



Universidad  
Norbert Wiener

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**PROGRAMA ACADÉMICO DE TECNOLOGÍA MÉDICA EN**  
**LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**  
**SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOTECNOLOGÍA**

**Trabajo Académico**

Efectividad del ácido cítrico como desparafinante y aclarante en cortes  
histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina, Hospital Arzobispo Loayza -  
Lima, 2026

**Para optar el Título de**  
Especialista en Histotecnología

**Presentado por:**

**Autora:** Servat Fuentes, Zenia


**Código ORCID:** <https://orcid.org/0009-0009-0132-6874>

**Asesor:** Mg. García Vázquez, Carlos Hugo

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-1085-2664>

**Lima – Perú**

**2026**

	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>	
	<b>CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033</b>	<b>VERSION: 01</b> REVISIÓN: 01

Yo, Zenia Servat Fuentes egresado de la Facultad de Ciencias de la Salud y  Escuela Académica Profesional de Tecnología Médica en Laboratorio Clínico y anatomía patológica /  Escuela de Posgrado de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “EFECTIVIDAD DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO DESPARAFINANTE Y ACLARANTE EN CORTES HISTOLÓGICOS TEÑIDOS CON HEMATOXILINA – EOSINA, HOSPITAL ARZOBISPO LOAYZA - LIMA, 2026”, Asesorado por el docente: Mg. García Vázquez, Carlos Hugo, DNI 09435522, ORCID 0000-0003-1085-2664 tiene un índice de similitud de 15 % con código trn:oid:14912:582774906 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



.....  
Firma de autor  
Zenia Servat Fuentes  
DNI: 72523348



.....  
Firma  
MG. García Vázquez Carlos Hugo  
DNI: 09435522

Lima, 21 de Mayo del 2026

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación a mi familia, a mi hija Zarina y a Pinto por haber sido mi apoyo incondicional a lo largo de la realización de la tesis y también por haber sido un impulso importante para seguir adelante a lo largo de mi vida.

### **AGRADECIMIENTO**

Quiero agradecer a mi familia, a mi hija Zarina y a Pinto por haberme brindado su apoyo incondicional, a mis amistades que siempre me animaban en seguir adelante y a mis docentes por haberme guiado en la elaboración de este trabajo de investigación.

## ÍNDICE

Resumen.....	6
Abstract.....	7
1. EL PROBLEMA .....	8
1.1. Planteamiento del problema .....	8
1.2. Formulación del problema.....	11
1.2.1. Problema general .....	11
1.2.2. Problemas específicos .....	12
1.3. Objetivos de la investigación .....	12
1.3.1. Objetivos generales .....	12
1.3.2. Objetivos específicos .....	12
1.4. Justificación de la investigación.....	13
1.4.1. Teórica .....	13
1.4.2. Metodología .....	15
1.4.3. Practica.....	16
1.5. Delimitaciones de la investigación.....	17
1.5.1. Temporal.....	17
1.5.2. Espacial .....	18
1.5.3. Recursos .....	18
2. MARCO TEORICO .....	19
2.1. Antecedentes .....	19
2.2. Bases teóricas .....	24
2.2.1. Ácido Cítrico .....	24
2.2.2. Láminas histológicas.....	27
2.2.3. Sustituto del xilol: D – LIMONENO .....	31
2.2.4. Carcinoma in situ de mama .....	32
2.3. Definición de términos .....	34
2.4. Formulación de hipótesis.....	35
2.4.1. Hipótesis general.....	35
2.4.2. Hipótesis específicas .....	35
3. METODOLOGIA.....	37
3.1. Método de investigación .....	37
3.2. Enfoque de investigación .....	37

3.3. Tipo de investigación.....	37
3.4. Diseño de investigación.....	37
3.5. Población, muestra y muestro.....	38
3.6. Variables y operacionalización.....	38
3.6.1. Operacionalización de las variables .....	39
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	42
3.7.1. Técnica .....	42
3.7.2. Descripción de instrumentos .....	42
3.7.3. Validación .....	42
3.7.4. Confiabilidad.....	42
3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos .....	43
3.9. Análisis de datos .....	48
3.10. Aspectos éticos .....	49
4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS.....	51
4.1. Cronograma de actividades.....	51
4.2. Presupuesto.....	52
5. REFERENCIAS.....	53
6. ANEXOS .....	59
6.1. Matriz de consistencia .....	54
6.2. Instrumentos de recolección de datos .....	65

## Resumen

La presente investigación busca probar de forma cuasi experimental, el uso idóneo del Ácido Cítrico, como una alternativa de reemplazo del Xilol, ya que este compuesto como se ha observado es altamente tóxico, aparte de ser costoso, situación que hace necesario que se busquen alternativas que puedan tener el mismo efecto que el componente usado. Teniendo como objetivo determinar la efectividad del ácido cítrico como desparafinante y aclarante en cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina evaluadas en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza – Lima del 2026, para lo cual se plantea un estudio con método hipotético – deductivo, de enfoque cuantitativo, aplicada, de diseño experimental. La población está conformada por cortes histológicos de distintos tejidos coloreados con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza – Lima en el año 2026. Y para el análisis comparativo se hará uso una prueba paramétricas o no paramétricas para dos muestras independientes como U de Mann Whitney o T de Student, considerará una diferencia significativa cuando el p fue menor de 0.05.

Palabras claves: **efectividad del Ácido cítrico, Cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina**

## **Abstract**

This research aims to test, in a quasi-experimental manner, the suitability of citric acid as a replacement for xylene. Xylene, as has been observed, is highly toxic and expensive, making it necessary to find alternatives that can achieve the same effect. The objective is to determine the effectiveness of citric acid as a deparaffinizing and clearing agent in histological sections stained with hematoxylin and eosin, evaluated at the Arzobispo Loayza National Hospital in Lima in 2026. To this end, hypothetical - deductive, quantitative, applied, experimental study is proposed. The population consists of histological sections of different tissues stained with Hematoxylin-Eosin at the Arzobispo Loayza National Hospital – Lima in the year 2026. For comparative analysis, a parametric or non-parametric test for two independent samples will be used, such as the Mann-Whitney U test or Student's t-test. A difference will be considered significant when the p-value was less than 0.05.

Keywords: **Citric acid effectiveness, Hematoxylin - Eosin stained histological sections**

# 1. EL PROBLEMA

## 1.1. Planteamiento del problema

El químico francés Auguste André Thomas Cahours fue quien descubrió el xileno junto a otros compuestos como el tolueno, alcoholes amílico y alílico, ácidos anísico y cumínico, piperidina, etc. En unión con otros químicos de la época, pudo llegar al xilol como un producto semi final (el producto final fue el cumeno) gracias al proceso de la destilación de la madera, lo cual esta tuvo que sufrir muchas variaciones entre químicos y temperaturas (128° – 130°C).<sup>1</sup>

El xileno simboliza una de las 30 sustancias químicas más derivadas en los Estados Unidos en aspectos de volumen y se emplea fundamentalmente como disolvente o desparafinante. Además, se necesitan de procesos para identificar los componentes celulares y tisulares como las técnicas de coloración que suministren el entendimiento de sus estructuras; es en este sentido, que existen beneficios de dar color en el ámbito de la citología e histología, cuyo fin es ayudar a la visualización de distintas estructuras que se encuentran en las secciones celulares para distinguir lo normal de lo alterado. Sin embargo, se ha sugerido el uso sucedáneo del Xilol.<sup>2</sup> Cuya fórmula química es C<sub>8</sub>H<sub>10</sub> pero se lo puede encontrar con el nombre de: Dimetilbenceno; Xilol; Orto-xileno; Meta-xileno; Para-xileno y Xilenos mixtos.

Siempre al adquirir el Xilol, viene con una ficha técnica, donde advierte que el producto es inflamable ya sea en estado líquido o vapor, es nocivo al entrar en contacto con la piel causando irritación cutánea y si se llega a inhalar, puede causar irritación de las vías respiratorias, depresión de la respiración, mareos, dolor de cabeza, náuseas y ataxia.<sup>3</sup>

Según el Decreto Legislativo N° 1126 en el Artículo 5 indica que los insumos químicos, productos y subproductos que son utilizados para la elaboración de drogas ilícitas, serán fiscalizados en cualquier tipo de presentación.<sup>4</sup>

Este compuesto, a nivel salud es un buen disolvente de la parafina, y se utiliza en procesos de inclusión, tinción y montaje de preparaciones de anatomía patológica; sin embargo, por las propiedades lipofílicas de este compuesto, se absorbe rápidamente.<sup>5</sup>

Es por ello por lo que se propone como otra opción a este solvente, algunos de origen natural, como el eucalipto y ácido cítrico, debido a sus capacidades de disolver la gutapercha, (caucho natural) siendo en la actualidad alternativas debido a su menor toxicidad.<sup>6</sup>

Los cítricos son normalmente obtenidos de sus cáscaras; son una mezcla de sustancias volátiles, lipofílicas, generalmente odoríferas, líquidas, incoloras y acarameladas; diversos estudios han propuesto a los cítricos pueden desintegrar el cemento de óxido de zinc – eugenol, Pécora et al. (1992), observaron que el cloroformo reblandeció más rápidamente un producto, seguido del xilol y aceite de cáscara naranja.<sup>7</sup>

El Ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico o más conocido como Ácido Cítrico es utilizado en los Estados Unidos como desinfectante doméstico y en las fábricas de alimentos es utilizado como desinfectantes de equipos de procesamiento de alimentos y productos lácteos. Este compuesto químico no es tóxico para los animales marinos, es por ello que lo utilizan para eliminar mohos, bacterias, hongos, virus y malos olores de los tanques marinos; en el medio ambiente podemos encontrar cantidades mínimas de Ácido Cítrico en forma de partículas tanto en el aire como en la tierra, pero no son perjudiciales para la salud ya que es biodegradable. Se podría decir que el Ácido Cítrico es un compuesto natural, porque lo encontramos en nosotros mismo ya que

participa en el metabolismo de los carbohidratos en los seres vivos, lo que es conocido como el ciclo de Krebs.<sup>8</sup>

En la presente investigación se busca probar de forma cuasi experimental, el uso idóneo del Ácido Cítrico, como una alternativa de reemplazo del Xilol, ya que este compuesto como se ha observado es altamente toxico, aparte de ser costoso, situación que hace necesario que se busquen alternativas que puedan tener el mismo efecto que el componente usado. Adicionalmente, existen escasos estudios que prueben estos beneficios del ácido cítrico por lo que la propuesta de este estudio es valuar de manera experimental las ventajas de esta sustancia, así mismo será beneficioso para todos los trabajadores del área de salud, en especial para todos Tecnólogos Médicos que trabajan en el área de Anatomía Patológica, trabajadores que se dedican al transporte y eliminación de residuos tóxicos, fabricantes, etc., cabe resaltar que el aporte brindado a través de este trabajo de investigación será de mucha ayuda para los pacientes que buscan un buen diagnóstico de las enfermedades que adolecen.

Este trabajo de investigación plantea la necesidad de identificar otras alternativas ecológicas y seguras que sustituyan al xileno (tóxico) y al alcohol (inflamable), los cuales son utilizados tradicionalmente en el procesamiento histológico. En particular, se evalúa la posibilidad de utilizar el Ácido Cítrico como agente de desparafinización y aclaramiento en la tinción de Hematoxilina - Eosina. Esta propuesta cobra importancia por su gran potencial para desarrollar protocolos más sostenibles y con menor riesgo para el personal que trabaja con estos productos, sin afectar la calidad diagnóstica de los cortes, lo cual representa un reto fundamental en los laboratorios de anatomía patológica.

La tinción de Hematoxilina - Eosina es el gold standar para la histología diagnóstica, y su calidad depende del procesamiento previo del tejido a procesar, especialmente

de las etapas de desparafinización y aclaramiento. Sin embargo, los reactivos tradicionalmente empleados para este fin, como el xileno y el alcohol, presentan ciertas limitaciones como, por ejemplo, el xileno es considerado una sustancia con altos efectos carcinogénicos y neurotóxicos, mientras que el alcohol es un compuesto inflamable y volátil. Ambos generan residuos peligrosos que representan riesgos para la salud del personal que manipula estos compuestos y tienen un impacto negativo sobre el medio ambiente, lo que evidencia la necesidad de explorar otras alternativas más seguras y sostenibles sin comprometer la calidad diagnóstica.

A pesar de la existencia de algunos sustitutos comerciales del xileno, como es el NeoClear o Citrosol, persiste un vacío importante en el conocimiento y en la investigación. Muchos de estos productos corresponden a mezclas cuyos componentes no siempre son completamente transparentes, y su eficacia, seguridad y sostenibilidad no han sido evaluadas de manera exhaustiva. Además, se ha prestado poca atención a la investigación de alternativas naturales, como es el ácido cítrico, que podrían ofrecer una opción más ecológica y accesible para los procesos de desparafinización y aclaramiento.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿Cuál es la efectividad de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?

### **1.2.2. Problemas específicos**

¿Cuál es la calidad de la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a la morfología celular entre grupos en la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en los preparados histológicos en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?

¿Cuál es la concentración y el tiempo de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?

¿Cuál es la efectividad del Ácido Cítrico con la parafina y la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a los patrones histológicos neoplásicos en biopsias de mama en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?

## **1.3. Objetivos de la investigación**

### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar la efectividad de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

Determinar la calidad de la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a la morfología celular en la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en los preparados histológicos en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

Evaluar la concentración y el tiempo de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

Evaluar la efectividad del Ácido Cítrico con la parafina y la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a los patrones histológicos neoplásicos en las biopsias de mama en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

## **1.4. Justificación de la investigación**

### **1.4.1. Teórica**

Este trabajo de investigación propondrá una alternativa económica y eco amigable ante un compuesto altamente toxico para el medio ambiente y ante la salud propia, se trata de reemplazar el Xilol por Ácido Cítrico. Lo que se busca con este trabajo de investigación es comprobar si el ácido cítrico cumple las mismas funciones que el Xilol (desparafinante, desengrasante y deshidratante) para poder ser reemplazado por un químico menos toxico y favorable para el trabajo en Histología; El Ácido Cítrico se encuentra en forma de polvo o cristales ortorrómbicos transparentes y no presenta olor; Para convertirse en estado líquido, se necesitará llegar a una temperatura de 153 °C, su densidad es de 1.665 g/cm<sup>3</sup> a 20 °C, su solubilidad en agua es de 3.83 X 10<sup>5</sup> mg/L a 25 °C (59.2% a 20 °C), su presión de vapor es igual a 1.7 X 10<sup>-8</sup> mm de Hg a 25 °C, su constante de la ley de Henry es igual a 4.3 X 10<sup>-14</sup> atm m<sup>3</sup>/mol a 25 °C, en solución 0.1 N tiene un pH de 2.2. También se sabe que este compuesto es soluble con etanol, éter y acetato de etilo, pero a su vez es insoluble con benceno y cloroformo. El Ácido Cítrico se encuentra en frutos cítricos y desechos de piña, o puede ser producido industrialmente por fermentación de melaza.<sup>8</sup>

La sustitución del xileno y del alcohol en el procesamiento de tejidos tiene múltiples fundamentos en diversos aspectos, tanto teóricos como prácticos. En primer lugar, tenemos la reducción de riesgos para la salud y el medio ambiente que constituye una motivación central: el xileno es un hidrocarburo aromático volátil con toxicidad comprobada por inhalación y potencial carcinogénico, mientras que el alcohol, aunque es menos peligroso,

requiere estrictas medidas de manejo por su carácter inflamable. En contraste, el Ácido Cítrico es un compuesto natural, biodegradable y de baja toxicidad, lo que lo convierte en una alternativa más segura y alineada con prácticas laborales sostenibles.

Desde el punto de vista funcional, el xileno actúa como un disolvente orgánico capaz de remover eficazmente la parafina de los tejidos. La hipótesis que respalda el uso del Ácido Cítrico ya sea en soluciones purificadas o en mezclas basadas en agentes cítricos, se basa en su capacidad como disolvente natural y agente tensioactivo, lo que podría permitir generar un efecto de desparafinización comparable, facilitando la rehidratación posterior del tejido. Asimismo, en la etapa de aclaramiento, donde se requiere un reactivo que sea miscible con alcohol y permita la transparencia del tejido, se plantea que formulaciones adecuadas de ácido cítrico podrían cumplir esta función, logrando propiedades ópticas similares a las obtenidas con los reactivos convencionales.

En cuanto a la calidad histológica, la propuesta se sustenta en la posibilidad de que las soluciones basadas en ácido cítrico preserven adecuadamente la morfología celular y tisular y mantengan una afinidad apropiada para la tinción Hematoxilina - Eosina. Esto implica no interferir con la unión de la hematoxilina a las estructuras basófilas ni con la interacción de la eosina con los componentes acidófilos del tejido. Algunos estudios preliminares han mostrado resultados prometedores utilizando las alternativas naturales, como agua de limón, en procesos de desparafinización, obteniendo tinciones comparables a las realizadas con xileno.

Finalmente, la búsqueda de innovación y eficiencia en costos también respalda esta investigación. El ácido cítrico es accesible y económico, lo que podría beneficiar especialmente a laboratorios con recursos limitados, a la vez que promueve prácticas más ecológicas. En conjunto, la justificación teórica se centra en la posibilidad de que el ácido cítrico ofrezca una efectividad similar en desparafinización y aclaramiento, con un perfil de

seguridad claramente superior y un menor impacto ambiental, abordando así una necesidad emergente en los laboratorios de histotecnología.

#### **1.4.2. Metodológica**

Metodológicamente, en este trabajo de investigación, se propone el uso del Ácido Cítrico como desparafinante, ante lo cual se usa un diseño cuasi experimental de tipo comparativo, orientado a evaluar la calidad de la imagen histológica obtenida mediante un protocolo basado en ácido cítrico en contraste con el método convencional que emplea xileno y alcohol. Para ello, se utilizarán muestras de tejido (100 biopsias de mama), las cuales serán divididas en dos grupos: uno procesado con el protocolo tradicional y otro sometido al procesamiento alternativo con ácido cítrico. Siguiendo así una serie de procedimientos rigurosos de control de calidad para la coloración de Hematoxilina - Eosina en estudios histológicos, los cuales podrían ser replicados en otras investigaciones que tengan la finalidad de probar las propiedades de esta sustancia como es su acción desparafinante y aclarante; y a su vez poder proponerla como reemplazo de la sustancia original.

La variable independiente corresponderá al agente utilizado en el procesamiento tisular (Ácido Cítrico versus xileno y alcohol), mientras que la variable dependiente será la calidad de la tinción y la conservación de la morfología celular; la evaluación será realizada por un patólogo que no sabrá la técnica empleada en estas laminas. La calidad histológica se valorará mediante criterios estandarizados, considerando la intensidad y definición de la tinción nuclear con hematoxilina, la tinción citoplasmática con eosina, la claridad del tejido y la preservación de las estructuras celulares.

La viabilidad de este enfoque se sustenta en estudios previos que han investigado sustitutos del xileno, como aceites vegetales o soluciones cítricas diluidas, obteniendo resultados favorables en términos de adecuación morfológica. En este contexto, la presente

investigación busca validar específicamente el uso del ácido cítrico como una alternativa integral en el proceso histológico, evaluando su eficacia tanto como desparafinante como agente aclarante dentro de un mismo protocolo o secuencia metodológica.

Este trabajo de investigación se propone como una innovación para el servicio de Anatomía Patológica dando paso ante una nueva opción que ayude en los casos que no se cuenta con Xilol o que decidan reemplazar este compuesto, ya que para obtener este producto existe una serie de trámites y/o documentación debido a que es un producto controlado por la SUNAT en nuestro país, y a su vez servirá como referencia para otros investigadores que quieran realizar un estudio de tipo experimental.

#### **1.4.3. Práctica**

Este trabajo de investigación será de mucha utilidad a futuros investigadores en el área de la Salud, como a los Tecnólogos Médicos especializados en Histotecnología que laboran en las diferentes entidades ya sea que trabajen en laboratorios particulares o en laboratorios de Hospitales, Ministerio Público, Policía Nacional, etc., que son los profesionales que se encargan de procesar las muestras Histológicas y saben de la realidad que pasan día a día en su lugar de trabajo, pudiendo observar esta variación como una alternativa ante los problemas existentes.

La sustitución del xileno y el alcohol por ácido cítrico en el procesamiento histológico presenta un conjunto de beneficios prácticos que justifican la pertinencia de esta investigación. En primer lugar, desde la perspectiva de seguridad y salud ocupacional, el xileno es un solvente orgánico tóxico e inflamable cuyo uso expone al personal de laboratorio a vapores nocivos para la salud. El Ácido Cítrico, al ser una sustancia considerablemente más segura y de baja peligrosidad, contribuye a reducir estos riesgos y a generar un entorno de trabajo más saludable.

En términos de sostenibilidad, la gestión de los residuos derivados del xileno y del alcohol exige procedimientos especializados y muy costosos debido a su carácter peligroso. En contraste, el Ácido Cítrico es biodegradable y ambientalmente amigable, lo que facilita su eliminación y disminuye la huella ecológica del laboratorio. A ello se suma la posible reducción de costos operativos: si bien los gastos iniciales pueden variar, a largo plazo el uso de reactivos menos peligrosos reduce el costo asociado al manejo, almacenamiento y disposición de sustancias tóxicas.

De manera adicional, si el Ácido Cítrico demuestra ser un sustituto eficaz que mantiene la calidad diagnóstica, podría simplificar ciertos pasos del procesamiento, como lo sugieren algunos estudios orientados hacia métodos libres de xileno. Por último, la justificación práctica se fortalece con la evaluación comparativa propuesta: demostrar que la calidad de la tinción y de la morfología tisular obtenida con el método alternativo no difiere significativamente de la lograda con el protocolo convencional garantiza la confiabilidad diagnóstica.

En conjunto, esta investigación responde a una necesidad real en los laboratorios de histopatología: implementar alternativas más seguras, sostenibles y potencialmente más económicas, sin comprometer la precisión y calidad indispensables para el diagnóstico médico.

## **1.5. Delimitaciones de la investigación**

### **1.5.1. Temporal**

El estudio se realizará entre el periodo de mayo del 2026 a julio del 2026.

### **1.5.2. Espacial**

El estudio se desarrollará en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza, el cual es una Red Hospitalaria del Ministerio de Salud; acreditado como categoría III – 1 nivel de Complejidad ubicado en Av. Alfonso Ugarte 848, Cercado de Lima 15082.

### **1.5.3. Recursos**

Respecto a los recursos de estudio se recopilará muestras histológicas de tejidos mamarios embebidos en parafina con diagnóstico histopatológico del archivo de muestras procesadas.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

#### **De índole internacional:**

**Essekri et al. (2021)** cuyo estudio tuvo como **objetivo** “*Estudiar la funcionalización de algas pardas (BA) por ácido cítrico con el objeto de optimizar su capacidad de adsorción para eliminar tintes textiles en soluciones acuosas*”. Cuya **metodología** fue descriptiva. Los **resultados** indicaron que se evaluó la textura morfológica y química de la superficie de las nuevas algas pardas funcionalizadas (designadas como BA-CA). Se analizó el rendimiento de BA-CA para eliminar el colorante violeta cristal (CV) de las aguas residuales. Los modelos de isoterma y adsorción cinética indican el buen ajuste de los modelos de isoterma y pseudo - segundo orden de Langmuir. La capacidad óptima de absorción de la monocapa fue 279,14 mg / g para BA-CA, que era casi dos veces mayor que la de BA sin modificar. Los parámetros termodinámicos mostraron de forma clara que el procedimiento de eliminar CV fue de fisiosorción, exotérmico y de naturaleza espontánea. **Concluyendo** en que el BA-CA se podría usar como un adsorbente ecológico, rentable y de fácil regeneración para la purificación de efluentes textiles.<sup>9</sup>

**Franklin y Guhanathan, (2015)** en su estudio el **objetivo** fue “*Efectuar la síntesis de una serie de hidrogeles biopoliméricos sensibles al pH a base de ácido cítrico y glicerol usando un enfoque verde sin solvente por medio de polimerización por condensación en existencia de medio ácido*”. Cuya **metodología** fue descriptiva. Los **resultados** indicaron que las formaciones de hidrogeles se confirmaron usando diversas investigaciones espectrales, a saber, FT-IR, (1) H y (13) C NMR. Las propiedades térmicas de varios hidrogeles se han estudiado mediante análisis TGA, DTA y DSC. **Concluyendo** en que los resultados de la eliminación del tinte revelaron

que los hidrogeles biopoliméricos a base de glicerol han mostrado una excelente capacidad de eliminación del tinte. Por lo tanto, los hidrogeles biopoliméricos sensibles al pH sintetizados tienen una adaptabilidad con propiedades ajustadas al pH que pueden tener una mayor apertura potencial en diversas aplicaciones ambientales, a saber, eliminación de iones metálicos, liberación de agroquímicos, purificación de agua, eliminación de colorantes, etc.<sup>10</sup>

**Pico V (2015)** realizó un estudio con el **objetivo** de “*Comprobar la acción desparafinizante del agua de limón en los cortes de tejido a ser coloreados con hematoxilina eosina en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central del Ecuador*”. Cuya **metodología** fue experimental, analítico descriptivo en 20 muestras. Este autor halló que cuando hay actividad desparafinizante mediante agua de limón y xilol fueron semejantes, en base a los cuatro indicadores examinados, se evidencia que la mejor derivación del método de desparafinización lo obtuvo el agua de limón, ya que la forma de tinción produjo un óptimo contraste, sin embargo, tuvo una gran desventaja en cuanto al tiempo de lectura, presentando dificultades al momento de analizar las láminas histológicas, tomándose más de 10 minutos al momento de leer las láminas pero fue posible diagnosticar las placas desparafinizadas con agua de limón. Este trabajo de investigación demuestra que dicha técnica puede cumplir la acción desparafinizante como el xilol.<sup>11</sup>

#### **A nivel nacional:**

**Aries, (2018)** realizó un estudio con el **objetivo** de “*Determinar la acción desparafinante de detergente en los tejidos coloreados con hematoxilina-eosina*”. Cuya **metodología** fue experimental en el que intervinieron diez distintos tipos de tejidos que son los que con más frecuencia se procesan en el laboratorio. Los

**resultados** indicaron que la acción desparafinante de 100 láminas histológicas con xilol lograron 1595 puntos de 1600 en evaluación, haciendo un porcentaje de 99.6%, mientras tanto la acción desparafinante de 100 láminas histológicas con detergente alcanzo un puntaje de 1590 puntos de 1600 en evaluación, cuyo índice fue de 99.4%. **Concluyendo** en que los análisis efectuados nos indican que el detergente sapolio es similar o igual al xilol en su acción desparafinante.<sup>12</sup>

**Adán (2023)** realizó un estudio con el **objetivo** de “*Determinar la calidad de la coloración de las secciones de tejidos hidratados y deshidratados con aguardiente de caña de azúcar en comparación con las secciones de tejido tratados con alcoholes de 96% y 100% en el método de coloración hematoxilina – eosina*”. Cuya **metodología** fue experimental, transversal y descriptivo – comparativo en el que la prueba de hipótesis de Wilcoxon determinó que no se encontraron diferencias significativas de los puntajes de calidad de la coloración entre el Etanol y el Aguardiente, tanto para el aspecto global ( $p=0.083$ ), así como también como para el núcleo y el citoplasma ( $p=0.157$  y  $p=0.371$ , respectivamente). No obstante, para el medio extracelular, el puntaje de calidad de coloración del etanol fue significativamente mayor ( $p=0.025$ ) en comparación con el aguardiente. **Concluyendo** en que la calidad de la coloración generada en el núcleo y citoplasma por el aguardiente fue comparable con el etanol en secciones de tejidos hidratados y deshidratados. La calidad de la coloración generada en el medio extracelular por el aguardiente fue menor en comparación con el etanol. La calidad de la imagen histológica global generada por el aguardiente fue comparable con el etanol. Lo que implicaría que pueda utilizarse esta alternativa ecológica en los laboratorios de Histotecnología sin inconvenientes en el diagnóstico general.<sup>13</sup>

**Jesse y Frank (2024)** realizaron un estudio con el **objetivo** de “*Comparar agente desparafinizante xilol por jugo de limón en biopsias gástricas y coloración de hematoxilina eosina, Laboratorio “Patología Oncológica SAC”*”. Cuya **metodología** fue descriptiva de corte transversal. Donde se recolectaron 25 muestra de tejidos de biopsia gástrica del Laboratorio de “Patología Oncológica SAC” durante el periodo de julio-octubre 2021. A cada muestra se le realizó dos cortes histológicos para ser procesado por el método convencional que fue con xilol y el otro, con el jugo de limón. Se evaluó la calidad de la tinción con hematoxilina-eosina (buen contraste, contraste medio, contraste bajo y sin contraste) y también las estructuras morfológicas del tejido (facilidad y dificultad en el análisis de las estructuras morfológicas ya sea parcial o total). Además, la prueba de diagnóstico (diagnóstico seguro, diagnóstico sin claridad, con dificultad y diagnóstico inseguro). Los **resultados** indicaron que la comparación de métodos desparafinizante xilol por jugo de limón no hubo diferencia significativa ( $p>0.05$ ). La calidad de tinción con hematoxilina-eosina, 22 (88.0 %) tuvieron buen contraste para ambos métodos de desparafinización y además tuvo un índice de Kappa de 0.82 (IC: 0.58-1.0). Además, con respecto a la estructura morfológica del tejido, 23 (92.0 %) tuvieron facilidad en el análisis de dichas estructuras morfológica para ambos métodos de desparafinización y además tuvo un índice de Kappa de 0.65 (IC: 0.45-1.0). Con respecto al test de diagnóstico, 21 (84 %) tuvieron un diagnóstico seguro para ambos métodos de desparafinización y el índice de Kappa de 0.81 (IC: 0.42-1.0). **Concluyendo** en que la comparación de agentes desparafinizante como el xilol y jugo de limón no tuvo una diferencia significativa. Por lo tanto, el jugo de limón puede reemplazar el xilol en el proceso de desparafinización en la coloración de hematoxilina-eosina.<sup>14</sup>

**Girano (2024)** realizó un estudio con el **objetivo** de “*Determinar la eficacia del isopropanol como aclarante en el procesamiento rápido de tejidos pequeños en estufa realizado en el Laboratorio Diagnosis S.A.C., Lima 2023*”. Cuya **metodología** fue el método científico. Donde se recolectaron 15 biopsias (cérvix e intestino), y para simular las biopsias pequeñas a cada una se le realizó 10 cortes de aproximadamente 0.5x0.5x0.5 cm, los cuales pasaron por las nueve variantes de la técnica de procesamiento rápido en estufa a diferentes tiempos, temperaturas, y la técnica de procesamiento convencional. Al comparar las nueve técnicas que utilizaron alcohol isopropílico con la técnica convencional que usó xilol, ocho arrojaron una equivalencia significativa ( $p>0.05$ ) y solo una fue significativamente diferente ( $p<0.05$ ) a la variación de volumen de la técnica convencional con xilol. Se concluyó que la eficacia del alcohol isopropílico con respecto a la calidad y la variación del volumen de los tejidos estudiados en las nueve técnicas modificadas fue equivalente a la técnica convencional con xilol, por lo que es un buen sustituto actuando como aclarante en el procesamiento rápido en estufa en el rango de temperatura 30 °C a 70 °C y tiempo de 15 a 45 minutos. **Concluyendo** que no todos los tiempos propuestos son óptimos porque el tiempo mínimo para que el procesamiento de tejidos en estufa con alcohol isopropílico como aclarante sea igual de eficaz que el método convencional es de 15 minutos tanto a 50 °C hasta 70 °C, y se descarta la técnica de 30 °C ya que la puntuación de esta técnica no es estadísticamente igual como para asemejarse al procesamiento convencional.<sup>15</sup>

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. Ácido cítrico

Definición:

Velásquez J et al. Señalan que el denominado ácido cítrico constituye una sustancia propia de las plantas a partir de finales del siglo XIX, y en 1893 los peritos en ciencia llegaron a sostener que es originado por hongos filamentosos. Asimismo, en 1923 empezó la primera fermentación que promovió la formación de dicho ácido orgánico empleando microorganismos que se desarrollaban en el área de los cultivos. Hoy en día, la utilización de hongos para la formación de trascendentes productos del comercio se incrementó apresuradamente, instituyendo un estado donde el ácido cítrico se ha ubicado como uno de los mayores ácidos orgánicos generado con el mecanismo de fermentación por *Aspergillus niger*, también se emplea en la manufactura de provisiones, bebidas, medicamentos, química, etcétera.<sup>16</sup>

El Ácido Cítrico se puede encontrar en forma de cristal transparente o en polvo y no presenta aroma, generalmente el punto de fusión abarca un 153 °C. También, la densidad correspondiente es de 1.665 g/cm<sup>3</sup> a 20 °C. Además, la solubilidad en agua concierne a un 3.83 x 10<sup>5</sup> mg/L a 25 °C (59.2% a 20 °C). Este compuesto se puede solubilizar con etanol, así como en éter y acetato de etilo, pero es insoluble con el benceno y cloroformo. Este componente se extrae a partir de los frutos cítricos y desechos de piña o también se pueden obtener industrialmente por la fermentación de la melaza. La fórmula del ácido cítrico abarca C<sub>6</sub>-H<sub>8</sub>-O<sub>7</sub> y cuyo peso molecular fue 192.14; tiene como propiedades físicas y químicas.<sup>17</sup>

Según Moreno, M et al. El uso de este ácido en actividades de preservación de alimentos simboliza ser diversa, ciertos autores indican que es un agente antipardecimiento en «slices» de frutas y en la disminución el índice de respiración en zanahorias que han sido cortadas. Dentro de sus funciones se encarga de inhibir la actividad de la fosfofructokinasa

(PFK) purificada, que busca catalizar la fosforilación de la fructosa 6-fosfato a fructosa 1,6 bifosfato en la vía sendero glicólica del metabolismo respiratorio y contempla que esta enzima desempeña un rol trascendente durante la glicólisis.<sup>18</sup>

Fujian Chan identificó los peligros que involucra la utilización del Ácido Cítrico Citrux como químico son:

- Inhalación: Origina irritación del aparato respiratorio con molestias entre las cuales destaca: tos, apnea.
- Ingestión: Produce que se irrite la zona gástrica, dando lugar a que se evidencien: náuseas, arcadas y diarrea. Asimismo, las dosis por vía oral que son altas ocasionan fastidio en la parte gástrica y hay insuficiencia de calcio en la sangre.
- Contacto con la Piel: Genera que la piel se irrite, manifestándose por rubor, picazón y dolencia.
- Contacto Ocular: Ocasiona una elevada irritación e inclusive ser erosivo.<sup>19</sup>

#### Aplicación

Para Mesa, L representa uno de los ácidos con mayor empleo en el universo. Generalmente se comporta como un ácido dibásico para que se formen sales neutras, una de forma monoalcalina y dos sales distintas dialcalinas. Asimismo, origina sales de modo complejos solubles con diferentes iones metálicos, también, sirve para consumo de las personas, pues tiene alta solubilidad, baja toxicidad, alto poder quelante y de buen sabor. Entre sus principales propiedades resalta: acidez, formación de complejos y emulsificación. Aproximadamente, un 75% de lo que se produce el ácido cítrico es destinado para el escenario alimentario como acidulante, tampón, emulsificante, estabilizador de grasas y aceites y para realzar el sabor.<sup>20</sup>

Rivada F. manifiesta que es destinado para los productos alimenticios, bebidas y otros, de igual modo como saborizante y conservante, a pesar de ello posee otras propiedades por las que se usa en dicha industria. También, abarca la parte textil, cosmética, agricultura y para los detergentes.<sup>21</sup>

#### Acción

El Ácido Cítrico es el mejor agente lixivante. Según Abín, L et al., representa un metabolito intermediario del ciclo de los ácidos tricarboxílicos donde se utilizan primordialmente cepas de *Aspergillus niger*. Dentro de lo que contribuye para su acumulación y una superproducción amerita un desbalance del metabolismo microbiano, mediante la desviación del metabolismo de los azúcares hacia la acumulación del ácido cítrico en menoscabo del desarrollo.<sup>22</sup>

Velásquez J et al. Describe que los géneros *Aspergillus*, *Citromyces*, *Penicillium*, *Monilia*, *Candida* y *Pichia* simbolizan microorganismos con capacidad de producir y almacenar Ácido Cítrico, aunque para la producción comercial sólo se utilizan mutantes de *Aspergillus niger*.<sup>16</sup>

#### Efecto desparafinante

Arriola, E considera que las parafinas y los asfáltenos generalmente se encuentra en todos los crudos, en base al volumen y las circunstancias con las que dicho crudo se somete, idealmente se preservan diluidos o se pueden precipitar al congregarse por las variaciones que sufre en su medio, al deteriorar el medio poroso y bloquear los canales de producción o líneas de descarga, es aquí donde, por impacto de este fenómeno, la producción se altera de modo muy severo.<sup>23</sup>

La empresa Dilisur manifiesta que este producto usualmente desecha las parafinas que protegen los vehículos nuevos. Descarta completamente la superficie parafínica sin

deteriorar la pintura, goma, plástico o áreas pintadas. No incluye en su constitución los componentes aromáticos o clorados y tiene un elevado punto de inflamación, lo que lo hace un producto seguro para su empleo.<sup>24</sup>

- Aplicación con máquina:

Colocar directamente con la ayuda de una máquina de agua caliente (50-60° C) a presión interviniendo de modo directo sobre el vehículo. Luego de disolver y eliminar la capa parafínica, enjuagar con agua a presión o en el túnel de lavado el área tratada.<sup>23</sup>

- Aplicación Manual

Rociar directamente el vehículo con un producto puro, para de ahí limpiar con agua caliente a presión (50-60° C). Seguidamente lavar el vehículo con un champú neutro y lavar con agua.<sup>23</sup>

### **2.2.2. Láminas histológicas**

Walwyn V evidenció que los estudios que involucran técnicas de histología convencional y especial otorgan una serie de datos imprescindibles al profesional sobre la causa de la infección, etc., ayudando a su administración y llegar a incrementar la precisión diagnóstica cuando hay infiltrado inflamatorio agudo u otros; además de notificar el agente que produjo la infección, por la forma, mecanismo de agrupación y peculiaridades clínicas e histológicas, de ahí nace la relevancia de colocar estos métodos con una mejor perspectiva de calidad de detección, reemplazando la escases de recursos de costosas técnicas como la reacción en cadena a la polimerasa (PCR).<sup>25</sup>

### 2.2.2.1. Técnicas Histológicas

Guerrero, R considero que el propósito de la evaluación de la histología implica los tejidos y las células. Con el propósito de examinarlos, dispone de dos grandes equipos que admiten vigilar la forma celular y tisular, siendo estas: microscopía y técnica histológica.<sup>26</sup>

Para Montalvo, C se contempla la técnica histológica como una serie de procesos destinados a una materia biológica (ya sea, animal o vegetal), de tal manera que se pueda preparar y conferirle los contextos óptimos para vigilar, reconocer y examinar sus elementos morfológicos con la ayuda de microscopios.<sup>27</sup>

Las pautas para dicha técnica son:

La Universidad Nacional del Nordeste considera que para la obtención de material histológico se basa en la toma del tejido del lugar apropiado.

Proceso de fijación: Se basa en impedir el avance de procedimientos orgánicos precisando y manteniendo la forma lo más fehaciente viable la situación como estaban los tejidos, los cuales deben colocarse luego de extirparlos.<sup>28</sup>

Proceso de inclusión: Para alcanzar cortes finos es importante que las piezas logren una consistencia dura y fija. En la Técnica Histológica tradicional, importa mucho el uso de parafina como medio de inclusión, pues esta es insoluble en agua, su uso determina la anterior extracción del agua involucrada en el tejido que se somete al proceso de inclusión, mediante las siguientes fases:

Deshidratación: Tiene como fin el hecho de extraer el agua del tejido con la finalidad de que la parafina pueda ocupar su lugar. En caso de que el material no llegue a deshidratarse correctamente, la inclusión será incompleta. Por ello, se utiliza alcoholes en concentración gradual: 70°, 80°, 96°, 100°.

Aclaración: Cuando se logra la deshidratación total de la pieza, se fija a la misma en la cavidad de un líquido que, combinándose con el alcohol, tenga al mismo tiempo el atributo de diluir la parafina, esta particularidad se alude como “Líquido intermediario”. Abarcan sustancias como el cloroformo, toluol, xilol y benzol, este último es el más manejado. Por ser la parafina no soluble en alcohol, es imprescindible que el líquido intermediario lo sustituya totalmente, por ello amerita restaurarlo una o dos veces por semana para lograr que todo vestigio de alcohol se desaparezca.

Impregnación en parafina: Al ser manipulada en la Técnica Histológica conlleva a una mixtura de cadenas de 22 hasta 29 carbonos, cambiando su sitio de fusión entre 45° a 60° C, de acuerdo con la composición que tiene. Representa una sustancia generalmente inactiva, almacenada continuamente en una estufa. Se licuefacta con sencillez a 56° C y a temperatura ambiente está sólido. Las piezas, luego de ser aclaradas, pasan a una mixtura de parafina líquida y líquido intermediario en proporciones equitativas y se van a la estufa por una hora. Posteriormente se colocan en un recipiente con parafina líquida y se conserva en una estufa con el objetivo de que la parafina se adhiera en el tejido.

Confección del taco o bloque: Inmediatamente se realiza la inserción de una parte de tejido, que ocasionará tanto la solidificación de la parafina interna como una envoltura dura que proporcionará su consecutivo manejo y corte, empleándose para acatar con lo cometido, un molde especial de metal llamado “barras de Leuckart”, dentro del cual se derrama parafina líquida a 60° C. Después de ello se deposita la pieza que se extrae del baño de parafina en que estaba, custodiando de orientarla favorablemente para encontrar de ahí la orientación en que debe ser cortada.<sup>28</sup>

Obtención de los cortes: Se emplean diferentes técnicas y varios instrumentos de notable exactitud, denominados “Miótomos”. Está ajustado al estudio que se intente efectuar en todos los tejidos, siendo los principales: micrótomos de deslizamiento, Tetrander, de parafina tipo Minot (cuchilla fija), el ultramicrótopo, criótopo, etc. De todos los mencionados, el más empleado en el área histológica es el de cuchilla fija o tipo Minot; también, es idóneo, ya que da cortes en serie automática en forma de cinta; el espesor del corte puede variar de 2 a 20 um según el tejido a procesar.<sup>28</sup>

Proceso de coloración: Es el procedimiento donde el organismo toma un color bajo la intervención de un pigmento y no desaparece a pesar de los lavados de la misma sustancia con el que se diluyó el colorante. También, las estructuras procedentes de las preparaciones histológicas tienen bajo contraste o faltan de él totalmente, por ello no se encuentran en el microscopio. Esta dificultad queda a salvo por el atributo que poseen las diversas unidades celulares y tisulares de incorporar con distinto ímpetu sustancias colorantes. En la Técnica Histológica usual solo atañe: Hematoxilina - Eosina.<sup>28</sup>

Hematoxilina: Es un colorante nuclear que está cargado positivamente y es por lo tanto un colorante básico. Se pone en los grupos fosfatos del ADN y ARN que tienen carga negativa. Se consigue a partir de la extracción del palo de campeche (hematoxilon campechianum). La sustancia es incolora, pero se transforma por oxidación a hemateína que es el auténtico colorante. La hemateína es un colorante indirecto, por lo que necesita añadir un mordiente, que es el Hemalumbre de Mayer, que forma parte de la coloración hematoxilina – Eosina, y está compuesto por hemateína, alumbre de potasio y Ácido Cítrico. Colorea al núcleo de color violeta. Es una coloración progresiva.<sup>28</sup>

Eosina: Se trata de un colorante artificial, poco ácido que corresponde al grupo de las fluoresceínas. Se puede solubilizar en agua, da color al citoplasma, tejido conjuntivo, fibras colágenas de color rosado intenso.

Desparafinización e hidratación del corte: Como los colorantes se encuentran en unas soluciones acuosas, un elemento como la parafina imposibilitará su ingreso. Para ello se tiene a un gran solvente que es el Benzol o Xilol, ultimando con la entrada por alcoholes de modo decreciente 100°, 96°, 80°, 70°, finiquitando por agua destilada.<sup>28</sup>

Montaje final: Posee como fin optimizar la vigilancia, proporcionar la conducción e incrementar una permanencia de los preparados histológicos. Usualmente cuando se somete a coloración se deja al preparado embebido en agua y debe ser anulada. En dicha sección del abordaje Histológico se tiene como etapas: deshidratación, homogenización, colocación de cubreobjetos.<sup>28</sup>

### **2.2.3 Sustituto del xilol: D - LIMONENO**

Rubiano K. et al. Describe que el D-limoneno representa un terpeno que se obtiene de la cáscara de frutos cítricos, es decir del limón y naranja, que se emplea en la parte farmacéutica y perfumería, puesto que tiene atributos aromatizantes y saborizantes, no obstante, es oxidativo y posee alta sensibilidad a la temperatura.<sup>29</sup>

Según el autor Sun J, se considera que el D-limoneno tiene una toxicidad bastante baja. Ha sido probado para la carcinogenicidad en ratones y ratas. Aunque al principio mostró que el D-limoneno aumentaba la incidencia de insuficiencia renal tubular y tumores en ratas macho. Estudios posteriores han determinado cómo se producen estos tumores y se estableció que el D-limoneno no presenta riesgo mutagénico, cancerígeno o nefrotóxico a humanos. En

humanos, el D-limoneno ha demostrado baja toxicidad después de dosis únicas y repetidas hasta por un año.<sup>30</sup>

El D-limoneno se ha utilizado clínicamente para disolver el colesterol que poseen las piedras preciosas, también es utilizado para el alivio de acidez estomacal por su efecto neutralizador de ácidos gástricos, también es utilizado como quimiopreventiva para distintos tipos de cánceres, lo cual fue evidenciado en una paciente con cáncer de mama de fase I.<sup>30</sup>

#### **2.2.4. Carcinoma de mama**

##### **2.2.4.1. Carcinoma in situ de mama**

El carcinoma in situ constituye la fase más temprana y reconocible del cáncer de mama. En esta etapa, las alteraciones celulares permanecen confinadas al epitelio sin invadir el tejido circundante. Dependiendo del lugar donde se originen, pueden corresponder al carcinoma ductal in situ (CDIS) o al carcinoma lobulillar in situ (CLIS). Ambos tienen el potencial de progresar hacia formas invasivas de cáncer mamario.<sup>31</sup>

##### **2.2.4.2. Conceptos básicos de histología mamaria**

La glándula mamaria está integrada por aproximadamente 15 a 25 conductos principales, encargados de la secreción y transporte de la leche. Estos conductos se subdividen en ramas más finas que culminan en los lóbulos, los cuales contienen un conducto terminal asociado a múltiples estructuras secretoras conocidas como acinos.<sup>31</sup>

Los acinos están revestidos por células epiteliales cúbicas, apoyadas externamente por una capa de células mioepiteliales, encargadas de brindar soporte y asistir en la eyección del contenido glandular.<sup>31</sup>

### 2.2.4.3. Carcinoma ductal in situ

El carcinoma ductal in situ se diagnostica cuando las células que tapizan los conductos mamarios adquieren características neoplásicas, pero permanecen dentro del sistema ductal sin infiltrar el estroma adyacente. Representa cerca del 90% de los carcinomas in situ de la mama y se considera un cáncer no invasivo.<sup>31</sup>

#### Clasificación histopatológica del Carcinoma ductal in situ

##### A. Según el patrón morfológico

- **Tipo comedo:** Se caracteriza por la presencia de necrosis central abundante y microcalcificaciones.
- **Tipo sólido:** Presenta una proliferación completa del ducto por células de núcleos uniformes; puede acompañarse de focos de necrosis y calcificaciones.
- **Tipo cribiforme:** Exhibe espacios luminales redondeados y bien delimitados, rodeados por células epiteliales cúbicas.
- **Tipo micropapilar:** Muestra proyecciones epiteliales regulares hacia la luz del conducto. Puede presentar mucina o microcalcificaciones, y suele exhibir baja actividad mitótica y bajo grado nuclear.<sup>31</sup>

##### B. Según el grado nuclear

- **Grado alto:** Células con marcado pleomorfismo, núcleos grandes e irregulares, cromatina en grumos, nucléolos prominentes y presencia de necrosis.
- **Grado bajo:** Células más uniformes, con núcleos redondeados y centrales, generalmente sin necrosis. Forman patrones cribiformes o micropapilares.

- **Grado intermedio:** Muestran pleomorfismo moderado. Se clasifican en este grupo cuando no se ajustan claramente a los grados alto o bajo. Pueden adoptar patrones sólidos, cribiforme o micropapilar.<sup>31</sup>

#### 2.2.4.4 Carcinoma lobulillar in situ

El carcinoma lobulillar in situ representa aproximadamente 0,5% a 5% de los cánceres de mama y con frecuencia se detecta de manera incidental. Microscópicamente, se observa una proliferación de células pequeñas, uniformes, poco cohesivas, que ocupan principalmente el segmento terminal ductolobulillar. Estas células suelen ser cúbicas, monótonas y con escasa diferenciación.<sup>31</sup>

#### Clasificación histopatológica del Carcinoma lobulillar in situ

- **Grado I:** Aumento de células uniformes dentro de los lóbulos, sin distensión del lumen acinar.
- **Grado II:** Proliferación más abundante que puede distender algunos acinos; se conserva el estroma interlobulillar.
- **Grado III:** Marcada expansión de los acinos con mínima o nula apreciación del estroma, lo que ocasiona contacto directo entre estructuras acinares.<sup>31</sup>

### 2.3. Definición de términos

**Efectividad:** Es la manera de obtener el resultado esperado en lo que se efectúa.<sup>32</sup>

**Ácido cítrico:** Es aquel que está en el cuerpo y simboliza un mediador en el ciclo de Krebs, que contribuye a la respiración de la célula.<sup>33</sup>

**Desparafinante:** Acto que limita el ingreso de la parafina.

**Láminas histológicas:** Sitio donde reposan las células epiteliales que se establecen constituyendo una o varias capas.<sup>34</sup>

**Hematoxilina - Eosina:** Técnica de laboratorio en la que se emplean dos tintes denominados hematoxilina y eosina para visualizar mejor las distintas partes de la célula al microscopio.<sup>35</sup>

**Aclarante:** Se trata de un proceso donde el alcohol que está en los tejidos al momento de la deshidratación se reemplaza por una sustancia apta de poder mezclarse con un medio de inclusión. El agente idóneo debe poseer la capacidad de excluir el alcohol sin llevar a lesiones en la forma del tejido como alto endurecimiento y retracciones.<sup>36</sup>

## **2.4. Formulación de hipótesis**

### **2.4.1. Hipótesis general**

**HI:** La aplicación del ácido cítrico como desparafinante y aclarante en la reparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina es tan efectiva como el xileno y los alcoholes para preservar la morfología tisular y la calidad de la tinción, ofreciendo una alternativa más segura y potencialmente más clara en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

**H0:** La aplicación del ácido cítrico como desparafinante y aclarante en la reparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina no es tan efectiva como el xileno y los alcoholes para preservar la morfología tisular y la calidad de la tinción, ofreciendo una alternativa más segura y potencialmente más clara en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

### **2.4.2. Hipótesis específicas**

La calidad de la tinción de Hematoxilina – Eosina en preparados histológicos evaluados a través la morfología celular, es decir, de la claridad nuclear y la coloración

citoplasmática, no presenta diferencias significativas entre el grupo control, donde se utilizó el xileno como agente desparafinante y aclarante, y el grupo de estudio, en el cual se utilizó el ácido cítrico con la misma finalidad.

Existe una relación directa entre la concentración del Ácido Cítrico y el tiempo de exposición con su eficacia como agente desparafinante y aclarante en cortes histológicos procesados con Hematoxilina – Eosina, el cual se observa un punto óptimo en el que dichas variables permiten mejorar la claridad tisular y, al mismo tiempo, reduce el uso de solventes orgánicos tóxicos.

El uso de Ácido Cítrico en el procesamiento de biopsias de mama mejora significativamente la claridad y el detalle de los patrones histológicos neoplásicos en la tinción de Hematoxilina – Eosina, incluyendo la atipia nuclear, la arquitectura tumoral y la presencia de mitosis, el cual, facilita un diagnóstico más preciso y una clasificación histológica más robusta en comparación con el método tradicional de procesamiento con parafina sin la incorporación de Ácido Cítrico.

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Método de la investigación**

Para el trabajo se tiene un **método** hipotético – deductivo; pues, con ello, los supuestos podrán conseguir nuevas deducciones, y surge de un supuesto procedente de estatutos o dado por los datos empíricos, y empleando los aspectos de la deducción, llegando a predicciones que se dan en una demostración empírica, y si se obtiene correspondencia con los hechos, se logra la legitimidad o no del bosquejo inicial.

#### **3.2. Enfoque de la investigación**

Fue **cuantitativo**, dada su utilidad en recabar información aplicada a la estadística y el cálculo numérico, comprobando proposiciones.

#### **3.3. Tipo de investigación**

Fue **aplicada**, debido a que se orienta en detectar por medio del conocimiento científico, los métodos, técnicas y pautas que permiten ayudar a corregir una demanda reconocida, específica y práctica.

#### **3.4. Diseño de la investigación**

Diseño cuasi experimental, porque la investigación se lleva a cabo modificando intencionadamente las variables, mediante dos o varias mediciones, recolectando la información en varios momentos y comparándolo entre dos grupos.

### **3.5. Población, muestra y muestreo**

Población: 100 cortes histológicos de biopsias de mama embebidos en parafina para la coloración Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima en el año 2026.

Muestreo: Se optará por un muestreo no probabilístico por conveniencia.

#### **Criterios de selección**

##### ***Criterios de inclusión:***

- Fijación adecuada
- Confección de bloques con buena orientación del tejido.
- Cortes histológicos adecuados.
- Buen procesamiento de la muestra.

##### ***Criterios de exclusión:***

- Piezas anatómicas mal fijadas.
- Bloques con muestra patológica mal orientada.
- Lamina histológica con cortes gruesos.
- procesamiento de la muestra deficiente.

### **3.6. Variables y operacionalización**

**Variable 1:** Efectividad del Ácido Cítrico

**Variable 2:** Cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina

### 3.6.1. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	ESCALA VALORATIVA
Efectividad del Ácido Cítrico	Se trata de saber las cualidades del ácido cítrico para alcanzar un resultado como desparafinante y aclarante.	Desparafinante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Disuelve la parafina.</li> <li>• Elimina parafina.</li> <li>• Conservación de la estructura histológica.</li> <li>• Interactúa con el agente deshidratante.</li> <li>• Es biodegradable.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo Pésimo
		Aclarante	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elimina el agente deshidratante.</li> <li>• Transparencia del tejido.</li> <li>• Produce aumento de índice de refracción.</li> <li>• No disuelve colorante.</li> <li>• No se evapora.</li> <li>• Interactúa con el medio montaje.</li> <li>• Produce buena claridad de imagen histológica.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo Pésimo
		Espesor del corte histológico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rango óptimo de espesor entre 3 – 6 micras.</li> <li>• Rango de espesor entre 0.5 – 10 micras según el tipo de estudio.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo

Cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina	Los cortes histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina suelen oscilar entre 3 y 5 micrones de espesor, para permitir la penetración de la luz y la correcta visualización de la ultraestructura celular bajo el microscopio, con núcleos azul/violeta por la hematoxilina y el citoplasma		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Corte fino permite el paso de la luz microscópica.</li> <li>• Corte compatible con la tinción adecuada para la mínima superposición celular.</li> </ul>		Pésimo
		Calidad de la tinción Hematoxilina - Eosina	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Núcleos teñidos de azul – violeta, significa una captación correcta de hematoxilina.</li> <li>• Citoplasma, colágeno y matriz teñidos de rosa – anaranjado, significa la captación correcta de Eosina.</li> <li>• Población celular: Tinción homogénea, sin zonas pálidas, ni sobreteñidas.</li> <li>• Fondo de la lámina: Sin presencia de cristales, pigmentos o residuos de colorantes envejecidos.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo Pésimo
		Claridad y morfología celular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nitidez en los detalles celulares y tisulares.</li> <li>• Definición de la morfología nucleares como la membrana nuclear y la cromatina.</li> <li>• Imagen del citoplasma y la matriz extracelular, adecuada.</li> <li>• Discriminación de fibras, espacios claros, vasos no identificables, etc.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo Pésimo
		Integridad del tejido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausencia de líneas de cuchilla (mella).</li> <li>• Ausencia de pliegues, arrugas o dobleces del tejido.</li> <li>• Sin artefactos de congelación.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo

	rosado por la eosina.		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausencia de separación de capas o desprendimientos del portaobjetos.</li> </ul>		Pésimo
		Magnificación microscópica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uso de aumentos bajos (4x, panorámico 10x) para evaluar la arquitectura.</li> <li>• Uso de aumentos medio o altos (40x, 100x de inmersión) para evaluar detalles celulares.</li> <li>• Coherencia entre el espesor del corte y la calidad de la imagen según el aumento.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo Pésimo
		Evaluación morfológica y cuantitativa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificación de la morfología celular, como la forma, tamaño, relación núcleo – citoplasma, etc.</li> <li>• Evaluación de la arquitectura tisular, como la organización, fibrosis, infiltrados, etc.</li> <li>• Cuantificación de la densidad celular, tamaño y número de estructuras.</li> </ul>	Cualitativa	Excelente Bueno Regular Malo Pésimo

### **3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.7.1. Técnica**

Es la observacional dado que se recabará información a través de la visualización de las muestras y el instrumento será una ficha de recolección de datos.

#### **3.7.2. Descripción de instrumentos**

La guía de observación estará conformada por 12 ítems que recaben datos acerca de la reacción desparafinante, tiempo de reacción, reacción aclarante para el montaje, efecto desparafinante, conservación de las estructuras histológicas (Núcleo – Citoplasma), efecto aclarante y conservación de la nitidez de las estructuras histológicas. Esto se recolectará en base al Ácido Cítrico y en base al Xilol, que es una sustancia (Gold estándar) utilizada de manera común.

#### **3.7.3. Validación**

El instrumento sí necesita ser validado por expertos con el fin de recabar información de forma directa ya que son datos observacionales.

#### **3.7.4. Confiabilidad**

El instrumento no amerita confiabilidad puesto que no será medido o evaluado directamente en pacientes como diagnóstico definitivo, sino será aplicado en tejidos ya procesados con diagnóstico histopatológico previamente para su estudio.

### **3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos**

El presente estudio deberá ser aprobado por la Universidad Norbert Wiener, quienes deberán expedir una resolución de aprobación del protocolo, posteriormente se solicitarán los permisos necesarios al Hospital Nacional Arzobispo Loayza, para poder acceder a las instalaciones del laboratorio con el propósito de realizar el experimento.

Para el experimento se necesitarán los siguientes equipos y materiales:

Materiales y equipos para el procedimiento:

- Láminas porta objeto.
- Láminas cubre objetos.
- Bálsamo de Canadá.
- Alcohol de 50°
- Alcohol de 95°
- Alcohol de 100°
- Colorante de Hematoxilina - Eosina.
- Ácido Cítrico al 100%

Procedimiento

Consiste en la elaboración del preparado histológico realizada por el tecnólogo médico y/o histotecnólogo, a partir del corte macroscópico previamente efectuado por el anatomopatólogo durante la etapa de macroscopía.

1. Etapa 1:

Esta etapa tiene como objetivo conservar la forma y las características biológicas de las células y los tejidos, evitando su degradación química y la putrefacción causada por microorganismos. La muestra se coloca en formalina dentro de cassettes debidamente identificados y pasa por una serie de procesos hasta obtener las láminas histológicas que serán evaluadas bajo el microscopio. Todo este procedimiento es realizado por el tecnólogo

médico o histotecnólogo. Las canastillas que provienen de la macroscopía se colocan en un recipiente con tapa y se fijan en formol neutro o formol tamponado al 10%. Luego, las muestras fijadas se introducen en un procesador automático de tejidos, el cual es programable. El manejo del equipo, su programación, el control de calidad, el recambio de reactivos y su validación están a cargo del tecnólogo médico o histotecnólogo.

Los pasos para el procesamiento de tejidos son:

- Deshidratación.
- Aclaramiento.
- Inclusión.

El tecnólogo médico programa el equipo para que el material ingresado en el procesador de tejidos pase por todas sus etapas: deshidratación, aclaración e inclusión. En general, este proceso tiene una duración aproximada de 12 horas.

#### **DESHIDRATACIÓN:**

Los tejidos contienen una gran cantidad de agua, la cual se debe de eliminar y deben ser reemplazadas por parafina. Para este proceso, el alcohol etílico es el agente más adecuado. La deshidratación se realiza de forma progresiva, utilizando alcoholes desde menor hasta mayor concentración.

#### **ACLARAMIENTO (DESALCOHOLIZACIÓN):**

Este paso permite que el alcohol presente en los tejidos sea reemplazado por un líquido capaz de disolver la parafina, con la que el tejido será impregnado posteriormente. Además, muchas de estas sustancias tienen la capacidad de volver los tejidos transparentes.

#### **INCLUSIÓN:**

Consiste en impregnar los tejidos con una sustancia que ocupe todas sus cavidades naturales y que también le pueda brindar la firmeza necesaria para poder realizar cortes muy delgados sin causar deformaciones.

## 2. Etapa 2

Una vez que las muestras hayan sido impregnadas con parafina en el procesador de tejidos, las canastillas se retiran del equipo y se trasladan al centro de inclusión. Este centro cuenta con dos partes: un dispensador de parafina caliente y una placa fría, donde se realiza la inclusión propiamente dicha. La inclusión consiste en extraer el tejido impregnado con parafina desde la canastilla, utilizando pinzas de disección, para evitar que el tejido se adhiera. El tecnólogo médico o histotecnólogo revisa cuidadosamente cada fragmento, evalúa su estructura y decide la mejor orientación del tejido dentro del bloque, asegurando que quede correctamente posicionado para el posterior corte histológico. Luego, se coloca el rótulo sobre la superficie del molde para que quede adherido al bloque, en el lado opuesto al tejido. El bloque se coloca inmediatamente sobre hielo para favorecer su solidificación. Una vez solidificado, se retira el molde de papel, dejando el bloque de parafina fijo a la canastilla. Durante la inclusión, el tecnólogo médico o histotecnólogo debe identificar las muestras que presenten dificultades por su tamaño o espesor y comunicarlo al patólogo responsable para su corrección. Además, se debe verificar que el número de muestras en cada cassette coincida con lo registrado en la hoja de laboratorio, los fragmentos incluidos deben quedar al mismo nivel y también, se debe de dejar constancia de las muestras procesadas en la hoja de ingreso al laboratorio, consignando sus iniciales. Finalmente, se comprueba que los cassettes coincidan en número y cantidad con los datos registrados en la hoja de registro de laboratorio proveniente de la macroscopía. Los bloques (tacos) de inclusión se llevan al refrigerador (freezer) y, tras 15 a 30 minutos, quedan listos para realizar los cortes histológicos.

## 3. Etapa 3

Primero se realiza el desbaste de los tacos o cassettes de inclusión (corte grueso). El tecnólogo médico o histotecnólogo encargado debe verificar que la inclusión esté

correctamente realizada, de modo que la muestra quede completamente expuesta para el corte final. Si se detecta algún problema en la inclusión, la muestra debe regresar a la etapa correspondiente. Además, se debe dejar constancia de las muestras desbastadas en la hoja de ingreso al laboratorio. Los cortes finos se realizan utilizando un micrótomo calibrado, que permite obtener secciones de entre 3 y 5 micrones de espesor. Estos cortes se colocan en un flotador o baño María y luego se montan en un portaobjeto, el cual debe ser identificado con el número correspondiente a la biopsia. El tecnólogo médico o histotecnólogo debe confirmar que la cinta de parafina con el tejido corresponda correctamente a la inclusión; si existe algún problema con el desbaste, la muestra debe volver a la etapa previa. Los portaobjetos con cortes adecuados y correctamente identificados se colocan en canastillas. Para el secado de las láminas, se deben de colocar en una estufa con termoventilador durante 5 a 10 minutos, manteniendo una distancia mínima de 25 cm, o en una estufa a 60 °C durante 45 minutos. Este proceso permite que el tejido se adhiera firmemente a la superficie del portaobjeto.

#### 4. Etapa 4

El tecnólogo médico o histotecnólogo es el responsable de preparar y utilizar los colorantes para la tinción histológica, como la hematoxilina de Harris y la eosina amarilla. Asimismo, se encarga de preparar la batería de cubetas necesarias para los procesos de desparafinación, rehidratación y coloración primaria.

### **PROCESAMIENTO**

- Desparafinar los cortes en el xilol 1 durante 5 minutos.
- Desparafinar los cortes en el xilol 2 durante 5 minutos.
- Tratar los cortes en alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
- Tratar los cortes en alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.

- Tratar los cortes en el alcohol corriente 1 durante 5 minutos.
- Tratar los cortes en el alcohol corriente 2 durante 5 minutos.
- Si las secciones fueron fijadas con algún fijador mercurial, desenkerizar.
- Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
- Colorear con la hematoxilina de Harris durante 5 minutos. Este tiempo varía de acuerdo al grado de madurez y uso del colorante.
- Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
- Sumergir los cortes, rápidamente, 2 veces en el alcohol ácido al 1%.
- Lavar inmediatamente con agua corriente.
- Sumergir los cortes, rápidamente 3 veces en solución de agua amoniacal al 1%.
- Lavar inmediatamente con agua corriente y verificar si los núcleos están bien teñidos observando al microscopio.
- Colorear con la solución de trabajo de eosina, durante 2 minutos. Este tiempo varía de acuerdo con el uso del colorante.
- Lavar en agua corriente durante 1 minutos.
- Tratar los cortes, rápidamente 5 veces en el alcohol corriente 1.
- Tratar los cortes, rápidamente 5 veces en el alcohol corriente 2.
- Tratar los cortes en el alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
- Tratar los cortes en el alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.
- Tratar los cortes en el xilol 1 durante 5 minutos.
- Tratar los cortes en el xilol 2 durante 5 minutos.
- Las láminas montar en bálsamo de Canadá y cubrir con cubre-objeto.

**SE PROCEDE AL CONTROL DE CALIDAD DE LA COLORACIÓN:**

- Imagen histológica

- Coloración del núcleo
- Coloración del borde nuclear
- Coloración de la cromatina

#### 5. Etapa 5

Se verifica que las láminas histológicas coincidan en número y cantidad con los datos registrados en la hoja de registro del laboratorio. También se controla que la tinción sea adecuada y que la lámina este correctamente incluida. El tecnólogo médico o histotecnólogo debe dejar constancia de las muestras revisadas en la hoja de ingreso al laboratorio. Cada cassette corresponde a una inclusión y, como mínimo, a una lámina histológica teñida con Hematoxilina - Eosina, según las indicaciones adicionales en la hoja de registro del laboratorio. Toda esta información se ingresa en la base de datos del laboratorio. Finalmente, las láminas histológicas se adjuntan al borrador de macroscopía proporcionado por secretaría y se entregan al anatomopatólogo correspondiente.

### **3.9. Análisis de datos**

Los datos conseguidos de la recabación se analizarán por el paquete estadístico SPSS v.25.

Se utilizará un análisis univariado, donde las variables cuantitativas serán estimadas por distribución de frecuencias, medidas de tendencia central (medias) y de dispersión y para las variables cualitativas se estimarán por frecuencias absolutas y relativas (%).

Se utilizará el análisis bivariado de tal manera que se pueda analizar la efectividad del ácido cítrico como desparafinante. Por ello en primer lugar se aplicará la prueba de Kolmogorov – Smirnov, la cual informa cuando los datos siguen o no una distribución normal, luego de ello, se procederá a emplear una prueba paramétrica o no paramétrica para

dos muestras independientes como U de Mann Whitney o T de Student; considerará una diferencia significativa al momento que el p valor sea menor de 0.05.

### **3.10. Aspectos éticos**

En primera instancia se hará la gestión para la aprobación del proyecto por medio de la oficina de investigación de la Universidad Norbert Wiener, después se solicitará la conformidad para que se ejecute el protocolo a las autoridades del laboratorio del Hospital Nacional Arzobispo Loayza - Lima con la finalidad de realizar las pruebas en condiciones óptimas.

Para realizar el trabajo se respetarán los principios establecidos por la ética médica y los lineamientos del informe de Belmont:

- *Principio de Beneficencia y de no maleficiencia:* se buscará evaluar los beneficios del estudio para la institución, para el aporte científico, maximizando los beneficios y minimizando riesgos, ya que se trabajará con muestras ya procesadas, el estudio no generará daño ni riesgos para las personas.
- *Principio de respeto a las personas:* el estudio reconoce la autonomía de los individuos y la necesidad de proteger a quienes presentan una autonomía disminuida. En este estudio, este principio se garantiza mediante el manejo responsable de la información y el uso de muestras previamente recolectadas, sin intervención directa sobre los pacientes.
- *Principio de justicia:* el trabajo de investigación asegura una distribución equitativa de los beneficios de la investigación, evitando la carga injustificada sobre los grupos vulnerables y garantizando resultados que contribuyan al conocimiento científico y a la sociedad en general.

Por tanto, en este trabajo de investigación no implica riesgos físicos y/o psicológicos, de muerte y/o de alteración de la calidad de vida ni daños humanos puesto que las muestras de estudio son de pacientes previamente atendidos en dicho hospital, se recolectarán los datos a partir de muestras ya procesadas; asimismo la información obtenida será confidencial y bajo responsabilidad del investigador, quien otorga la seguridad y protección de la información.

## 4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

### 4.1. Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	2025				2026																							
	DICIEMBRE				ENERO				FEBRERO				MARZO				ABRIL				MAYO							
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
1. Revisión Bibliográfica	→																											
2. Elaboración del proyecto de investigación.		→	→	→																								
3. Aprobación del proyecto.						→	→	→																				
4. Selección de la población de estudio.										→	→	→																
5. Recolección de datos														→	→	→												
6. Procesamiento de los datos recogidos.															→	→												
7. Análisis estadístico de los datos.																		→	→	→								
8. Análisis e interpretación de los datos.																			→	→								
9. Redacción del informe final.																						→	→	→				
10. Revisión del informe final por el asesor.																							→	→				
11. Entrega del informe final.																								→				
12. Sustentación																											→	→

## 4.2. Presupuesto

CATEGORÍA	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTO DEL SERVICIO	COSTO TOTAL
Recursos Humanos	Asesor de investigación	1	--	--
	Asesor estadístico	1	S/1,200.00	S/1,200.00
Sub total				S/1,200.00
CATEGORÍA	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	P. UNITARIO	P. TOTAL
Recursos Materiales	USB	2	S/35.00	S/70.00
	Lápices	5	S/1.00	S/5.00
	Lapiceros	3	S/1.50	S/4.50
	Borrador	3	S/1.00	S/3.00
	Folders	5	S/1.00	S/5.00
	Láminas porta objetos	3	S/10.00	S/30.00
	Láminas cubre objetos	3	S/10.00	S/30.00
	Alcohol de 100°	2	S/10.00	S/20.00
	Alcohol de 95°	2	S/10.00	S/20.00
	Alcohol de 50°	1	S/10.00	S/10.00
	Hematoxilina	1	S/ 300.00	S/ 300.00
	Eosina	1	S/ 300.00	S/ 300.00
	Sub total			
CATEGORÍA	DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	COSTO UNITARIO	COSTO TOTAL
Servicios	Transporte	4	S/15.00	S/60.00
	Internet	--	--	S/200.00
	Otros gastos	--	S/160.00	S/160.00
Sub total				S/420.00
<b>TOTAL</b>				<b>S/2,417.50</b>

## 5. REFERENCIAS

1. Wisniak J. Auguste André Thomas Cahours. Para quitarle el polvo – Educación Química. México, 2013.
2. Moya J., Rojas V. Análisis de la problemática del xileno en los laboratorios Sudamericanos de citología. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2018; 65(3): 150-158.
3. Ministerio de seguridad. Manual básico – Precursores químicos. Argentina. 2016. P 59.
4. El peruano. Aprueban nueva lista de insumos químicos, productos y sus subproductos o derivados, objeto de control a que se refiere el Artículo 5 del Decreto Legislativo N° 1126. Disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/aprueban-nueva-lista-de-insumos-quimicos-productos-y-sus-su-decreto-supremo-n-348-2015-ef-1321388-4/>.
5. Pacheco Fr., Rodríguez M., Nazila B., Reyes A. Hemoglobina y conteo plaquetario en trabajadores de anatomía patológica expuestos a xileno. Venezuela, 2017. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*. 2018;19(2): 24-7.
6. Herrera P., García C., Delgado L. Eficacia disolvente y citotoxicidad del aceite de cáscara de limón (*Citrus limón*). *Revista Estomatológica Herediana*. 2019; 29(3).
7. Pécora J, Da Costa W, Filho D, José S. Apresentação de um óleo essencial obtido de *Citrus arantium*, eficaz desintegração do cimento de óxido de zinco-eugenol do interior do canal radicular. *Odonto*. 1992, 1(5): 130-2.
8. Ácido Cítrico. Disponible en: [http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/Acido\\_citrico.pdf](http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/pdf/Acido_citrico.pdf).
9. Esseki A, Hsini A, Naciri Y, Laabd M, Ajmal Z, et al. Novel citric acid-functionalized brown algae with a high removal efficiency of crystal violet dye from colored wastewaters: insights into equilibrium, adsorption mechanism, and reusability. *Int J*

- Phytoremediation [online magazine]. 2021 [Access on November 15, 2021]; 23(4): 336-346. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32898432/>
10. Franklin, D. & Guhanathan, S. Investigation of citric acid-glycerol based pH-sensitive biopolymeric hydrogels for dye removal applications: A green approach. *Ecotoxicol Environ Saf* [online magazine]. 2015 [Access on November 15, 2021]; 121: 80-6. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25982408/>
  11. Pico V. Aplicación de agua de Limón en reemplazo del Xilol, para comprobar su acción Desparafinizante en los cortes de tejido coloreados con Hematoxilina Eosina en el Laboratorio de Histopatología de Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central de Ecuador. [Tesis]. Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2015. [Acceso el 16 de noviembre del 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8243>
  12. Arias C. Aplicación de detergente en remplazo del xilol, en la acción desparafinante en tejidos coloreados con hematoxilina-eosina, Lima 2018. [Tesis]. Perú: Universidad Alas Peruanas; 21018. [Acceso el 16 de noviembre del 2021]. Disponible en: [https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/20.500.12990/2767/tesis\\_aplicaci%C3%B3n.detergente\\_reemplazo.Xilol\\_desparafinante\\_tejidos%20coloreados\\_hematoxilina.Eosina\\_Lima%202018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/20.500.12990/2767/tesis_aplicaci%C3%B3n.detergente_reemplazo.Xilol_desparafinante_tejidos%20coloreados_hematoxilina.Eosina_Lima%202018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  13. Adán. Aguardiente como alternativa en la coloración de Hematoxilina – Eosina en el Hospital General de Jaén II – 1. [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2023. [Acceso el 08 de enero del 2025]. Disponible en: <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/6648>
  14. Jesse & Frank. Agente desparafinizante xilol por jugo de limón em biopsias gástricas y coloración de hematoxilina eosina, laboratório Patología Oncológica SAC, Lima,

- 2021 [Tesis]. Perú: Universidad Continental; 2024. [Acceso el 08 de enero del 2025].  
Disponibile en: <https://repositorio.continental.edu.pe/handle/20.500.12394/15886>
15. Girano. Eficacia del isopropanol como aclarante en el procesamiento de tejidos pequeños en estufa realizados en el laboratorio Diagnósis SAC, 2023 [Tesis]. Perú: Universidad Continental; 2024. [Acceso el 08 de enero del 2025]. Disponible en: <https://repositorio.continental.edu.pe/handle/20.500.12394/14767>
  16. Velásquez J, Beltrán D, Padilla L, Giraldo G. Obtención de ácido cítrico por fermentación con aspergillus niger utilizando sustrato de plátano dominico hartón (musa aab simmonds) maduro. Revista Tumbaga [Revista en Internet]. 2010 [Acceso el 17 de noviembre del 2021]; 5: 135-147. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3628261.pdf>
  17. Ácido Cítrico. 2015. Disponible en: <https://quimipur.com/pdf/acido-citrico-anhidro.pdf>
  18. Moreno, M., Pinto, D., García, P. y Belén, C. Efecto del ácido cítrico sobre la madurez del tomate de árbol. Rev. Fac. Agron [Revista en Internet]. 2007 [Acceso el 17 de noviembre del 2021], 24 (2). Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-78182007000200008](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182007000200008)
  19. Fujian Chan. Hoja de seguridad - Ácido cítrico. 2009.
  20. Mesa, L. Avances en la producción de ácido cítrico a partir de miel final por Aspergillus Niger. Revista Cubana de Química [Revista en Internet]. 2005 [Acceso el 17 de noviembre del 2021]; 17(1): 171-178. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4435/443543685076.pdf>
  21. Rivada F. Planta industrial de producción de ácido cítrico a partir de melazas de remolacha. 2008. [Acceso el 17 de noviembre del 2021]. Disponible en:

<https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/6411/34254675.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

22. Abín, L., Coto, O., Marrero, B. y Marrero, J. Estudio fisiológico de la producción de ácido cítrico por *Aspergillus niger* O-5 Revista CENIC. Ciencias Biológicas [Revista en Internet]. 2004 [Acceso el 17 de noviembre del 2021]; 35 (1): 15-18.  
<https://www.redalyc.org/pdf/1812/181226086003.pdf>
23. Arriola, E. Solución dispersante de parafinas y asfáltenos, una solución para el sostenimiento y optimización en la producción de crudo. 2017. [Acceso el 17 de noviembre del 2021]. Disponible en:  
<http://petroquimex.com/PDF/MayJun17/Parafinas-Asfaltenos.pdf>
24. Dilisur. Desparafinante. 2018. [Acceso el 17 de noviembre del 2021]. Disponible en:  
<https://www.dilusur.com/es/eliminador/836-desparalex-20-1.html>
25. Walwyn V, Iglesias M, Almarales R. Utilidad de técnicas histológicas para el diagnóstico de infección en piezas anatómicas. Rev Cub Med Mil [Revista en Internet]. 2004 [Acceso el 17 de noviembre del 2021]; 33(2).  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572004000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572004000200006)
26. Guerrero, R., Rojas, M. y Fortoul, T. Capítulo 2: Técnica histológica. En T. Fortoul (Ed.), 2017. Histología y biología celular.
27. Montalvo, C. Técnica Histológica. México: Universidad Nacional Autónoma de México. 2010. [Acceso el 17 de noviembre del 2021]. Disponible en:  
[http://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/3\\_tecnica\\_histologica.pdf](http://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/3_tecnica_histologica.pdf)
28. Universidad Nacional del Nordeste. Histología: Métodos e instrumentos de estudio de la histología. Parte I: técnica histológica. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste; 2013. [Acceso el 17 de noviembre del 2021]. Disponible en:

[https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/histologia\\_med\\_cat2/GUIA%201%20%202013.pdf](https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/histologia_med_cat2/GUIA%201%20%202013.pdf).

29. Rubiano K., Cárdenas J., Ciro – Velásquez H. Evaluación de las propiedades termodinámicas y térmicas del D – Limoneno encapsulado mediante secado por aspersión. Colombia, 2015. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica.
30. Sun J. D-limonene: Safety and Clinical Applications. Alternative Medicine Review. Volumen 12, Number 3. 2007.
31. Quispe Chancas N. Beta vulgaris como colorante natural de tinción nuclear para el diagnóstico histopatológico de mama en el Hospital Alberto Sabogal Sologuren, Callao. 2022 [tesis]. Lima (PE): Universidad Privada Norbert Wiener; 2022
32. Páez G. Efectividad. 2020. [Acceso el 09 de diciembre del 2021]. Disponible en: <https://economipedia.com/definiciones/efectividad.html>
33. Quiminet. Características y usos del ácido cítrico. 2011. [Acceso el 09 de diciembre del 2021]. Disponible en: <https://www.quiminet.com/articulos/caracteristicas-y-usos-del-acido-citrico-57158.htm>
34. Megias M. Tejidos animales. TEJIDO EPITELIAL. 2022. [Acceso el 08 de enero del 2022]. Disponible en: [https://mmegias.webs.uvigo.es/guiada\\_a\\_epitelios.php](https://mmegias.webs.uvigo.es/guiada_a_epitelios.php)
35. Instituto Nacional del Cáncer. Tinción con hematoxilina y eosina. 2022. [Acceso el 08 de enero del 2022]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/tincion-con-hematoxilina-y-eosina>
36. Ccallata, JA. Utilidad del xileno y el alcohol isopropílico en el procesamiento histológico de piezas de necropsias, laboratorio de histotecnología. [Tesis]. Perú: Universidad Alas Peruanas; 2018. [Acceso el 25 de Abril del 2023]. Disponible en:

[https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/8808/Tesis\\_Utilidad\\_Xileno\\_Alcohol\\_Isopropilico.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/8808/Tesis_Utilidad_Xileno_Alcohol_Isopropilico.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

## 6. ANEXOS

### 6.1. Matriz de consistencia

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variable	Metodología
<p><b>Principal:</b></p> <p>¿Cuál es la efectividad de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?</p> <p><b>Problemas Secundarios:</b></p>	<p><b>General:</b></p> <p>Evaluar la efectividad de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.</p> <p><b>Objetivos Secundarios:</b></p>	<p><b>Hipótesis general:</b></p> <p><b>HI:</b> La aplicación del ácido cítrico como desparafinante y aclarante en la reparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina es tan efectiva como el xileno y los alcoholes para preservar la morfología tisular y la calidad de la tinción, ofreciendo una alternativa más segura y</p>	<p><b>Variable 1:</b></p> <p>Efectividad del ácido cítrico.</p> <p><b>Variable 2:</b></p>	<p><b>Enfoque:</b></p> <p>Cuantitativo</p> <p><b>Tipo de investigación:</b></p> <p>Diseño experimental, de tipo aplicada.</p> <p><b>Método:</b></p> <p>Hipotético deductivo.</p> <p><b>Diseño:</b></p> <p>Cuasi experimental</p> <p><b>Población:</b> 100 cortes histológicos de biopsias</p>

<p>¿Cuál es la calidad de la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a la morfología celular entre grupos en la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en los preparados histológicos en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?</p>	<p>Determinar la calidad de la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a la morfología celular en la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en los preparados histológicos en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.</p>	<p>potencialmente más clara en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.</p> <p><b>H0:</b> La aplicación del ácido cítrico como desparafinante y aclarante en la reparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina – Eosina no es tan efectiva como el xileno y los alcoholes para preservar la morfología tisular y la calidad de la tinción, ofreciendo una alternativa más segura y potencialmente más clara en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza – Lima del 2025.</p>	<p>de mama embebidos en parafina para la coloración Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima en el año 2026.</p> <p><b>Técnica:</b> Observación.</p> <p><b>Instrumento:</b> Guía de observación.</p>
<p>¿Cuál es la concentración y el tiempo de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos</p>	<p>Evaluar la concentración y el tiempo de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos</p>		

<p>con hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?</p> <p>¿Cuál es la efectividad del Ácido Cítrico con la parafina y la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a los patrones histológicos neoplásicos en biopsias de mama en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026?</p>	<p>con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.</p> <p>Evaluar la efectividad del Ácido Cítrico con la parafina y la tinción de Hematoxilina - Eosina con respecto a los patrones histológicos neoplásicos en las biopsias de mama en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.</p>	<p><b>Hipótesis específicas:</b></p> <p>La calidad de la tinción de Hematoxilina – Eosina en preparados histológicos evaluados a través la morfología celular, es decir, de la claridad nuclear y la coloración citoplasmática, no presenta diferencias significativas entre el grupo control, donde se utilizó el xileno como agente desparafinante y aclarante, y el grupo de estudio, en el cual</p>		
--	---	---	--	--

		<p>se utilizó el ácido cítrico con la misma finalidad.</p> <p>Existe una relación directa entre la concentración del Ácido Cítrico y el tiempo de exposición con su eficacia como agente desparafinante y aclarante en cortes histológicos procesados con Hematoxilina – Eosina, el cual se observa un punto óptimo en el que dichas variables permiten mejorar la claridad tisular y, al mismo tiempo, reduce el uso de solventes orgánicos tóxicos.</p>		
--	--	---	--	--

		<p>El uso de Ácido Cítrico en el procesamiento de biopsias de mama mejora significativamente la claridad y el detalle de los patrones histológicos neoplásicos en la tinción de Hematoxilina – Eosina, incluyendo la atipia nuclear, la arquitectura tumoral y la presencia de mitosis, el cual, facilita un diagnóstico más preciso y una clasificación histológica más robusta en comparación con el método tradicional de procesamiento con parafina</p>		
--	--	---	--	--

		sin la incorporación de Ácido Cítrico.		
--	--	--	--	--

## 6.2. Instrumento de recolección de datos

**“EFECTIVIDAD DEL ÁCIDO CÍTRICO COMO DESPARAFINANTE Y  
ACLARANTE EN CORTES HISTOLÓGICOS TEÑIDOS CON HEMATOXILINA –  
EOSINA, HOSPITAL ARZOBISPO LOAYZA - LIMA, 2026”**

El presente instrumento de recolección de datos, está dirigido a los expertos que evaluarán el siguiente trabajo de investigación, donde el objetivo principal es evaluar la efectividad de la aplicación del Ácido Cítrico como desparafinante y aclarante en la preparación de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina - Eosina en el Hospital Arzobispo Loayza – Lima del 2026.

Le agradeceré que responda a todas las preguntas con una “X” según corresponda, donde:

N°	PREGUNTAS	EXCELENTE	BUENO	REGULAR	MALO	PÉSIMO
		4	3	2	1	0
1	Según lo que observa, ¿El Ácido cítrico puede disolver la parafina?					
2	Según lo que observa, ¿El Ácido Cítrico puede eliminar la parafina?					
3	Según su experiencia, ¿Cree Ud. que, al utilizar el Ácido Cítrico, estas van a conservar las estructuras histológicas?					
4	¿El Ácido Cítrico interactúa con el agente deshidratante?					
5	¿Será de gran utilidad reemplazar el Ácido Cítrico ya que es biodegradable?					
6	Según lo que observa, ¿El Ácido Cítrico puede eliminar el agente deshidratante?					
7	Al utilizar el Ácido Cítrico, ¿Esta puede					

	asegurar la transparencia de los tejidos?					
<b>8</b>	Según lo que observa, al utilizar el Ácido Cítrico en la coloración, ¿Esta produce aumento de índice de refracción?					
<b>9</b>	Al momento de realizar el procedimiento de la aclaración, ¿Ud. puede observar que el Ácido Cítrico no disuelve el colorante?					
<b>10</b>	Al momento de realizar el procedimiento de la aclaración, ¿puede observar que el Ácido Cítrico no se evapora?					
<b>11</b>	Al momento de realizar el montaje, ¿Ud. Puede observar que el Ácido Cítrico interactúa de buena manera con el medio de montaje?					
<b>12</b>	Al momento de utilizar el Ácido Cítrico en el procedimiento de la aclaración, ¿Ud. Puede observar que se produce una buena claridad en la imagen histológica?					

.....  
**FIRMA DEL EXPERTO**




# 15% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

## Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

## Fuentes principales

- 15%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 8%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## Fuentes principales

- 15% Fuentes de Internet
- 0% Publicaciones
- 8% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	www.coursehero.com	4%
2	Internet	repositorio.uwiener.edu.pe	3%
3	Internet	revistas.upch.edu.pe	3%
4	Internet	documentop.com	<1%
5	Internet	cybertesis.unmsm.edu.pe	<1%
6	Internet	repositorio.continental.edu.pe	<1%
7	Internet	www.renpre.gov.ar	<1%
8	Internet	1library.co	<1%
9	Internet	repositorio.unheval.edu.pe	<1%
10	Internet	repositorio.unfv.edu.pe:8080	<1%
11	Internet	www.pvem.org.mx	<1%