



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE AZUL DE TOLUIDINA PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE MASTOCITOSIS CUTÁNEA EN EL POLICLÍNICO SAN CARLOS LIMA, 2022

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en  
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**Autor:**

Vega Anglas, Hernán Vladimir

**Asesora:**

Astete Medrano, Delia Jessica  
(ORCID: 0000-0001-5667-7369)

**Jurado:**

Hurtado Concha, Arístides  
Guerrero Barrantes, Cesar Enrique  
Calderón Cumpa, Luis Yuri

**Lima - Perú**

**2024**



# "UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE AZUL DE TOLUIDINA PARA EL DIAGNÓSTICO DE MASTOCITOSIS CUTÁNEA EN EL POLICLÍNICO SAN CARLOS LIMA, 2022"

## INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

9%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://www.scielo.org.ar">www.scielo.org.ar</a> Fuente de Internet	1%
2	<a href="http://doaj.org">doaj.org</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="http://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://pesquisa.bvsalud.org">pesquisa.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="http://worldwidescience.org">worldwidescience.org</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	<1%



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE AZUL DE TOLUIDINA PARA EL DIAGNÓSTICO  
DE MASTOCITOSIS CUTÁNEA EN EL POLICLÍNICO SAN CARLOS LIMA, 2022**

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis Para Optar El Título Profesional De Licenciado Tecnólogo Médico en Laboratorio

Clínico y Anatomía Patológica

**Autor:**

Vega Anglas, Hernán Vladimir

(ORCID: 0009-0000-7663-5975)

**Asesor(a):**

Astete Medrano, Delia Jessica

(ORCID: 0000-0001-5667-7369)

**Jurado:**

Hurtado Concha, Arístides

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

Calderón Cumpa, Luis Yuri

**Lima – Perú**

**2024**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Orlando y Yodolia por su amor y ser mi soporte incondicional en los momentos más difíciles de mi vida. A mis hermanos Arnold y Angelo, por crecer juntos compartiendo experiencias diarias a lo largo de nuestra vida. A mis abuelos por su amor infinito: Zenaida, Gustavo y Rosa. A mi tío Daniel por sus enseñanzas que desde niño pudo compartirme. A mi pareja Esther por su tiempo, apoyo y acompañarme en este camino importante. A mi hija Rafaela a quien amo día a día, demostrándole que todo lo puede.

## **AGRADECIMIENTO**

El presente estudio se inició en la Universidad Nacional Federico Villareal mi alma mater, que me permitió desarrollar aptitudes científicas y académicas.

Agradezco a Dios por ser mi guía, mi fortaleza en el transcurso de mi vida y que junto a mis padres me permitieron llegar a cumplir mis sueños.

Agradezco a la doctora Delia Jessica Astete Medrano por su asesoría. Brindándome su paciencia, apoyo y orientación en este proyecto, compartiendo su apreciación por la investigación en el laboratorio clínico.

Agradezco al doctor Cesar Chian por su innegable compromiso en ejecutar este trabajo de investigación, al permitirme ser participe del laboratorio de anatomía patológica.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	6
ABSTRACT .....	7
I. INTRODUCCIÓN .....	8
1.1. Descripción y formulación del problema.....	9
1.2. Antecedentes .....	11
1.3. Objetivos.....	17
1.4. Justificación .....	17
1.5. Hipótesis .....	18
II. MARCO TEÓRICO .....	19
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación .....	19
III. METODO.....	37
3.1. Tipo de Investigación.....	37
3.2. Ámbito Temporal y Espacial .....	37
3.3. Operacionalización de la Variable .....	37
3.4. Población y Muestra.....	38
3.5. Instrumentos .....	38
3.6. Procedimiento.....	38
3.7. Análisis de datos .....	39
IV. RESULTADOS .....	41
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	53
VI. CONCLUSIONES.....	56

VII. RECOMENDACIONES.....	57
VIII. REFERENCIAS.....	60
IX. ANEXOS.....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 Valores Obtenidos mediante la coloración Azul de toluidina. ....	45
FIGURA 2 Sensibilidad y especificidad del Azul de toluidina. ....	42
FIGURA 3 Valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del Azul de toluidina.....	43
FIGURA 4 Cuantificación de mastocitos en lámina histológica con AT.....	44
FIGURA 5 Grado de dificultad para la observación de mastocitos en lamina histológica AT.....	45
FIGURA 6 Cuantificación y grado de dificultad de mastocitos en la lámina histológica con AT.....	46
FIGURA 7 Cuantificación de mastocitos en lámina histológica con H/E. ....	47
FIGURA 8 Grado de dificultad para la observación de mastocitos en lamina histológica con H/E.....	47
FIGURA 9 Cuantificación y grado de dificultad de mastocitos en la lámina histológica (H/E) .....	48
FIGURA 10 Evaluación de rendimiento mediante la cuantificación de mastocitos.....	49
FIGURA 11 Evaluación de rendimiento mediante el grado de dificultad en la identificación de mastocitos.....	50
FIGURA 12 Validez de la prueba diagnóstica de las coloraciones Azul de toluidina y Hematoxilina/ eosina.....	52

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar la utilidad de la tinción azul de toluidina identificando mastocitos en biopsias de piel para el diagnóstico clínico de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.

**Método:** Se realizó un estudio descriptivo, perspectivo, diseño no experimental de corte transversal, donde se incluyeron 27 muestras biológicas con sospecha clínica de mastocitosis cutánea en pacientes pediátricos, evaluados en primera estancia por la tinción estándar Hematoxilina y eosina para luego ser confirmadas con la prueba inmunohistoquímica CD117 en casos positivos. **Resultados:** Del total de muestras procesadas se determinó una sensibilidad del 100%, especificidad 90%, valor predictivo positivo 95% y valor predictivo negativo del 100% en el uso de la coloración azul de toluidina. Los resultados presentados fueron evaluados por las características celulares de mastocitos mediante la cantidad y dificultad al identificarlos en láminas histológicas. Las muestras fueron verificadas en conjunto con la tinción patrón Hematoxilina y eosina por el medico patólogo, para validar la utilidad de la coloración en estudio, identificando una mejor capacidad de detección en mastocitos. **Conclusiones:** Los valores obtenidos para la validez de prueba diagnóstica, confirmaron lo útil y eficaz que resulta la coloración con azul de toluidina en biopsias de piel para la detección de mastocitos que contribuyan al diagnóstico de mastocitosis cutánea en infantes.

*Palabras Clave:* Azul de toluidina, mastocitos, mastocitosis cutánea, protooncogén c-kit., validez de prueba diagnóstica.

## ABSTRACT

**Objective:** Determine the usefulness of toluidine blue staining in the identification of mast cells in skin biopsies for the clinical diagnosis of cutaneous mastocytosis in the San Carlos polyclinic. **Method:** A descriptive, retrospective, cross-sectional, non-experimental design study was carried out. Twenty-seven biological samples with clinical suspicion of cutaneous mastocytosis in pediatric patients were included. processed with standard hematoxylin and eosin stain and confirmed with CD117 immunohistochemical test for positive cases. **Results:** Of the total samples processed, a sensitivity of 100%, specificity of 90%, positive predictive value of 95% and negative predictive value of 100% were determined for the use of the toluidine blue stain. The results presented were evaluated by the cellular characteristics of mast cells through their quantity and the difficulty of identifying them in histological slides. The samples were verified in conjunction with hematoxylin and eosin standard staining by the pathologist, identifying a better detection capacity in mast cells by toluidine blue. **Conclusions:** The values obtained for the validity of the diagnostic test confirmed the usefulness and efficacy of toluidine blue staining of skin biopsies for the detection of mast cells that contribute to the diagnosis of cutaneous mastocytosis in infants.

**Key words:** Toluidine blue, mast cells, cutaneous mastocytosis, c-kit proto-oncogene validity of diagnostic test

## I. INTRODUCCIÓN

La mastocitosis se presenta como una enfermedad típica de la piel; aunque las características de esta patología son muy diversas, se tiene conocimiento que puede dañar órganos e incluso sistemas. Esta enfermedad se caracteriza por la clonación desmedida de mastocitos que tiene su origen en una mutación del gen KIT que codifica al receptor KIT (CD117), una proteína que regula el crecimiento y diferenciación de los mastocitos. Estas células provenientes de la medula ósea cumplen un papel determinante en nuestro sistema inmunológico, que en conjunto con la inmunoglobulina E y antígenos específicos liberan un gran número de mediadores inflamatorios (histaminas, citocinas, leucotrienos y factores de crecimiento), los cuales otorgan una respuesta de hipersensibilidad a nuestro organismo modulando procesos inflamatorios y alérgicos (Bergström et al, 2018).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la mastocitosis se divide en: Mastocitosis sistémica, mastocitosis cutánea y sarcoma de mastocito. La mastocitosis cutánea, que es el eje principal de esta investigación; tiene un curso relativamente benigno y su población más afectada es la infantil, la información de casos clínicos es limitada por lo que carecen de estudios informativos. En Perú, la mastocitosis cutánea presenta generalmente una afectación del 55 % al 99% en menores de dos años, según informe reportado por el Instituto Nacional del Niño en Lima, se resalta que los varones comprenden la población más afectada para la enfermedad mastocitaria (Dumas et al, 2019).

De acuerdo con las características ya definidas por la OMS la mastocitosis cutánea puede presentar las siguientes formas: mastocitosis cutánea maculopapular (anteriormente conocida como urticaria pigmentosa), mastocitoma solitaria, mastocitosis cutánea difusa y telangiectasia, (Preis, 2022)

Se tiene como finalidad evaluar la utilidad del colorante azul de toluidina que es altamente específico para la detección de mastocitos, células protectoras que contienen

gránulos y se encuentran en gran proporción en la piel. El estudio se llevó a cabo en el policlínico San Carlos ubicado en la ciudad de Lima; donde se presentaron casos de infantes diagnosticados y con sospecha de mastocitosis cutánea, evaluados bajo criterios establecidos por el policlínico. Los criterios fueron los siguientes: diferenciación de mastocitos en biopsias de piel mediante la coloración de hematoxilina y eosina, seguido de la prueba confirmatoria para la determinación inmunohistoquímica de CD117/c-kit. Estas herramientas de laboratorio que luego fueron complementadas por la interpretación del médico patólogo permiten obtener un certero diagnóstico en el examen clínico (Ramón Trejo-Acuña et al, 2018).

Bajo esta premisa se pretende establecer una alternativa de diagnóstico que permita facilitar la identificación de células mastocitarias al área de anatomía patológica, a su vez que otorgue un menor tiempo en la entrega de resultados. Se presenta entonces la siguiente investigación como medida para evaluar la utilidad del azul de toluidina, colorante de elección en el diagnóstico de mastocitosis cutánea detectado en muestras biológicas. Este tipo de colorante obtiene una efectividad a gran escala por su característica de tinción metacromática, particularidad que permite inducir de forma natural la captación del colorante en los gránulos de los mastocitos (Drabent et al., 2022).

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

### ***1.1.1 Descripción del problema***

La mastocitosis durante sus primeros años de estudio perteneció al grupo de enfermedades raras, huérfanas y pocos frecuentes, esto a la poca evidencia que se presenta en la población mundial sumado a la falta de trabajos de investigación que se han podido recolectar. Los últimos estudios mencionan que 1 de cada 10,000 personas padecen de mastocitosis sistémica y cutánea; aunque la mastocitosis cutánea es una enfermedad benigna ello no exonera el desafío de poder diagnosticarlas (Le et al, 2017).

El diagnóstico en ocasiones puede ser complicado, básicamente si el médico patólogo

no está capacitado ni guiado por la clínica de la enfermedad; debido a que la lesión de la piel producto de la mastocitosis puede confundirse con una simple inflamación perivascular de la dermis superficial. Estas dificultades también se deben a que una biopsia de piel aparentemente sana puede presentar una gran cantidad de mastocitos como también una cantidad mínima y es que una muestra de piel puede contener unos 77 mastocitos/mm<sup>2</sup> en áreas proximales y una cantidad en áreas distales de 108.2 mastocitos/mm<sup>2</sup>. Por consiguiente, la identificación celular está condicionada por la observación de mastocitos en lamina histológica que no pueda ser resuelto en un diagnóstico y tratamiento oportuno para el paciente, considerando que el diagnóstico temprano se basa en la observación de mastocitos agrupados en áreas aisladas; mientras se espera el resultado de la prueba confirmatoria CD117/c-kit para el diagnóstico de Mastocitosis cutánea. Con el fin de obtener resultados confiables y acortar el tiempo de espera de la prueba confirmatoria, se desea implementar al proceso de muestras biológicas una tinción supravital como es el azul de toluidina, que permitirá colorear a los mastocitos con gran notoriedad por la afinidad que tiene esta tinción con los gránulos presentes en el citoplasma de los mastocitos. En resumen, el azul de toluidina presenta una característica de metacromasia que ayuda a diferenciar a los mastocitos de distintas células (Saba et al., 2015).

### ***1.1.2 Formulación de la pregunta general***

¿Cuál es la utilidad del azul de toluidina para el hallazgo de mastocitos en biopsias de piel para el diagnóstico de mastocitosis cutánea en el laboratorio del policlínico San Carlos?

### **1.1.3 Formulación de las preguntas específicas**

¿Cuál es la sensibilidad de la coloración azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?

¿Cuál es la especificidad de la coloración azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?

¿Cuál es el valor predictivo positivo de la coloración azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?

¿Cuál es el valor predictivo negativo de la coloración azul de toluidina para la identificación de d mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?

## **1.2. Antecedentes**

Para Drabent et al., (2022), en el estudio denominado “*Establecimiento de criterios diagnósticos de mastocitosis en biopsias de piel*” se planteó el diagnóstico e mastocitosis en biopsias de piel, especialmente en casos con muy pocos mastocitos. Donde se examinaron 103 biopsias de piel diagnosticados con mastocitosis y se contrastaron con biopsias de lesiones cutáneas inflamatorias, además de piel normal. Se determinó el patrón de distribución de células mastocitarias, el recuento de mastocitos por mm<sup>2</sup> y el porcentaje de mastocitos en el infiltrado inflamatorio, utilizando el examen inmunohistoquímico CD117. Se resolvió que una distribución subepidérmica o en forma de lámina de mastocitos era específica para la mastocitosis. La característica más significativa fue el porcentaje de mastocitos y no el recuento de mastocitos. Enunciaron que un porcentaje de mastocitos superior al 40% era completamente específico tanto en la población adulta como la infantil, sin embargo, carecía de sensibilidad, particularmente en adultos. En menores de edad, la cantidad de mastocitos mayor a 90 por mm<sup>2</sup> representó un valor inferior al 40% en todos los casos permitiendo un diagnóstico factible y sencillo. Sin embargo, en el caso de la población adulta, la detección fue más complicada para casos menores del 40% de mastocitos que representó una cantidad de detección de mastocitos

mayor a 40 por mm<sup>2</sup>, la sensibilidad obtenida es del 88.5 % con una especificidad del 95.2%, los autores infieren la adición de signos que pueden resultar ser útiles en casos complejos, pero no contemplan la evaluación inmunohistoquímica del CD25, Se confirmó que los criterios estandarizados en médula ósea no eran apropiados para la piel. Como resultado desarrollaron un algoritmo con un alto nivel de reproducibilidad entre evaluadores para el diagnóstico de mastocitosis en biopsias de piel (media kappa 0,8). En el estudio de Lutz et al, (2022), denominado: *“Comparación de las tinciones con hematoxilina y eosina versus azul de toluidina en la evaluación de los carcinomas cutáneos durante la cirugía micrográfica de Mohs”* tuvieron como finalidad comparar el rendimiento de las tinciones de hematoxilina y eosina (H/E) versus azul de toluidina (AT) durante la cirugía, en el cual se estudiaron 23 tumores (16 carcinomas basocelulares y 7 carcinomas espinocelulares). Al observarse al microscopio óptico tanto con la tinción de AT como con H/E no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en lo global; sólo en algunas características, especialmente con la H/E. Se concluyó que al ser el primer trabajo en Uruguay que compara la eficacia de las dos tinciones durante la cirugía micrográfica de Mohs, que la tinción de H/E como el AT son muy buenas técnicas para el diagnóstico de carcinomas cutáneos.

En la investigación de Ferreira et al., (2020), presentado como: *“Manifestaciones Cutáneas en Mastocitosis: Actualización”* tuvieron como propósito informar las características de la mastocitosis causada por la expansión clonal de mastocitos morfológica e inmunofenotípicamente atípicos, en diferentes órganos donde la mayoría de infantes y más del 80% de los pacientes adultos con mastocitos presentan lesiones cutáneas. El artículo señaló como metodología y material: la descripción de síntomas y signos de la mastocitosis cutánea. Por consiguiente, concluyeron que; de acuerdo a la edad del primer indicio sintomatológico, las manifestaciones cutáneas de la mastocitosis puede ser variables, debido a la información actualizada en la clasificación de la mastocitosis cutánea. En general los pacientes con

mastocitosis de inicio en la niñez, la patología se presenta como mastocitosis cutánea y muestra una resolución espontánea alrededor de la pubertad. Al contrario, en pacientes adultos a pesar de tener también lesiones cutáneas suelen presentar afectación sistémica y el curso de la enfermedad suele ser crónico

Dumas; L et al., (2019), en su estudio denominado “*Mastocitosis Cutánea En Niños: Reporte De 23 Casos En 5 Años*” detallaron las formas clínicas, las lesiones y evaluación de pacientes con mastocitosis cutánea nacidos en Neuquén, en el área de Dermatología pediátrica en el transcurso de 5 años. La investigación es un estudio descriptivo, retrospectivo de corte transversal, en el periodo comprendido entre abril del 2013 y marzo del 2018 con la revisión de historias clínicas digitales de pacientes con diagnóstico de mastocitosis cutánea. Resolviendo que: de los 23 casos presentados de mastocitosis cutánea, el 60.87% de los casos corresponde a mastocitosis macopapular y el 39,13% a mastocitomas. No hubo diferencias significativas en cuanto al sexo. Un gran número de pacientes presentó lesiones localizadas en tronco y miembros, además el 95% tuvo signo de Darier positivo. Los investigadores concluyeron que la presentación clínica más frecuente fue la mastocitosis macopapular y el inicio de la enfermedad fue antes del primer año de vida. Los pacientes con mastocitomas solitarios permanecieron estables; mientras que en los casos de mastocitosis macopapular se utilizaron antihistamínicos con buen pronóstico.

Según Shukla et al., (2018), presentaron la investigación: “*Eficacia comparativa de la quimioluminiscencia y el azul de toluidina en la detección de trastornos potencialmente malignos y malignos de la cavidad oral*”, donde compararon métodos de detección como el azul de toluidina y quimioluminiscencia, en la identificación temprana de carcinoma acompañados de un diagnóstico histopatológico en la población de la India. En este estudio prospectivo se analizaron a 42 pacientes con lesiones premalignas clínicamente perceptibles. Se recolectaron datos demográficos y con el método de quimioluminiscencia (Vizlite) se

examinaron las lesiones sospechosas, seguidas del uso local de azul de toluidina (recomendación de Mashberg). Los hallazgos se detallaron como positivos o negativos para cada lesión bajo luz incandescente estándar. Se realizó biopsia y análisis histopatológico de los tejidos. Para las pruebas diagnósticas de quimioluminiscencia y azul de toluidina se calculó la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo; la coloración azul de toluidina resultó ser sensiblemente moderada (63,33 %), la especificidad tuvo un valor de 83.33%. El VPP fue de 90,48%; sin embargo, el valor predictivo negativo fue muy bajo, 47,62%. La prueba de quimioluminiscencia (Vizlite) resultó tener un nivel elevado en la sensibilidad (90 %), pero una especificidad limitada (50%). El VPP de la prueba fue bastante notoria con un VPP de 81,82%; sin embargo, el valor predictivo negativo fue apenas moderado, es decir, 66,67%. La relación diagnóstica entre el azul de toluidina y la quimioluminiscencia fue baja con un  $\kappa = 0,238$  ( $P < 0,05$ ). Por lo tanto, el estudio concluyó que tanto el azul de toluidina como VizLite pueden ser usados como complemento del examen visual convencional simple y en el procedimiento de detección de patologías orales potencialmente malignos.

Chaudhry et al., (2016), titularon a su investigación "*Comparación de quimioluminiscencia y azul de toluidina en el diagnóstico de displasia en leucoplasia: estudio transversal*" para diagnosticar y seguir el tratamiento precoz del cáncer oral en estadio potencialmente maligno obteniendo menores tasas de morbilidad y mejorando la calidad de vida de los pacientes. La finalidad del estudio fue comparar la eficacia de la quimioluminiscencia y el azul de toluidina para el diagnóstico de displasia en leucoplasia, según su metodología pusieron a prueba a 100 pacientes con leucoplasia en un examen oral rutinario. El examen de quimioluminiscencia con VizLite y prueba de azul de toluidina, seguido de una prueba confirmatoria histológica de displasia, mostraron una ligera variación por parte del azul de toluidina con una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del 42.4 %, 88.23%, 87.5% y 44.11%, respectivamente. Se comparó

también los datos obtenidos del examen con quimioluminiscencia que resultó con una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del 84,84 %, 41,17 %, 73,68 %, 58,33 %, respectivamente. Se concluyó una elevada eficacia del azul de toluidina para los casos más graves de displasia, excluyendo su utilidad en lesiones de alto riesgo como la de bajo riesgo.

Valdés González et al., (2016), con el tema de investigación titulado “*Mastocitosis cutánea. Un caso singular*” teniendo como objetivo exponer las características clínicas de un tipo de mastocitoma cutáneo poco conocido. Presentaron el caso de un menor de 7 años con lesiones cutáneas características de esta enfermedad, a quien se le realizó el diagnóstico en la consulta de Dermatología del Hospital Andino Alternativo de Chimborazo, Diócesis de Riobamba, Ecuador. Concluyó que la mastocitosis cutánea presenta alteraciones clínicas que permiten sospechar en un inicio su diagnóstico a pesar de su poca prevalencia, indica que es fundamental descartar otras enfermedades neoplásicas y/o crónicas que puedan presentarse en el curso de la enfermedad.

En el trabajo de investigación de Saba et al., (2015), que lleva por título “*Uso de la tinción supravital con azul de toluidina para mejorar la eficiencia de los informes de citología por aspiración con aguja fina en comparación con la tinción de Papanicolaou*” donde tuvo por objetivo ver la precisión, eficiencia y adecuación de frotis de PAAF teñidos con azul de toluidina en muestras de mama, de tiroides e inflamación de glándulas salivales comparados con frotis de PAAF coloreados con Papanicolaou convencional. Incluyeron un total de 114 aspirados de diversos lugares. Se tiñeron los frotis con tinción de Papanicolaou convencional y azul de toluidina comparando la citomorfología de ambos frotis. Los valores fueron calculados junto a pruebas estadísticas de significancia. Los resultados mostraron que de los 114 aspirados; la precisión diagnóstica mediante el uso de frotis supravital teñidos con azul de toluidina fue de un 100%, mientras que con el uso de papanicolaou fue solo del 78%. El

resultado de insuficiencia se redujo (25%). Los análisis resultaron estadísticamente significativos, glándulas salivales 11/48 (23%) y mama 37/48 (77%). La clasificación más usada en un rango de cinco niveles se basó en los reportes usados para citología mamaria, clasificadas como: materiales insuficientes (C1), benignos (C2), atípicos (C3), sospechosos de malignidad (C4) o francamente maligno (C5). La mayoría de las lesiones mamarias fueron benignas 25 (67,56%), hubo 9 casos malignos (24,32%), seguidos de 2 casos de C-4 y un caso de C-3. Para la lesión tiroidea benigna fue más frecuente comprendiendo 51 casos (72,27%). También se halló 1 caso de carcinoma papilar (5%), mientras que 13 casos fueron lesiones foliculares. Hubo 4 casos de adenoma pleomorfo (36,4%) y 3 casos de sialoadenitis inespecífica (27,3). Se encontró un caso de cada lesión para carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenocítico y quiste benigno representando un 9%. Los investigadores resolvieron que el estudio de FNAC coloreado con azul de toluidina mejora la precisión diagnóstica; al reducir el artefacto de frotis y secado, así como la pérdida de muestra celular durante la fijación y tinción que influye en la precisión diagnóstica.

Según Chainani-Wu et al., (2015), con la investigación "*El azul de toluidina ayuda en la detección de displasia y carcinoma en lesiones orales sospechosas*" tuvo como finalidad la identificación clínica precisa de lesiones premalignas orales categorizadas como de "mayor riesgo" y "menor riesgo" dentro de lesiones; evaluando la utilidad de los métodos de diagnóstico que identifican su presencia. Siendo un estudio observacional transversal con un muestreo consecutivo de pacientes con diagnóstico en leucoplasia oral, eritroleucoplasia o eritroplasia. Los parámetros usados para la evaluación fueron: historial médico, examen oral visual, examen VizLite, tinción con azul de toluidina y una biopsia, realizando todo en un mismo tiempo. En 67 de 100 lesiones examinadas, 43 pacientes fueron biopsias procesadas. Se calculó la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo para el examen visual, VizLite y el azul de toluidina utilizando los resultados de la biopsia como patrón oro.

La sensibilidad del azul de toluidina para detectar lesiones de alto riesgo (carcinoma in situ o carcinoma) fue 94 (71-100,  $P < 0,0003$ ) y especificidad 45 (32- 58,  $P < 0,53$ ), mientras que, para carcinoma, la sensibilidad fue 100 (54-100,  $P < 0,032$ ) y la especificidad 39 (28-52,  $P < 0,097$ ). Concluyeron que mediante el examen clínico de las lesiones de leucoplasia, eritroplasia o eritroleucoplasia la tinción azul de toluidina ayudaría a determinar el sitio dentro de una lesión para la toma de muestra en biopsia.

### **1.3. Objetivos**

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

- Determinar la utilidad de la tinción de azul de toluidina, para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospecha clínica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.

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

- Determinar la sensibilidad de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.

- Determinar la especificidad de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.

- Determinar el valor predictivo positivo de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.

- Determinar el valor predictivo negativo de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.

### **1.4. Justificación**

La mastocitosis cutánea en diferentes etapas de la vida tiene un curso distinto: En niños la patología tiende a resolverse antes de la pubertad, mientras que en adolescentes se presenta un curso crónico que puede llegar a derivar en una infiltración extra cutánea de mastocitos y en adultos existe la sospecha de agravarse en una mastocitosis sistémica; siendo aun mayor en

aquellos que presenten signos y síntomas relacionados a la enfermedad. Debido a que el transcurso de la mastocitosis cutánea es distinto en diferentes etapas de la vida, su diagnóstico se torna más difícil por los síntomas y lesiones cutáneas que se padecen, siendo en ocasiones de difícil reconocimiento por el personal médico no capacitado retrasando así su posible diagnóstico. En el presente estudio se planteó la opción de implementar una metodología reconocida para la identificación de mastocitos. La cual se caracteriza por ser una técnica eficaz, reproducible y de costo accesible, otorgando al personal clínico una herramienta útil de ayuda diagnóstica beneficiando incluso a pacientes. Esta técnica que complementa a la prueba estándar de diagnóstico (hematoxilina y eosina) en la detección de mastocitos, se pretende incorporar al protocolo ya establecido en el laboratorio de anatomía patológica. El recurso histológico con el que se desea contar es la coloración azul de toluidina, coloración metacromática que tiene una gran afinidad por los gránulos mastocitarios, tinción que se caracteriza por reducir la exposición de la muestra a solventes y en un menor tiempo la coloración otorga un excelente detalle en la morfología nuclear de los mastocitos, obteniendo así una lectura de lámina e interpretación mucho antes que la emisión de resultados por la metodología inmunohistoquímica CD117/c-kit.

Por lo expuesto, la finalidad de este estudio es evaluar y comprobar la utilidad de la coloración azul de toluidina resultando ser una técnica reproducible, así como consistente en la detección de mastocitos, además de incentivar a futuras investigaciones en base a lo expuesto.

### **1.5. Hipótesis**

Estudio de tipo descriptivo, No plantea hipótesis

## II. MARCO TEÓRICO

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

La mastocitosis agrupa un conjunto de patologías que se caracterizan por la aglomeración y expansión de mastocitos, especialmente en la dermis, capaz incluso de afectar a órganos y sistemas sin distinción de edad ni sexo. El primer indicio que se tiene de la mastocitosis se dio en una niña de 2 años que data de 1869 por el Dr. Nettleship y Tay (Dumas et al., 2019). Se le llegó a denominar en sus primeros años de estudio como urticaria pigmentosa, una condición dermatológica que presenta lesiones cutáneas típicas pigmentadas. Posteriormente Paul Ehrlich en el año de 1879 describió la presencia de acúmulos por mastocitos en las lesiones de urticaria pigmentosa, entonces se creía que la mastocitosis afectaba únicamente la piel; pero no fue sino hasta el año de 1949 que Ellis describió el primer caso de mastocitosis sistémica (Valent et al., 2017). La mastocitosis puede afectar tanto en la infancia como en la edad adulta; sin embargo, se registra que los niños son los que presentan en mayor rango lesiones cutáneas, los síntomas principales que conlleva padecer de este tipo de mastocitosis son: enrojecimiento, prurito, diarrea, dolor abdominal y dolor musculo esquelético. Estas principales características se producen por la liberación de mediadores de mastocitos en la dermis, hígado, ganglios linfáticos y medula ósea; siendo la piel la zona con mayor afectación. Los casos de los pacientes con mastocitosis sistémica y en algunos casos cutánea tienen su origen en la mutación adquirida en el oncogén kit (Carter et al., 2014).

#### 2.1.1. Mastocitos

Los mastocitos humanos son células inmunes de linaje hematopoyético, que se desarrollan a partir de células pluripotenciales CD34 provenientes de la medula ósea (Clavero, 2014). Estas células miden aproximadamente entre 8 – 20 micras conservando un aspecto redondeado u ovoide, su núcleo céntrico no presenta una forma lobular típica, el citoplasma por su parte presenta gránulos que contienen histamina y heparina, además adquieren propiedades

metacromáticas la cual permite cambiar el color base del colorante que se use, por ejemplo, el azul de toluidina tiñe al mastocito con la finalidad de obtener gránulos de color rojizo (Megías, et al, 2018). Los mastocitos son responsables de la respuesta alérgica en el organismo, su diferenciación y maduración se lleva a cabo en el torrente sanguíneo finalizando en los tejidos periféricos, el proceso de maduración está sujeto a diversas sustancias como las citocinas; siendo el factor de células madre la citocina de mayor importancia en la activación y desarrollo de los mastocitos donde también encontramos a los factores de crecimiento y a la prostaglandina E<sub>2</sub> participes de esta maduración (Clavero, 2014).

En el citoplasma, los mastocitos presentan la molécula de histamina y gran cantidad de mediadores inflamatorios, así como la expresión de un receptor de tirosina quinasa (KIT). Se conoce que los mastocitos ya maduros se alojan muy cerca a los nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, pero es en la superficie epitelial de la dermis, en las mucosas del tracto gastrointestinal y en el tracto respiratorio donde su interacción es mayor con el medio externo teniendo mayor presencia celular. Genéticamente se ha descrito una mutación somática en *c-kit* que codifica al KIT en la médula ósea, la mutación se lleva a cabo también en la piel y células sanguíneas periféricas. La aberración genética más común es la D816V que produce una mayor proliferación y supervivencia de mastocitos, produciendo mastocitosis. Cabe resaltar que la mutación no es muy usual en la mastocitosis cutánea que afecta a la población infantil, ya que los niños pertenecen al grupo benigno de la enfermedad (Carter et al., 2014).

### **2.1.2. La proteína *kit* o *cd117***

Los mastocitos expresan un receptor transmembrana de tirosina quinasa tipo III conocido como KIT, una glicoproteína que comprende 21 exones y el cual está codificado por el protooncogén *c-kit* ubicado en el cromosoma 4q12. El KIT también está presente en células hematopoyéticas, melanocitos, células germinales entre otros. Siendo un derivado proteico del protooncogén *c-kit* su activación tiene un efecto natural contra la apoptosis, con el fin de

acentuar la supervivencia celular e incitar su crecimiento. Su estructura comprende: primero, a los 5 dominios de unión ligando a extracelulares comparables a los anticuerpos (ECD), seguido de un dominio transmembrana tirosina quinasa (TKD) y por último un dominio intracelular de yuxta membrana (JMD) (Falchi y Verstovsek, 2018).

La proteína sirve de receptor para el factor de células madre (SCF del inglés “stem cell factor”) denominado también como ligando de kit, el cual es expresado por las células endoteliales y fibroblastos. El factor se une en forma de homodímero a los tres primeros dominios que presentan una forma de inmunoglobulina, la homodimerización del receptor provoca la activación de tirosina quinasa del dominio intracelular. La señalización dada por la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), vía requerida para la activación de los mastocitos y la vía JAK/STAT, activador de la transcripción y transductor de señal, son fundamentales para la regularización de funciones celulares, conocidas como: proliferación, migración, diferenciación y supervisión de la célula (Calvo, 2017).

**2.1.2.1. Mutación del C-KIT.** La mutación del c-kit provoca una hiperactividad en el receptor de la célula provocando un crecimiento clonal del mastocito y su posterior aglomeración en tejidos, dicha mutación provocara la enfermedad conocida como mastocitosis (Matito, 2018).

Se han hallado mutaciones puntuales en el protooncogén c-kit, específicamente en el codón D816V dentro del dominio quinasa, siendo la mutación más común del kit en pacientes adultos que presentan formas más avanzadas de la enfermedad y posteriormente se describió la mutación en infantes, pero en menor proporción (Price et al., 2010).

En pacientes diagnosticados con mastocitosis se comprobó una mutación en el gen c-kit detalladamente en el dominio catalítico; exón número 17, donde se presenta una sustitución del aminoácido valina por la asparagina 816 independizando a la proteína de su ligando con lo cual se produce una activación constitutiva del protooncogén c-kit, reduciendo el nivel de

apoptosis y aumentando la tasa de proliferación celular. Provocando una resistencia en los pacientes a la terapia con inhibidores de la tirosina quinasa. Diversos estudios científicos cuestionan si existe una mutación del c-kit en la mastocitosis cutánea al indicar que este tipo de mastocitosis presenta una regresión espontánea denominándola una enfermedad reactiva y no clonal. Longley et al. (1996), investigaron a seis niños diagnosticados con mastocitosis cutánea, no hallando mutación en el codón D816V en ninguno de los pacientes. Buttner et al (1998), examinaron a 11 niños que padecían de mastocitosis, sin embargo, ninguno de los participantes presento la mutación D816V. No fue sino hasta el año 2005 y 2007 donde Yanagihori como Verzijl respectivamente, hallaron la presencia de la mutación en el codón D816V en infantes que padecían de mastocitosis cutánea, pero coinciden con investigaciones pasadas en presentar muy poca cantidad de participantes. En el 2009 la investigación realizada por Cristina Bodemer y compañía no tuvo como centro de investigación al codón D816V, sino se enfocó en la secuencia total del ARN mensajero del protooncogén c-kit presente en lesiones cutáneas; donde un 86 % de los 50 casos estudiados presentaron la mutación c-kit, un 36% de los niños presento mutación en el codón D816V y un 44% presento una alteración en los exones 8,9 y 11 que son excluyentes del codón donde se produce la mutación D816V; concluyendo al fin de la investigación que la mastocitosis cutánea es una forma de enfermedad clonal asociada a la activación anormal del protooncogén c-kit (Bodemer et al., 2010).

### ***2.1.3. Mediadores de los mastocitos y sus efectos patológicos***

El tipo de mediadores que serán secretados por los mastocitos va a depender principalmente del tipo de estimulación externa que afecte a nuestro organismo, los alérgenos producirán una respuesta de mediadores proinflamatorios como las histaminas y la Degranulación del mastocito. Mientras que una producción de citocinas como respuesta inmunitaria será causada por bacterias y sus derivados (Clavero, 2014).

Específicamente la liberación de histamina va a regular la vasodilatación, la

vasopermeabilidad, la contracción del músculo liso gastrointestinal y bronquial, la histamina será responsable también de la producción del ácido gástrico y el prurito realizados a través de receptores  $H_1$  y  $H_4$ . Otro tipo de mediador de mayor relevancia en el diagnóstico para mastocitosis es la proteasa triptasa. La cual está compuesta por una triptasa madura que se encuentra almacenada en los gránulos y liberada solamente en la activación del mastocito, además de una triptasa inmadura, secretada íntegramente por los mastocitos. Una histamina y una triptasa sérica elevada son indicadores fundamentales de diagnóstico para la mastocitosis. Otros mediadores como son la prostaglandina  $D_2$  y el leucotrieno  $C_4$  también aportan a un diagnóstico para la detección de mastocitosis pulmonar en humanos. La mastocitosis se lleva a cabo por el aumento excesivo de los mastocitos presentes en el tejido y por la cantidad regular de mediadores que se liberan, esta liberación provoca una inflamación en la zona tisular local y distal hasta llegar al torrente sanguíneo (Carter et al., 2014).

#### **2.1.4. Activación de los mastocitos**

En las reacciones alérgicas la activación de los mastocitos se da a lugar cuando la inmunoglobulina E se une a las proteínas que causan alergias, denominados alérgenos, este proceso permite la producción y/o liberación de mediadores dando como resultado la Degranulación del mastocito. La activación mastocitaria se puede dar también a expensas de la IgE, por sustancias como las citocinas, los neuropéptidos y sustancias halladas en el microambiente (Clavero, 2014). Existe otras causas que permiten la activación de los mastocitos en nuestro organismo, tal es el caso del consumo de medicamentos, venenos de reptiles y/o insectos, esta estimulación externa es llamada “activación secundaria” (American Academy of Allergy, 2022).

**2.1.4.1. Activación dependiente de la inmunoglobulina E.** Los mastocitos para ejecutar su función requieren de una activación que se da en el receptor de su membrana denominado FcIR que reconoce fracciones constantes de inmunoglobulinas E. La activación

del mastocito da como resultado la liberación del contenido granular, esta liberación comprende a mediadores preformados, citocinas, mediadores lipídicos e incluye también la producción de moléculas proinflamatorias que se ejecuta en pocos minutos, los mediadores liberados interaccionan con diversos componentes del tejido circundante produciendo la inflamación alérgica. Este acontecimiento inmunológico lleva como nombre degranulación (Carter et al., 2014).

**2.1.4.2. Activación independiente de la Inmunoglobulina E.** La activación de los mastocitos también puede darse por factores no inmunológicos, como sustancias que pertenecen a neuropéptidos, hormonas, factores de crecimiento, neurotransmisores, toxinas bacterianas e incluso la activación se puede generar por estímulos físicos (Carter et al., 2014).

**2.1.4.3. Degranulación del mastocito.** La degranulación presenta dos formas: el primero denominado anafiláctica o exocitosis mixta que confiere la unión de las membranas de los gránulos con la membrana plasmática formando conductos para la producción de secreción masiva al espacio pericelular, esta forma de degranulación se produce solamente en reacciones alérgicas. El segundo tipo es descrito como degranulación lenta, llamada así por el tiempo más prolongado que tiene el mastocito en liberar el componente granular. La degranulación lenta se desarrolla en la infiltración tisular que presenta inflamación crónica o tumoral siendo además el tipo de degranulación más frecuente (Megías et al., 2018).

## **2.2. Mastocitosis**

La mastocitosis agrupa una diversidad de enfermedades con un rasgo en común: la acumulación y proliferación de mastocitos dañinos que afectan a la piel como tejido principal, seguido de órganos gastrointestinales y medula ósea. La afección a veces sistémica puede presentar síntomas secundarios por la intervención de mediadores liberados en el organismo a causa de la activación de los mastocitos. La mastocitosis ha sido investigada durante muchos años llegándose a demostrar que el origen de esta patología se produce por la mutación del

receptor mastocitario de membrana conocido como KIT. Esta mutación afecta tanto a los adultos como a una elevada población infantil (Azaña et al., 2016).

### **2.3. Etiología**

La mastocitosis se produce por un efecto proliferativo de los mastocitos en diferentes tejidos de nuestro organismo; esta aglomeración celular se debe a una mutación producida en el gen kit, específicamente la mutación del gen KIT D816V; aberración genética que tiene un mayor porcentaje de ser detectado en la mastocitosis sistémica que la mastocitosis cutánea (Nemat y Abraham, 2022).

#### **2.3.1. Clasificación**

Existen diversas formas de mastocitosis que se diferencian por la edad en que afecta la enfermedad (infantil y adulta), el número de órganos afectados (cutáneas y sistémicas) y la forma clínica (mastocitosis indolente y agresiva) (Azaña et al., 2016). La clasificación de la enfermedad por mastocitosis esta actualizada del 2016 al 2021 por la OMS, esta recategorización divide en primer lugar a la mastocitosis cutánea en tres distintas formas según sus características clínicas:

*a) Mastocitosis cutánea macopapular (antes urticaria pigmentosa).* Presenta dos tipos de variantes, variante monomórfica, la cual presenta pápulas redondas múltiples de varios milímetros < 1 cm. Localizados en el tronco y brazos con un menor grado de infiltración. Esta variante monomórfica solo se encuentra en adultos, lo cual sugiere que la variante polimórfica presenta una forma heterogénea y tamaño que pueden medir varios milímetros y centímetros con ligera elevación, esta variante se disemina por el cuello, tronco, glúteo y zona de la ingle.

*b) Mastocitomas.* Se observan de 1 a 3 pápulas o placas individuales delimitadas con notoriedad, presentan pocos milímetros a centímetros y sin ubicación preferente.

*c) Mastocitosis cutánea difusa.* Se observan lesiones en la piel grandes o generalizadas, edematosas de color amarillo-café rojizo.

La OMS clasificó a la mastocitosis sistémica en cinco grupos según sus características:

*a) Mastocitosis indolente:* Presenta una infiltración de mastocitos sin trastorno orgánico y no guarda relación con neoplasias hematológicas

*b) Mastocitosis sistémica ardiente:* Presenta alto grado de infiltración en la medula ósea, organomegalia y presenta una triptasa sérica mayor a 200 ng/ml.

*c) Mastocitosis con neoplasia hematológica asociada:* se asocia a la enfermedad hematológica clonal.

*d) Mastocitosis sistémico agresivo:* Presenta una infiltración de mastocitos con trastorno orgánica, sin pronóstico de leucemia.

*e) Leucemia de mastocitos:* Presenta una infiltración atípica de mastocitos en la medula ósea; observando una cantidad mayor del 20 % en frotis de medula ósea y mayor al 10 % en sangre periférica.

La Organización mundial de la salud también diferencia a otro tipo de mastocitosis:

*a) Sarcoma de mastocitos:* Tipo de mastocitosis que presenta un tumor sólido formado por mastocitos y que resultada ser raro de padecer (Nemat y Abraham, 2022).

## **2.4. Mastocitosis cutánea**

### **2.4.1. Reseña histórica**

El primer indicio de la mastocitosis exactamente de forma cutánea se describió en el año de 1869 por los doctores Nettleship y Tay, en una menor de 2 años de edad que según su registro sería una urticaria crónica con la presencia de manchas marrones. Pero fue en 1978 que Unna reportó por primera vez la presencia de mastocitos en las lesiones cutáneas de urticaria pigmentosa; término acuñado por Sangster, que describía a la urticaria como una erupción cutánea anómala de aspecto moteado con señales de prurito y pigmentación (Matito et al., 2018).

En las últimas décadas se ha logrado conocer mayores detalles sobre la fisiopatología de

la mastocitosis. Según, Blanco y Coronel (2002), la mastocitosis cutánea presenta en promedio el 99% de casos entre todas las formas de mastocitosis existentes, afectando a la población infantil con más frecuencia; la característica más resaltante se puede observar en la dermis encontrándose cúmulos de mastocitos al estudiarla; este malestar es producido como ya se ha mencionado por el gen c-kit (Valdés González et al., 2016).

#### ***2.4.2. Patogenia***

La mastocitosis tiene un patrón de diagnóstico ligado a la edad, la mastocitosis infantil se diferencia de la mastocitosis en fase adulta por la sintomatología y por el curso de la enfermedad. La mastocitosis cutánea normalmente afecta a menores de 2 años, presentándose como urticaria pigmentosa en la mayoría de los casos reportados (Schaffer, 2021). La enfermedad tiene un curso benigno sin daño en órganos internos, evitando la biopsia en medula ósea para este tipo de pacientes. Los mastocitos se acumulan exponencialmente en la zona de la piel a pesar de que no hay un número estimado de la cantidad, se agregan en el entorno de los vasos sanguíneos demostrando una asociación con eosinófilos. La agregación de mastocitos puede provocar síntomas por los diversos mediadores que se segregan en el organismo a modo de defensa. Se tiene conocimiento por diversos estudios científicos que no todos los niños presentan mutación en el c-kit el cual codifica al KIT, pero que también existen diversas mutaciones como: las mutaciones esporádicas en el codón 820, mutaciones inactivadoras 839 y una mutaciones sin sentido en el codón 816(Asp 816 phe). Síntomas como eritema y urticaria que pertenecen al denominado signo de Darier han servido como característica de mastocitosis cutánea, aunque la liberación de prostaglandina, leucotrienos e histamina hacen que no todos los infantes lo padezcan (Castells et al., 2011).

#### ***2.4.3. Síntomas***

Los síntomas presentados por todas las formas de mastocitosis cutánea guardan bastante relación con la liberación de mediadores por parte de los mastocitos, produciendo

consecuencias que se observa tanto en la parte local como sistémica de nuestro organismo, Se han descritos diversos síntomas de la piel a causa de la mastocitosis cutánea, tales como:

- Enrojecimiento, hinchazón, prurito.
- Cuadros de sofoco (20-65%).
- Cianosis y paro respiratorio.
- Dolor abdominal y diarrea.
- Ampollas con sangrado prolongado de la piel.
- Episodios de hipotensión (no común).

Un dato que aportar es que la mastocitosis no diferencia sexo, la edad ni la raza (Castells et al., 2011).

#### ***2.4.4. Factores pronósticos en la mastocitosis cutánea***

Se han reportado casos de mastocitosis cutánea en recién nacidos y con mayor frecuencia en pacientes que abarcan desde los 6 a 16 años. permitiendo que la mastocitosis cutánea también sea conocida y/o denominada como mastocitosis infantil. La enfermedad en menores tiene un buen pronóstico al no afectar órganos internos y rara vez producir trastornos hematológicos; la mayoría de los casos mejoran espontáneamente y son resueltos antes de la pubertad. Según la organización mundial de la salud el subtipo de mastocitosis cutánea más frecuente encontrado es la Mastocitosis cutánea macopapular (Castells et al., 2011).

### **2.5 Diagnóstico**

El diagnóstico de la mastocitosis cutánea este guiado por la característica macroscópica de la piel que es confirmado por un estudio de la biopsia de piel lesionada, el cual presentara una histopatología dérmica difusa (Carter, et al., 2014). Se presenta una serie de acciones y pruebas a poder realizar para la detección oportuna de mastocitosis cutánea: El signo de Darier positivo; examen físico que se entiende no está presente en todos los pacientes, permite sospechar de un posible caso de mastocitosis. Otro indicio de la enfermedad son los

permanentes niveles elevados de la triptasa sérica que otorga un punto de control prediagnóstico evitando una muestra de medula ósea que permite diferenciar una mastocitosis sistémica de una mastocitosis cutánea. Un hemograma completo es también requerido para el apoyo diagnóstico (Matito et al., 2018).

Una biopsia de piel y su posterior coloración con hematoxilina y eosina y/o Giemsa es fundamental para el reconocimiento del acumulo de mastocitos en la piel afectada que son observadas al microscopio; así como la inmunotinción para el KIT, y que a posterior se recomienda un análisis de la mutación de c-kit dentro de los mastocitos de piel. Luego de establecer el diagnóstico de mastocitosis cutánea se recomienda hacer un protocolo de seguimiento cada 6 a 12 meses (Castells et al., 2011).

En el presente estudio se busca complementar a la tinción hematoxilina y eosina, ya usada en el laboratorio de anatomía patológica del policlínico San Carlos, la confiabilidad de obtener resultados con menor sesgo y de menor costo que una prueba inmunohistoquímica, debido a que este colorante es reconocido en la detección de esta enfermedad como un colorante supravital ideal para la tinción de los mastocitos por su afinidad en los gránulos y capacidad metacromática. Cabe señalar que todo el proceso que amerita el diagnóstico de mastocitosis cutánea debe ser establecido por personas altamente calificadas empleando terminologías vigentes (Lutz et al., 2022).

### ***2.5.1 Inmunohistoquímica (Patrón de oro)***

La inmunohistoquímica es la técnica con mayor sensibilidad para la tipificación de mastocitos, aunque su realización conlleva un mayor costo y laboriosidad, se tiene la seguridad de detectar selectivamente los compuestos típicos mastocitarios (Grigorev y Korzhevskii, 2021).

### ***2.5.2 Enzimas triptasa y quinasa***

Estas moléculas orgánicas permiten ser específicos para la especie celular, es así como

los anticuerpos conjugados con un marcador correspondiente se unirán a las enzimas de estudio siendo altamente específicos para cada especie. Gracias a la técnica de la inmunohistoquímica para las enzimas se pudo identificar a dos grupos de mastocitos en humanos: mastocitos inmunoreactivos a triptasa (MC  $\tau$ ), donde su distribución en tejidos corporales aporta una relación de mastocitos en mucosa, principalmente en mucosa gastrointestinal y pulmones, llegándose finalmente a observar poblaciones enteras de mastocitos en tejido humano. Mientras que los mastocitos inmunorreactivos a triptasa/quinasa corresponde a una distribución en tejido conectivo (piel, submucosa gastrointestinal, líquido peritoneal) siendo la quinasa un factor preponderante para detectar un subtipo de mastocito (Grigorev y Korzhevskii, 2021).

### ***2.5.3 Proteína receptora c-kit (CD117)***

Se sabe que la relación entre la proteína c-kit y su ligando regulan la proliferación de mastocitos, la migración y su respectiva maduración. Además, este tipo de proteína puede ser detectable en mastocitos que llegaron a una maduración y no solo en mastocitos en crecimiento. Esta característica otorga a la técnica una mayor posibilidad de detectar una cantidad completa de población mastocitaria. Existen distintos marcadores para mastocitos que se asocian a los componentes típicos de esta célula; como el receptor de alta afinidad de inmunoglobulina E, el cual se presenta en mastocitos maduros y se puede co-expresar con el c-kit. También se puede utilizar la detección de la histamina mediante la inmunohistoquímica, la gran desventaja es que no todos los mastocitos presentan esta sustancia, lo cual no daría seguridad a la hora de apoyar el diagnóstico. La adecuada fijación de las muestras ya procesadas para la inmunohistoquímica toma una gran relevancia, específicamente la fijación con formalina que por un breve periodo es favorable para la detección inmunohistoquímica de mastocitos, aunque fijadores que contienen zinc aportan un mejor resultado para su visualización (Grigorev y Korzhevskii, 2021).

### ***2.5.4 Hematoxilina y eosina***

En diversas imágenes histológicas al analizarlas se requiere de tinciones especiales que determinen las estructuras microscópicas mediante un color en particular. La coloración más usual en las prácticas histológicas es la hematoxilina-eosina para descartar enfermedades neoplasias con diagnóstico más sobresaliente. La hematoxilina tiñe el núcleo celular de color púrpura y la eosina produce un color rosa en la porción citoplasmática de la célula como estructuras extracelulares, aun de la capacidad de impregnación que tienen estas tinciones no están inversos a no cumplir con las expectativas ya sea por una mala preparación o fijación del tejido y que por ende pueden ocasionar variaciones en la coloración (Tosta et al., 2019).

## **2.6 Azul de toluidina**

El azul de toluidina es una coloración supra vital muy efectiva, eficiente y de rápida ejecución para la detección de mastocitos en partes definidas de tejido, presentando una afinidad por los componentes ácidos de la célula. Fue descubierto por William Henry en el año de 1856, el azul de toluidina que en sus primeros años de estudio sirvió a la industria de colorantes presenta tres isoformas: meta-toluidina, para toluidina y orto-toluidina. Años más tarde adoptó una función de tinción vital, siendo utilizado por la parte clínica en secciones de tejidos de origen humano debido a su característica de colorante metacromático, el cual se impregna en ciertos componentes de las células (Chhabra et al., 2015). Esta característica se debe al grupo tiazina adecuado para la coloración nuclear y que tiñe a la parte tisular afectada en distintos grados de intensidad de un mismo color (Puebla- Osorio et al., 2017). La observación de la tinción metacromática se debe a las soluciones diluidas del colorante el cual contiene solamente monómeros de colorante que se unen a las valencias negativas mediante enlaces sencillos (Sigma-Aldrich, 2019).

En esencia, identifica a los gránulos de los mastocitos que presentan una coloración metacromática el cual se contrasta con un fondo azul pálido. Aunque la coloración de azul de toluidina es ideal para los mastocitos, su capacidad de tinción no permite evaluar la ubicación

precisa de estas células en los tejidos, especialmente en tejidos complejos como la piel y el intestino por lo que se recomienda la complementariedad con la coloración de hematoxilina y eosina, conociendo la ubicación celular se puede determinar el tipo de enfermedad a padecer (Puebla- Osorio et al., 2017).

## **2.7 Control de calidad**

En el laboratorio clínico, los errores están siempre predisuestos a cometerse ya sea por la manipulación equivocada del facultativo o incluso por la propia naturaleza del analito a medir cualitativa o cuantitativamente. Es entonces que asegurar la calidad analítica es una tarea no solo de procedimientos o pautas sino de decisiones clínicas que resulten en la minimización de los riesgos; por ello se requiere de un control de calidad en el laboratorio basado en parámetros de controles que son derivados estadísticamente por el uso de materiales de control fabricado. Con el fin de hallar los errores en los ensayos ocasionados por distintos factores, los laboratorios tienen que implementar el desarrollo de un plan integral de gestión de calidad que incluye lo siguiente: Selección de materiales para el control de calidad, selección de concentraciones, establecimiento de estándares de calidad, configuración de los controles de calidad y respuesta a resultados fuera de los controles de calidad. Por lo expuesto, un sistema de control de calidad oportuno reduce significativamente un daño al paciente para su tratamiento y/o patología (Badrack, 2021).

La ejecución de un control de calidad convencional está dada por la aplicación de procedimientos estadísticos, siendo el más utilizado las del Dr. James O. Westgard o mundialmente conocido como las “reglas de Westgard”; donde tiene como objetivo distinguir un proceso dentro de control de los procesos no controlados o fuera de control, rechazando este último. Ahora bien, el rendimiento de las reglas de Westgard se evalúa mediante el rechazo de dos tipos de probabilidades: la primera se presenta cuando el verdadero proceso de medición está bajo control o conocido también como medición de falso rechazo. La segunda probabilidad

es rechazar el control cuando el verdadero proceso de medición se encuentra fuera de control o conocido también como probabilidad de detección de errores (Laubender y Geistanger, 2021).

### **2.7.1 Sensibilidad y especificidad**

Estas medidas estadísticas son las más usadas para establecer la utilidad o rendimiento de una prueba alternativa frente a su patrón oro, en el caso de la sensibilidad de una prueba. Permite cuantificar que tan exacto una prueba puede determinar los verdaderos positivos, es decir identificar realmente a los sujetos que presentan la condición a evaluar. En el caso de la tasa de verdaderos negativos o conocida como especificidad se cuantifica que tan exacta puede ser una prueba en determinar los verdaderos negativos, aquellas personas que realmente no presentan la condición a evaluar. Estos parámetros estadísticos otorgan una mayor confiabilidad y toman una gran relevancia para evaluar la capacidad de rendimiento en una prueba de diagnóstico. Es necesario reconocer que ambos parámetros son inversamente proporcionales y comprenden la base para entender la clasificación equivocada en análisis estadísticos con mayor complejidad (Monaghan et al., 2021).

Las fórmulas para la sensibilidad y especificidad se detallan de la siguiente manera:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{TP}{TP + FN} \times 100 \qquad \text{Especificidad} = \frac{TN}{TN + FP} \times 100$$

### **2.7.2 Valor predictivo positivo y valor predictivo negativo**

Tanto la sensibilidad como la especificidad nos proporciona una confianza en la estabilidad de las pruebas de laboratorio evaluando también su rendimiento, dándonos a conocer la cantidad de personas que darán positivo o negativo según sea el caso. Pero en el campo médico es más útil y significativo predecir si una persona contraerá la enfermedad que la prueba tiende a diagnosticar; es así que los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) comparten la información de cuántos son realmente verdaderos positivos y cuántos son verdaderos negativos. Para una mejor comprensión, el VPP nos da la capacidad de pronosticar

si una prueba es positiva y determinar cuál será la probabilidad de que se presente la enfermedad. Aun así, ambos valores predictivos dependen de la probabilidad previa de la prueba, así como su variación depende de la prevalencia de la enfermedad. En resumen, cuanto más común sea una enfermedad la seguridad es mayor de que la prueba positiva ayude al diagnóstico real de la enfermedad; muy al contrario, cuanto más rara es la enfermedad se tiene certeza de que el resultado negativo indica que no hay enfermedad y menos seguros estaremos que una prueba positiva indica que habrá enfermedad. Resulta entonces importante que VPN aumentará con la disminución de la prevalencia de la enfermedad y el valor predictivo positivo disminuirá con la baja prevalencia de la enfermedad (Monaghan et al, 2021). A continuación, se describe las fórmulas para cada valor predictivo:

$$VPN = \frac{TN}{TN + FN} \times 100$$

$$VPP = \frac{TP}{TP + FP} \times 100$$

Donde:

- Verdaderos positivos (TP): Corresponde a casos que presentan la enfermedad y en su examen dieron positivo.
- Falsos positivos (FP): Corresponde a casos que no presentan enfermedad y en su examen dieron positivo.
- Falsos negativos (FN): Corresponde a casos que presentan la enfermedad y en su examen dieron negativo.
- Verdaderos negativos (TN): Corresponde a casos que no presentan la enfermedad y en su examen dieron negativo (Díaz-García et al., 2019).

### ***2.7.3 Validez de una prueba diagnóstica***

Al evaluar la validez de una prueba diagnóstica es necesario la comparabilidad de los resultados con un patrón de referencia realizados independientemente para evitar sesgos estimados en la prueba diagnóstica, lo que implicaría realizar de forma cegada el patrón de

referencia y la prueba diagnóstica. Otro punto para considerar es tener en claro todos los aspectos que integran un estudio de validación como lo son las características epidemiológicas y clínicas que van a tener repercusión a momento de realizar un criterio de selección. Es indispensable para el juicio de validación de una prueba diagnóstica la reproducción de acuerdo con la metodología empleada; el cual tiene que detallar la preparación de los participantes, la realización de la prueba y posterior a ello la de su interpretación. Todo ello permitiría estudiar las propiedades de la prueba a validar (Martín Conejero, 2023).

## **2.8 Pronóstico**

El curso de la mastocitosis cutánea en niños es bueno, mientras el transcurso de la enfermedad se de en los primeros años de la infancia tiende a ver una mejora casi espontanea hasta la pubertad. En los casos de la mastocitosis macopapular polimórfica los signos y síntomas suelen desaparecer o no presentarse en la edad adulta, solo las formas pronunciadas presentan un curso prolongado de la enfermedad. Mientras que existe un aplanamiento de las lesiones en la piel como muestra de la evolución de las mastocitosis a lo largo de los años. La mastocitosis macopapular monomórfica que se presenta tardíamente en la fase escolar, puede llegar a suscitar la forma sistémica por lo que se requiere de una monitorización de la triptasa sérica. A pesar que los niveles de triptasa sérica se presentan elevados en la mastocitosis difusa no presenta riesgo de daño en medula ósea o finalizar con una mastocitosis sistémica siendo el pronóstico favorable para estos casos, aunque una parte de la población que presenta este tipo de mastocitosis cutánea puede padecer de la forma sistémica y esto se debe a la mutación c-kit por arraigo familiar, la elevación de triptasa sérica puede ser indicativo de hepatomegalia y esplenomegalia. En la forma de mastocitomas no hay transición a mastocitosis sistémica, comúnmente se puede detectar durante varios años. La recuperación se da en la edad adulta. Como se comenta la mastocitosis cutánea tiende a una presentar un curso benigno, que pide aun así tener un seguimiento como mínimo de un año, reconociendo los síntomas asociados a

los mediadores de los mastocitos para llevar a cabo un tratamiento oportuno, evitando así el deterioro grave de la salud y de la vida que se vea afectado por la mastocitosis (Nemat y Abraham, 2022).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de investigación

La presente investigación es un estudio de nivel descriptivo por ser esencialmente observacional sin modificación o intervención en el campo de estudio. Según Ochoa y Yunkor (2019), un estudio descriptivo tiende a identificar los factores que se encuentran en el entorno de la variable de interés. El estudio es de connotación perspectiva ya que la información se va registrando en la medida que va ocurriendo el protocolo de coloración o los hechos programados para observar. y de corte transversal por los datos recolectados en un solo tiempo, dado que los datos se obtuvieron en un único momento. De muestreo no probabilístico y diseño no experimental.

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

Esta investigación se realizó en el policlínico San Carlos ubicada en la Av. Paseo de los Andes 830 – Pueblo Libre durante los meses de mayo a junio del 2023.

#### 3.3. Operacionalización de la variable

<b>Variable</b>	<b>Definición</b>	<b>Definición</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escala</b>
<b>Principal</b>	<b>Conceptual</b>	<b>Operacional</b>			<b>de medición</b>
Utilidad de la coloración Azul de toluidina	Obtención de una tinción supra vital eficaz que permita coadyuvar al diagnóstico temprano de la mastocitosis cutánea en infantes	Es el beneficio que se busca para el paciente en obtener resultados fiables de rápido proceso y económico.	Por ser una variable simple no tiene dimensiones.	-Sensibilidad -Especificidad -Valor predictivo positivo (VPP) -Valor predictivo negativo (VPN)	-Detectable -No detectable

### **3.4. Población y Muestra**

La población objeto de estudio estuvo conformada por 27 muestras biológicas provenientes de pacientes pediátricos con pronóstico de mastocitosis cutánea, los cuales fueron registrados en la data del sistema del laboratorio entre los meses de enero a diciembre del 2022. La muestra del estudio estuvo conformada por la totalidad de la población que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión.

#### ***3.4.1. Criterios de inclusión.***

- Pacientes pediátricos con diagnóstico positivo de mastocitosis cutánea
- Pacientes pediátricos con diagnóstico negativo de mastocitosis cutánea.

#### ***3.4.2. Criterios de exclusión.***

- Pacientes pediátricos que presenten enfermedades alérgicas.
- Biopsias no conservadas y/o deterioradas con diagnóstico de mastocitosis cutánea.

### **3.5. Instrumentos**

Para la recolección de datos, se solicitó la autorización al laboratorio que se encuentra en el policlínico San Carlos. Donde se utilizó como instrumento una ficha de recolección de datos en el cual se registró los parámetros de cuantificación mastocitaria así también como el grado de dificultad para la observación de mastocitos (Anexo C), esta recolección de data fue bajo la supervisión del médico patólogo, jefe de toda el área de procesos. La información solicitada fue anexada al programa estadístico Excel para su posterior desarrollo con gráficas y tablas estadísticas que representen a detalle los resultados obtenidos del proyecto de investigación.

### **3.6. Procedimiento**

Actualmente el proceso para la obtención de muestras de tejido se basa en cortes seriados de 3 a 5 micras de espesor incluidas en parafina. Al desparafinar las muestras

histológicas, estas son rehidratadas de manera descendientes por alcohol; el proceso de coloración es completamente sencillo, se requiere de agua destilada y del colorante azul de toluidina al 1% (0.1 g de azul de toluidina con 100 ml de agua destilada), respetando los tiempos de tinción ya establecidos por el protocolo del laboratorio del policlínico San Carlos. Se realizaron varios ensayos para establecer los tiempos con la coloración azul de toluidina una vez agregado a las muestras, añadiendo o no, el proceso de deshidratación. Las láminas portaobjetos para finalizar son escurridas evitando una combinación y arrastre de soluciones. Las muestras coloreadas deben ser montadas y respectivamente almacenadas con medio de montaje anhidrido; se puede optar por el uso de xileno para una clarificación de la muestra (Anexo B). Para la visualización en el microscopio mayor a 40 x se requiere de medio de montaje Entellan, obteniendo como resultados:

- Núcleos y citoplasma: ortocromático - azul.
- Diversos hidratos de carbono ácidos (gránulos de mastocitos): metacromático - rosa a rojo o violeta (Sigma-Aldrich, 2019).

La Ejecución del proyecto se llevó a cabo en el laboratorio del policlínico San Carlos, la primera ejecución del proyecto fue recopilar la información de todos los pacientes investigados quienes en su mayoría presentan un diagnóstico de mastocitosis cutánea en el año 2022. Después de la obtención de data se estableció el protocolo de coloración con la tinción de azul de toluidina en las biopsias conservadas, estableciendo su utilidad al observar características celulares propias de los mastocitos, planteadas también en la ficha de recolección de datos y teniendo como patrón de diagnóstico a las muestras coloreadas con H/E prueba estándar. Por último, se realizó un reporte de los resultados obtenidos.

### **3.7. Análisis de datos**

Los resultados del proceso de coloración con el azul de toluidina serán confirmados por el médico patólogo del área de anatomía patología del Policlínico San Carlos y anexados a un

cuadro estadístico, con tablas y gráficos procesados en el programa estadístico Excel, que fueron recopilados en una data bajo los criterios establecidos en la ficha de recolección de datos para cada paciente (Anexo C).

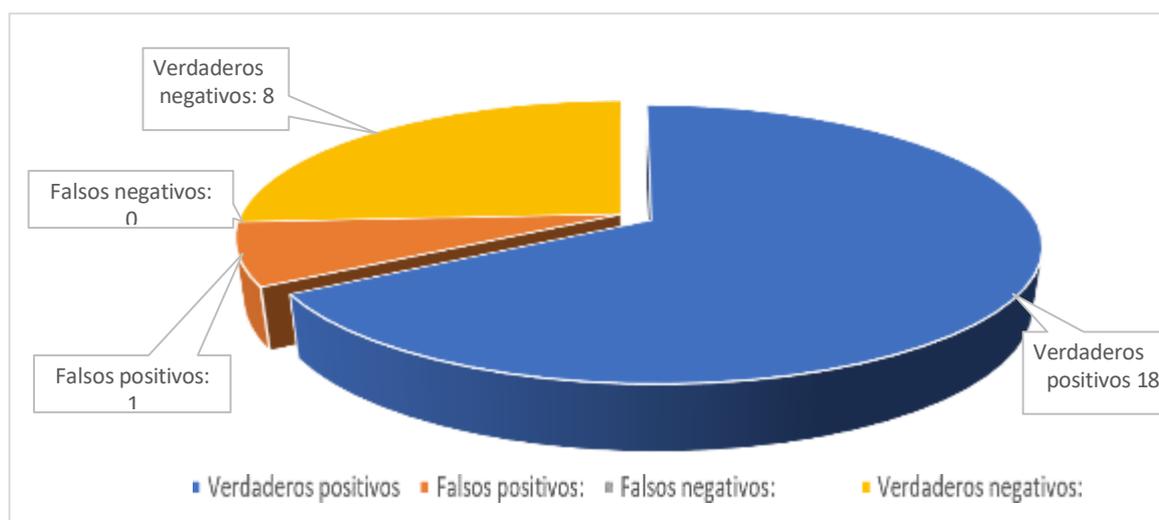
#### IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos miden la utilidad de la tinción azul de toluidina en biopsias positivas y negativas ante la sospecha diagnóstica de mastocitosis cutánea; evaluados mediante su sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo y valor predictivo positivo. Se estandarizó como parte del proceso un adecuado protocolo de coloración, siendo a su vez comparado con la coloración Hematoxilina y eosina que es la tinción estándar para la detección de mastocitos en biopsias de piel realizados en el área de anatomía patológica del Policlínico San Carlos.

Se presenta (Figura 1) el total de los valores obtenidos; donde de las 27 muestras procesadas, 18 biopsias resultaron ser verdaderos positivos, mientras que 8 fueron verdaderos negativos, 1 falso positivo y 0 falsos negativos se dieron para la totalidad de muestras biológicas procesadas. Los resultados infieren una alta probabilidad de detección para mastocitos, así como una destacable utilidad de coloración con el azul de toluidina ante la sospecha diagnóstica de mastocitosis cutánea.

*Figura 1*

*Valores Obtenidos mediante la coloración Azul de toluidina.*



*Fuente: Elaboración propia*

#### 4.1. Cálculo de parámetros de prueba diagnóstica.

Los resultados fueron determinados mediante las fórmulas para el cálculo de parámetros para la validez de una prueba diagnóstica.

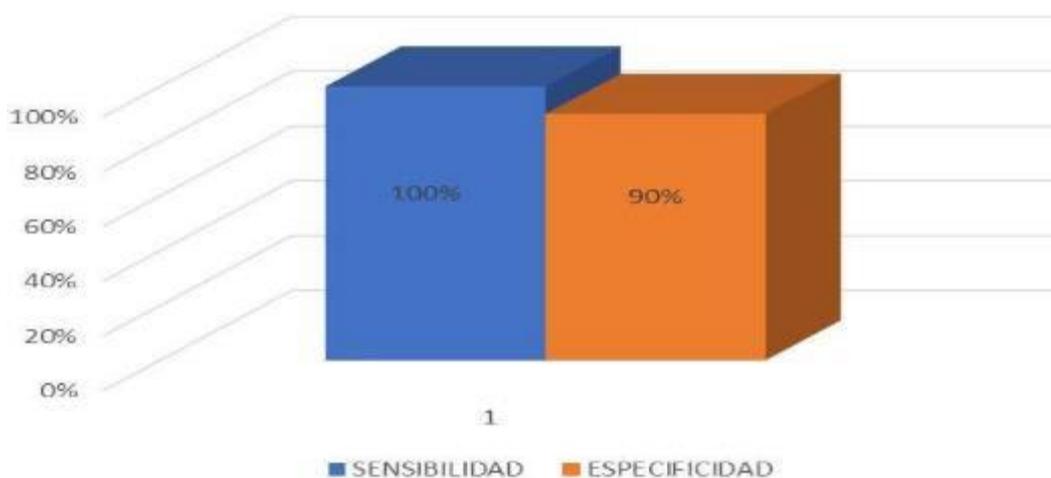
##### 4.1.1 Sensibilidad y especificidad del Azul de toluidina

Los resultados de las biopsias de piel analizadas con la coloración Azul de toluidina, obtuvieron una sensibilidad del 100% y una especificidad del 90%. Con los resultados presentados se comprueba una alta sensibilidad por parte de la coloración de estudio, el cual permite identificar a pacientes con síntomas propios de la mastocitosis cutánea como verdaderos positivos, cabe señalar también que las muestras positivas analizadas fueron detectadas como positivos en el primer estudio mediante la prueba estándar (H/E). Debido a una moderada especificidad aquellos pacientes que no aquejan síntomas particulares de la enfermedad presentaron resultados negativos con la coloración Azul de toluidina. Ambos valores estadísticos establecen el rendimiento o la utilidad de la coloración Azul de toluidina frente al patrón estándar Hematoxilina y eosina en la detección de mastocitos en biopsia de piel.

(Figura 2)

Figura 2

Sensibilidad y especificidad del Azul de toluidina



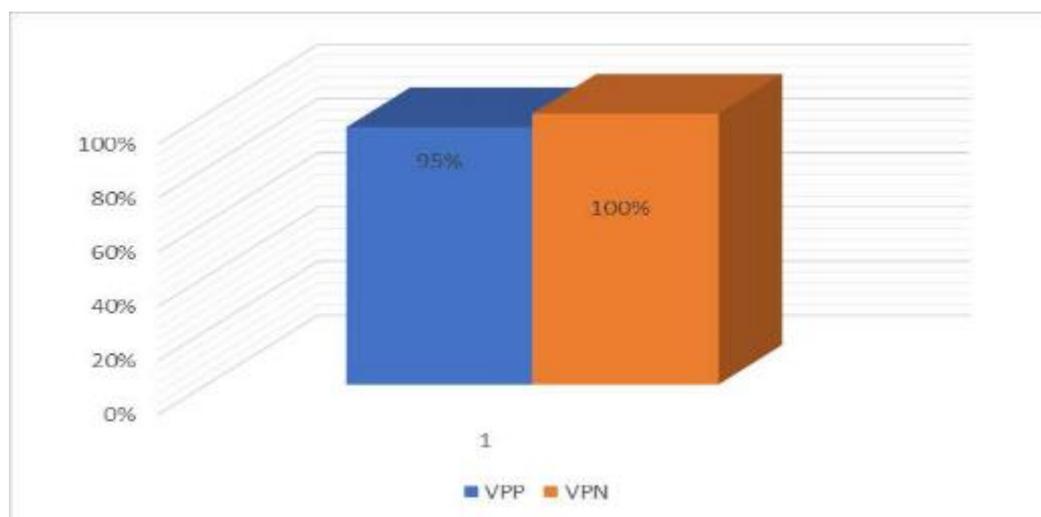
Fuente: Elaboración propia

#### 4.1.2 Valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del Azul de toluidina

Asimismo, para el valor predictivo negativo se consta que el estudio presento un valor del 100% mientras que en el valor predictivo positivo un resultado del 95% (figura 3), los resultados otorgan una confiabilidad y un adecuado rendimiento para el uso diagnóstico de la mastocitosis cutánea en pacientes pediátricos del Policlínico San Carlos. En consecuencia, se obtiene un buen pronóstico para conocer la probabilidad de resultados falsos positivos y falsos negativos que pueda presentar la coloración Azul de toluidina.

*Figura 3*

*Valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del Azul de toluidina*



*Fuente: Elaboración propia*

#### 4.2 Características mastocitarias en láminas histológicas.

Se presentan las características mastocitarias evaluadas en láminas histológicas con la coloración azul de toluidina (AT), así como también con la coloración de hematoxilina y eosina (H/E), que tiene como finalidad contar con una mejor percepción de la utilidad del AT frente a la coloración prueba estándar usada en el laboratorio del Policlínico San Carlos. Los parámetros evaluados fueron: La cuantificación de mastocitos hallados por lamina histológica, (Abundante cantidad= nivel 3, regular cantidad = nivel 2, escasa cantidad = nivel 1 y ausentes = nivel 0). El otro punto a evaluar fue el grado de dificultad por parte del patólogo clínico en la identificación

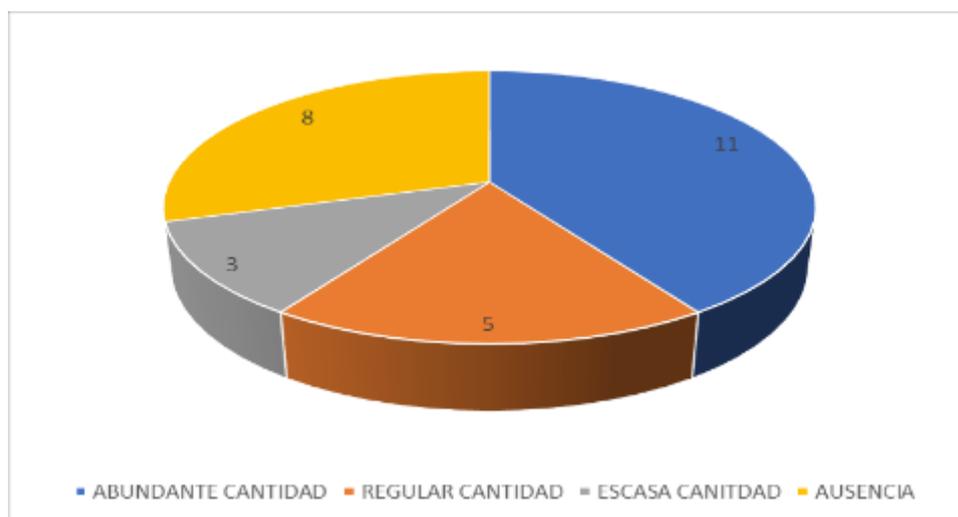
de mastocitos en la lámina histológica coloreadas por ambas tinciones. (nivel 3 = fácil, nivel 2 = moderadamente difícil, nivel 1 = difícil y nivel 0 = no se detectó).

#### **4.2.1 Cuantificación y grado de dificultad de mastocitos en lámina histológica con Azul de toluidina.**

Con un total de 27 muestras procesadas, de ellas, once láminas histológicas coloreadas con el azul de toluidina dieron una identificación cuantificable de nivel 3 = abundante cantidad, cinco laminas presentaron un nivel 2 = regular cantidad, tres laminas fueron evaluadas con nivel 1 = escasa cantidad, por último, ocho laminas histológicas presentaron un nivel 0 = ausentes (Figura 4)

*Figura 4*

*Cuantificación de mastocitos en lámina histológica con AT*

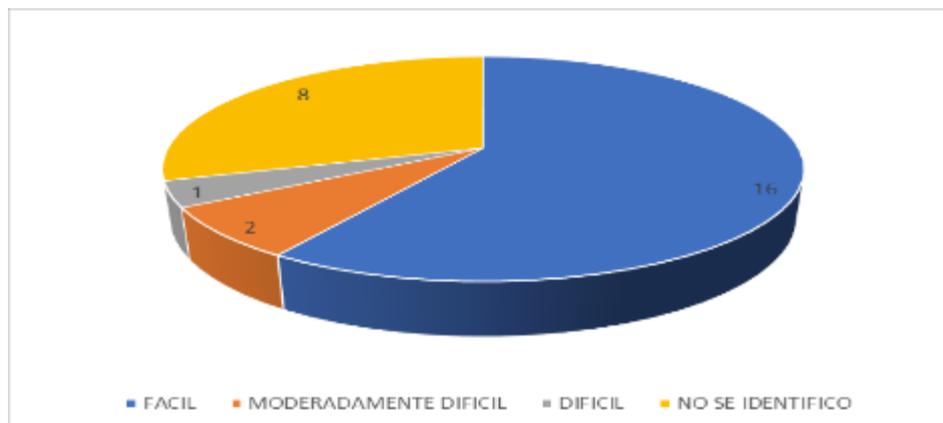


*Fuente: Elaboración propia*

Al evaluar el grado de dificultad en las láminas histológicas coloreadas con Azul de toluidina se obtuvieron como resultados: dieciséis laminas fueron evaluados con el nivel 3 = fácil, dos laminas tuvieron una evaluación de nivel 2 = moderadamente difícil, mientras que una lámina tuvo un nivel 1 = difícil. Por último, en 8 láminas no se identificaron mastocitos algunos, el cual fue evaluado con nivel 0 = no se detectó como se representa en la figura 5.

*Figura 5*

*Grado de dificultad para la observación de mastocitos en lamina histológica AT*

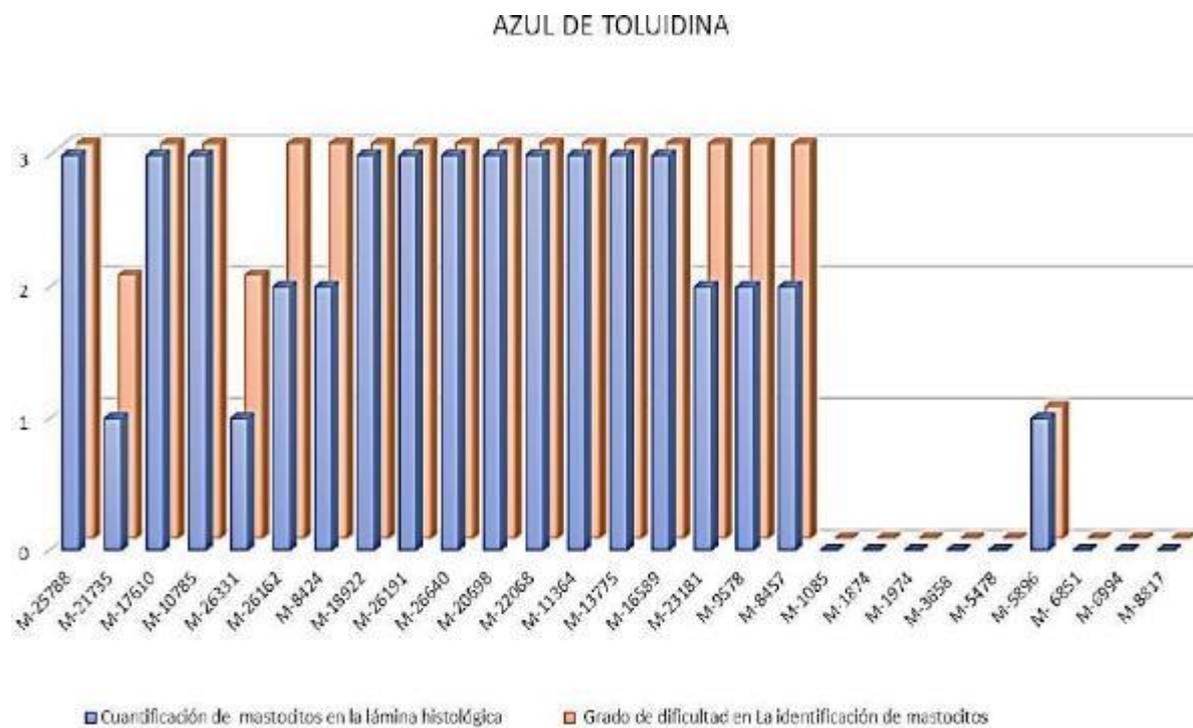


*Fuente: Elaboración propia*

Del total de láminas coloreadas, tres laminas histológicas coloreadas por azul de toluidina (M-21735, M-26331, M-5896) tuvieron un nivel 1 (escasa cantidad) siendo la identificación mínima de cuantificación celular en lamina histológica. Para el nivel máximo de identificación, nivel 3 (abundante cantidad), once laminas fueron detectadas bajo este criterio. Del total de láminas identificadas con mastocitos solamente dos laminas fueron reportadas con un nivel 2 (moderadamente difícil) para la identificación celular, dieciséis laminas fueron reportadas con la medición de nivel 3 (fácil). Los datos reportados infieren un favorable rendimiento del azul de toluidina para la identificación de mastocitos en lamina histológica representada en la figura 6.

Figura 6

Cuantificación y grado de dificultad de mastocitos en la lámina histológica con AT

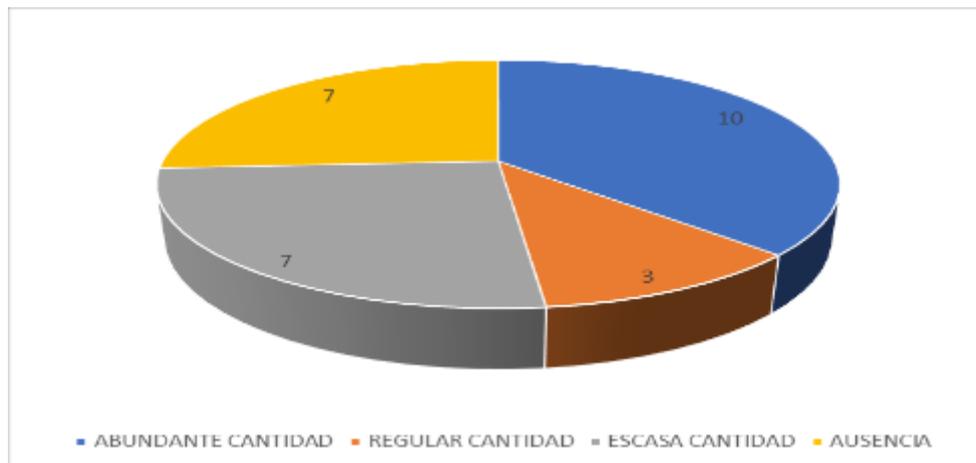


Fuente: Elaboración propia

#### 4.2.2 Cuantificación y grado de dificultad de mastocitos en lámina histológica con H/E.

Del total de muestras procesadas, diez láminas histológicas coloreadas con hematoxilina y eosina dieron una identificación cuantificable de nivel 3 = Abundante cantidad; tres laminas presentaron un nivel 2 = regular cantidad; siete laminas fueron evaluadas con nivel 1 = escasa cantidad y siete laminas histológicas presentaron un nivel 0 = ausentes (Figura 7).

*Figura 7*  
*Cuantificación de mastocitos en lámina histológica con H/E*

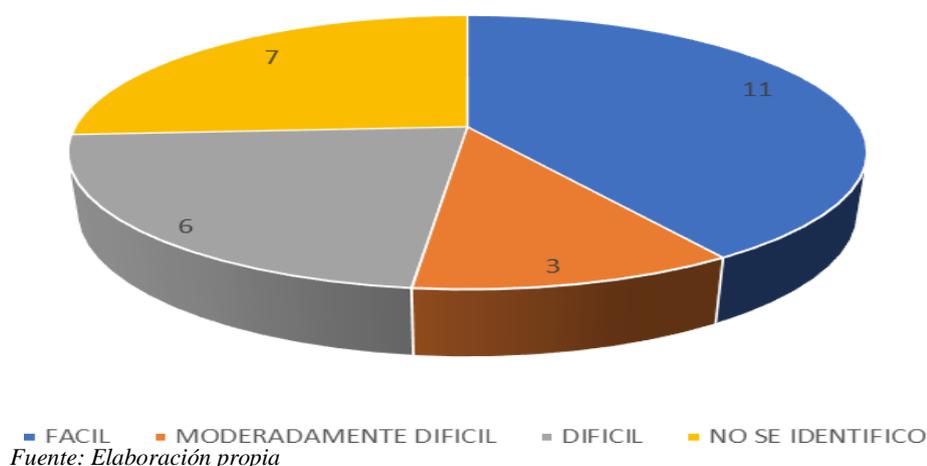


*Fuente: Elaboración propia*

Al evaluar el grado de dificultad en las láminas histológicas coloreadas con hematoxilina y eosina se obtuvieron como resultados: once laminas fueron evaluados con el nivel 3 = fácil, tres laminas tuvieron una evaluación de nivel 2 = moderadamente difícil, mientras que seis láminas tuvieron un nivel 1 = difícil, por último, en siete láminas no se identificaron mastocitos algunos, el cual fue evaluado con un nivel 0 = no se detectó (Figura 8).

*Figura 8*

*Grado de dificultad para la observación de mastocitos en lamina histológica con H/E*



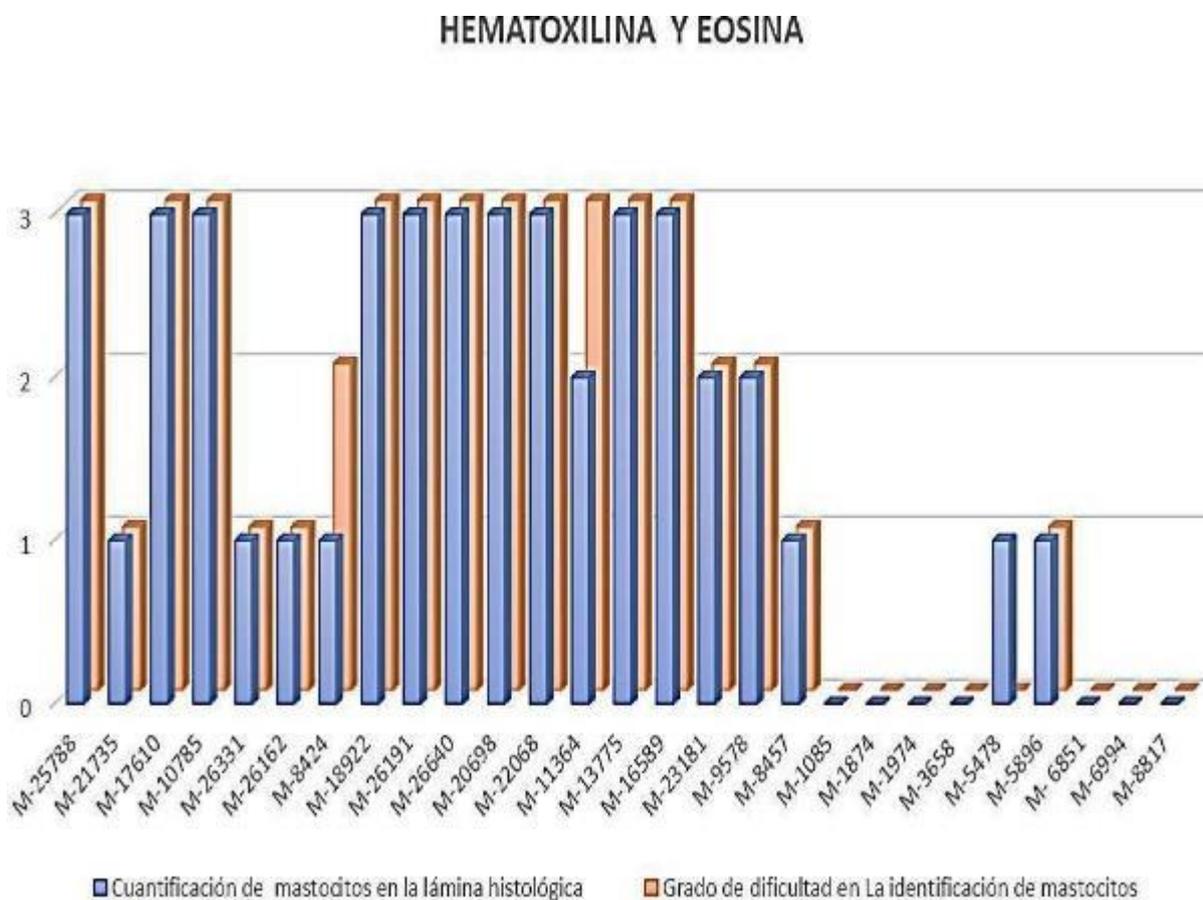
*Fuente: Elaboración propia*

Del total de láminas coloreadas, siete laminas histológicas coloreadas por H/E tuvieron

un nivel 1 (escasa cantidad) siendo la identificación mínima para cuantificación celular en lamina histológica, diez láminas obtuvieron el nivel 3 (abundante cantidad). Para el grado de dificultad once laminas fueron reportadas con el nivel 3 (fácil), bajo este criterio 6 láminas tuvieron el reporte de nivel 1(difícil). Los datos reportados infieren una mejor captación del azul de toluidina al obtener una menor dificultad para identificar células mastocitarias en lamina histológica. (Figura 9).

*Figura 9*

*Cuantificación y grado de dificultad de mastocitos en la lámina histológica (H/E)*



*Fuente: Elaboración propia*

### **4.3 Evaluación de rendimiento entre las coloraciones de Azul de toluidina y Hematoxilina y eosina**

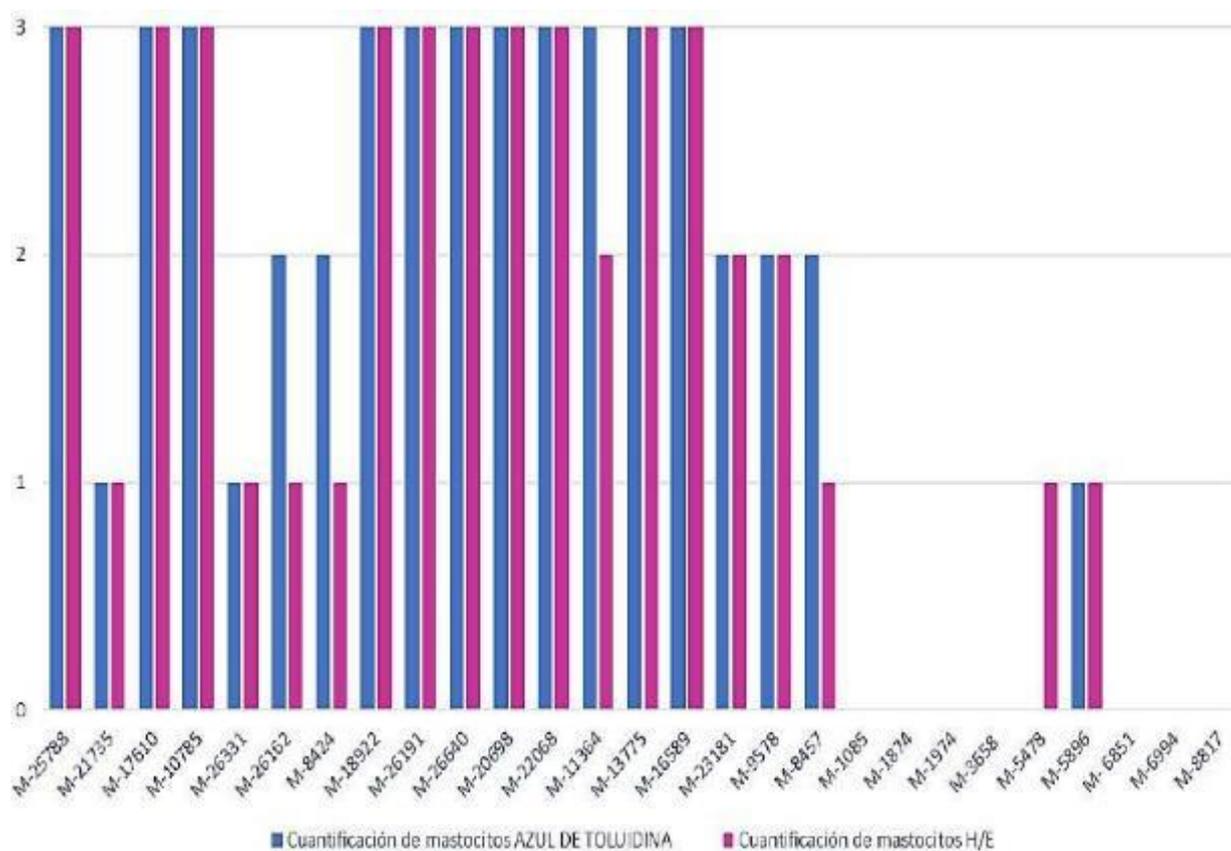
#### **4.3.1 Evaluación de rendimiento mediante la cuantificación de mastocitos**

Al observar las láminas histológicas se tiene una mejor impresión diagnóstica por parte

del azul de toluidina en lo que respecta la cantidad de mastocitos identificados. Se detalla en conjunto que de todas las muestras coloreadas con ambas tinciones, 4 láminas histológicas (M-26162, M-8424, M-11364, M-8457) coloreadas con azul de toluidina detectaron una mayor cantidad de mastocitos respecto al patrón estándar, H/E, evaluados bajo el criterio diagnóstico del médico patólogo y considerarse como una posible patología de mastocitosis cutánea. Esta detección no considera a las dos láminas negativas para mastocitosis que tuvieron otro tipo de diagnóstico, pero en el cual se observó mastocitos. Los resultados se representan a mayor detalle en la figura 10.

*Figura 10*

*Evaluación de rendimiento mediante la cuantificación de mastocitos*



*Fuente: Elaboración propia*

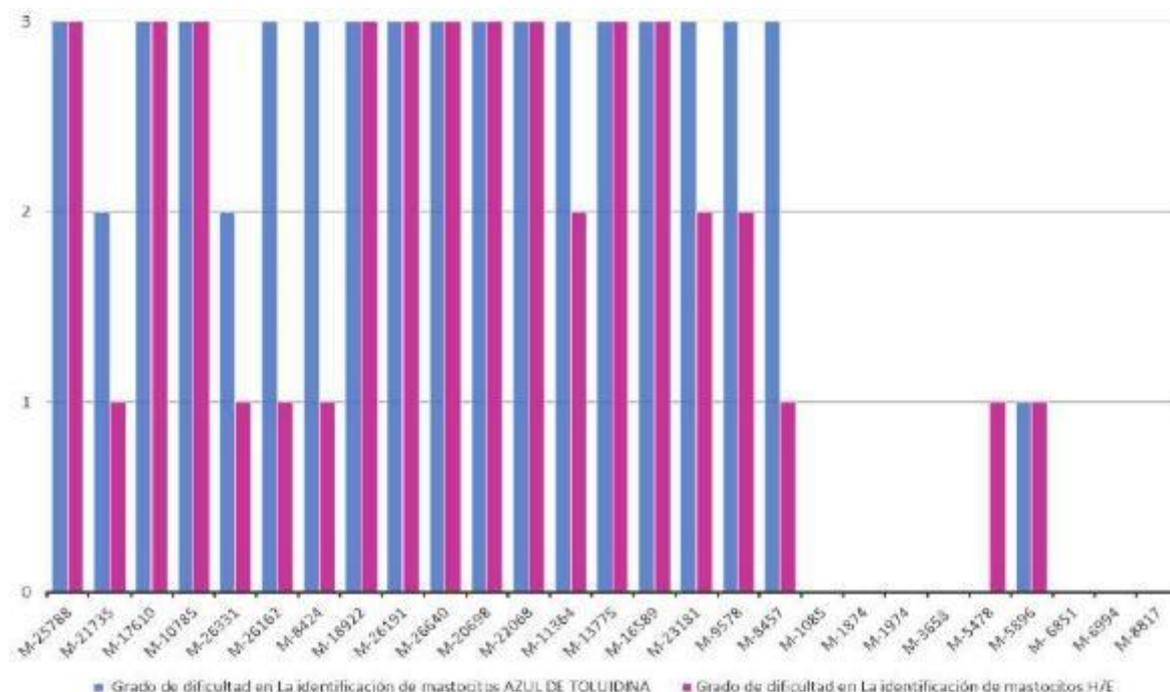
### 4.3.2 Evaluación de rendimiento mediante el grado de dificultad en la identificación de mastocitos

Se obtiene los siguientes resultados al evaluar el grado de dificultad al observar los mastocitos en lamina histológica, se hace la comparación mediante los niveles de dificultad (nivel 3 = fácil, nivel 2 = moderadamente difícil, nivel 1 = difícil y nivel 0 = no se detectó) y los resultados demuestran una deseable facilidad al observar mastocitos en lamina histológica con la coloración azul de toluidina, Del total de muestras coloreadas con ambas tinciones, 8 láminas histológicas (M-21735, M-26331, M- 26162, M-8424, M11364, M-23181, M-9578, M-8457,) coloreadas con azul de toluidina permitieron una mejor detección de mastocitos en lamina histológica, lo cual ayuda a la sospecha diagnostica de mastocitos cutánea.

La evaluación no considera a las dos laminas negativas para mastocitosis que tuvieron otro tipo de diagnóstico, pero en el cual se observó mastocitos. (Figura 11)

Figura 11

Evaluación de rendimiento mediante el grado de dificultad en la identificación de mastocitos



Fuente: Elaboración propia

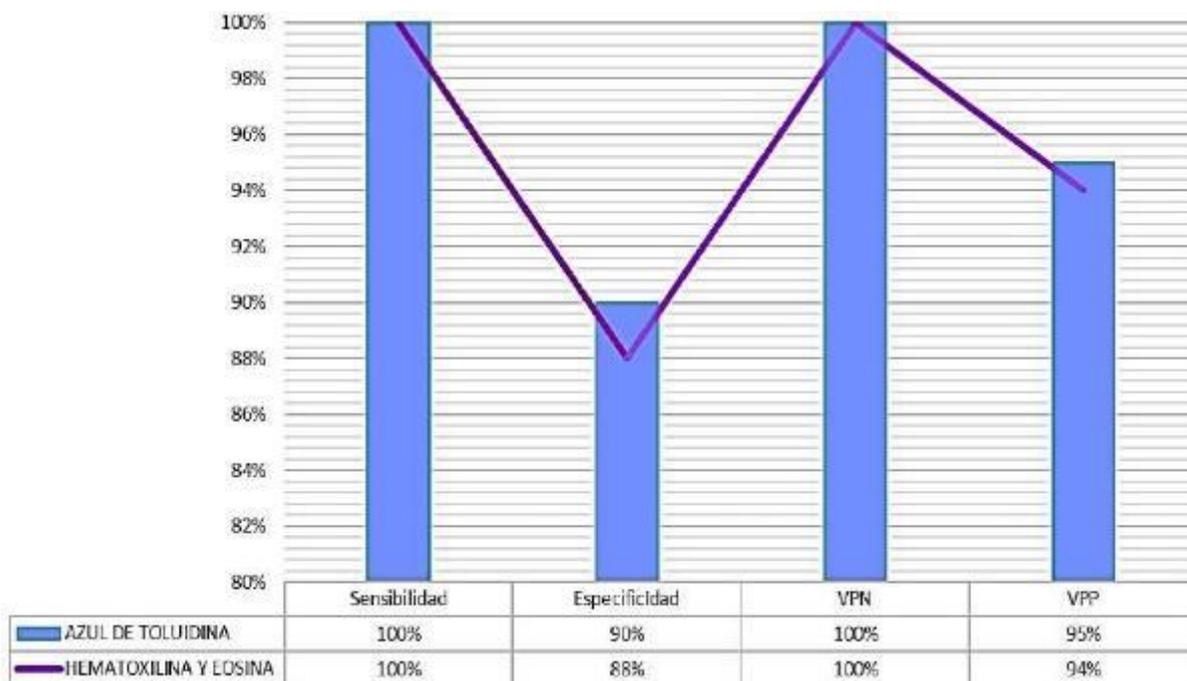
#### **4.4. Validez de prueba diagnóstica de las coloraciones Azul de toluidina y Hematoxilina/ eosina**

Los resultados obtenidos por la coloración azul de toluidina y hematoxilina/eosina fueron evaluados de acuerdo a los parámetros para la validación de una prueba diagnóstica y posterior a ello ser comparados. Para la tinción de mastocitos con azul de toluidina y H/E se destaca una sensibilidad del 100%, la especificidad fue mayor para el azul de toluidina con un valor del 90% frente a una especificidad del 88% por parte de la coloración estándar H/E. Si bien es cierto la validación del valor predictivo negativo como el valor predictivo positivo fue en relación al diagnóstico negativo para mastocitos cutánea, no ha inhibido la detección para los mastocitos con ambas coloraciones. Se obtuvo un VPN del 100% para ambas tinciones y VPP del 95% y 94% para azul de toluidina y H/E, respectivamente.

En suma, se demostró que la tinción Azul de toluidina tiene una destacada utilidad para la identificación de mastocitos en pacientes pediátricos con diagnóstico de mastocitosis cutánea, su validez de prueba diagnóstica es igual o mayor que la coloración H/E, siendo esta última la prueba estándar del laboratorio. Es aún más destacada la utilidad del azul de toluidina al presentar una mayor facilidad al observar mastocitos en lamina histológica y a la par encontrar una mayor cantidad de células mastocitarias evaluadas mediante la coloración azul de toluidina frente a su prueba estándar. La diferencia que se reporta entre ambas coloraciones se relaciona por la característica metacromática del azul de toluidina el cual presenta una afinidad reconocida por los gránulos mastocitarias compuestos de histamina. (Figura 12)

Figura 12

Validez de la prueba diagnóstica de las coloraciones Azul de toluidina y Hematoxilina/ eosina



Fuente: Elaboración propia

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el estudio de investigación se demostró que el colorante Azul de toluidina presentó una sensibilidad del 100% al igual que el colorante estándar Hematoxilina y eosina; los resultados obtenidos corroboran la investigación de Lutz, et al. (2022) quienes destacan una sensibilidad del 100% para la detección de mastocitos mediante la coloración azul de toluidina. En otra contribución científica por parte de Tehrani et al, (2013) donde se evalúa la sensibilidad de la coloración azul de toluidina para la detección de células basales en carcinomas, se obtuvo una sensibilidad del 99.7% al ser usado junto a la coloración Hematoxilina y eosina. En contra parte, el estudio presentado por Chaudhry (2016) y Shukla (2018) presentaron una discreta sensibilidad al medir la utilidad del azul de toluidina: 42.4 % y 63.3 %, respectivamente. Ambos estudios contemplaron la detección de patología orales altamente malignos. Lo que demuestra que la sensibilidad del azul de toluidina dependerá del tipo de estudio y la técnica en la cual se emplea.

Al emplear el azul de toluidina para la detección de mastocitos, la especificidad en el presente estudio obtuvo un valor del 90 % para la detección de mastocitos en lamina histológica muy similar a la especificidad alcanzada por la coloración estándar Hematoxilina y eosina: 88%. Lo cual se corrobora con el estudio realizado por Drabent, et al (2022), quienes obtuvieron una especificidad del 95.2% con la coloración de azul de toluidina para el recuento de mastocitos observados en biopsias de piel con diagnóstico de mastocitosis cutánea con un alto nivel de reproducibilidad entre los facultativos del estudio. En contraste a lo mencionado se presenta la investigación de Chainani-Wu, et al. (2015), los cuales obtuvieron una especificidad del 43 % en la tinción de lesiones orales con sospecha de neoplasia, empleando el azul de toluidina. También se presenta el estudio de Lutz, et al (2022), que reportan una no muy confiable especificidad 65 %, menor al de su sensibilidad; por tal motivo podemos inferir que para el presente estudio la especificidad obtenida al usar el Azul de toluidina tiene un muy buen

pronóstico para la detección de células mastocitarias, esto puede deberse al tipo de muestra biológica evaluada, así como al protocolo de ejecución en la coloración de láminas histológicas.

En los resultados obtenidos tanto para el valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, estos fueron del 95% y 100% respectivamente; al evaluar la utilidad del azul de toluidina, ambos resultados se corroboran con el estudio realizado por Aliakbar, et al (2019), donde evaluaron la utilidad de la coloración de Azul de toluidina para el diagnóstico histopatológico de tuberculosis en casos con neoplasia escamosa ocular con valores predictivos positivos y negativos del 95.56% y 83.72%, que sumados a una sensibilidad y especificidad elevada otorgan una confiabilidad a la hora de usar el colorante azul de toluidina. Mientras que en el estudio de Chaudhry et al, (2016), se obtuvieron resultados menos satisfactorios para la medición del valor predictivo positivo y valor predictivo negativo: 87.5% y 44.11% respectivamente. Aun así, en el presente estudio los valores predictivos no han desmejorado la sensibilidad y especificidad al medir la utilidad del azul de toluidina.

Las características que se han evaluado en las láminas histológicas determinaron la utilidad de la coloración azul de toluidina para su investigación. Estas características comprenden la cantidad de mastocitos observados en lamina histológica y la dificultad que se tiene al identificarlos; bajo estos criterios se estableció la validez de la coloración azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea.

Por consiguiente; la identificación celular, así como la elevada cantidad de mastocitos por lamina histológica, fue satisfactoria para el presente estudio. De las 27 láminas procesadas; 19 láminas histológicas dieron como positivo, donde se tiene 18 casos confirmados para mastocitosis cutánea. Lo cual presenta ser un buen indicador para la utilidad del azul de toluidina. Similar resultado se obtuvo en el estudio de Saba et al. (2015), quienes categorizaron la observación en laminas histológicas con azul de toluidina, como materiales insuficientes (C1), benignos (C2), atípicos (C3), sospechosos de malignidad (C4) o (C5) francamente

maligno, en distintas biopsias comparándolas con la tinción convencional Papanicolau, obteniendo mejores resultados con la tinción supravital azul de toluidina.

## VI. CONCLUSIONES

**a.** Mediante este estudio se determinó la utilidad de la tinción Azul de toluidina, concluyendo ser una eficaz herramienta de coloración mayor o igual a la prueba estándar H/E para el diagnóstico de mastocitosis cutánea,

**b.** Se determinó una sensibilidad del 100% en el uso de la coloración Azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospecha de mastocitosis cutánea. esto hace indicar una efectiva identificación de casos positivos en pacientes que presentan la sintomatología de mastocitosis cutánea.

**c.** Se determinó una especificidad del 90% en el uso de la coloración Azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospecha de mastocitosis cutánea, la considerable valoración hace indicar que los pacientes con resultado negativo por la coloración Azul de toluidina, no presentaron sintomatología de mastocitosis cutánea.

**d.** El valor predictivo positivo tuvo un valor significativo del 95% para la validez diagnóstica del Azul de toluidina, por lo tanto, se concluye una baja probabilidad de presentar falsos positivos usando la coloración de estudio.

**e.** El valor predictivo negativo tuvo un valor significativo del 100% para la validez diagnóstica del azul de toluidina, en este caso se concluye una muy escasa probabilidad de presentar falsos negativos usando la coloración de estudio.

**f.** Se concluye por los resultados obtenidos una eficaz utilidad al usar la coloración azul de toluidina en biopsias de piel para diagnóstico de mastocitosis cutánea, todo ello fue contrarrestado junto a su patrón estándar, hematoxilina y eosina, coadyuvados con los criterios de identificación como en la cantidad de células mastocitarias detectada por la coloración de estudio, se determinó una mejora en el fin diagnóstico dependiente del protocolo estandarizado realizado en esta investigación.

## VII. RECOMENDACIONES

- a.** Cumplir con el protocolo estandarizado al realizar la coloración con azul de toluidina para la detección de mastocitos en biopsias de piel.
- b.** Complementar el método de estudio con la coloración patrón estándar Hematoxilina y Eosina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea.
- c.** Para futuras investigaciones, incluir una cantidad mayor de muestra en la ejecución de muestras biológicas para la detección de mastocitosis cutánea.

## VIII. REFERENCIAS

- Aliakbar Navahi, R., Hosseini, S. B., Kanavi, M. R., Rakhshani, N., Aghaei, H., & Kheiri, B. (2019). Comparison of toluidine blue 1% staining patterns in cytopathologically confirmed ocular surface squamous neoplasias and in non-neoplastic lesions. *The ocular surface*, *17*, 578-583. doi: 10.1016/j.jtos.2019.04.010
- American Academy of Allergy, A. &. (2022, ENERO 01). *Aaaai.org*. Retrieved from *Aaaai.org*: [https://www.aaaai.org/Conditions-Treatments/Afecciones-y-Tratamientos/Afecciones-Relacionadas/Sindrome-de-Activacion-Mastocitaria-\(SAM\)](https://www.aaaai.org/Conditions-Treatments/Afecciones-y-Tratamientos/Afecciones-Relacionadas/Sindrome-de-Activacion-Mastocitaria-(SAM))
- Azaña, J. M., Torrelo, A., & Matito, A. (2016). Actualización en mastocitosis. Parte 1: fisiopatología, clínica y diagnóstico. *Actas dermo-sifiliograficas*, *107*, 5-14. doi:10.1016/j.ad.2015.09.007
- Badrick, T. (2021). Integrating quality control and external quality assurance. *Clinical biochemistry*, *95*, 15-27. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2021.05.003
- Bergström, A., Rollman, O., Emtestam, L., Mattson, M., Hägglund, H., Nilsson, G., & Karlsson, M. (2018). Mastocytosis i huden - uppdatering av kunskapsläget och riktlinjer för handläggning. *Lakartidningen*, *115*. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30351439/>
- Bodemer, C., Hermine, O., Palmérini, F., Yang, Y., Grandpeix-Guyodo, C., Leventhal, P. S., . . . Feger, F. (2010). Pediatric mastocytosis is a clonal disease associated with D816V and other activating c-KIT mutations. *The journal of investigative dermatology*, *130*, 804-815. doi:10.1038/jid.2009.281
- Calvó, P. (2017). En tumores de estroma gastrointestinal ¿resulta ventajosa la terapia molecular frente a la quimioterapia convencional?
- Carter, M., Metcalfe, D., & Komarow, H. (2014). Mastocytosis. *Immunology and allergy*

*clinics of North America*, 34, 181-196. doi:10.1016/j.iac.2013.09.00

Castells, M., Metcalfe, D. D., & Escribano, L. (2011). Diagnosis and treatment of cutaneous mastocytosis in children: Practical recommendations. *American journal of clinical dermatology*, 259-270. doi:10.2165/11588890-000000000-00000

Celebi, A. R., Ozbey, C., & Mirza, G. E. (2014). The role of mast cells in vascularized recurrent pterygium. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*, 77, 285-287. doi:10.5935/0004-2749.20140072

Chainani-Wu, N., Madden, E., Cox, D., Sroussi, H., Epstein, J., & Silverman Jr, S. (2015). Toluidine blue aids in detection of dysplasia and carcinoma in suspicious oral lesions. *21*, 879-885. doi:10.1111/odi.12358

Chaudhry, A., Manjunath, M., Ashwatappa, D., Krishna, S., & Krishna, A. G. (2016). Comparison of chemiluminescence and toluidine blue in the diagnosis of dysplasia in leukoplakia: a cross-sectional study. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 7, 132-140. doi:10.1111/jicd.12141

Chhabra, N., Chhabra, S., & Sapra, N. (2015). Diagnostic modalities for squamous cell carcinoma: an extensive review of literature-considering toluidine blue as a useful adjunct. *Journal of maxillofacial and oral surgery*, 14, 188-200. doi:10.1007/s12663-014-0660-6

Clavero, M. G. (01 de junio de 2014). *“EL MASTOCITO: CÉLULA CLAVE EN LA MICROINFLAMACIÓN (tesis doctoral)*. Barcelona: Universidad autónoma de Barcelona

Díaz-García, L., Medina-Vera, I., González-Garay, A., & Murata, C. (2019). Estudios de exactitud diagnóstica. *Acta Pediatr Mex.*, 40(6), 342-57. doi:http://dx.doi.org/10.18233/APM40No6pp342-3571933

- Drabent, P., Polivka, L., Agopian, J., Duong Van Huyen, J.-P., Thiebaut, P.-A., Dubreuil, P., . . . Freitag, S. (2022). Establishing diagnostic criteria for mastocytosis in skin biopsies. *Histopathology*, *80*, 501-514. doi:10.1111/his.14573
- Dumas, L., Peroni, D., Maino, O., Acuña, C., & Tubio, R. (2019). MASTOCITOSIS CUTÁNEA EN NIÑOS: REPORTE DE 23 CASOS EN 5 AÑOS. *Revista argentina de dermatología*, *100* (2),41-50 obtenido de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-300X2019000200041&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2019000200041&lng=es&tlng=es).
- Falchi, L., & Verstovsek, S. (2018). Kit mutations: New insights and diagnostic value. *Immunology and allergy clinics of North America*, *38*, 411-428. doi:10.1016/j.iac.2018.04.005
- Ferreira, S., Fernandes, I., Cabral, R., Machado, S., Lima, M., & Selores, M. (2020). Manifestações Cutâneas nas Mastocitoses: Atualização. *Acta medica portuguesa*, *33*, 275-281. doi:10.20344/amp.12189
- Grigorev, I. P., & Korzhevskii, D. E. (2021). Modern imaging technologies of mast cells for biology and medicine (review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine*, *13*, 93-107. doi:10.17691/stm2021.13.4.10
- Laubender, R. P., & Geistanger, A. (2021). Selection of within-run quality control rules for laboratory biomarkers. *Statistics in medicine*, *40*, 3645-3666. doi:10.1002/sim.8987
- Le, M., Miedzybrodzki, B., Olynych, T., Chapdelaine, H., & Ben-Shoshan, M. (2017). Natural history and treatment of cutaneous and systemic mastocytosis. *Postgraduate medicine*, *129*, 896-901. doi:10.1080/00325481.2017.1364124
- Lutz, E., Rivero, V., Turra, N., Otero, C., Fernández, C., González, A., . . . Bazzano, C. (2022). Comparación de las tinciones con hematoxilina y eosina versus azul de toluidina en la

- evaluación de los carcinomas cutáneos durante la cirugía micrográfica de Mohs. *La Revista médica del Uruguay*, 38, -. doi:10.29193/rmu.38.1.8
- Martín Conejero, A. (2023). Validation of diagnostic tests (part one). Categorical tests. *Angiologia*, 75, 101-105. doi:10.20960/angiologia.00473
- Martínez Pérez, J. A., & Pérez Martín, P. S. (2023). La curva ROC. *Semergen*, 49, 101821. doi:10.1016/j.semerg.2022.101821
- Matito, A., Azaña, J. M., Torrelo, A., & Alvarez-Twose, I. (2018). Cutaneous mastocytosis in adults and children: New classification and prognostic factors. *Immunology and allergy clinics of North America*, 38, 351-363. doi:10.1016/j.iac.2018.04.001
- Megías, M., Molist, P., & Pombal, M. (1 de enero de 2018). *Uvigo.es*. Obtenido de Uvigo.es: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tipos-cel-mastocito.pdf>
- Michelle, L., Barbara, M., Tim, O., Chapdelaine, H., & Ben-Shoshan, M. (2017). Natural history and treatment of cutaneous and systemic mastocytosis. *Postgraduate Medicine*, 129, 896-901. doi:10.1080/00325481.2017.1364124
- Monaghan, T. F., Rahman, S. N., Agudelo, C. W., Wein, A. J., Lazar, J. M., Everaert, K., & Dmochowski, R. R. (2021). Foundational statistical principles in medical research: Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 57, 503. doi:10.3390/medicina57050503
- Nemat, K., & Abraham, S. (2022). Cutaneous mastocytosis in childhood. *Allergologie select*, 6, 1-10. doi:10.5414/ALX02304E
- Ochoa\*, J., & Yunkor\*, Y. (2019). El estudio descriptivo en la investigación científica. *ACTA JURÍDICA PERUANA*, 2. Obtenido de <http://201.234.119.250/index.php/AJP/article/view/224>
- Preisz, N. D. (2022). Mastocytosis del adulto: reporte de un caso. *Revista argentina de*

- dermatología*, 103, 11-20. Obtenido de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-300X2022000300011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2022000300011&lng=es&tlng=es).
- Price, C. J., Green, J., & Kirsner, R. S. (2010). Mastocytosis in children is associated with mutations in c-KIT. *The journal of investigative dermatology*, 130, 639. doi:10.1038/jid.2009.448
- Puebla- Osorio, N., Sarchio, S., Ullrich, S., & Byrne, S. (2017). Detection of Infiltrating Mast Cells Using a Modified Toluidine Blue Staining. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1627, 213-222. doi:10.1007/978-1-4939-7113-8\_14
- Ramón Trejo-Acuña, J., Navarrete-Franco, G., Nayelli, A., Clínico, C., Del Servicio, J., Del, R., & Año De Dermatología, E. (2018). *Urticaria pigmentosa. Presentación de un caso y breve revisión de la literatura*. Obtenido de Medigraphic.com: <https://www.medigraphic.com/pdfs/derma/cd-2018/cd181c.pdf>
- Reyes Morelo, M. T., Vancin, L., Panzza, Y., Rodríguez Cabral, A., Stella, I., & Morichelli, M. (2021). Lesiones plantares en paciente pediátrico: propósito de dos casos. *Revista argentina de dermatología*, 102, 11-20. Obtenido de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-00X202100010001](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-00X202100010001)
- Saba, K., Niazi, S., Bukhari, M. H., & Imam, S. F. (2015). Use of supravital toluidine blue staining to improve the efficiency of fine-needle aspiration cytology reporting in comparison to papanicolaou stain. *Pakistan journal of medical sciences quarterly*, 31, 1146-1151. doi:10.12669/pjms.315.8411
- Schaffer, J. (2021). Pediatric Mastocytosis: Recognition and Management. *American Journal of Clinical Dermatology*, 22, 205–220. doi:10.1007/s40257-020-00581-5
- Shukla, A., Singh, N. N., Adsul, S., Kumar, S., Shukla, D., & Sood, A. (2018). Comparative

- efficacy of chemiluminescence and toluidine blue in the detection of potentially malignant and malignant disorders of the oral cavity. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 22, 442. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP\_261\_17
- Sigma-Aldrich. (12 de Agosto de 2019). Microscopía Azul de toluidina O (C.I. 52040). *Microscopía Azul de toluidina O (C.I. 52040)*. Canada . Obtenido de file:///C:/Users/USER/Downloads/115930-es-mk%20(2).pdf
- Tehrani, H., May, K., Morris, A., & Motley, R. (2013). Does the dual use of toluidine blue and hematoxylin and eosin staining improve basal cell carcinoma detection by Mohs surgery trainees? *Dermatologic surgery*, 39, 995-1000. doi:10.1111/dsu.12180
- Tosta, T. A., de Faria, P. R., Servato, J. P., Neves, L. A., Roberto, G. F., Martins, A. S., & do Nascimento, M. Z. (2019). Unsupervised method for normalization of hematoxylin-eosin stain in histological images. *Computerized medical imaging and graphics: the official journal of the Com*, 77, 101646. doi: 10.1016/j.compmedimag.2019.101646
- Valdés González, J. L., Valdés González, E. M., & Solís Cartas, U. (2016). Mastocytosis cutánea. Un caso singular. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 15, 64-71. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180444213008>
- Valent, P., Akin, C., Hartmann, K., Nilsson, G., Reiter, A., Hermine, O., . . . Gotlib, J. (2017). Advances in the classification and treatment of mastocytosis: Current status and outlook toward the future. *Cancer research*, 77, 1261-1270. doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-2234

## IX. ANEXOS

## Anexo A. Matriz de consistencia

TITULO	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DEL ESTUDIO	VARIABLE DE ESTUDIO	INDICADORES	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN
<p>Utilidad de la tinción de azul de toluidina para el diagnóstico de mastocitosis cutánea en el Policlínico san Carlos</p>	<p><b>Pregunta general:</b></p> <p>¿Cuál es la utilidad del azul de toluidina para el hallazgo de mastocitos en biopsias de piel que ayuden al diagnóstico de mastocitosis cutánea en el laboratorio del policlínico San Carlos?</p> <p><b>Preguntas específicas:</b></p> <p>¿Cuál es la sensibilidad de la coloración azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?</p>	<p><b>Objetivo general:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la utilidad de la tinción de azul de toluidina, para la identificación de mastocitos en biopsias de pacientes con sospecha clínica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.</li> </ul> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la sensibilidad de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.</li> </ul>	<p>Utilidad de la coloración azul de toluidina</p>	<p>-Sensibilidad</p> <p>-Especificidad</p> <p>-Valor predictivo positivo (VPP)</p> <p>-Valor predictivo negativo (VPN)</p>	<p><b>-Niveles de estudio:</b></p> <p>Tipo descriptivo</p> <p><b>-Diseño:</b></p> <p>No experimental Transversal Prospectivo</p> <p><b>-Población:</b></p> <p>27 pacientes con sospecha diagnóstica de mastocitosis cutánea</p>

	<p>¿Cuál es la especificidad de la coloración azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?</p> <p>¿Cuál es el valor predictivo positivo de la coloración azul de toluidina para la identificación de mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?</p> <p>¿Cuál es el valor predictivo negativo de la coloración azul de toluidina para la identificación de d mastocitos en biopsias de piel con sospechas de mastocitosis cutánea?</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la especificidad de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos</li> <li>• Determinar el valor predictivo positivo de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.</li> <li>• Determinar el valor predicativo negativo de la tinción azul de toluidina para la presunción diagnóstica de mastocitosis cutánea en el policlínico San Carlos.</li> </ul>			<p><b>-Muestra</b></p> <p>27 infantes con sospecha diagnóstica de mastocitosis cutánea</p>
--	---	--	--	--	--

**Anexo B.** Protocolo estandarizado para el uso de la coloración de Azul de Toluidina

Protocolo estandarizado para el uso de la coloración azul de Toluidina en el policlínico San Carlos:

*Paso 1.* Cortes seriados de la muestra en parafina de 3 a 5 micras de espesor para ser adheridas a una lámina portaobjetos.

*Paso 2.* Rehidratar con alcohol descendente

Alcohol 100° - 30 segundos

Alcohol 100° - 30 segundos

Alcohol 96° - 30 segundos

Alcohol 70° - 30 segundos

*Paso 3.* Lavar las láminas en Agua de grifo durante 1 minuto.

*Paso 4.* Reposar las láminas histológicas durante 5 minutos en agua destilada.

*Paso 5.* Sobre un puente de tinción, agregar 10 gotas del colorante Azul de toluidina sobre las láminas histológicas, posterior a ello esperar 20 minutos que la coloración impregne la biopsia.

*Paso 6.* Lavar las láminas histológicas en agua de grifo por 30 segundos y secar a temperatura ambiente.

*Paso 7.* Montar las láminas con fijador Entellan y visualizar la lámina con objetivo de 40x

**Anexo C.** Ficha de recolección de datos

CÓDIGO:.....

FECHA:.....

## AZUL DE TOLUIDINA

## A. Cuantificación de mastocitos en la lámina histológica

AUSENTE	ESCASA CANTIDAD	REGULAR CANTIDAD	ABUNDANTE CANTIDAD
0	1	2	3

## B. Grado de dificultad en la identificación de mastocitos

NO SE IDENTIFICO	DIFÍCIL	MODERADAMENTE DIFÍCIL	FÁCIL
0	1	2	3

## HEMATOXILINA Y EOSINA

## A. Cuantificación de mastocitos en la lámina histológica

AUSENTE	ESCASA CANTIDAD	REGULAR CANTIDAD	ABUNDANTE CANTIDAD
0	1	2	3

## B. Grado de dificultad en la identificación de mastocitos

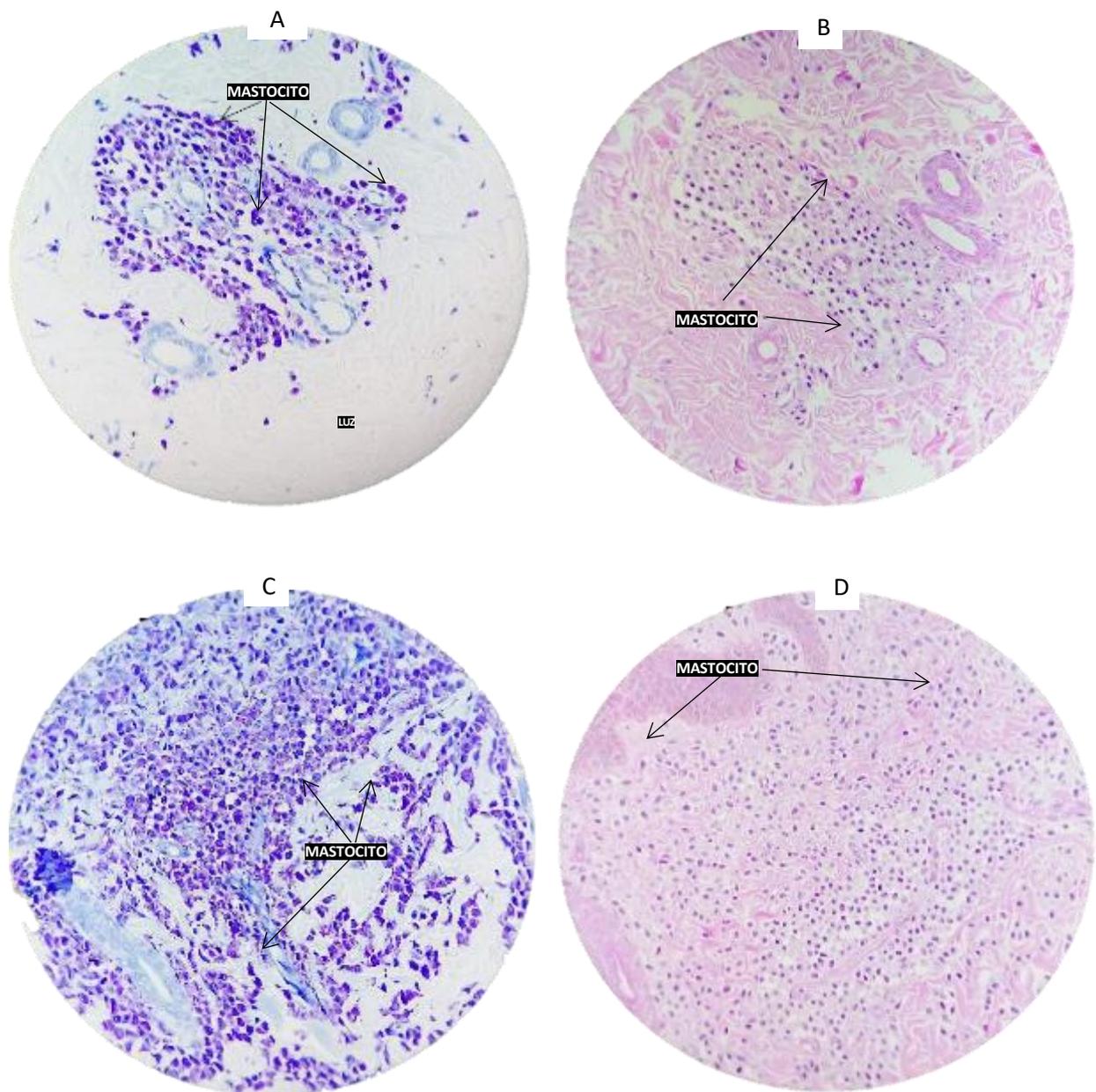
NO SE IDENTIFICO	DIFÍCIL	MODERADAMENTE DIFÍCIL	FÁCIL
0	1	2	3

## Anexos D. Banco de resultados

M U E S T R A	AZUL DE TOLUIDINA								HEMATOXILINA Y EOSINA							
	Cuantificación de mastocitos en la lámina histológica				Grado de dificultad en La identificación de mastocitos				Cuantificación de mastocitos en la lámina histológica				Grado de dificultad en La identificación de mastocitos			
	Ausente	Escasa cantidad	Regular cantidad	Abundante cantidad	No se identifico	Difícil	Moderadamente difícil	Fácil	Ausente	Escasa cantidad	Regular cantidad	Abundante cantidad	No se identifico	Difícil	Moderadamente difícil	Fácil
	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
M-25788				X			X				X				X	
M-21735		X				X			X				X			
M-17610				X			X				X				X	
M-10785				X			X				X				X	
M-26331		X				X			X				X			
M-26162			X				X		X				X			
M-8424			X				X		X					X		
M-18922				X			X				X				X	
M-26191				X			X				X				X	
M-26640				X			X				X				X	
M-20698				X			X				X				X	
M-22068				X			X				X				X	
M-11364				X			X			X					X	
M-13775				X			X				X				X	
M-16589				X			X				X				X	
M-23181			X				X			X				X		
M-9578			X				X			X				X		
M-8457			X				X		X				X			
M-1085	X				X				X				X			

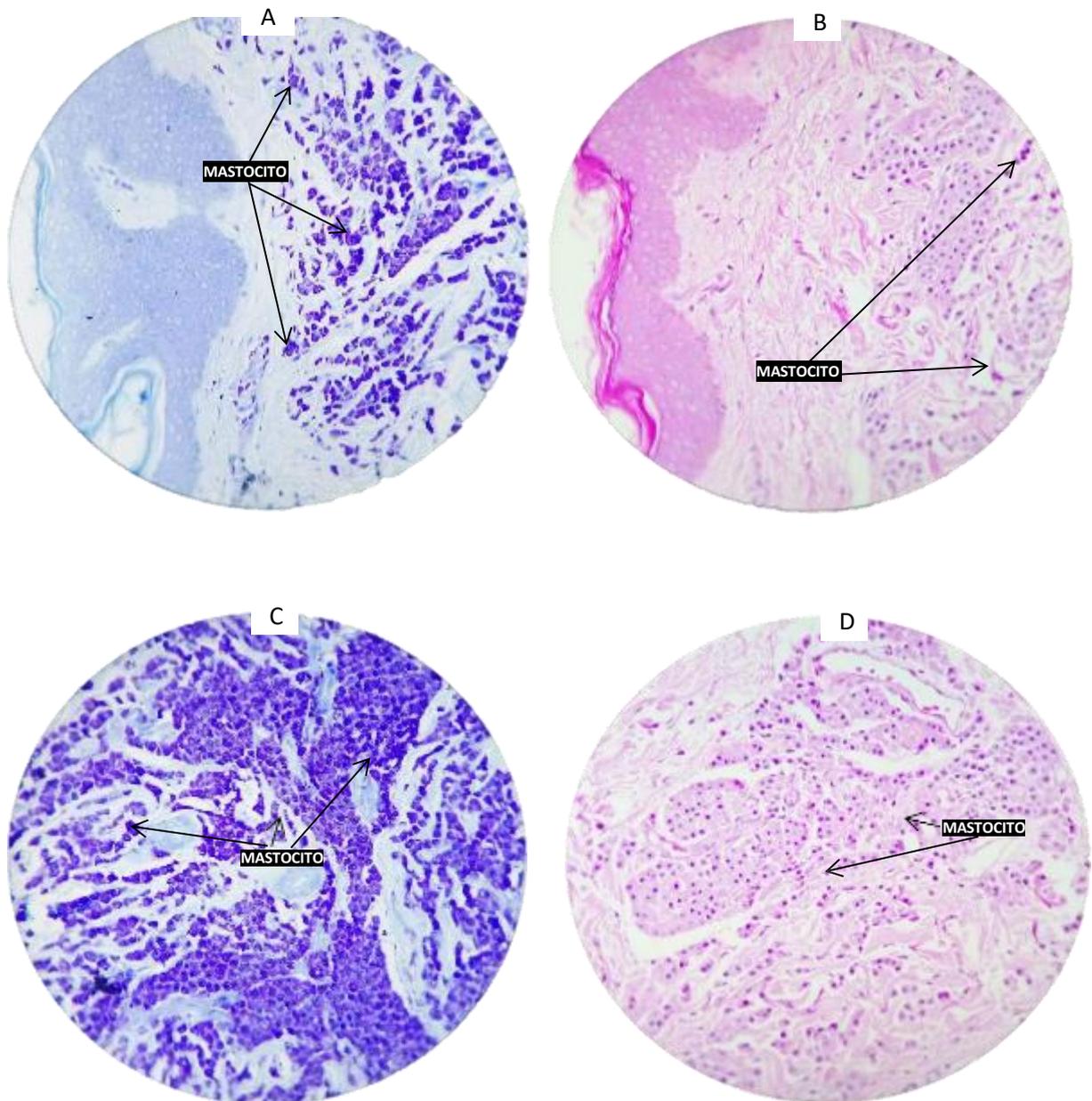
M-1874	X				X				X				X			
M-1974	X				X				X				X			
M-3658	X				X				X				X			
M-5478	X				X					X				X		
M-5896		X				X				X				X		
M- 6851	X				X				X				X			
M-6994	X				X				X				X			
M-8817	x				X				X				X			

ANEXO E. Muestra código 16589 (Mastocitosis Cutánea)



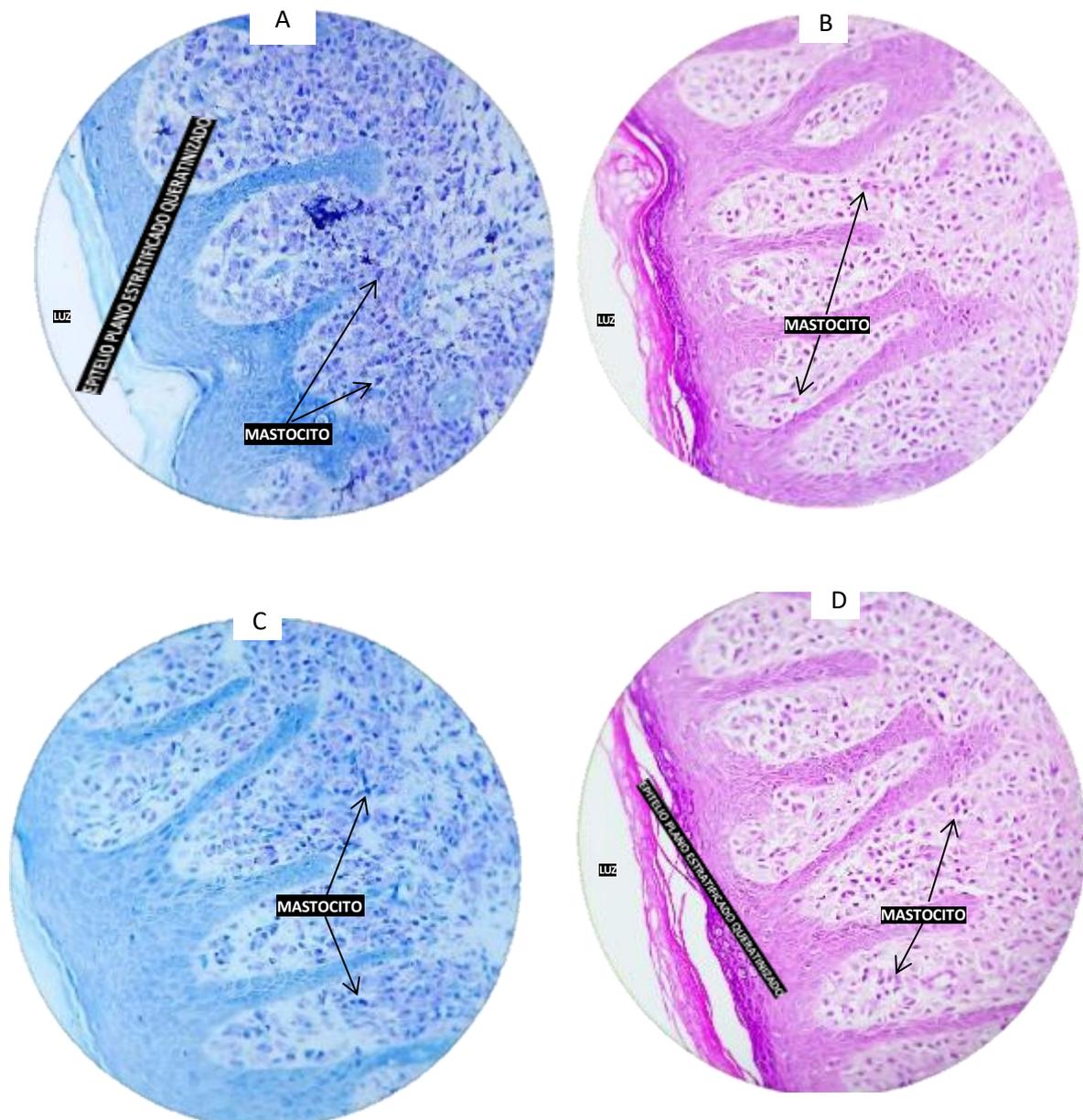
<sup>A.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>B.</sup> (H/E) presencia de mastocitos, abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>C.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>D.</sup> (H/E) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación.

**ANEXO F. Muestra código 18922 (Mastocitosis Cutánea)**

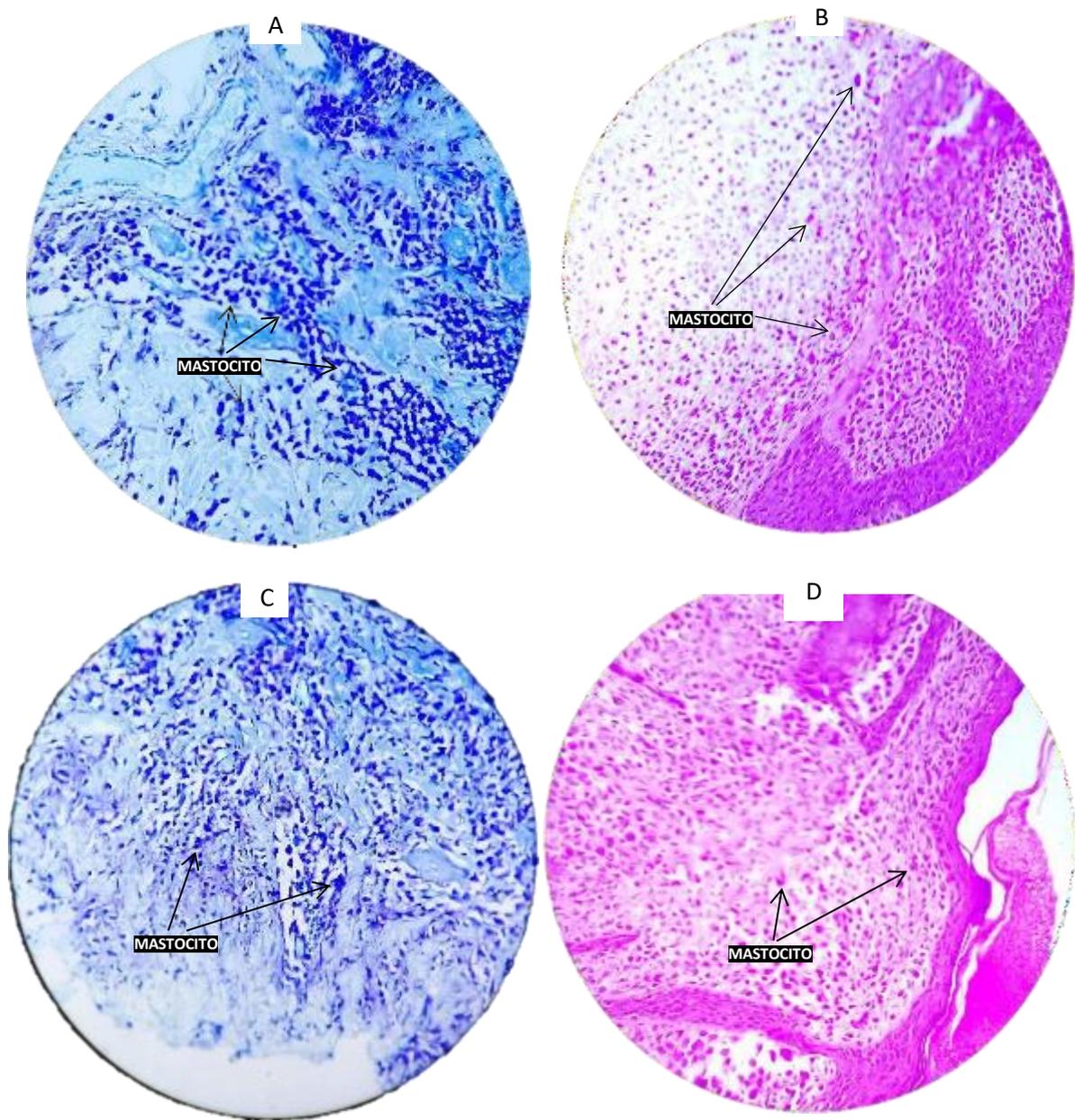


<sup>A.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>B.</sup> (H/E) presencia de mastocitos, abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>C.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>D.</sup> (H/E) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación

**ANEXO G. Muestra código 17610 (Mastocitosis Cutánea)**

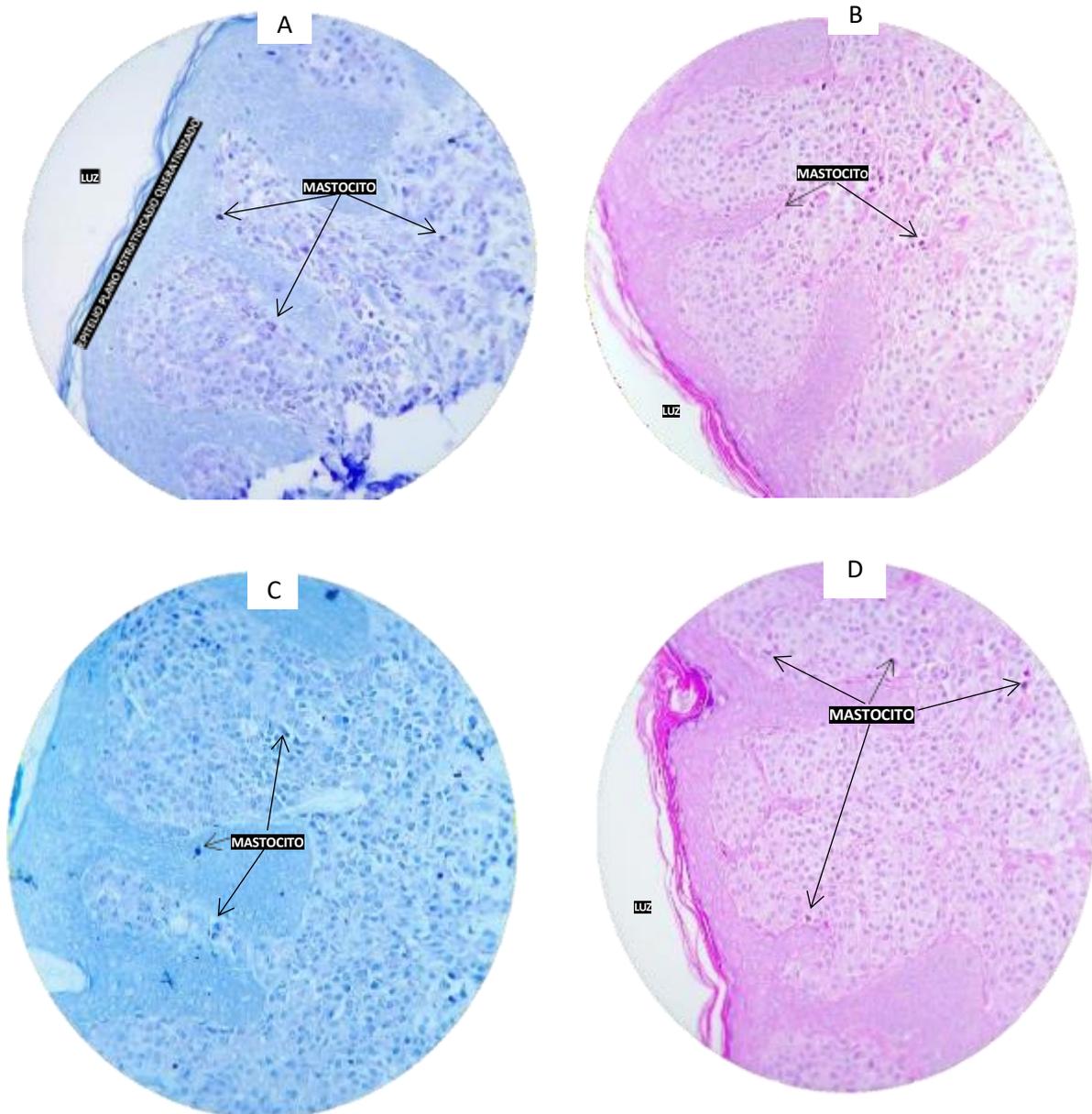


<sup>A.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>B.</sup> (H/E) presencia de mastocitos, abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>C.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>D.</sup> (H/E) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación.

**ANEXO H. Muestra código M20698 (Mastocitosis Cutánea)**

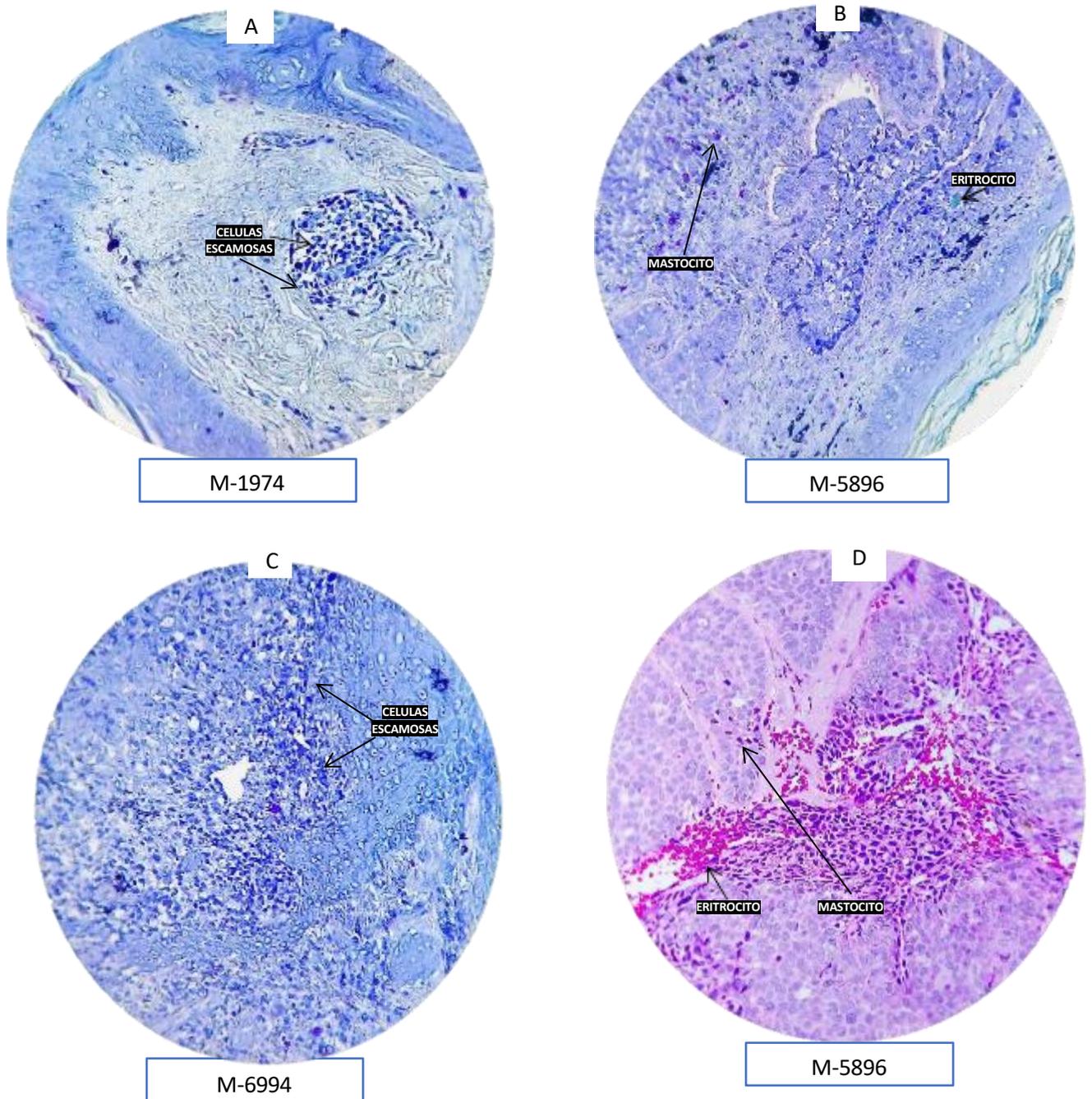
<sup>A.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>B.</sup> (H/E) presencia de mastocitos, abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>C.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>D.</sup> (H/E) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación.

**ANEXO I.** Muestra código 26191 (Mastocitosis Cutánea)



<sup>A.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>B.</sup> (H/E) presencia de mastocitos, abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>C.</sup> (AT) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación. <sup>D.</sup> (H/E) presencia de mastocitos abundante cantidad y de fácil identificación.

## ANEXO J. Muestras negativas



<sup>A.</sup> (AT) ausencia de mastocitos, y no identificable. <sup>B.</sup> (AT) presencia de mastocitos, escasa cantidad y de difícil identificación. Carcinoma de células basales <sup>C.</sup> (AT) ausencia de mastocitos, y no identificable. <sup>D.</sup> (H/E) presencia de mastocitos escasa cantidad y de difícil identificación.

**ANEXO K. Constancia de autorización para investigación****Carta de autorización para ejecución de tesis**

Señores:

Universidad Nacional Federico Villareal

Asunto: Autorización para ejecución de tesis

Por medio del presente documento autorizo al investigador Hernán Vladimir Vega Anglas con DNI: 48396463 responsable del proyecto titulado **Utilidad de la tinción de azul de toluidina para el diagnóstico de mastocitosis cutánea en el Policlínico San Carlos, Lima 2022**, correspondiente a un estudio de tesis.

Comprendo que implica un manejo confidencial, por lo que los participantes no serán identificados, tampoco las organizaciones en los documentos o publicaciones derivadas del estudio. La información obtenida será utilizada sólo con fines de esta investigación.

Permito la recopilación de información a través de muestras biológicas, documentos, entrevistas y de los grupos de discusión.

Ante cualquier duda o consultas respecto a la investigación puede contactar al investigador responsable Hernán Vladimir Vega Anglas con número de celular 934043838.

La presente Carta de Autorización se firma en dos ejemplares. Uno de los documentos queda en poder del investigador y el otro en poder del jefe del área. Para formalizar el permiso en este estudio, firmo a continuación.

Dr. César Augusto Chian García

JEFE DE LABORATORIO

FIRMA

Lima 12 del mes de Junio del año 2023