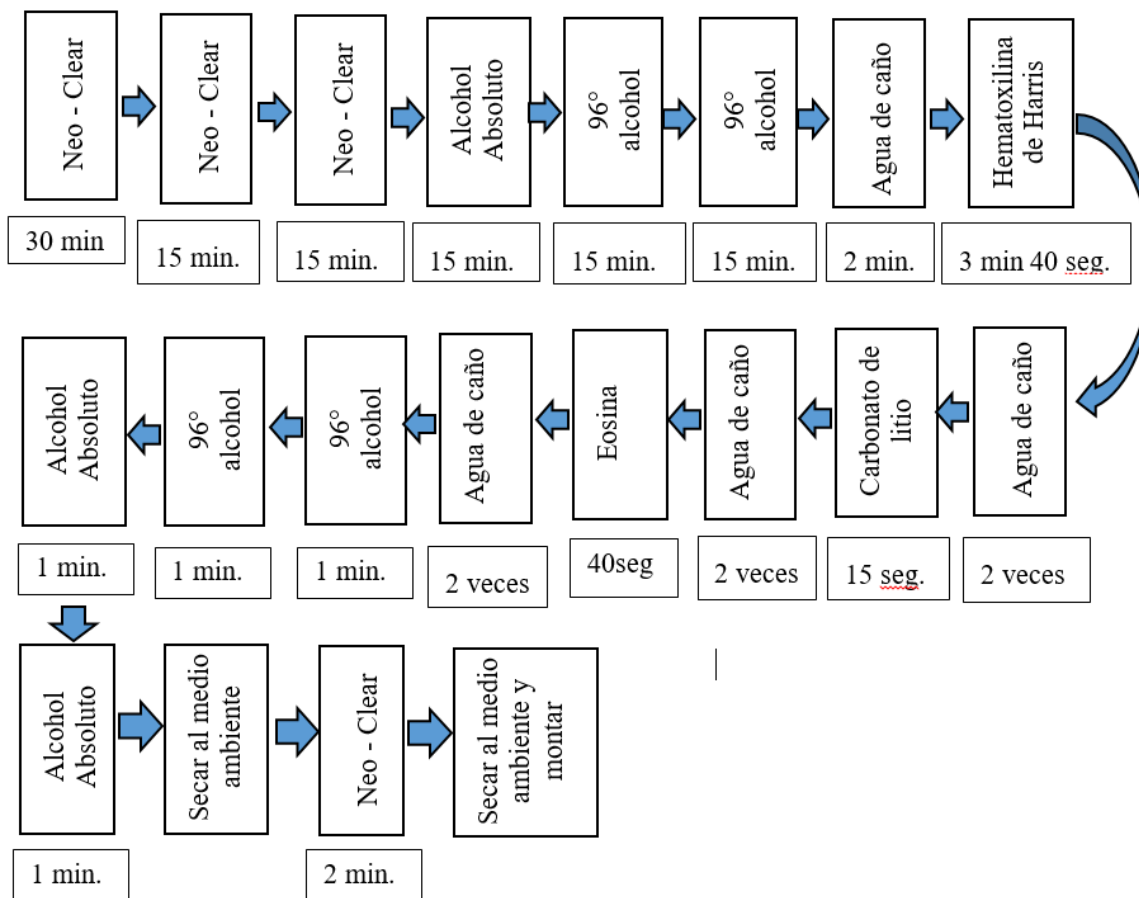


*Rocio López Rodríguez*  
MÉDICO ANATOMOPATÓLOGO  
CMP 56416 RNE 37382

---

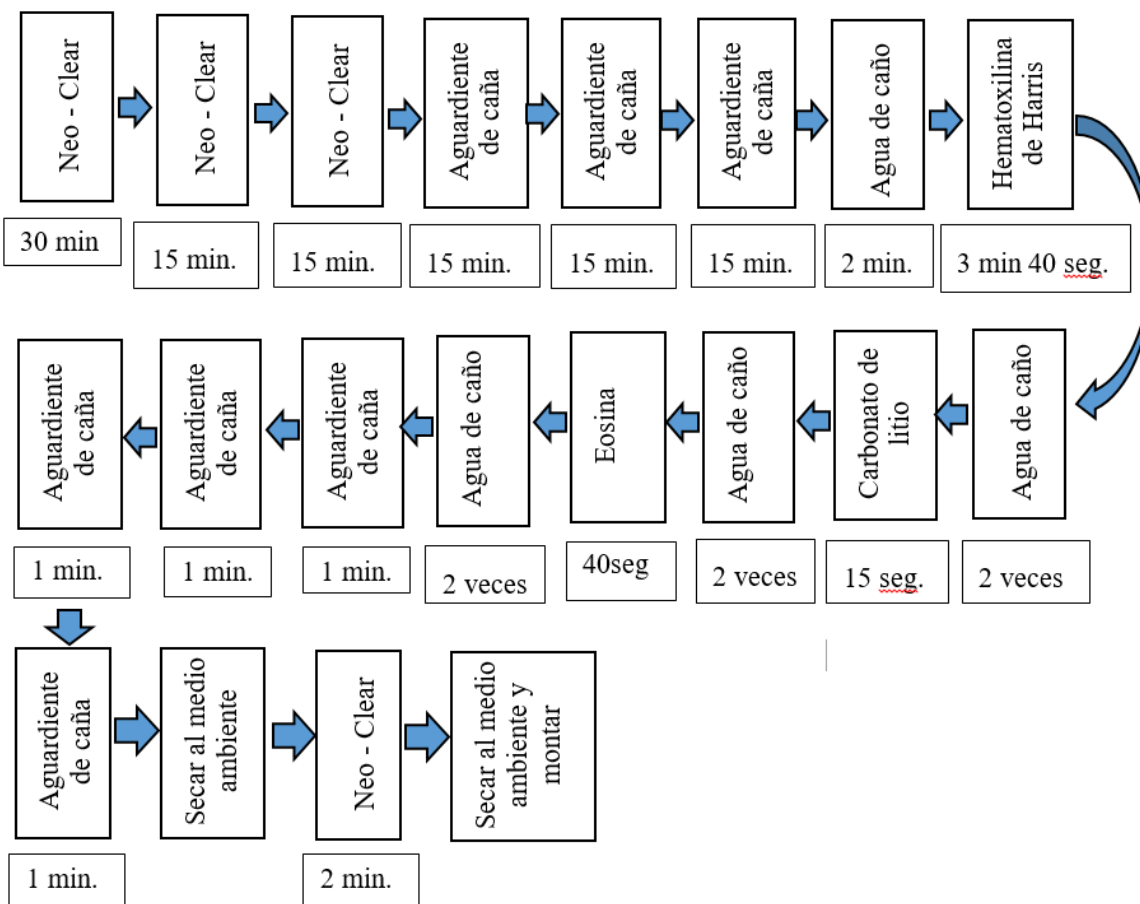
Roció del pilar López Rodríguez,  
Médico Anatomopatólogo  
C.M.P 56416 R.N.E 37382

### Anexo I. Procedimientos para la coloración con alcohol de 96% y 100%



Elaborado por el autor.

## Anexo J. Procedimientos para la coloración con aguardiente de caña de azúcar



Elaborado por el autor.

**Figura 2.**

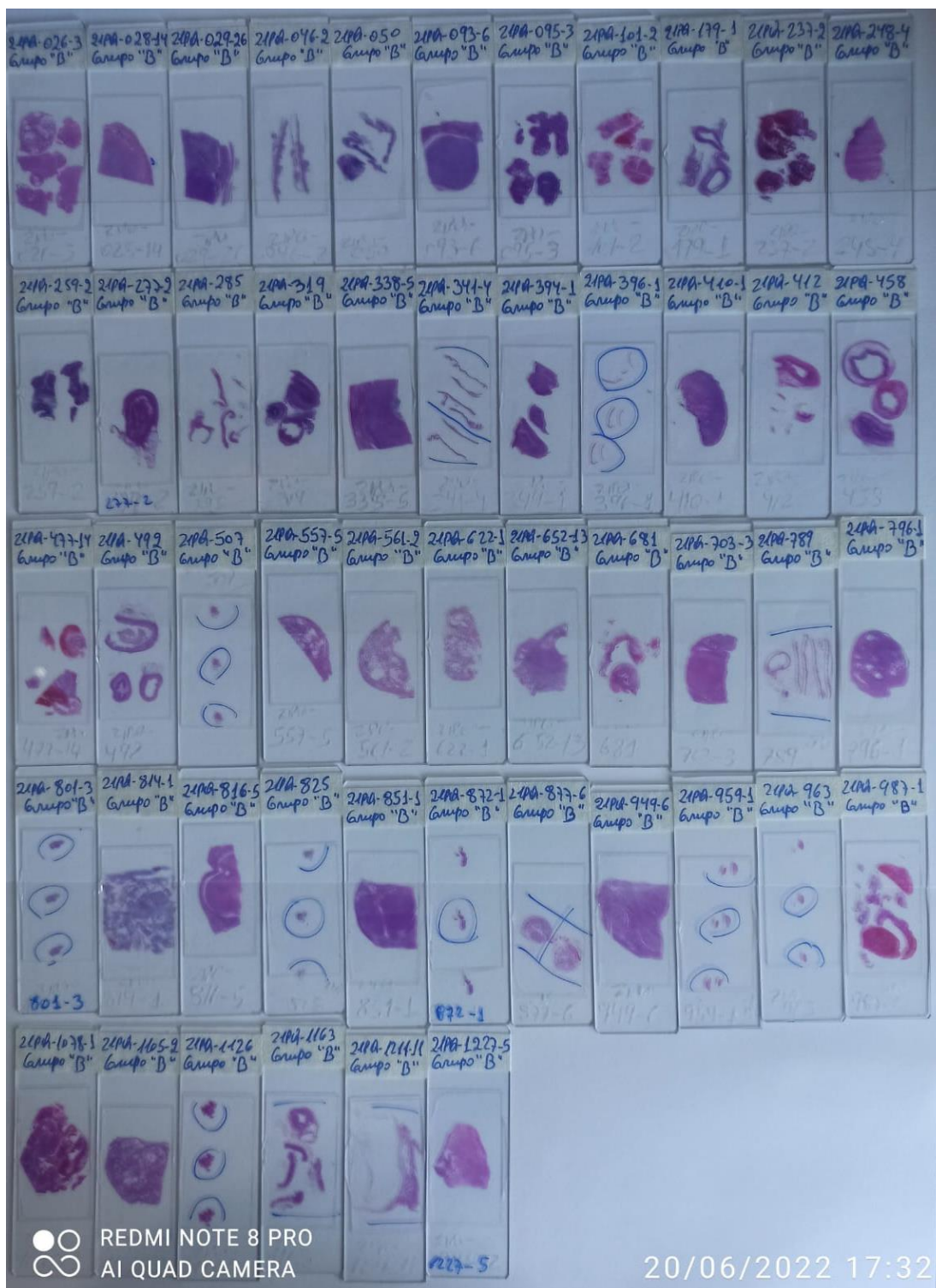
*Evidencia de la prueba piloto respecto a la coloración convencional y alternativo*

*Coloración convencional con alcohol de 96% y 100%*



Fuente: Evaluación obtenido mediante la coloración.

Coloración alternativa con el aguardiente de la caña de azúcar



Fuente: Evaluación obtenido mediante la coloración.

**Figura 3**

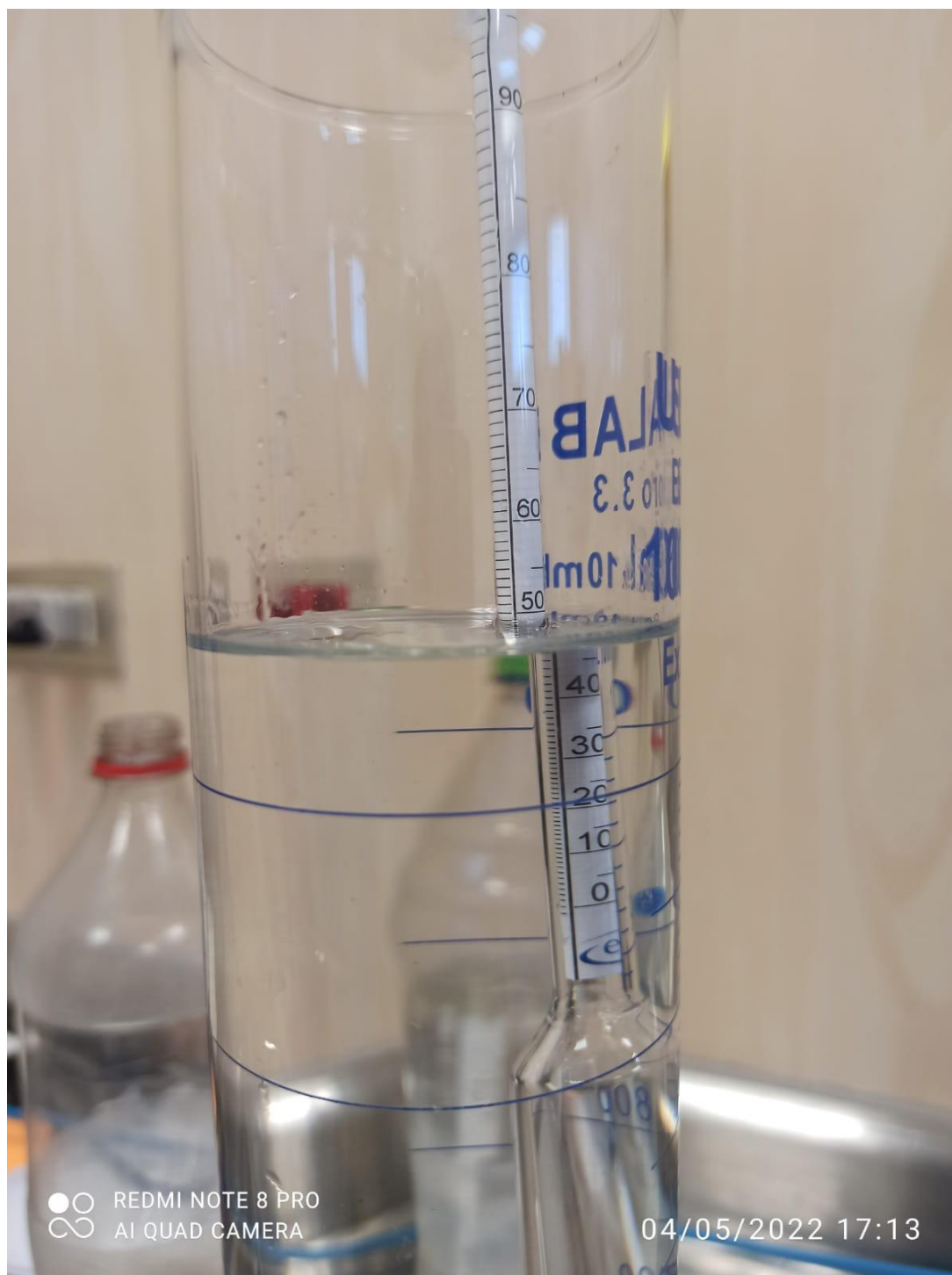
*Tejidos en parafina, que participan en el plan piloto.*





**Figura 4**

*Concentración de alcohol del aguardiente de caña de azúcar.*



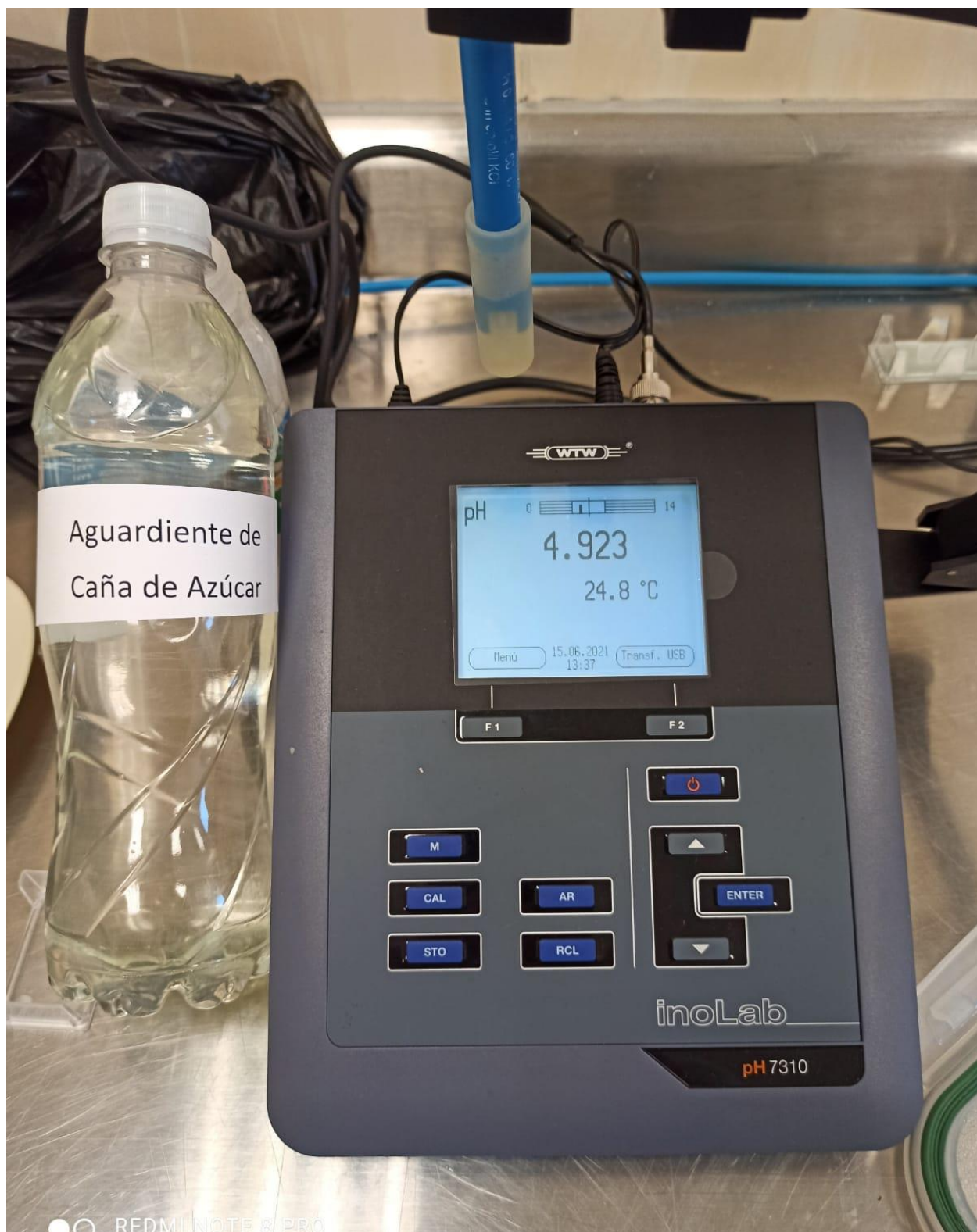
**Figura 5**

*Batería de coloración con aguardiente de caña de azúcar.*



**Figura 6**

*Medición del pH del aguardiente de caña de azúcar.*



**Figura 8**

*Equipo de procesar de tejidos.*

