

UNIVERSIDAD NORBERT WIENER

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL ETANOL Y DESTILADO
DE PISCO COMO FIJADOR CITOLÓGICO CERVICAL”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA.**

Presentado por:

Bachiller: Paz Alvarez, Miguel Armando

Martínez López, Adita

LIMA – PERÚ

2020

Dedico este trabajo:

El presente trabajo de investigación lo dedicamos principalmente a Dios, por habernos dado la vida y permitirnos concluir esta investigación y ser los mejores profesionales en tecnología médica de laboratorio clínico y anatomía patológica

Miguel Paz Alvarez

Agradezco principalmente a Dios por la vida y el haberme permitido llegar hasta este momento de mi titulación como licenciado de tecnología médica en laboratorio clínico y anatomía patológica, a mi familia, esposa y amistades por su apoyo incondicional en todo momento.

Especialmente dedico este trabajo a mis padres **JOSE MIGUEL PAZ URIARTE y ELIDIA ALVAREZ ZAVALA**, quienes fueron mi guía en la vida, mi inspiración, mi motivación y mi apoyo desde que inicie este proyecto universitario hasta el mes de agosto 2020 en el que fallecieron, para ellos toda mi gratitud y mi dedicación.

Adita Martinez Lopez

Primer lugar agradezco a Dios quién como guía estuvo presente en el caminar de mi vida, bendiciendome y dandome fuerzas para continuar mis metas trazadas, agradezco también a mi familia, amistades y padre que ya descansa en paz desde mayo del presente año

Agradezco a:

Agradezco a los docentes Tecnólogos Médicos, Patólogos y técnicos que estuvieron en este proyecto de investigación con su sabiduría, conocimiento y apoyo incondicional.

ASESOR DE TESIS

Dr. ANGELO JUSTO ASCARZA GALLEGOS

JURADOS

INDICE	
CAPÍTULO I:	12
1.1. Planteamiento del Problema	12
1.2. Formulación del Problema	14
1.3. Justificación	15
1.4. Objetivo	16
1.4.1. General	17
1.4.2. Específico	17
CAPÍTULO II	19
2.1. Antecedentes	19
2.2. Base Teórica	22
2.11. Hipótesis	35
2.12. Variables e indicadores	35
2.13. Definición operacional de términos	36
CAPÍTULO III:	39
3.1. Tipo de investigación	39
3.2. Ámbito de Investigación	39
3.3. Población y muestra	39
3.3.1. Población	40
3.3.2. Muestra	40
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	41
3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos	42
3.6. Aspectos éticos	43
CAPÍTULO IV:	44
4.1 Resultados	44
4.2 Discusión	60
CAPÍTULO V:	63
5.1. Conclusión	63
5.2. Recomendaciones	65
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	66
ANEXOS	70

ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS

Pág.

Tabla 1

Valoración del Índice de Calidad de Tinción del fijador en base a destilado de pisco frente a fijador etanólico

49

Tabla 2

Concordancia del fijador de destilado de pisco frente a fijador etanólico como fijadores en citología cervical.

50

Tabla 3

Rendimiento del fijador de destilado de pisco frente a fijador etanólico como fijadores en citología cervical.

51

INDICE DE GRÁFICOS

FIGURA	Pág.
Figura 1 Tiempo de duración del destilado de pisco como fijador en citología cervical.	52
Figura 2 Cantidad de láminas fijadas con el destilado de pisco como fijador en citología cervical frente al fijador etanólico.	53
Figura 3 Cantidad de láminas fijadas con el destilado de pisco como fijador en citología cervical frente al fijador etanólico	54

Resumen

Introducción: La fijación constituye uno de los principales componentes de la fase pre-analítica que asegura la conservación celular y la calidad final en las pruebas de citología exfoliativa. El objetivo de este estudio fue comparar el etanol frente al destilado de pisco como fijador citológico cervical.

Materiales y Métodos: Se diseñó un estudio prospectivo de corte transversal en 200 muestras cervicales de muestra de pacientes mayores de 18 años, muestras cervicales correctamente colectadas con el cytobrush, fijadas de inmediato y muestras de pacientes sin contaminación, sin sangrado. Se fijaron las láminas a doble ciego con etanol y destilado de pisco. Se determinaron las pruebas diagnósticas para determinar sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) y el índice de correlación Kappa. La calidad de tinción fue fijación fue determinada con el índice de calidad de tinción (ICT).

Resultados: Se determinó un ICT alto todos los parámetros citológicos evaluados (promedio global de 0.92, Ideal=1), siendo el menor la evaluación de continuidad de membranas (0.89) y el más alto el de características nucleares (0.96). No se evidenciaron diferencias en la evaluación entre los jurados ($p > 0.05$). Determinamos una sensibilidad de 90% (IC95% 74.8 a 92.3), una especificidad de 100.0% (IC95% 98.1 a 100), un VPP de 100% (IC95% 98.2 a 100), un VPN de 98.9% (IC95% 96.5 a 100), y una concordancia muy buena ($\kappa = 0.94$, IC95% 0.86 a 1.0). Se evidenciaron 14 veces menos costo para el fijador de pisco versus el fijador etanólico.

Conclusión: Se determinó que el fijador con etanol es comparable frente al destilado de pisco como fijador citológico cervical.

Palabras claves: citología, prueba de Papanicolaou, fijación, técnicas de procesamiento, cáncer cervical.

Abstract

Introduction: Fixation constitutes one of the main components of the pre-analytical phase that ensures cell preservation and final quality in exfoliative cytology tests. The objective of this study was to compare ethanol versus pisco-distillate as a cervical cytological fixative.

Materials and Methods: A prospective cross-sectional study was designed in 200 cervical samples from patients over 18 years of age, cervical samples correctly collected with the cytobrush, immediately fixed, and samples from patients without contamination, without bleeding. The slides were fixed double blind with ethanol and pisco distillate. Diagnostic tests were determined to determine sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) and the Kappa correlation index. The quality of staining was fixation was determined with the staining quality index (ICT).

Results: A high ICT was determined for all the cytological parameters evaluated (global average of 0.92, Ideal = 1), the lowest being the evaluation of membrane continuity (0.89) and the highest that of nuclear characteristics (0.96). There were no differences in the evaluation between the juries ($p > 0.05$). We determined a sensitivity of 90% (95% CI 74.8 to 92.3), a specificity of 100.0% (95% CI 98.1 to 100), a PPV of 100% (95% CI 98.2 to 100), a NPV of 98.9% (95% CI 96.5 to 100), and a very good concordance ($\kappa = 0.94$, 95% CI 0.86 to 1.0). There was 14 times less cost for the pisco fixative versus the ethanolic fixative.

Conclusion: It was determined that the fixative with ethanol is comparable to pisco distillate as a cervical cytological fixative.

Key words: *cytology, Papanicolaou test, fixation, processing techniques, cervical cancer.*

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La citología exfoliativa es técnica de evaluación citomorfológica que permite estudiar e interpretar cambios de los componentes celulares y de su entorno. Para ello se basa en la descamación, natural o artificial, celular de varios epitelios como la mucosa oral, cervical, gastrointestinal, y de cavidades con líquidos donde las células exfoliadas se hallan.¹

El desarrollo cabal de la citología exfoliativa se logró cuando George Papanicolaou crea una coloración policromática que permitió la visualización correcta de estructuras celulares de diferentes cavidades orgánicas.² Esta coloración fue masivamente empleada para diferenciar los cambios celulares del epitelio cervical permitiendo así enfrentar y reducir las tasas de morbilidad ocasionadas por el cáncer cervical en el mundo entero.³ La coloración convencional de Papanicolaou involucra el uso de tres colorantes en 15 etapas, divididas en una etapa hidrofílica (la primera parte de coloración nuclear) y una alcohólica (la parte complementaria de coloración citoplasmática) debido al uso de los reactivos en cada una.⁴ Si bien múltiples modificaciones se han realizados sobre los componentes, tiempo, etapas y reactivos usados, todos estos reportes previos atribuyen una importancia fundamental a la fijación celular.^{4,5,6,7}

La fijación celular, es un proceso técnico de preservación celular que evita la degradación de los componentes celulares, y se desarrolla al fin de la etapa pre-analítica.⁸ Los alcoholes son los principales representantes de esta etapa, aunque también se han evidenciado modificaciones con relativo grado de rendimiento, pero poco sostenibles debido a su alto costo y poco acceso.^{9,10}

Ante esta problemática nos planteamos el siguiente problema de investigación:

1.2. Formulación del problema

¿Será comparable el etanol frente al destilado de pisco como fijador citológico cervical?

1.2.1 Problemas específicos

1. ¿Cuál será la calidad de fijación del destilado de pisco en citología cervical?
2. ¿Cuál será el nivel y grado de concordancia entre el destilado de pisco y etanol en citología cervical?
3. ¿Cuál será el rendimiento del destilado de pisco y en citología cervical?
4. ¿Cuál será el tiempo de duración del destilado de pisco como fijador en citología cervical?
5. ¿Cuál será el costo del destilado de pisco respecto al etanol como fijador en citología cervical?

1.3 Justificación

Dado que la coloración de Papanicolaou es una pieza fundamental en los programas de prevención de cáncer cervical en el mundo entero, pero principalmente en los países con bajo y medianos ingresos, su realización requiere de alternativas que aseguren resultados fiables. Es decir, ya que el cáncer cervical afecta más frecuentemente a poblaciones de escasos recursos, peri-urbanas y con poco sostenimiento sanitario, los centros de salud colindantes poseen las mismas condiciones y por tanto son centros con recursos limitados, incluso para el abastecimiento de componentes esenciales como fijadores celulares. Existen habitualmente problemas relacionados con la compra, suministro y almacenamiento de alcoholes fijadores incluso en los hospitales de altos niveles de las principales ciudades de nuestro país. Ante esta real situación, nuestro proyecto busca evaluar la capacidad del destilado de pisco como fijador celular pudiendo proponérsele como una alternativa a los fijadores convencionales.

Desarrollamos nuestro interés en esta sustancia, ya que es diariamente eliminada en la industria vinífera de nuestro país como remanente de producción. El poder demostrar la actividad, rendimiento y capacidad de esta solución para fijar celular nos permitirá plantear su uso como un sucedáneo en la fijación celular, pudiéndose usar en investigación o atención clínica en el futuro.

1.4. Objetivo

1.4.1. General

Comparar el etanol frente al destilado de pisco como fijador citológico cervical

1.4.2. Específico

1. Determinar la calidad de fijación del destilado de pisco como fijador en citología cervical.
2. Determinar el nivel y grado de concordancia entre el destilado de pisco frente al etanol como fijador en citología cervical.
3. Determinar el rendimiento del destilado de pisco como fijador en citología cervical
4. Determinar el tiempo de duración del destilado de pisco como fijador en citología cervical
5. Determinar el costo del destilado de pisco respecto al etanol como fijador en citología cervical.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Kapse et al.¹¹ Compararon las características citomorfológicas en el frotis de Papanicolaou convencional (C-PAPS) y el frotis de Papanicolaou rehidratado al aire (RADPS) y evaluar la eficacia de RADPS en el citodiagnóstico de la lesión cervical comparando con características citomorfológicas del frotis de Papanicolaou convencional fijado en húmedo. Incluyeron 247 frotis cervicales, donde uno fue etiquetado como C-PAPS y otro fue etiquetado como RADPS. La comparación de ambos frotis se realizó para varios parámetros citomorfológicos. De 247 frotis, el 2,4% de RADPS y el 7,3% de C-PAPS se informaron como insatisfactorios. El background de glóbulos rojos estuvo presente en el 2% de RADPS y el 42% de C-PAPS. La citólisis y los artefactos de secado al aire se observaron más en C-PAPS, lo que representa un 2% y un 4% en RADPS y un 11% y un 15% en C-PAPS. La tinción citoplasmática (97% de RADPS frente a 94% de C-PAPS) fue superior en RADPS. El borde celular, el borde nuclear y la cromatina de células escamosas y endocervicales se apreciaron mejor en RADPS en comparación con C-PAPS, y también se observó una diferencia estadísticamente significativa. Los autores concluyen que la técnica de secado al aire rehidratado puede ser una alternativa satisfactoria para el método de fijación convencional

en húmedo que puede seguirse de forma rutinaria o en conjugación con C-PAPS, especialmente en programas de detección cervical.

Leite et al.¹² Evaluaron el rendimiento de un nuevo fijador para la colección de frotis de Papanicolaou para citología cervical con base líquida (CellPreserv®) frente a PreservCyt® disponible en el mercado utilizado en el diagnóstico y detección del virus del papiloma humano (VPH) como para la prueba de Papanicolaou en base líquida. Incluyeron 725 mujeres participantes en este estudio después de firmar un consentimiento informado. Las muestras se recolectaron utilizando un dispositivo tradicional, se agitaron en PBS y se dividieron por igual en ambos fijadores. Los portaobjetos se prepararon de forma rutinaria, se colorearon con Papanicolaou, se examinaron a ciegas por 2 citólogos, y se revisaron por un citopatólogo. Para buscar el VPH, se tomaron 1.000 µL de cada fijador y se procesaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Teniendo en cuenta la idoneidad de las muestras, ambos fijadores tuvieron resultados similares: 0,33 y 0,32% de los casos no satisfactorios para PreservCyt® y CellPreserv®, respectivamente. Considerando los 701 casos satisfactorios y comparando el nuevo fijador con el fijador tradicional, hubo una concordancia de 99.3% entre ambos. Los resultados con respecto a la detección de HPV fueron 100% concordantes entre los 2 fijadores. Los autores concluyen que el nuevo fijador a base de metanol, CellPreserv®, es más barato y eficiente para el cribado del cáncer cervical y la detección del VPH.

Pandiar et al.¹³ Evaluaron la eficacia de dos edulcorantes naturales como cito-fijadores. También describieron el mecanismo subyacente mediante el cual estos fijadores fijan las células de la mucosa oral. Recogieron tres frotis de 25 voluntarios sanos, un frotis se fijó en etanol y los otros dos en 20% de solución acuosa de miel y 30% de solución acuosa de jaggery (azúcar de caña) durante 15-30 minutos, seguido de la coloración de Papanicolaou. Los extendidos se evaluaron para determinar la tinción nuclear, la tinción citoplasmática, la morfología celular, la claridad de la tinción y la uniformidad de la tinción al azar, independientemente de los fijadores. Además, se analizaron los fijadores citológicos para determinar el pH y la cantidad de azúcares reductores. Hallaron que, para todas las características estudiadas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres fijadores. El pH de los dos fijadores probados permaneció ácido incluso después de la primera semana. La cantidad de azúcares reductores en una solución acuosa al 20% de miel y una solución acuosa al 30% de jaggery fue de 19.3 g / 100 ml y 2.07 g / 100 ml, respectivamente. Concluyen que los dos fijadores de prueba dieron resultados equivalentes al etanol y, por lo tanto, pueden usarse como fijadores alternativos para los frotis orales. Se propone que el 20% de miel acuosa y el 30% de jaggery acuoso fijen los frotis orales satisfactoriamente en un mecanismo similar al etanol mediante la coagulación y desnaturalización de las proteínas.

Singh et al.¹⁴ Analizaron la eficacia de los frotis citológicos fijados en etanol y 20% de miel sin procesar y comparar la eficacia entre los dos

fijadores. Incluyeron a 30 participantes aparentemente sanos y normales. Antes de la recolección de células bucales, se pidió a los sujetos que se enjuagaran la boca con agua. Las células bucales se recogieron utilizando un baja lenguas de madera. Se recogieron dos frotis de cada sujeto. Un frotis se fijó en etanol y el otro se fijó en miel al 20% sin procesar. Los portaobjetos se lavaron en agua del grifo durante aproximadamente 30 segundos, después de lo cual se sometieron al procedimiento de tinción de Papanicolaou convencional. Los extendidos así fijados se evaluaron por separado para etanol y miel. Los detalles citoplasmáticos y nucleares se puntuaron para 50 células en cada portaobjetos. El 90% de los frotis fijados con etanol se fijaron adecuadamente en comparación con los frotis fijados con miel, que fueron adecuados en 80%. El p-value obtenido fue de 0.47 y los datos fueron estadísticamente insignificantes. Los autores concluyen que ambos frotis estaban a la par uno con el otro, y recomiendan que la miel se puede usar de manera segura como sustituto del etanol.

Rupinder et al.¹⁰ Evaluaron la técnica de rehidratación de extendidos secados al aire frente a como un método alternativo frente a los frotis convencionales fijados en alcohol (fijación en húmedo). Este estudio se realizó durante un período de 15 meses en un centro de atención terciaria. Se examinaron dos series de 461 frotis cervical. Los frotis del primer conjunto se fijaron en alcohol etílico al 95% y el otro conjunto de 461 frotis se secaron al aire, se rehidrataron y luego se fijaron en alcohol etílico al 95%. Ambos frotis se colorearon con tinción de Papanicolaou, y se

examinaron para preservar las características citomorfológicas y se evaluaron mediante la modificación de los parámetros. En los frotis fijados en húmedo, la morfología fue excelente en la mayoría de los casos (80,7%). La citomorfolología fue óptima en el 18% y subóptima en el 1.3% de los casos. Los frotis secados al aire y rehidratados mostraron una excelente conservación morfológica en 67%, seguidos de 29.9% de conservación óptima y 2.8% de conservación subóptima. Los autores concluyen que la rehidratación, seguida de la fijación de frotis secados al aire, es una técnica de fijación simple, factible, aplicable y confiable que es comparable a la técnica convencional húmeda y se puede aplicar para la evaluación de forma rutinaria.

Renshaw,¹⁵ Comparó las tasas de un año de adecuación, número de células, y las tasas de atipia para la fijación con spray dividido y la inmersión en solución húmeda. Las tasas de adecuación aumentaron del 71.9% (289/402) para la inmersión completa al 78.1% (332/425) con fijación por rociado de la mitad de las láminas ($p = 0,02$). Los extendidos fijados por spray tenían un promedio de ± 49.7 o ± 47.5 (DS) células en comparación con sus extendidas sumergidas apareadas, con ± 25.4 o ± 36.8 células (96% más de células para la fijación por spray; $p < 0.001$). De los 402 casos de inmersión, 10 (2.5%) fueron diagnosticados como atípicos relacionados con artefactos de preparación en comparación con 14 (3.3%) de los casos con preparación dividida ($p = 0.48$). En conclusión, la fijación por spray da como resultado un 96% más de células foliculares en los aspirados de tiroides escasos que en la fijación por inmersión, y un

aumento significativo en los aspirados adecuados sin un aumento significativo en la tasa de atipia relacionada con la preparación.

Shamsi et al.⁹ Compararon dos métodos de fijación para el frotis de Papanicolaou con solución de Carnoy y alcohol etílico al 96%. Realizaron un estudio a doble-ciego, aleatorizados donde se prepararon dos muestras a partir de células cervicales con citología vaginal convencional incluso de pacientes con abundante sangrado. Una muestra se fijó en alcohol etílico al 96% y otra muestra se fijó en la solución de Carnoy. Analizaron 450 extendidos de los cuales 410 fueron seleccionadas para el estudio. El estudio de la adecuación celular, el diagnóstico de células escamosas y células glandulares fue mejor en los portaobjetos fijados con Carnoy. La contaminación sanguínea de los portaobjetos se redujo en los portaobjetos fijados con Carnoy (13.85% frente al 49.51%), y la translucencia se incrementó en estos extendidos fijados con Carnoy. El diagnóstico de células inflamatorias y microorganismos patógenos aumentó en los extendidos fijados con Carnoy, pero no se observaron diferencias en el diagnóstico de anomalías de células epiteliales y de células glandulares. Concluyen que la solución de Carnoy se puede usar como un fijador eficaz en frotis cervical incluso con sangre dentro de las pruebas de Papanicolaou convencionales.

Weidmann et al.¹⁶ En noventa Trabajos recientes han demostrado que el sistema de fijación CytoRich Red es eficaz para lisar los glóbulos rojos y reducir el background en muestras de líquido con sangre. Por ello los

autores evaluaron si el CytoRich Red puede lisar los glóbulos rojos en pruebas de Papanicolau recién preparadas y en frotis de aspiración con aguja fina. Prepararon frotis pareados en 20 aspiraciones con aguja fina con sangre. Una lámina se colocó inicialmente en CytoRich Red durante 30 segundos, se eliminó y luego se fijó en alcohol al 95%. La otra lamina se colocó directamente en alcohol al 95%. Se evaluaron diez pruebas de Papanicolaou emparejadas, una fijada con un fijador comercial y otra inmersa en una solución de CytoRich Red. Todos los extendidos se colorearon con Papanicolaou. Analizaron la cantidad de glóbulos rojos, background, y tinción nuclear y citoplasmática. En el 100% de todos los frotis que utilizaron CytoRich Red, los glóbulos rojos se redujeron significativamente sin obstaculizar la coloración. No se observó una pérdida significativa de células de los extendidos enviados en la solución CytoRich Red. Concluyen que el fijador CytoRich Red puede ser eficaz para reducir los glóbulos rojos y background en extendidos recién hechos.

Kumarasinghe et al.¹⁷ El noventa y cinco por ciento (95%) de etanol es el fijador citológico estándar usado en muchos laboratorios. El etanol disponible comercialmente es caro y no está disponible de forma gratuita en algunas instituciones. También se sabe que el metanol, un deshidratante tisular, es un fijador citológico. Sin embargo, su eficacia no ha sido evaluada o documentada en la literatura, por ello los autores evaluaron la eficacia del metanol como fijador celular. Ciento ocho biopsias consecutivas de aspiración con aguja fina (FNAB) de tiroides realizadas en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina

de Colombo se incluyeron en un estudio para evaluar la eficacia del metanol como un fijador citológico. El material aspirado se frotó en al menos 2 portaobjetos, uno se fijó en etanol y el otro en metanol, y se colorearon con hematoxilina y eosina (H&E). Los dos frotis se evaluaron por separado para la conservación de coloides y células (núcleos y citoplasma), según lo determinado por la calidad de la tinción con la tinción H&E. Se dio una puntuación para cada frotis y las puntuaciones finales para etanol y metanol se compararon estadísticamente. Se calcularon las tasas de evaporación para etanol y metanol. La puntuación total para la conservación del coloide fue de 294/300 (98%) para el metanol y de 291/300 (97%) para el etanol ($p = 0.40$). La puntuación total para la conservación de las células (nuclear y citoplásmica) fue de 276/279 (98.9%) para el metanol y de 274/279 (98.2%) para el etanol ($p = 0.70$). Las tasas de evaporación por 100 ml cuando las botellas utilizadas para la fijación se mantuvieron cerradas y abiertas cada 24 horas fueron 1 y 37 para el metanol y 0 y 17 para el etanol. Concluyen que el metanol es tan efectivo como el etanol para la fijación de los frotis y, aun, más barato.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Durante el tiempo de realización el estudio no se encontraron antecedentes nacionales que evalúen al destilado de pisco como fijador citológico en muestras cervicales. Se ha verificado en bases de datos locales como Scielo, Liliacs y ALICIA Concytec.

2.2. Base teórica

2.2.1. Lesiones cervicales

Son anormalidades epiteliales que se desarrollan en el cervix generalmente no invasivas. Suelen ser dos: las lesiones de bajo grado (LSIL) y de alto grado (HSIL). El Papiloma Virus Humano (VPH) es el responsable de estas lesiones y los cambios diferenciales entre ambas categorías que son evidenciadas en la citología.¹⁸

2.2.2. Lesión Intraepitelial de Bajo Grado (LSIL)

Se designan a los cambios celulares denominados con gran variabilidad “efecto citopático por HPV “(coilocitosis)”, “displasia leve” o “CIN 1”. Los criterios de LSIL son las células presentan un tamaño general grande y citoplasma “maduro”, bastante abundante y bien definido; se produce un agrandamiento nuclear que supera el triple del tamaño del área del núcleo de una célula intermedia normal, genera un leve aumento de la relación Núcleo y Citoplasma (N:C). Se observan grados variables de hiper cromasia nuclear acompañados de variabilidad de tamaño, número y morfología nucleares. Es común observar binucleación y multinucleación, la cromatina suele ser de distribución uniforme granular; otra posibilidad es que la cromatina se observe condensada o densamente opaca.

Los nucléolos suelen estar ausentes o ser poco visibles si están presentes. El contorno de la membrana nuclear a menudo es algo irregular, pero puede ser liso. Las células tienen bordes citoplásmicos bien definidos. Los halos perinucleares (“coilocitosis”), que se descomponen de una zona perinuclear clara bien delimitada y un borde periférico de

citoplasma densamente teñido, es una característica propia pero no indispensable en lesiones de bajo grado; otra posibilidad es que el citoplasma sea denso y eosinófilo (queratinizado).¹⁹

2.2.3. Lesión Intraepitelial de Alto grado (HSIL)

Se designan a la displasia moderada, la displasia severa y el carcinoma in situ (CIN 2 y 3).

Los criterios citológicos son: los cambios citológicos afectan a células más pequeñas y menos “maduras” que las LSIL. El tamaño general de las células es variable, pueden tener desde un tamaño similar al de las observadas en LSIL hasta el tamaño bastante pequeño de las células de tipo basal. La hiper cromasia nuclear se acompaña de variaciones de tamaño y morfología nuclear. El grado de hipertrofia nuclear es más variable que el que se presenta en LSIL. Algunas células de HSIL pueden tener el mismo grado de agrandamiento nuclear que las de LSIL, pero el área citoplasmática es más pequeña, por lo que aumenta considerablemente la relación N:C. Otras células tienen una relación N:C muy alta, pero el tamaño real del núcleo puede ser considerablemente más pequeño que el de los núcleos de las células en LSIL. La cromatina puede ser laxa o granular en grumos gruesos y de distribución uniforme. El contorno de la membrana nuclear puede ser bastante irregular y suele mostrar indentaciones prominentes o escotaduras. Por lo general, los nucléolos están ausentes, pero a veces están presentes, sobre todo cuando la extensión de HSIL es hacia los espacios de las glándulas endocervicales. El aspecto del citoplasma es variable y puede parecer

“inmaduro”, con aspecto de encaje, claro y transparente o ser densamente metaplásico, pero en ocasiones es maduro y muy queratinizado.²⁰

2.2.4. Etiopatogenia.

Los HPV inducen la formación de lesiones papilomatosas, verrugas: hiperplasia epitelial benigna con acantosis y papilomatosis considerables. El proceso neoplásico asociado con el VPH no está limitado al epitelio escamoso, sino que también está involucrado con el desarrollo de lesiones de células columnares.

La infección por VPH produce cambios importantes en la morfología celular, como: formación de una amplia vacuola perinuclear, el núcleo agrandado, irregular e hipercrómico, binucleaciones, gránulos de queratohialina, anisokariosis, pleomorfismo celular, entre otros. Las células que han sufrido estos cambios citopáticos son conocidas como koilocitos (*Koilos*=hueco) y son consideradas como la “huella digital” del VPH.

No obstante, la infección no siempre produce la formación de la lesión papilar típica, también puede producir lesiones conocidas como condiloma plano, que comparten las mismas características citológicas del condiloma acuminado, pero no se alzan sobre la superficie adyacente, por lo que no son visibles a simple vista.²⁰ En el tracto genital los condyloma acuminatum, son comúnmente múltiples y ocurren con frecuencia en la vulva, extendiéndose hacia el portio vaginalis y el cérvix, produciendo lesiones filiformes pedunculadas que pueden coalescer produciendo masas similares a tumores.

La mayoría de las infecciones por HPV desaparecen después de algunos meses posteriores al diagnóstico. Las lesiones cervicales de bajo grado también tienden a regresar a la normalidad, sin embargo, éstas también pueden progresar hacia lesiones de alto grado con un riesgo absoluto del 15-25% en el transcurso de 4 – 15 años, mientras que las lesiones de alto grado tienen una probabilidad del 50% de progresar a cáncer. En la mayoría de los casos la progresión no es un fenómeno abrupto, sino que transcurre lentamente a través del desarrollo de lesiones pre-malignas y pre-invasivas. La característica de neoplasia intraepitelial cervical incluye la presencia de koilocitos, ausencia de diferenciación citoplásmica o estratificación ordenada y presencia de células multinucleadas, principalmente. Y se consideran dependiendo de las modificaciones de tercios del epitelio cervical.

El carcinoma micro-invasor es el estado inicial del cáncer cervical, en él las células neoplásicas han invadido la membrana basal del epitelio. Cuando las células malignas infiltran el endocérnix y se asocian para formar tumores exofíticos que pueden manifestar una ulceración superficial, se considera que se ha desarrollado un cáncer invasor, mismo que posee la capacidad de extenderse hacia el tejido vaginal, paracervical y parametrial adyacentes, para generar eventualmente metástasis lejanas.²¹ (**Tabla 1**). Clearance del VPH después de una infección aguda, luego de un periodo de incubación de tres semanas a ocho meses aparecen lesiones condilomatosas o aplanadas típicas de la infección con una posterior eliminación del virus por parte del sistema inmune. Infección

latente, que se presenta sin evidencia clínica ni histológica, sólo es posible detectarla con métodos de detección del ADN.

Tabla 1. Tres rutas de infección por HPV en CCU. Historia Natural de la Infección por HPV en CCU.²²⁻²⁴

Historia Natural de la Infección por HPV en CCU (Flores et a., 2003; Goodman, 2000). ^{22,23}		
Clearance del VPH después de una infección aguda, luego de un periodo de incubación de 3 semanas a 8 meses aparecen lesiones condilomatosas o aplanadas típicas de la infección con una posterior eliminación del virus por parte del sistema inmune.	Infección latente, que se presenta sin evidencia clínica ni histológica, sólo es posible detectarla con métodos de detección del ADN. Se desconoce el tiempo y las condiciones para que una lesión latente evolucione a una fase subclínica o clínica, aunque los estados de inmunodeficiencia pueden activarla;	Infección progresiva y activa, hay evolución a lesiones precancerosas (NICI, NIC II, carcinoma in situ), de los cuales un porcentaje muy pequeño regresa a la normalidad, ya que por lo regular se seguido de una lesión invasiva o cancerosa.

2.2.5. Clasificación.

Fue Papanicolaou, en 1928, quien establece la PRIMERA propuesta de nomenclatura de las lesiones cervicales, la cual fue utilizada por muchos años.²⁵

CLASE I: Extendidos normales o ausencia de células atípicas o anormales.

CLASE II: Extendidos con células con alteraciones inflamatorias.

CLASE III: Comprende los extendidos con células atípicas sugestivas, pero no conclusivas de malignidad.

CLASE IV: Citologías fuertemente sugestivas de malignidad.

CLASE V: Citologías conclusivas de malignidad.

Cuando se realizaban grandes pesquisajes se utilizaba:

CLASE I y II: Extendido Negativo.

CLASE III: Extendido Sospechoso.

CLASE IV y V: Extendido Positivo.

Posteriormente, Papanicolaou, gracias al desarrollo de la Citología y al uso de las biopsias, introduce los términos de Displasia y Discariosis al observarse cambios menos severos y que se definen como: “Todo epitelio escamoso situado sobre la superficie o en las glándulas, que muestra alteraciones en la diferenciación sin alcanzar el grado de perturbación que caracteriza al carcinoma in Situ”.²⁶

En 1961 se detalla la terminología de lesiones cervicales mayores como el Carcinoma Invasor, Carcinoma in situ y Displasias (en diversos grados).²⁷ Esta clasificación fue asumida por la Organización Mundial de la Salud, sin embargo, presentaron dos principales problemas: desacuerdo en la lesión Displasia Grave o Carcinoma In situ y segundo que las displasias no requerían tratamiento. Ya en 1968 se cambio el término a Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC).²⁸

Richart en 1966 lanza su clasificación de NIC con tres grados, con diferencia fundamental es cuantitativa y no cualitativa sobre la clasificación anterior.²⁹ Luego Meissels y Elbe, observaron que la mayoría de las infecciones ginecológicas por VPH son subclínicas y que se tiene coilocitosis, disqueratocitos, anofilia, hiper Cromasia y binudeación, por lo que en 1988, el Instituto Nacional del Cáncer de los EE.UU. convocó un seminario para proponer un nuevo esquema de presentación de los resultados de la citología cervical dando paso al sistema Bethesda.

Este sistema ha continuado hacia el 2015 y la nomenclatura incluye 6 categorías: insatisfactoria y hallazgos benignos, anormalidades indeterminadas, lesiones intraepiteliales de bajo y alto grado, carcinomas, y lesiones glandulares.³⁰

2.2.6. Profilaxis

2.2.6.1. Prevención Primaria

Como la infección por VPH está vinculada con CCU, esta etapa de prevención se centra en prevenir su contagio. También los métodos de barrera pueden reducir la frecuencia de contagio, mientras que el cese del consumo de tabaco y las modificaciones de estilo de vida con ingesta de carotenos o vitaminas A y C, también pueden ser favorables.

- Vacunas tradicionales o profilácticas de virus neutralizados.³¹
- Vacunas terapéuticas basadas en péptidos que eliminan la infección existente al intentar controlar el crecimiento de células.³²

Existe la vacuna VPH4 (Gardasil) y VPH2 (Cervarix) aprobadas para la prevención de VPH 16 Y 18, los principales agentes de oncología cervical. La primera protege contra también de la ocurrencia de verrugas genitales en ambos sexos. La experiencia de vacunación a definido una alta eficacia, que puede potenciarse con otras terapias como la inmuno-modulación.³³ Las experiencias en Vacunación de países de la región, como Chile, Brasil o Argentina, demuestran que la vacuna, bivalente, tetravalente o nonavalente, debe de aplicarse luego de un serio estudio sobre prevalencia de HPV en la población, asimismo, la vacunación debe de extenderse a poblaciones en riesgo, mujeres vírgenes (de distintas edades) y que se beneficia de promoción de la salud mediante eventos concientizadores.³⁴

2.2.6.2. Prevención Secundaria

Como la mayoría de pacientes no previene la infección por VPH y esta es claramente la ITS que más se transmite, se requiere del diagnóstico y manejo adecuado y temprano de las lesiones. Ahí la importancia de las exploraciones ginecológicas y a citologías periódicas. Este último facilita la detección de cambios celulares antes de su progresión. Es necesario un programa de tamiz para ello ya que las lesiones premalignas pueden tratarse efectivamente. Esto porque la enfermedad tiene una alta prevalencia en todo el mundo y un curso subclínico prolongado (de 5 a 10 años). La citología exfoliativa es la medida más adecuada para tal fin, y como se ha demostrado la reducción de 3 a 10 veces en el riesgo de

presentar cáncer cervical frente a pacientes que no participan de un programa.³⁵ Aunque esto puede variar en población con factores de riesgo como inmunodepresión.³⁶

Además, del tamiz citológico bajo la coloración de Papanicolaou, se debe de realizar el testaje de VPH, mediante genotipo, con la finalidad de saber el manejo del paciente y la actitud terapéutica del clínico. Si se desea investigar la prevalencia tipo-específica de VPH, aplicable a estudios epidemiológicos y/o vigilancia virológica, se requieren métodos de alta “sensibilidad analítica”; éstos permiten identificar cada uno de los genotipos de manera independiente y en bajo número de copias (5-50), sin importar la presencia o no de lesiones. La calidad de estos resultados debe estar certificada por controles internacionales (WHO HPV LabNet). Por otro lado, si el objetivo es aplicar las pruebas de HPV en la práctica clínica (seguimiento post-tratamiento, discernimiento de ASCUS, programas de tamizaje para el cáncer cervical, etc.) se requieren métodos de alta “sensibilidad clínica”; éstos deben estar validados de manera de detectar preferentemente infecciones asociadas a una enfermedad relevante. Tanto médicos como aquellos encargados de tomar decisiones en salud pública, deben ser muy cuidadosos cuando seleccionan una técnica a partir de la amplia variedad disponible en el mercado.

Para esto, debe realizarse un análisis costo-beneficio minucioso y responsable considerando el objetivo buscado y la información sobre la validación clínica; sin embargo, el análisis tipo-específico y clínico es requerido tanto para campañas de vacunación, esclarecer resultados de difícil interpretación, conocer la frecuencia virológica y correlacionar

resultados con técnicas más accesibles a todos los centros de salud y atención primaria del mundo.

2.2.6.3. Prevención Terciaria

El tratamiento adecuado de las lesiones pre-invasoras diagnosticadas, así como su derivación a otras áreas para el control de la enfermedad (infectología, evaluación clínica, medidas de prevención, etc.) conforman la prevención terciaria. Esta con un correcto manejo tiene hasta un 100% de curación, siendo el CCU el más prevenible de todos los cánceres.³⁷

La OMS afirma que control de cáncer cervical es posible y depende de una política nacional efectiva, organizada y que incluya y focalice los principales estratos de acción. En esta deben de desarrollar actividades de educación pública y de sensibilización, un correcto tamizaje y diagnóstico, y un seguimiento cuidadoso que permitan manejar los resultados con calidad.³⁸

2.2.7. Diagnóstico

El diagnóstico se realiza indirectamente evidenciando los cambios citológicos e histopatológicos que VPH y las alteraciones oncológicas evidencian en los extendidos cervicales. Para VPH existen pruebas moleculares que faciliten su detección y genotipificación.³⁹

2.2.7.1. Diagnóstico Citológico

La citología con la Papanicolaou es el método más favorecedor.⁴⁰ Se realiza un raspado de la pared cervical, posicionado en laminillas con el

método de frotis), que luego es fijado (con Alcoholes, polietilenglicoles o espray), coloreado (Coloración de Papanicolaou: Coloración nuclear con Hematoxilina de Harris, y Coloración citoplasmática con: Orange G y el colorante policromatófilo EA-50/EA-36), y montadas (Entellan, merkoglass) para su estudio por microscopia (Microscopia de luz a 20,40 y 60x).⁴¹

2.2.7.2. Fijadores celulares

La recolección, fijación y procesamiento adecuados de la muestra son los componentes importantes de la técnica de laboratorio de rutina en citología. A diferencia de la histopatología, la recolección de muestras es muy variable en diferentes muestras corporales en citología. Se utilizan diferentes tipos de fijadores en varias muestras de citología.

2.2.7.2.1. Función de los fijadores

La fijación es la base o el fundamento de la técnica citológica y los resultados de todos los procedimientos posteriores dependen de la selección y el uso correctos del fijador empleado. El proceso de fijación implica una serie compleja de eventos químicos y difiere para los diferentes grupos de sustancias químicas que se encuentran en los tejidos.

La fijación implica preservar los orgánulos celulares y los componentes químicos en una condición idéntica a la existente durante la vida. Dado que este objetivo es imposible, por lo tanto, se aplican métodos para i) prevenir la autólisis, ii) para evitar la

descomposición bacteriana, iii) fortalecer las células contra el daño para los procedimientos posteriores a la fijación como la deshidratación, limpieza, incrustación, etc., y para iv) para facilitar la posterior coloración de frotis exfoliativo.⁴²

2.2.7.2.2. Fijador

Un fijador es una sustancia que conserva *post-mortem*, la forma, la estructura, la relación y la composición química de los tejidos y las células. Los efectos de la fijación se realizan sobre la muerte súbita de los tejidos, pero conserva la estructura de las células y sus componentes inter-relacionados.

Además, la fijación evita la coagulación de proteínas, la difusión de sustancias, el endurecimiento de los tejidos, evita la contracción o hinchazón celular, el cambio del índice de refracción, facilita la acción de los colorantes en la tinción, y evita la autólisis y la putrefacción bacteriana.⁴³

2.2.7.2.3. Clasificación de los fijadores

Se puede dividir los fijadores en Tres grupos principales:⁴¹

A) Fijadores simples:

- Aldehído: Formaldehído, Gluteraldehído, Acroleína, Glioxal
- Agentes oxidantes: Tetróxido de osmio, Tetróxido de potasio, permanganato, dicromato de potasio.
- Agente desnaturalizante o coagulante: Ácido acético, alcohol metílico, alcohol etílico.

- Otros: Cloruro mercuríco, ácido pícrico.

B) Fijador compuesto:

- Fijador microanatómico: 10% de formalina, 10% de solución salina de formol, 10% de formalina tamponada, y 10% de calcio formal
- Compuestos: Líquido Zenker, Líquido de Bouin, Líquido de Genders.

C) Fijador citológico:

- a) Fijador nuclear: Líquido de Carnoy, Líquido de Clarke, formalina de alcohol
- b) Fijador citoplasmático: Líquido de Champy.

Existen otros métodos de fijación como la fijación de vapor, fijación por calor, liofilización, etc.⁴⁴

2.3. Hipótesis

Planteamos la siguiente hipótesis:

2.3.1. Hipótesis general

Hi: El destilado de pisco es comparable al etanol como fijador citológico cervical.

Ho: El destilado de pisco no es comparable al etanol como fijador citológico cervical.

2.4. Variables

2.4.1. Variable independiente: Fijación celular.

2.4.2. Variables comparadas:

- Fijador etanol
- Fijador destilado de Pisco.

2.4.3. Variables dependiente: citología cervical

2.5. Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores
Fijación celular	Etapa conservación celular de los procesos degradativos celulares	Proceso en el que se utilizan agentes químicos para evitar el deterioro celular durante el procesamiento citológico	Fijación convencional con etanol Fijación alternativa con destilado de pisco	Adecuado Fijación Inadecuado Fijación
Fijador etanol	Compuesto químico orgánico que participa en un complejo de eventos químicos que previenen los procesos degradativos	Proceso de fijación celular con el uso de alcohol	-	Adecuado Fijación Inadecuado Fijación
Fijador destilado de Pisco	Compuesto químico orgánico derivado de la destilación de pisco con posible actividad fijadora	Procedimiento alterno de fijación con el uso de destilado alcohólico de pisco post-producción enológica	-	Adecuado Fijación Inadecuado Fijación
Citología cervical	Procesos de análisis celular mediante la coloración de las células a través de la colecta de células descamativas.	Evaluación microscópica de células coloreadas con la tinción de Papanicolaou.	Sin cambios Cambios benignos	Negativo para lesión intraepitelial Metaplasia esamosa Lesión intraepitelial de bajo grado Lesión intraepitelial de alto grado

CAPÍTULO III:

DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Tipo de investigación

Conforme los objetivos planteados este estudio reúnen las características de una investigación de tipo cuantitativo, prospectivo de corte transversal. Además, tendrá un diseño descriptivo comparativo, enmarcado en los estudios de rendimiento diagnóstico. El enfoque de la investigación será cuantitativo.

3.2. Ámbito de Investigación

La investigación se desarrollará en el Policlínico ROAL, un centro de atención primaria de la salud con más de 15 años de atención en Lima Norte. El ámbito de desarrollo involucra la Citopatología y la utilización de recursos naturales nacionales para la validación e innovación de coloraciones celulares enmarcados en las prioridades de investigación del Perú.

3.3. Población y muestra

3.3.1 Población

La población de estudio que compone el universo de la investigación será el total de muestra de pacientes atendidas en el área de ginecología del Policlínico ROAL durante el periodo de estudio de mayo a julio de 2019.

3.3.2. Muestra

Debido a que la población es limitada, la muestra la conformarán 200 las muestras de pacientes atendidas en el área de ginecología del policlínico ROAL durante el periodo de estudio que cumplan con los siguientes criterio Inclusión y exclusión definidos previamente:

3.3.2.1. Criterios de Inclusión

1. Muestra de pacientes mayores de 18 años.
2. Muestras cervicales correctamente colectadas con el cytobrush.
3. Muestras fijadas de inmediato bajo el Procedimientos Operacional Estandarizado de la institución.
4. Muestra de pacientes sin contaminación, sin sangrado.

3.3.2.2. Criterios de exclusión

1. Muestra de pacientes que menores de 18 años.
2. Muestras cervicales incorrectamente colectadas con el cytobrush o con otro dispositivo.
3. Muestras no fijadas, fijadas con tiempos deficientes o fijados con métodos fuera de los Procedimientos Operacional Estandarizado de la institución.
4. Muestra de pacientes contaminadas, con abundante sangrado.

3.3.2.3. Muestreo: El tipo de muestreo será no probabilístico por conveniencia

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Fase Pre-Analítica

Todas las participantes firmaran un consentimiento informado (**Anexo 1**).

Durante la etapa pre analítica, la colección muestra se llevará a cabo conforme las recomendaciones de la guía nacional para citología cervical.⁴⁴ Conforme estas recomendaciones se colectarán las muestras con citocepillo o cytobrush (BD Cytobrush R) según indicaciones del fabricante, que indica girar el citocepillos dos veces y extender en horizontal la muestra inmediatamente colectada la muestra. No se utilizará espátula tipo Ayre y/o hisopo de algodón.

La fijación será directa y se realizará inmediatamente después del término de la toma de muestra. Para ello se verterá 30 ml de alcohol (etanol de 70°) en un Coplin de vidrio, y 30 ml de Destilado de Pisco (procedente de la vinícola de la Universidad Privada San Juan Bautista). Estos se mantendrán con tapa de vidrio cerrada a fin de evitar la evaporación de las soluciones. La fijación se realizará individualmente cuando sea posible y en grupo de 5 láminas portaobjetos como máximo por vez de procesamiento. La duración de la fijación será de 10 minutos, como se ha indicado previamente.⁴⁵ No se utilizará licor de Hoffman y polietilenglicoles (laca en espray) como parte de la comparación de la fijación.

Las láminas fijadas estarán sujetas de un clip con un papel que informe de la procedencia de la muestra, mediante código estandarizado del policlínico.

Estas en forma conjunta, serán transportadas en sobres de papel dentro de bolsas de plástico negras con sus solicitudes autorizadas por el

ginecólogo para el examen de Papanicolaou al Policlínico ROAL, donde se procederá con la parte analítica del estudio.

Fase Analítica

La recepción de los especímenes y de las solicitudes del examen se realizará en coordinación con el personal del área de Citología del Servicio de Patología del Policlínico ROAL.

La preparación analítica se realizará en 3 procesos: codificación interna (sobre las láminas no esmerilada y esmerilada con lápiz punta de diamante y con lápiz de grafito, respectivamente), codificación de la hoja de conducción del examen cervicouterino para Papanicolaou (sellado con número de registro y de recibido en conformidad) y adquisición de datos (relación de los datos de la muestra con el centro de datos).⁴⁶

Durante la fase analítica se prepararán todos los frotis sumergiéndolos en alcohol de 96° durante 10 min a temperatura ambiente o en alcohol de 96° a 50 °C por 10 min, con la finalidad de eliminar el revestimiento con polietilenglicoles (laca en spray o soluciones acuosas de uso frecuente), incluso de varias semanas de fijación. Se realizará la coloración de Papanicolaou empleando la modificación prolongada de Papanicolaou en cubetas de tinción modificadas de Schifferdecker. El procesamiento por corrida será de 60 láminas coloreadas en cestillos portaobjetos de distribución comercial; en todo el proceso de realizarán evaluaciones de la calidad macroscópica y microscópica para el mapeo de interferentes. El preparado se montará en medio anhidro Entellan® (Merck, Darmstadt, Alemania) evaluando el índice de goteo del medio, la cantidad de llenado

y la difluencia del medio sobre el portaobjetos al recubrirla con la lámina cubreobjetos de 22 × 60 mm en posición horizontal (Marienfeld, Lauda-Königshofen, Alemania).

Interpretación citológica

Esta será realizada conforme los lineamientos de la guía Bethesda 2014.

Se considerarán positivos los registros que resultaron con «anormalidades de células epiteliales escamosas o glandulares» y otras atipias a la microscopia, luego de su evaluación por citotecnólogos y anatomo-patólogos para su posterior digitalización en MS-Excel 2013 (Redmond, EE. UU.), donde se tabularon con las variables codificadas como ASCUS, ASC-H ---células escamosas atípicas de alto grado de malignidad---, AGUS, LSIL ---lesión intraepitelial de bajo grado---, HPV --virus del papiloma humano---, DL ---displasia leve---, HSIL ---lesión intraepitelial de alto grado---, DM ---displasia moderada---, DS ---displasia severa---, CIS ---carcinoma in situ---, CARCINOMA ESC ---carcinoma escamoso---, CARCINOMA GLAND ---carcinoma glandular---, ADEN ---adenocarcinoma---, NILM ---negativo para lesión intraepitelial o malignidad--- y MI muestra inadecuada.⁴⁷

3.5. Plan de procesamiento y análisis de datos

3.5.1. Lectura de extendidos:

La lectura de extendidos incluirá el análisis de calidad de coloración y fijación bajo el Índice de calidad de Tinción (ICT) que será utilizada por cada uno de los lectores expertos en citopatología. Esta lectura se

describirá en una Ficha de Colección de datos que constituye el instrumento de recolección de datos del estudio (**ANEXO 2**). Esta ficha ha sido validada previamente por expertos (**ANEXO 3**). Los lectores de las láminas a doble ciego evaluarán los extendidos posteriores a su lectura e interpretación en el HOANDOMANI SB. Los lectores están conformados por un patólogo clínico con más de 10 años de experiencia y por citotecnólogos especialistas en el tema (con 10 años de experiencia). Se realizará conforme al cronograma la lectura programada de los extendidos en el POLICLINICO ROAL - LABORATORIOS SAC.

3.5.2. Duración del destilado de pisco:

Se evaluará su duración conforme la disminución en la cantidad inicial referida y medida al inicio del estudio conforme señala Leite et al (2018).¹² Además, el rendimiento se irá evaluando en los resultados citológicos evaluados por los expertos. Las características físicas del destilado se evaluarán por observación directa.

3.5.3. Análisis estadístico de datos

Todos los datos del ICT se codificarán hacia la base de datos en IBM SPSS v21.0 (Armonk, USA) para Windows. Para ajustar la variabilidad interobservacional se utilizará la prueba de Pearson. El rendimiento del destilado como fijador será analizado mediante las pruebas diagnósticas y la curva ROC. La concordancia del destilado y la fijación normal con etanol se evaluará con la prueba de concordancia no paramétrica de Kappa de Cohen y Kappa pesada considerando un valor de $p < 0.05$ y un intervalo de

confianza de 95% como significativo. La construcción de tablas y gráficos se realizará en IBM SPSS v21.0 MS-Excel y CmapTools v.2.0 (Florida Institute for Human & Machine Cognition, Ocala, FL, USA) para Windows.

3.6. Aspectos éticos

Los aspectos éticos en la investigación están garantizados por la confiabilidad y el resguardo que tendrá el investigador sobre la información e identificación de los pacientes donantes de las muestras obtenidas, la cual se mantiene en anonimato y solo se usara para esta investigación. Este estudio cumple con lineamientos internacionales de resguardo de información de pacientes. Este estudio cumple con la autorización de los Jefes de Departamentos y Servicios involucrados en el estudio, y por el Comité de Ética Institucional (**ANEXO 4**).

CAPÍTULO IV:
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

Se analizaron durante el estudio 200 láminas a doble ciego procedente de cérvix de pacientes aparentemente sanas. La evaluación de los jurados evaluadores se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Valoración del Índice de Calidad de Tinción del fijador en base a destilado de pisco frente a fijador etanolico

Parámetros	Jurados			Promedio	p value
	Nº1	Nº2	Nº3		
Background (Fondo)	0.89	0.91	0.89	0.90	0.808
Panorama general de la tinción	0.92	0.90	0.94	0.92	0.304
Morfología celular	0.95	0.91	0.89	0.92	0.077
Características nucleares*	0.98	0.94	0.95	0.96	0.092
Continuidad de membranas	0.94	0.85	0.89	0.89	0.185
TOTAL	0.94	0.90	0.91	0.92	0.122

*Incluye: patrón cromático y membrana nuclear

Fuente: Primaria

Creación propia

Los datos indican un índice alto para todos los parámetros citológicos evaluados. La valoración con menor índice fue el de continuidad de membranas (0.89) y el más alto fue el de características nucleares (0.96).

. El promedio final de calidad de fijación del destilado de pisco como fijador en citología cervical fue de 0.92 (Ideal=1). No se evidenciaron diferencias en la evaluación entre los jurados ($p>0.05$), esto implica una valoración símil interobservacional.

Tabla 2. Concordancia del fijador de destilado de pisco frente a fijador etanólico como fijadores en citología cervical.

		Fijador Etanólico		
		Positivos	Negativo	Total
Destilado de Pisco	Positivo	18	0	18
	Negativo	2	180	182
	Total	20	180	200

Pruebas de concordancia	Valor	IC 95%
Kappa de Cohen	0.94	0.86 a 1.022
Proporción total de concordancia observada	0.99	-
Proporción esperada por azar	0.83	-

Fuente: Primaria

Creación propia

En la Tabla 2 se detalla el nivel de concordancia entre el fijador de destilado de pisco frente al fijador etanólico para citología cervical demostrando un nivel de concordancia muy bueno con un grado de concordancia de $\kappa=0.94$ (IC95% 0.86 a 1.0).

Tabla 3. Rendimiento del fijador de destilado de pisco frente a fijador etanolíco como fijadores en citología cervical.

		Fijador Etanolico		
		Positivos	Negativo	Total
Destilado de Pisco	Positivo	18	0	18
	Negativo	2	180	182
	Total	20	180	200

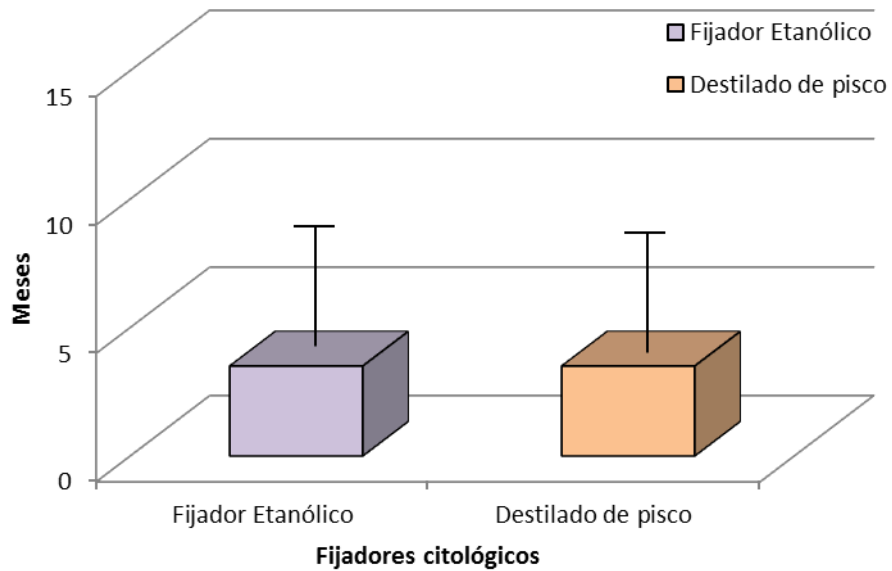
Características diagnóstica	Proporción	IC 95%
Sensibilidad	90.0%	74.8% a 92.3%
Especificidad	100.0%	98.1% a 100.0%
Valor predictivo positivo	100.0%	98.2% a 100.0%
Valor predictivo negativo	98.9%	96.5% a 99.7%
Proporción de falsos positivos	0.0%	0.0% a 1.9%
Proporción de falsos negativos	10.0%	0.3% a 3.4%
Exactitud	99.0%	98.2% a 99.9%

Fuente: Primaria

Creación propia

El destilado de pisco como fijador citológico tuvo un rendimiento óptimo en 200 muestras de citología cervical analizadas en el estudio. Asimismo, los resultados de las medidas de rendimiento establecieron una sensibilidad diagnóstica de 90% (IC95% 74.8 a 92.3), una especificidad diagnóstica de 100.0% (IC95% 98.1 a 100), un valor predictivo positivo de 100% (IC95% 98.2 a 100), un valor predictivo negativo de 98.9% (IC95% 96.5 a 100), proporción de falsos negativos de 10% (IC95% 0.3 a 3.4), y proporción de falsos positivos de 0% (IC95% 0.0 a 1.9) (Tabla 3).

Figura 1. Tiempo de duración del destilado de pisco como fijador en citología cervical.

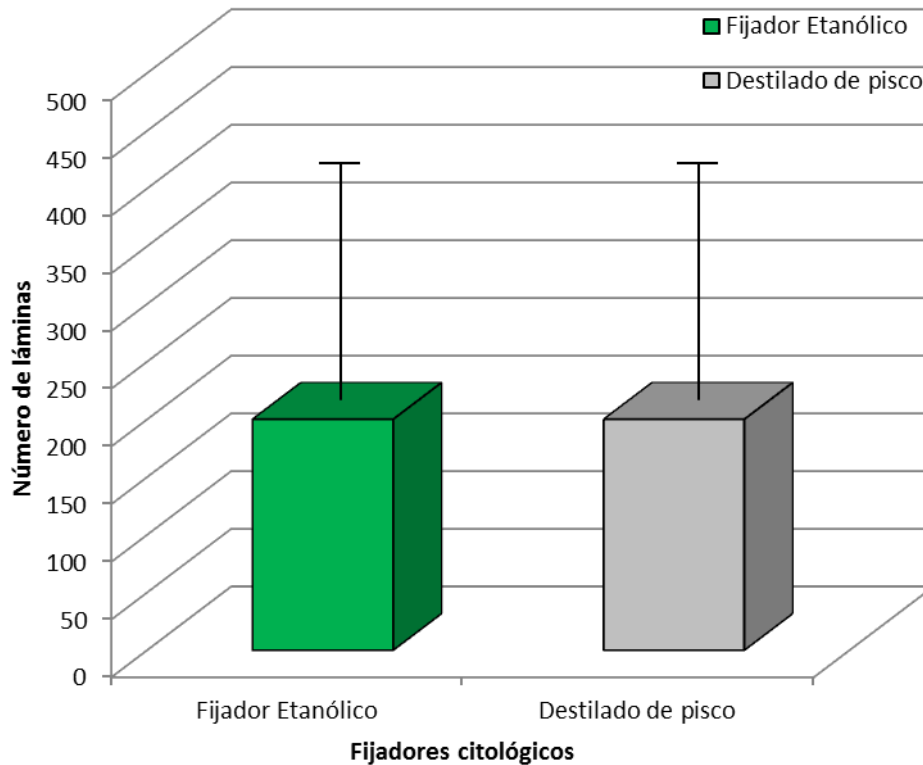


Fuente: Primaria

Creación propia

En la Figura 1 se muestra el tiempo de duración de ambos fijadores. Se han considerado la duración completa de ambos fijadores ya que durante el periodo de estudio ambos mantuvieron sus características fijadoras sin encontrarse cambios estructurales (en los elementos nucleares, citoplasmáticas, en el contenido del background de los extendidos y en el resto de elementos presentes) en las evaluaciones por los jurados (para el grupo de láminas fijadas con pisco y para el grupo fijado con alcohol etílico. A partir de este tiempo de uso se entiendo la posibilidad de eso de hasta el doble de tiempo

Figura 2. Cantidad de láminas fijadas con el destilado de pisco como fijador en citología cervical frente al fijador etanólico.

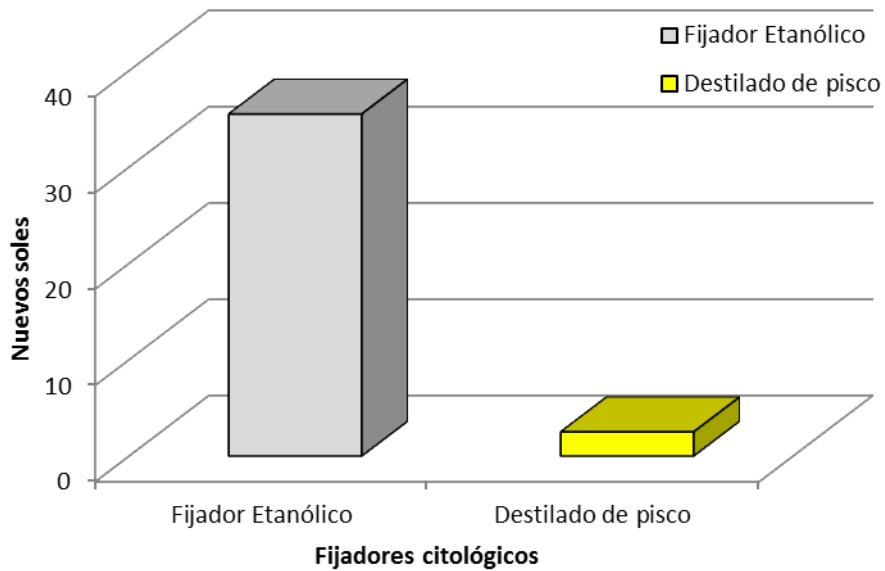


Fuente: Primaria

Creación propia

En la Figura 2 se muestra el tiempo de duración de ambos fijadores estimado en la cantidad de láminas coloreadas durante el tiempo en estudio. En ambos casos se colorearon y fijaron 200 extendidos cervicales sin evidenciar diferencias entre ambos métodos. Se estima su posibilidad de uso en más de la mitad de muestras fijadas durante el tiempo en estudio.

Figura 3. Costos de duración del destilado de pisco como fijador en citología cervical frente al fijador etanólico.



Fuente: Primaria

Creación propia

En la Figura 3 se muestra el costo del destilado de pisco respecto al etanol como fijador en citología cervical. Se evidenciaron 14 veces menos costo para el fijador de pisco frente al otro método, estos costos son estimados en base a la compra unitaria de ambos productos y su uso en simultaneo para la fijación, y posterior lectura de extendidos cervicales.

4.2 Discusión

Este estudio tuvo como objetivo comparar el etanol frente al destilado de pisco como fijador citológico cervical en Lima, Perú, demostrando que el fijador a base de pisco presenta un alto nivel de concordancia y alto rendimiento con el fijador estándar en la coloración de Papanicolaou. Asimismo, se evidenció una calidad óptima de la fijación con destilado de pisco, bajo costo y una duración comparable con el fijador etanólico.

Dentro de los procesos pre analíticos la fijación constituye el proceso final de esta etapa que representa una de las fundamentales para el éxito de la prueba de Papanicolaou y a su vez es la prueba que más errores presenta⁴⁸. La calidad de coloración y por tanto la correcta interpretación en la prueba de Papanicolaou dependen inicialmente de la fijación, es por ello que esta debe de poseer alto rendimiento para presentar el contenido celular hasta su procesamiento analítico, y no entrar prontamente en los procesos degradativos celulares.

Existen diferentes fijadores con diferente grado de rendimiento, pero con el objetivo de preservar y ser misible con los siguientes pasos del proceso de coloración⁴⁰. En este estudio determinamos que el destilado de Pisco es comparable con el fijador basado en etanol, que es el más usado y se considera dentro de los protocolos de Papanicolaou hasta las modificaciones actuales de la técnica.^{4,6,19,21,49} La calidad estimada en la fijación con destilado de pisco se ha basado en los parámetros citomorfológicos valorados por tres jurados a doble ciego (Tabla 1), esta comparación indica que componentes celulares han tenido un ICT > 0.89, mostrando una alta calidad. Por su parte los componentes de fondo han

demostrado también poseer altos índices de tinción que indican una correcta fijación (valor global del ICT=0.92).

Estos valores pueden ser comprables con procesos de fijación con etanol en la coloración prolongada de Papanicolaou⁴⁹ de **Moya-Salazar y Rojas-Zumaran** que tuvo un ICT=0.94, también con la coloración Cytocolor⁶ que presento en su estudio en 19 mil muestras un ICT=0.87, y con la coloración ecológica de Papanicolaou Eco-Pap⁴, cuyo ICT fue de 0.94 siendo el ideal 1 para todos los casos. Todas estas coloraciones^{4,7,49} en general coinciden con los valores determinados en el presente estudio.

Por otra parte, el estudio de **Kapse et al.**¹¹ donde se compararon características citomorfológicas en 247 frotis con C-PAPS y RADPS, el 2,4% de RADPS y el 7,3% de C-PAPS se informaron como insatisfactorios. Por otro lado, el estudio de **Leite et al.**¹² comparó CellPreserv® con PreservCyt® e la detección de VPH y en la prueba de Papanicolaou en base líquida en 725 mujeres demostrando 0,33 y 0,32% de los casos fueron no satisfactorios para PreservCyt® y CellPreserv®, respectivamente. En el presente estudio en 200 muestras ninguno fue reportado como insatisfactorio. Esto indica la nula acción del fijador como interferente en la calidad de los extendidos, sin embargo esto podría variar ya que el sistema de recolección de muestras y el tipo de muestras podrían generar resultados insatisfactorios como previamente se ha visto.⁴⁰

El estudio de **Kapse et al.**¹¹ también halló con el método C-PAPS y la fijación de secado al aire con rehidratación citólisis y los artefactos de en 2% y un 4% en RADPS; asimismo, el borde celular, el borde nuclear y la

cromatina de células escamosas y endocervicales se apreciaron mejor en RADPS en comparación con C-PAPS. El estudio de **Rupinder et al.**¹⁰ también comparó la técnica de rehidratación de extendidos secados al aire frente a como un método fijación en húmedo con etanol en 461 frotis cervical. La conservación de la morfología fue excelente en el 80,7% de casos en la fijación con alcohol, mientras que los frotis secados al aire y rehidratados mostraron una excelente conservación morfológica en 67%, seguidos de 29.9% de conservación óptima y 2.8% de conservación subóptima. Ambos estudios precedentes a doble ciego mostraron que la rehidratación y la fijación al aire mostraron limitaciones en la conservación de muestras cervicales. En el presente estudio no se observaron cambio celulares productos de la desecación, esto se podría explicar a que el nivel de alcohol contenido en el destilado de pisco logro preservar las celular, evitando los procesos de degradación y mejorando la conservación mejor los extendidos.

El fijador CellPreserv® demostró frente al PreservCyt® una concordancia de 99.3% entre ambos en 703 muestras cervicales.¹² Estos resultados concuerdan y son ligeramente superiores a la muy buena concordancia del fijador destilado de pisco frente al fijador etanólico en citología cervical valorados en este estudio. **Pandiar et al.**¹³ en su estudio para evaluar la eficacia de dos edulcorantes naturales como cito-fijadores, demostraron en 25 muestras células de la mucosa oral voluntarios sanos que fijadores en base a estos compuestos fueron equivalentes al etanol y, por lo tanto, pueden usarse como fijadores alternativos para los frotis orales. Otro estudio que evaluó la capacidad de fijación de soluciones orgánicas fue el

de **Singh et al.**¹⁴, donde analizaron la eficacia de los frotis citológicos fijados en etanol y 20% de miel sin procesar en 30 muestras orales demostrando que 90% de los frotis fijados con etanol se fijaron adecuadamente en comparación con los frotis fijados con miel, que fueron adecuados en 80%. En concordancia con estos preparados a partir de caña, en el presente estudio se demostró una muy buena concordancia cuando se comparó el destilado de pisco con la solución etanólico como fijadores de extendidos cervicales. Asimismo, la fijación con destilado de pisco mostro una excelente calidad (ICT alto) y valores de rendimiento superiores a estudios previos.^{10,13,14}

Además de la fijación en húmedo con alcohol existe un amplio uso de fijación en aerosol, esta puede ser eficiente pero se han reportado que presenta ciertas limitaciones luego en la coloración y la interpretación celular.⁴⁰ El estudio de **Renshaw**,¹⁵ evidenciaron que con la fijación con spray dividido y la inmersión en solución húmeda tuvieron una tasa de adecuación de 71.9% y un promedio de 96% más de células para la fijación por spray ($p < 0.001$). Es necesario que se evalúen en futuros estudio el rendimiento del destilado de pisco frente a la fijación en spray, ya que existe evidencia a favor y evidencia que señala que el spray tiende a producir más artefactos y por tanto reduce la calidad de los extendidos citológicos cwervicales.⁴⁰

Existen también estudios que compararon soluciones húmedas en la fijación de láminas. El estudio de **Shamsi et al.**⁹ comparo dos métodos de fijación para el frotis de Papanicolaou con solución de Carnoy y alcohol etílico al 96%. En 410 extendido demostraron que la adecuación celular,

el diagnóstico de células escamosas y células glandulares fueron mejores con Carnoy, incrementando la translucencia y reduciendo la contaminación sanguínea de los portaobjetos se redujo en los portaobjetos fijados con Carnoy (13.85% frente al 49.51%). También el estudio de **Kumarasinghe et al.**¹⁷ evaluó el metanol como fijador de 8 biopsias consecutivas de FNAB de tiroides teniendo una puntuación total para la conservación del coloide 98% para el metanol y de 97% para el etanol ($p = 0.40$). La puntuación total para la conservación de las células (nuclear y citoplásmica) fue de 98.9% para el metanol y de 98.2% para el etanol ($p = 0.70$). Estos estudios demuestran que dentro de los preparados húmedos para la fijación celular existen incluso potenciales medio fijadores distintos al etanol que pueden brindar nuevos beneficios para el laboratorio de citología. Este puede ser el caso del destilado de pisco, que además de su desempeño comparable con este alcohol tiene la ventaja de un costo menor pudiendo ser muy recomendable en laboratorios de atención primaria y en centros con bajo presupuesto.

CAPÍTULO V:

CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIÓN

5.1. Conclusión

Se concluye que:

- Es comparable el fijador con etanol frente al destilado de pisco como fijador citológico cervical.
- La calidad de fijación del destilado de pisco como fijador en citología cervical fue óptimo en comparación con el fijador etanólico.
- Existe un nivel muy bueno y alto grado de concordancia entre el destilado de pisco frente al etanol como fijador en citología cervical.
- El rendimiento del destilado de pisco fue alto demostrando alta sensibilidad y especificidad como fijador en citología cervical.
- El tiempo de duración del destilado de pisco como fijador en citología cervical fue comparable con el fijador etanólico.
- Existe un bajo costo del destilado de pisco respecto al etanol como fijador en citología cervical.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda evaluar el destilado de pisco en el contexto de procesamiento diario de láminas para conocer su desempeño como herramienta de la prueba de Papanicolaou en el tamizaje de cáncer cervical.
- Se realicen evaluaciones más extensas que incluyan otros fijadores para conocer su desempeño frente a otros fijadores de un paso, preparados *in house*, comerciales o de otras marcas.
- Se realicen estudios de comparación del fijador en base de destilado de pisco en otros contenidos citológicos, como citología de tiroides o de mama a fin de conocer su desempeño y sus beneficios.
- Se recomienda pueda compararse el fijador de destilado de pisco con fijadores basados en propanol.
- Se continúen con evaluaciones del destilado de pisco en citología cervical en muestra de pacientes con lesiones preneoplásicas, lesiones indeterminadas o lesiones neoplásicas para entender en este contexto cuan eficiente podría ser este fijador.
- Se evalué el fijador con destilado de pisco en otras coloraciones citológicas o modificaciones de la coloración de Papanicolaou (REAP, Eco-Pap, Fast-Pap, etc) para conocer su rendimiento y beneficios de este fijador.

6. REFERENCIAS

1. McGrew EA. The Role of Exfoliative Cytology in the Diagnosis and Treatment of Malignant Disease. *Postgrad Med J.* 1961; 37(430): 456–467
2. Papanicolaou G. Atlas of exfoliative cytology. Cambridge: Harvard University Press; 1954.
3. Moya-Salazar J, Rojas-Zumaran V. Tendencias en la investigación del Virus de Papiloma Humano en Latinoamérica y en los países de altos ingresos. *Rev Col Obst Gin.* 2017; 68(3):128-134.
4. Rojas-Zumaran VA, Moya-Salazar JJ. From the Cytocolor towards ecological Pap test: Origins. *Patología Rev Latinoam.* 2016; 54(3):66–75.
5. Nayar R, Wilbur DC: The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 3ed 3. Maryland: Springer; 2015.
6. Moya-Salazar J, Rojas-Zumaran V. Validation of the modification of the prolonged Papanicolaou stain for the diagnosis of cervical cancer. *Acta Cytol.* 2016; 60(1):79-84.
7. Moya-Salazar J, Rojas-Zumaran V. Eco-Pap: an ecological Papanicolaou stain for sustainable cervical cancer diagnosis. *Acta Cytol.* 2019;63(1):35-43.
8. Culling CFA. Handbook of Histopathological and Histochemical Techniques, 3 Ed. London: Butterworth, 1974.
9. Rupinder K, Shubra W, Kanwal M. Rehydration of Air-Dried Smears versus Wet Fixation: A Cross-Sectional Study. *Acta Cytol.* 2013;57(4):364-68.
10. Shamsi M1, Abdali K, Montazer NR, Kumar PV, Tabatabaee HR. Comparison of Carnoy's solution and 96% ethyl alcohol fixation in bloody Pap smears. *Acta Cytol.* 2008; 52(2):187-90.
11. Kapse SS, Arakeri SU, Yerranguntla DP. Rehydration of Air-Dried Smears with Normal Saline: An Alternative for Conventional Wet Fixation Method in Cervical Cytological Study. *J Cytol.* 2018 ;35(4):199-203.
12. Leite KRM, Silva T, Naum B, Canavez F, Canavez J, Pimenta R, Reis S, Camara-Lopes LH. Validation of a New Low-Cost, Methanol-Based Fixative for Cervical Cytology and Human Papillomavirus Detection. *Acta Cytol.* 2018;62(5-6):393-396.
13. Pandiar D, Baranwal HC, Kumar S, Ganesan V, Sonkar PK, Chattopadhyay K. Use of jaggery and honey as adjunctive cytological fixatives to ethanol for oral smears. *J Oral Maxillofac Pathol* 2017;21:317

14. Singh A, Hunasgi S, Koneru A, Vanishree M, Ramalu S, Manvikar V. Comparison of honey with ethanol as an oral cytological fixative: A pilot study. *J Cytol.* 2015;32(2):113-7.
15. Renshaw AA. Quantitative Assessment of Spray vs Immersion Fixation for Thyroid Fine-Needle Aspiration Specimens: Table 1. *Am J Clin Pathol.* 2010; 133(5): 796–798.
16. Weidmann J, King LC, Bibbo M. Modification of CytoRich Red fixative system for use on bloody Pap and fine-needle aspiration smears. *Diagn Cytopathol.* 1999; 20(2):95-8.
17. Kumarasinghe MP1, Constantine SR, Hemamali RL. Methanol as an alternative fixative for cytological smears. *Malays J Pathol.* 1997; 19(2):137-40.
18. Cesar LP, Juliana FG. *Citología Ginecológica de Papanicolaou a Bethesda.* Madrid: Editorial Complutense; 2003.
19. Solomon D, Nayar R. *El Sistema Bethesda para informar la citología cervical.* Buenos Aires: Ediciones Albano; 2005.
20. Marruffo. B.L. (2016). Análisis de los factores de riesgo para cáncer de cuello uterino en pacientes atendidas en el consultorio de ginecología del Hospital Central PNP Luis N. Sáenz durante el periodo de enero del 2014 a Agosto del 2015. Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.
21. Alonso P, Lazcano E, Hernández M. *Cáncer Cervicouterino. Diagnóstico, prevención y control.* México D.F: Panamericana; 2000.
22. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2013;; 382(9895):889-899.
23. Flores Y, Bishai D, Lazcano E, Shah K, Lörincz A et al. Improving cervical cancer screening in Mexico: Results from the Morelos HPV study. *SaludPublicaMex* 2003; 45(3): S388-398.
24. Goodman A. Role of routine human papillomavirus subtyping in cervical screening. *Current opinion in Obstetrics and Gynecology* 2000; 12: 11-14.
25. La cruz PC. Nomenclatura de las lesiones cervicales. *Rev Esp Patol.* 2003; 36(1).
26. Torres JR. Lesiones escamosas intraepiteliales cervicales. (L.E.I.C.). *Rev Colomb Obstet Ginecol* 1998; 49 (4) .
27. Alliance for Cervical Cancer Prevention. *Prevention of cervical cancer.* New York: ACCP; 2003.
28. Sellors JW, Sankaranarayanan R. *La colposcopia y el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical: Manual para principiantes.* Madrid: Editorial Salvat; 2003.
29. Richart RM. Cervical Intraepithelial neoplasia. *Obst Gynec Surv.* 1969; 24: 874.

30. National Cancer Institute Workshop. (1989) The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis. *JAMA* 262: 931.
31. Comelison T. Human papillomavirus genotype 16 vaccines for cervical cancer prophylaxis and treatment. *Curr Opin Oncol.* 2000; 12: 466-473.
32. Schiller J. Papillomavirus-like particle vaccines for cervical cancer. *Mol Med Today* 1999; 5: 209-215.
33. Corona CM, Tinoco A, Navarro T, Contreras ML, Cortes RR, Calzado P, et al. Therapeutic vaccination with MVA E2 can eliminate precancerous lesions (CIN 1, CIN 2 and CIN 3) associated with infection by oncogenic human papillomavirus. *Human Gene Ther* 2004; 15(5): 421-431
34. Stanley M. HPV and immunity: natural infection, vaccines and vaccination. *I Encuentro Sudamericano del Virus PapilomaHumano* 2014; 1:12.
35. Seda J, Avellanet Y, Roca FJ, Hernández E, Umpierre SA, Romaguera J. Risk factors for abnormal cervical cytology in pregnant women attending the high-risk obstetrics clinic at the University Hospital in San Juan, Puerto Rico. *P R Health Sci J.* 2011; 30(1):14-7.
36. Rose PG, Bundy BN. Chemoradiation for locally advanced cervical cancer: does it help? *J Clin Oncol.* 2002; (4): 891-3, 2002
37. Solidoro AAS. Cáncer del Cuello Uterino. *Tratamiento Médico del Cáncer* 1983; 135-142.
38. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55: 244–265.
39. Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, Lozano R, Lopez AD, Murray CJ, et al. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: A systematic analysis. *Lancet* 2011;378:1461-1484.
40. Moya-Salazar J, Rojas-Zumaran V, Torres-Martínez R, Rosas-Vargas L. Quality of Papanicolaou test smears in screening for cervical cancer, Lima, Peru. *Rev Esp Patol* 2016; 49(1):7-18.
41. Lin Y, Zhan FB. Geographic variations of racial/ethnic disparities in cervical cancer mortality in Texas. *South Med J.* 2014; 107(5):281-8.
42. Dey P. *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology.* Berlin: Springer; 2018.
43. Wolman M. Problems of Fixation in Cytology, Histology, and Histochemistry. *Int Rev Cytol.* 1995; 4: 79-102.

44. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud (INS). Manual de procedimientos para el diagnóstico en citología cérvico uterina. Serie de normas técnicas N.o 43. Lima: MINSA; 2005.
45. Araya J. Tecnología Médica. Procedimientos para estudios morfohistocitopatológicos. Rev Chil Tecnol Med. 2005;25: 1187---2119.
46. Moya-Salazar J, Rojas-Zumaran V. Post-analytical quality control in cervical exfoliative cytology to Lima, Peru- Rev Esp Patol 2017;50(4):207-217
47. Solomon D, Nayar R. The Bethesda system for reporting cervical cytology. 1th ed. New York: Springer Science; 2001.
48. Meier FA, Zarbo RJ, Varney RC, Bonsal M, Schultz DS, Vrbic CM, et al. Amended reports: Development and validation of a taxonomy of defects. Am J Clin Pathol. 2008;130:238-46.

ANEXOS

Anexo 1

FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha.....

Yo.....identificado con DNI (carné de extranjería o pasaporte para extranjeros) Nºhe sido informado por el Dr. acerca de los estudios y tratamientos que mi tamizaje requiere.

Se me ha informado de los riesgo y beneficios que obtendré del estudio , cuyo procedimiento propuesto consiste en

.....

He realizado las preguntas que consideré oportunas, todas las cuales han sido absueltas y con repuestas que considero suficientes y aceptables.

Por lo tanto, en forma conciente y voluntaria doy mi consentimiento para que se me realice.....

Teniendo pleno conocimiento de los posibles riesgos, complicaciones y beneficios que podrían desprenderse de dicho acto.

.....
Firma del paciente o responsable legal
DNI

.....
Firma del profesional
DNI

.....
Firma de un testigo
DNI

REVOCATORIA (NEGACIÓN)

.....
Firma del paciente o responsable legal
DNI

FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Anexo 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NÚMERO DE FICHA :

FECHA: 18/07/2019

1. DATOS:

Nombre :

Profesión: : () Patólogo () Tecnólogo Médico

Centro de trabajo : () MINSA () EsSalud () Otro

2. PARAMETROS DE EVALUACIÓN

Nº	Parámetros	Valoración							
1	Background (Fondo) Hemorrágico/sucio	<table border="1"><tr><td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td></tr></table> Limpio	0	1	2	3	4	5	6
0	1	2	3	4	5	6			
2	Panorama general de la tinción Malo	<table border="1"><tr><td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td></tr></table> Bueno	0	1	2	3	4	5	6
0	1	2	3	4	5	6			
3	Morfología celular No preservada	<table border="1"><tr><td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td></tr></table> Bien preservada	0	1	2	3	4	5	6
0	1	2	3	4	5	6			
4	Características nucleares Patrón cromático Grueso o grumoso	<table border="1"><tr><td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td></tr></table> Finamente granular	0	1	2	3	4	5	6
0	1	2	3	4	5	6			
	Membrana nuclear Engrosamiento	<table border="1"><tr><td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td></tr></table> Borde irregular	0	1	2	3	4	5	6
0	1	2	3	4	5	6			
5	Continuidad de membranas No preservada	<table border="1"><tr><td>0</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td></tr></table> Bien preservada	0	1	2	3	4	5	6
0	1	2	3	4	5	6			

Anexo 3

ANEXO 3: FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

JUICIO DE EXPERTOS

I. DATOS GENERALES

- 1.1 APELLIDOS Y NOMBRES : Hans Lenin Contreras Pulache
- 1.2 GRADO ACADEMICO : Medico Cirujano, Magister Salud Pública y Gestión
- 1.3 INSTITUCION QUE LABORA : Universidad Norbert Wiener
- 1.4 TITULO DE LA INVESTIGACION : Estudio comparativo entre el etanol y destilado de pisco como fijador citológico cervical
- 1.5 NOMBRE DEL INSTRUMENTO : Índice de Calidad de Tinción

II. ASPECTOS A EVALUAR:

INDICADORES DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO	DE DEL	CRITERIOS CUALITATIVOS CUANTITATIVOS	Deficiente (01 - 09)	Regular (10 - 12)	Bueno (12 - 15)	Muy Bueno (15 - 18)	Excelente (18 - 20)
			01	02	03	04	05
1. CLARIDAD		Esta formulado con lenguaje apropiado					✓
2. OBJETIVIDAD		Esta expresado con conductas observables					✓
3. ACTUALIDAD		Adecuado con el avance de la ciencia y tecnología					✓
4. ORGANIZACIÓN		Existe una organización y lógica					✓
5. SUFICIENCIA		Comprende los aspectos en cantidad y calidad					✓
6. INTENCIONALIDAD		Adecuado para valorar los aspectos de estudio					✓
7. CONSISTENCIA		Basado en el aspecto teórico científico y del tema de estudio					✓
8. COHERENCIA		Entre las variables, dimensiones y variables.					✓
9. METODOLOGIA		La estrategia responde al propósito del estudio					✓
10. CONVENIENCIA		Genera nuevas pautas para la investigación y construcción de teorías				✓	
Sub Total							
Total							49



Mgtr. Hans Contreras Pulache
CMP. 59195

Firma del experto

ANEXO 3: FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION



JUICIO DE EXPERTOS

I. DATOS GENERALES

- 1.1 APELLIDOS Y NOMBRES : Víctor Abraham Rojas Zumaran
- 1.2 GRADO ACADEMICO : Licenciado Tecnólogo Médico
- 1.3 INSTITUCION QUE LABORA :Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé
- 1.4 TITULO DE LA INVESTIGACION : Estudio comparativo entre el etanol y destilado de pisco como fijador citológico cervical
- 1.5 NOMBRE DEL INSTRUMENTO : Índice de Calidad de Tinción

II. ASPECTOS A EVALUAR:

INDICADORES DE EVALUACIÓN DEL INSTRUMENTO	DE DEL	CRITERIOS CUALITATIVOS CUANTITATIVOS	Deficiente (01 - 09)	Regular (10 - 12)	Bueno (12 - 15)	Muy Bueno (15 - 18)	Excelente (18 - 20)
			01	02	03	04	05
1. CLARIDAD		Esta formulado con lenguaje apropiado					✓
2. OBJETIVIDAD		Esta expresado con conductas observables					✓
3. ACTUALIDAD		Adecuado con el avance de la ciencia y tecnología				✓	
4 ORGANIZACIÓN		Existe una organización y lógica				✓	
5. SUFICIENCIA		Comprende los aspectos en cantidad y calidad					✓
6. INTENCIONALIDAD		Adecuado para valorar los aspectos de estudio					✓
7. CONSISTENCIA		Basado en el aspecto teórico científico y del tema de estudio					✓
8. COHERENCIA		Entre las variables, dimensiones y variables.					✓
9. METODOLOGIA		La estrategia responde al propósito del estudio					✓
10. CONVENIENCIA		Genera nuevas pautas para la investigación y construcción de teorías					✓
Sub Total							
Total							18



 LIC. VÍCTOR A. ROJAS ZUMARAN
 Lic. Víctor A. Rojas Zumaran

 Firma del experto

ANEXO 3

FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION

JUICIO DE EXPERTOS

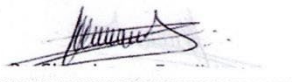
I. DATOS GENERALES

- 1.1 APELLIDOS Y NOMBRES : Lozano Zanelly, Glenn Alberto
 1.2 GRADO ACADEMICO : Doctor en Medicina
 1.3 INSTITUCION QUE LABORA : Universidad Norbert Wiener
 1.4 TITULO DE LA INVESTIGACION : Estudio comparativo entre el etanol y destilado de pisco como fijador citológico cervical
 1.5 NOMBRE DEL INSTRUMENTO : Índice de Calidad de Tinción

II. ASPECTOS A EVALUAR:

INDICADORES EVALUACIÓN INSTRUMENTO	DE DEL	CRITERIOS CUALITATIVOS CUANTITATIVOS	Deficiente (01 - 09)	Regular (10 - 12)	Bueno (12 - 15)	Muy Bueno (15 - 18)	Excelente (18 - 20)
			01	02	03	04	05
1. CLARIDAD	X	Esta formulado con lenguaje apropiado				X	
2. OBJETIVIDAD	X	Esta expresado con conductas observables				X	
3. ACTUALIDAD	X	Adecuado con el avance de la ciencia y tecnología				X	
4. ORGANIZACIÓN		Existe una organización y lógica					X
5. SUFICIENCIA	X	Comprende los aspectos en cantidad y calidad				X	
6. INTENCIONALIDAD	X	Adecuado para valorar los aspectos de estudio				X	
7. CONSISTENCIA	X	Basado en el aspecto teórico científico y del tema de estudio				X	
8. COHERENCIA		Entre las variables, dimensiones y variables.					X
9. METODOLOGIA	X	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. CONVENIENCIA	X	Genera nuevas pautas para la investigación y construcción de teorías				X	
Sub Total						28	15
Total					43		

Promedio de Valoración: 17 (Muy bueno)



Firma del experto

Anexo 4

Sres. (Bachilleres)

Miguel Armando Paz Alvarez

Adita Martínez López

Presente.

Por la presente reciban muestras de mi estima personal, Yo Dr. JOSE LUIS RAYMUNDO FLORES como Director del Policlínico ROAL LABORATORIOS SAC (RUC 20507416056), emito este documento referido al proyecto titulado *"Estudio comparativo entre el destilado de pisco y etanol como fijador citológico cervical"* de los estudiantes bachilleres en Tecnología Médica Sr. Miguel Armando Paz Alvarez y Adita Martínez López, que tiene como objetivo la obtención del título académico de Licenciado en Tecnología Médica en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica en la Universidad Privada Norbert Wiener.

En este documento doy conformidad de que el proyecto se realizara en el Área de Ginecología y Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Policlínico ROAL LABORATORIOS SAC conforme al cronograma establecido. Asimismo, doy fe de que he leído el proyecto de tesis y doy mi conformidad con los métodos y materiales necesarios, siendo que la institución que dirijo brindara todas las facilidades para su desarrollo.

Sin otro en particular, Me despido



Dr. JOSE LUIS RAYMUNDO FLORES
CMP 018374 RNE 011867

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El presente documento da constancia que el Policlínico ROAL LABORATORIOS S.A.C con RUC 20507416056 y Código RENIPRESS 00013329. ha colaborado satisfactoriamente con el proyecto titulado ***“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL ETANOL Y DESTILADO DE PISCO COMO FIJADOR CITOLOGICO CERVICAL”*** realizado por los bachilleres en Tecnología de Médica en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica *Miguel Armando Paz Alvarez DNI 74121935* y *MARTINEZ LOPEZ ADITA CON DNI 44139814* durante el año 2019-2020, bajo la asesoría del Dr. Angello Ascarza Gallegos y el Lic.TM. Jeel Moya Salazar.

Se le ha brindado las facilidades para el desarrollo del proyecto en todas sus etapas que incluyen la preparación de soluciones fijadoras, colección de muestras, fijación y almacenamiento de láminas, y el acceso a los datos para los fines requeridos conforme ha indicado en el proyecto de investigación presentado al Policlínico. Se ha supervisado las actividades respetando los cronogramas establecidos.

Se expide la siguiente constancia para los requerimientos solicitados

Atentamente,

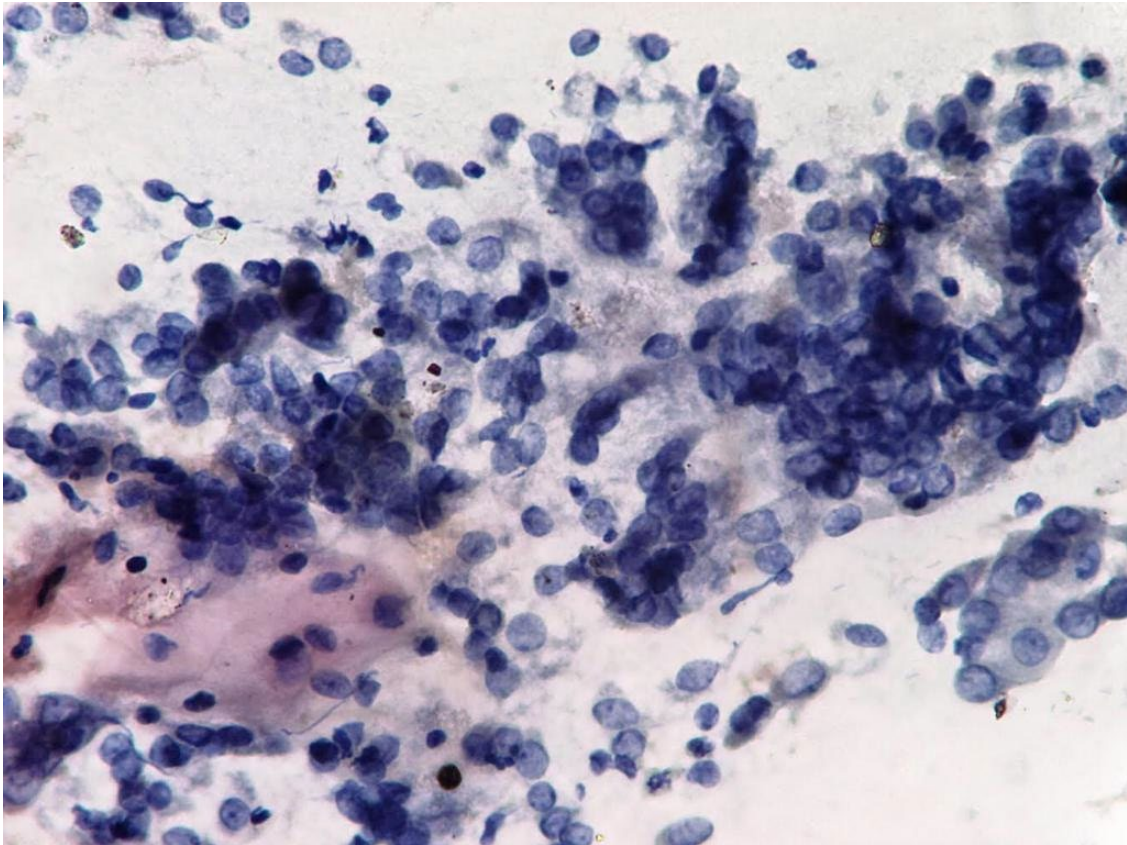


Dr. JOSE LUIS RAYMUNDO FLORES
CMP 018374 RNE 011867

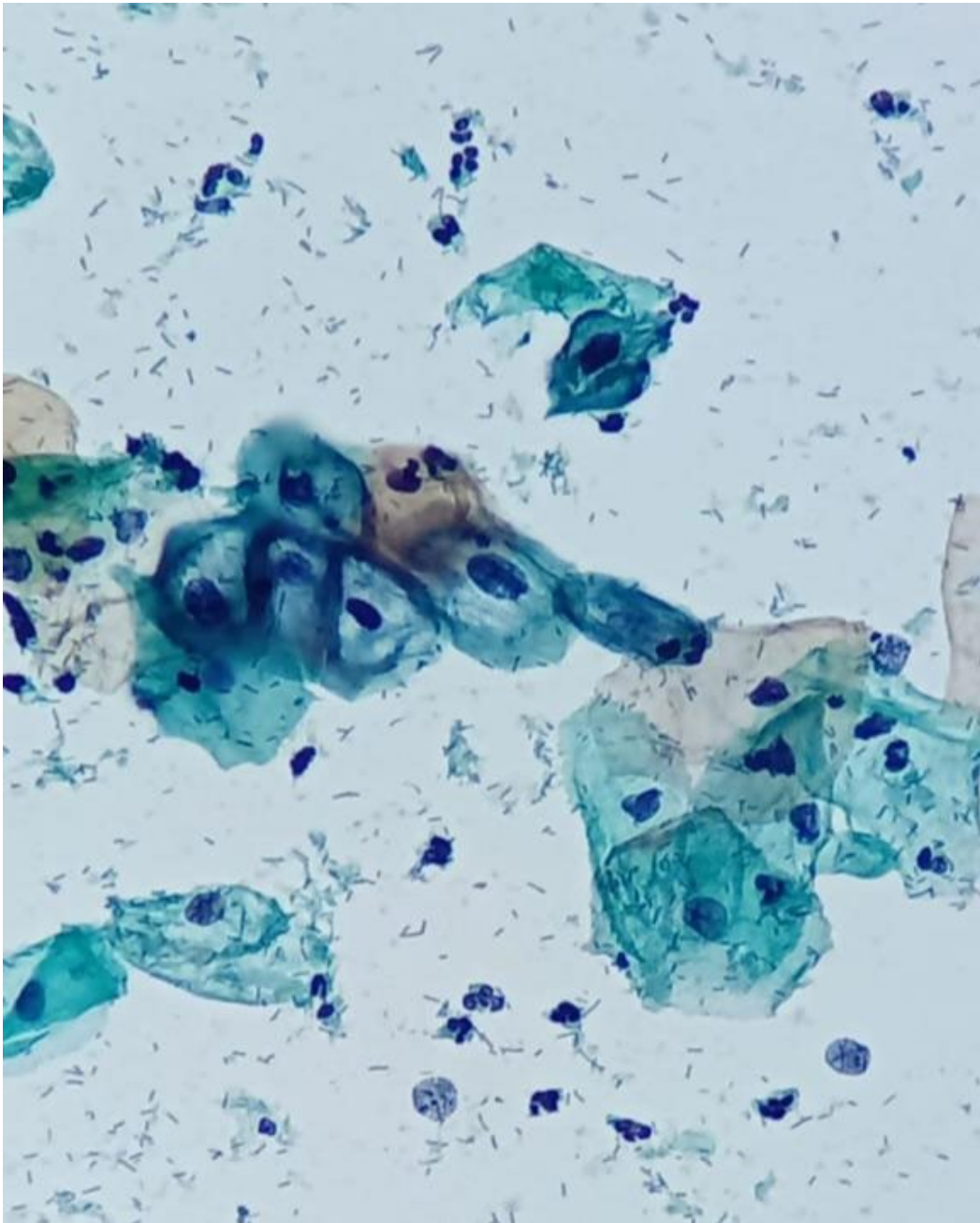
ANEXO

AVIDENCIA DEL ESTUDIO

Lesión cervical del grado indeterminado, fijado con destilado de pisco



Lesión de significado indeterminado, fijación alcohol



Propiedades físicas y químicas del alcohol

1. **Propiedades Químicas** Los alcoholes pueden comportarse como ácidos o bases, esto gracias al efecto inductivo, que no es más que el efecto que ejerce la molécula de -OH como sustituyente sobre los carbonos adyacentes. Gracias a este efecto se establece un dipolo.
2. **Estructura del Alcohol** La estructura del alcohol está relacionada con su acidez. Los alcoholes, según su estructura pueden clasificarse como metanol, el cual presenta un sólo carbono, alcoholes primarios, secundarios y terciarios que presentan dos o más moléculas de carbono.