



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA DE
TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ÁREA DE LABORATORIO CLINICO Y ANATOMIA
PATOLOGICA**

**“EFICIENCIA DEL VINAGRE (ÁCIDO ACÉTICO) COMO
DESCALCIFICANTE DE BIOPSIAS DE HUESO OBTENIDAS
DE PACIENTES DEL HOSPITAL MARÍA AUXILIADORA.”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO
CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA**

JUAN SEBASTIAN LOPEZ MENDIETA

ASESORES:

Lic. EDUARDO SEDANO GELVET

Lima, Perú

2017

HOJA DE APROBACIÓN

JUAN SEBASTIAN LOPEZ MENDIETA

**“EFICIENCIA DEL VINAGRE (ÁCIDO ACÉTICO) COMO
DESCALCIFICANTE DE BIOPSIAS DE HUESO OBTENIDAS DE
PACIENTES DEL HOSPITAL MARÍA AUXILIADORA.”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de
Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio clínico y
Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas.

LIMA – PERÚ

2017

Se Dedicar este Trabajo:

A Dios y a mi Señor Jesucristo, porque siempre han estado a mi lado en cada paso que doy.

A mis Padres, que con esfuerzo, sacrificio y amor me apoyaron hasta el final de mi objetivo.

A mi Hermano que significan una parte muy importante en mi caminar.

A mis amigos Joel, Diego, Jorge y Saby que siempre me alentaron a seguir superándome para llegar a ser un gran profesional y que me supieron acompañar en los buenos y malos momentos.

A los licenciados, médicos y técnicos del Hospital María Auxiliadora por todos sus consejos que me dieron, me dan y me darán para ser mejor persona y profesional cada día de mi vida

Se Agradece por su Contribución para el Desarrollo de esta Tesis a:

Al Lic. TM. Eduardo Sedano y Lic. TM. Ricardo Neira, por su asesoría y ayuda constante en la realización del presente trabajo.

A mi Alma Mater “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” quien la llevo en mi corazón a todo lugar y en todo momento.

Al Hospital María Auxiliadora, por permitirme realizar este presente trabajo de investigación y abrirme las puertas de su instalación

EPIGRAFE: Lo imposible es el fantasma de los tímidos
y el refugio de los cobardes. **Napoleón Bonaparte**

RESUMEN

La biopsia de hueso es un procedimiento en el cual una pequeña muestra de hueso es removida del cuerpo y examinada bajo el microscopio, para lo cual un paso fundamental es una óptima descalcificación de la muestra para poder obtener al final una buena lamina histológica a examinar.

El tipo de estudio realizado es experimental, el objetivo fue determinar si el vinagre es un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del hospital María Auxiliadora. La población objeto de estudio fueron 40 muestras. El instrumento utilizado es el instrumento de evaluación de uso común en el laboratorio de anatomía patológica el cual está destinado a indagar la correcta coloración y estructura de los organelos de la célula para lo cual se usan criterios ya pre establecidos en histomorfología (color del núcleo, color del citoplasma, detalles el núcleo, detalles el citoplasma y coloración de las fibras colágenas).

Los resultados obtenidos fueron que del total de las muestras que se procesaron con la técnica usando ácido nítrico, el patólogo 1 presenta una media de 17.9 y el patólogo 2 de 18.175, no siendo lo suficiente para señalar diferencias significativas. Del total de las muestras que se procesaron con la técnica de vinagre se observa que el patólogo 1 presenta una media de 17.075 y el patólogo 2 de 17.75, observándose que no muestran diferencias significativas. En las dos técnicas se observa que el ácido nítrico presenta una media de 18.0375 y el vinagre de 17.4125 y no son lo suficiente para señalar diferencias significativas. Se realizó la prueba de ANOVA, considerando el ensayo como cuantitativo, en función a los avalores obtenidos por las técnicas. Se obtiene un $p=0.0004$ concluyendo que la media de ambas técnicas son estadísticamente iguales entre sí.

Palabras clave: Descalcificantes; Acido Nítrico; Biopsia de hueso; Anatomía Patológica; Coloración

ABSTRACT

Bone biopsy is a procedure in which a small sample of bone is removed from the body and examined under the microscope, for which a fundamental step is an optimum decalcification of the sample in order to obtain at the end a good histological lamina to examine.

The type of study performed is experimental, the objective was to determine if vinegar is an efficient decalcifier of bone biopsies obtained from patients of the Hospital María Auxiliadora. The study population was 40 samples. The instrument used is the evaluation instrument commonly used in the laboratory of pathological anatomy which is intended to investigate the correct coloration and structure of the organelles of the cell for which criteria already established in histomorphology are used (color of the nucleus, Color of the cytoplasm, details the nucleus, details the cytoplasm and coloration of collagen fibers).

The results obtained were that of the total of the samples that were processed with the technique using nitric acid, the pathologist 1 presents an average of 17.9 and the pathologist 2 of 18,175, not being enough to point out significant differences. From the total of the samples that were processed with the technique of vinegar it is observed that the pathologist 1 presents an average of 17,075 and the pathologist 2 of 17.75, observing that they do not show significant differences. In the two techniques it is observed that nitric acid has an average of 18.0375 and vinegar of 17.4125 and are not enough to indicate significant differences. The ANOVA test was performed, considering the test as quantitative, in function of the evaluators obtained by the techniques. A $p = 0.0004$ was obtained concluding that the mean of both techniques are statistically equal to each other.

Keywords: Decalcifiers; Nitric acid; Bone biopsy; Pathological anatomy; Coloration

ÍNDICE

| | | |
|--|----|----|
| CARATULA..... | 01 | |
| HOJA DE APROBACION..... | 02 | |
| DEDICATORIA..... | 03 | |
| AGRADECIMIENTO..... | 04 | |
| RESUMEN..... | 06 | |
| ABSTRACT..... | 07 | |
| LISTA DE CONTENIDO (INDICE)..... | 08 | |
| INTRODUCCION..... | 11 | |
| CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | | |
| 1.1. Planteamiento del Problema..... | 12 | |
| 1.2. Formulación del Problema..... | 13 | |
| 1.2.1. Problema General..... | 13 | |
| 1.2.2. Problemas Específicos..... | 13 | |
| 1.3. Objetivos..... | 14 | |
| 1.3.1. Objetivo General..... | 14 | |
| 1.3.2. Objetivos Específicos..... | 14 | |
| 1.4. Hipótesis..... | 15 | |
| 1.4.1. Hipótesis General..... | 15 | |
| 1.4.2. Hipótesis Específicas..... | 15 | |
| 1.5. Justificación..... | 15 | |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO | | |
| 2.1. Bases Teóricas..... | 16 | |
| 2.2. Antecedentes..... | 22 | |
| 2.2.1. Antecedentes Internacionales..... | 22 | |
| 2.2.2. Antecedentes Nacionales..... | 22 | |
| CAPÍTULO III: METODOLOGÍA..... | | 23 |
| 3.1. Diseño del Estudio..... | 23 | |
| 3.2. Población..... | 23 | |
| 3.2.1. Criterios de Inclusión..... | 23 | |
| 3.2.2. Criterios de Exclusión..... | 23 | |

| | |
|---|----|
| 3.3. Muestra..... | 23 |
| 3.4. Operacionalización de Variables..... | 24 |
| 3.5. Procedimientos y Técnicas..... | 25 |
| 3.6. Plan de Análisis de Datos..... | 28 |

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

| | |
|-------------------------------------|----|
| 4.1. Descripción de resultados..... | 29 |
| 4.2. Conclusiones..... | 35 |
| 4.3. Recomendaciones..... | 36 |

| | |
|--|-----------|
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 37 |
|--|-----------|

| | |
|--------------------|-----------|
| ANEXOS..... | 39 |
|--------------------|-----------|

| | |
|------------------------------------|-----------|
| MATRIZ DE CONSISTENCIA..... | 43 |
|------------------------------------|-----------|

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla N°1: Criterio histomorfológico..... | 26 |
| Tabla N°2: Análisis descriptivos (ácido nítrico)..... | 30 |
| Tabla N°3: Prueba de normalidad de Shapiro Wilk (ácido nítrico)..... | 30 |
| Tabla N°4: Prueba de homogeneidad de varianza yanova (ácido nítrico)..... | 31 |
| Tabla N°5: Análisis descriptivos (vinagre)..... | 31 |
| Tabla N°6: Prueba de normalidad de Shapiro Wilk (vinagre)..... | 32 |
| Tabla N°7: Prueba de homogeneidad de varianza yanova (vinagre)..... | 32 |
| Tabla N°8: Análisis descriptivos (ácido nítrico y vinagre)..... | 33 |
| Tabla N°9: Prueba de normalidad de Shapiro Wilk (ácido nítrico y vinagre)..... | 33 |
| Tabla N°10: Prueba de homogeneidad de varianza yanova (ácido nítrico y vinagre)..... | 33 |

INTRODUCCION

La presente tesis es una investigación que tiene por objetivo determinar si el vinagre es una descalcificante eficiente de biopsias de hueso, para lo cual se procesaron un grupo de muestras usando como descalcificante al vinagre y el otro grupo usando como descalcificante ácido nítrico (gold standard). Las muestras fueron obtenidas del Hospital María Auxiliadora durante el periodo de agosto 2014 a julio 2015.

El trabajo presenta los siguientes capítulos:

En el capítulo I se presenta el planteamiento de la investigación, el problema, objetivos, hipótesis y la justificación donde se da a conocer la importancia del porqué se realiza la presente tesis.

En el capítulo II se abordan los aspectos teóricos así como también algunos antecedentes internacionales.

En el capítulo III se presenta el diseño, la población y se procede a detallar el procedimiento y la técnica como fueron tratadas las muestras y la forma en que posteriormente se evaluarán.

En el capítulo IV se ofrece los resultados, conclusiones y las recomendaciones de esta tesis.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema:

La biopsia de hueso es un procedimiento donde se obtiene una pequeña muestra de hueso la cual es removida y examinada en el microscopio, para realizar una biopsia de hueso se hace una pequeña incisión en la piel, insertando una aguja especial para dicho fin, mediante la cual se obtendrá la muestra a estudiar.

La interpretación de muestras histológicas de tejidos de hueso, linfo-hematopoyético (hueso, médula ósea, los ganglios linfáticos, el timo) es un examen muy complejo debido a la alta complejidad en la composición de tejidos que comprenden el hueso, linfoide, mieloide, dendrítica, células epiteliales y estructuras óseas notoriamente difíciles mostrando "Fronteras difusas" y estructuras complejas. (1), Por este motivo el refinamiento de las técnicas para estos procedimientos ha ido mejorando con el paso de los años y el avance de la tecnología.

Siendo la descalcificación uno de los pasos más importantes para la correcta tinción y estudio de biopsias de hueso, existen diferentes métodos para realizar dicho procedimiento desde el uso de ácidos fuertes, débiles e incluso el uso de preparados de uso comercial como es el caso de OSTEOMOLL® y OSTEOSOFT® que son un productos de la compañía Merck, el primero es recomendado para muestras que no serán sometidas a tinción inmunohistoquímica y el segundo es recomendado para muestras que serán sometidas a una tinción de inmunohistoquímica.(2) Estos preparados funcionan con gran eficacia, pero a pesar de esto una gran limitante con respecto a estos insumos es el alto precio.

Uno de los compuestos que son usados con gran eficiencia en el laboratorio para el proceso de descalcificación de las muestras óseas, es el ácido nítrico. Pero el problema que se presenta con el uso de ácido nítrico es la dificultad en acceder a cantidades adecuadas de este insumo pues se encuentra dentro del grupo de sustancias controladas por la Dirección Nacional de control de Drogas, por tal motivo es pertinente buscar nuevas alternativas, para realizar la misma función pero sin tener el problema de acceso por ser un producto restringido o tener el problema de acceso por el alto costo de los materiales, en ese sentido planteamos usar vinagre como descalcificante de las biopsias de hueso, así de esta manera proveer de un insumo de bajo costo y fácil acceso.

1.2. Formulación del Problema:

1.2.1. Problema General:

¿El vinagre será un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del hospital María Auxiliadora?

1.2.2. Problemas Específicos:

- ¿El vinagre modificará las características morfológicas del citoplasma de las biopsias de hueso?
- ¿El vinagre modificará las características del núcleo de las biopsias de hueso?
- ¿El vinagre modificará la afinidad de las biopsias de hueso ante los colorantes usados normalmente en el laboratorio de patología?

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo General:

Determinar si el vinagre es un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del hospital María Auxiliadora

1.3.2. Objetivos Específicos:

- Determinar si el vinagre modificará las características morfológicas del citoplasma de las biopsias de hueso.
- Determinar si el vinagre modificará las características del núcleo de las biopsias de hueso.
- Determinar si el vinagre modificará la afinidad de las biopsias de hueso ante los colorantes usados normalmente en el laboratorio de patología.

1.4. Hipótesis

H1: El vinagre es un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del Hospital María Auxiliadora

H0: El vinagre no es un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del Hospital María Auxiliadora

1.5. Justificación:

El planteamiento de este tema de investigación se basa fundamentalmente en la necesidad y búsqueda de métodos alternativos que puedan ayudar a mejorar el diagnóstico de laboratorio, por tal motivo el uso de vinagre (ácido acético) como una alternativa al uso estandarizado de ácido nítrico como descalcificante en el proceso de tinción de biopsias de hueso, se da como una necesidad en nuestro país siendo dos puntos los más importantes para este planteamiento, la búsqueda de la disminución de costos en el laboratorio y el difícil acceso que se tiene al ácido nítrico por ser una sustancia controlada por la Dirección Nacional de control de Drogas (Dinandro), pues este ácido es usado en la fabricación de sustancias ilícitas.

Por todo lo expuesto anteriormente, creemos que la investigación del uso del vinagre (ácido acético) como descalcificante de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del Hospital María Auxiliadora podría aportar en la mejora de los métodos usados normalmente en el laboratorio y de esta manera también aportar en la disminución de los costos.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas:

El hueso tiene funciones mecánicas y de homeostasis, protegiendo los órganos internos, permitiendo la locomoción, y sirve como un depósito para la homeostasis del calcio. Con el envejecimiento y algunas enfermedades, estas funciones se van deteriorando por tal motivo el hueso se vuelve más frágil y menos capaz de realizar sus funciones mecánicas, y las reservas de calcio a menudo se agotan. El hueso es una estructura compuesta, que consta de cristales, minerales inorgánicos, una matriz extracelular orgánica, células, lípidos y agua. Los cristales son minerales análogos al mineral geológico, hidroxiapatita. La mayoría de los cristales minerales contienen impurezas, principalmente carbonatos, magnesio, citrato, y otros oligoelementos cuyo contenido depende de lo que el animal ha ingerido. La matriz orgánica principalmente se encuentra conformada por colágeno I, pero, otros tipos de colágeno y varias otras proteínas no colágenas, también están presentes (3) (4)

El entendimiento de la fisiología ósea se aceleró en la década de 1950 con el desarrollo de nuevas técnicas para la inclusión de las muestras de hueso para el examen microscópico de secciones sin desmineralizar por completo el tejido óseo. Antes de esto, la histología ósea requería la completa eliminación de su principal componente, el mineral. Esta nueva tecnología fue refinada en varios laboratorios, en particular, en el laboratorio de Radiobiología en la Universidad de Utah (5) durante toda la década de los años 50 – 60 se logró describir la estructura y ultra estructura del hueso.

Hueso

Las características histológicas del hueso son determinadas tomando en cuenta que es un tipo de tejido conjuntivo. Su característica principal está dada por que es uno de los pocos tejidos que se mineralizan en condiciones normales. Bioquímicamente, se caracteriza por contener una mezcla especial de matriz orgánica (35%) y de elementos inorgánicos (65%). La porción inorgánica, o hidroxapatita cálcica, $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, es el mineral que brinda resistencia y dureza al hueso y donde se aloja el 99% del calcio, el 85% del fósforo y el 65% del sodio y el magnesio del cuerpo. La formación de cristales de hidroxapatita en el hueso consiste en un paso de líquido a sólido. Es un proceso que implica una iniciación e inducción de la mineralización por efecto de la matriz orgánica y este proceso es estrictamente regulado por numerosos factores moleculares y de señales intracelulares, muchos de los cuales todavía se desconocen. El tiempo que toma la mineralización es variable, pero normalmente existe un intervalo de 12 a 15 días entre la formación de la matriz y su mineralización. (6)

Los componentes orgánicos del hueso son las células óseas y las proteínas de la matriz. Las células formadoras de hueso son las células osteoprogenitoras, llamados osteoblastos y los osteocitos. La aparición y estimulación de estas células están reguladas por citocinas y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento (FGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF); el factor de crecimiento afín a la insulina, y el factor transformador decrecimiento β (TGF- β) (6)

Los osteoblastos están ubicados en la superficie del hueso, y sintetizan, organizan y transportan las sustancias que forman la matriz. Los osteoclastos son las células encargados de la reabsorción ósea y su células madre son las mismas células progenitoras hematopoyéticas que producen también los monocitos y los macrófagos. Los osteoclastos presentan receptores en su superficie, con los que captan muchas hormonas (hormona paratiroidea, vitamina D y estrógenos) citocinas y factores de crecimiento, y proteínas de la matriz extracelular. En el momento que los osteoblastos quedan rodeados de matriz, se les conoce como osteocitos (6)

Para el proceso de diferenciación y maduración los osteoclastos son de suma importancia tales como algunas citocinas, como las interleucinas (IL)-1, IL-3, IL-6, IL-11, el factor de necrosis tumoral (TNF), el factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y el factor estimulante de las colonias de

macrófagos (M-CSF). El osteoclasto en su estado maduro contiene aprox. entre 6 a 12 núcleos, dicho osteoclasto se formó por fusión de unos precursores mononucleares circulantes y está íntimamente unido a la superficie del hueso. Cuando los osteoclastos comienzan a funcionar, se unen a las proteínas de adhesión de la matriz, y labran en el hueso las lagunas de resorción de forma festoneada, donde a menudo residen, que se llaman lagunas de Howship (6)

Normalmente, el hueso reticular se encuentra en el esqueleto fetal y se forma en las placas de crecimiento. Tiene como ventajas que se produce rápidamente, y que resiste por igual las fuerzas que se ejercen en cualquier dirección. En cambio, la presencia de hueso reticular en el adulto indica siempre la existencia de un proceso patológico, si bien no permite el diagnóstico de ninguna enfermedad concreta. Por ejemplo, cuando es necesario lograr una reparación estable y rápida como en el caso de una fractura, se forma hueso reticular, y esto mismo ocurre alrededor de los focos de infección y en la matriz de los tumores formadores de hueso. El hueso laminar, que sustituye gradualmente a hueso reticular durante el crecimiento, se deposita mucho más lentamente, y es más resistente que el hueso reticular. Existen cuatro clases de hueso laminar. Tres están solo en la cortical: circunferencial, concéntrico e intersticial. La cuarta clase, las láminas trabeculares, forman las trabéculas óseas, donde las láminas están orientadas paralelamente al eje mayor de la trabécula. (6)

La fase inicial de la formación de hueso es la secreción de moléculas de colágeno (monómeros de colágeno) y sustancia fundamental (principalmente proteoglicanos) por los osteoblastos. Los monómeros de colágeno se polimerizan rápidamente para formar fibras de colágeno; el tejido resultante se convierte en osteoide, un material parecido al cartílago pero que difiere de este en que fácilmente precipitan en él sales de calcio. A medida que se forma el osteoide algunos de los osteoblastos quedan atrapados en el osteoide y entran en fase de reposo; entonces se denominan osteocitos. (6)

En pocos días tras la formación del osteoide, comienzan a precipitar sales de calcio sobre las superficies de las fibras colágenas. El precipitado aparece primero con intervalos a lo largo de cada fibra de colágeno, formando diminutos nidos que rápidamente se multiplican y crecen durante días o semanas para formar el producto final, los cristales de hidroxapatita. (6)

Las sales de calcio que se depositan en primera instancia no son los cristales de hidroxiapatita, sino compuestos amorfos (no cristalinos), constituidos por una mezcla de sales como $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, y otros. Después, por un proceso de sustitución y adición de átomos, o reabsorción y nueva precipitación, estas sales se convierten en cristales de hidroxiapatita en un período de semanas o meses. Sin embargo, un pequeño porcentaje puede continuar permanentemente en forma amorfa. Esto es importante, porque estas sales amorfas pueden reabsorberse rápidamente cuando existe una necesidad adicional de calcio en el líquido extracelular. (6)

Los osteoblastos y los osteoclastos actúan coordinadamente y se consideran como la unidad funcional del hueso llamada unidad multicelular básica. Los procesos de formación y resorción del hueso están íntimamente acoplados, y del equilibrio entre ambos depende el volumen que alcanza la masa esquelética en todo momento. Cuando el esqueleto se desarrolla y aumenta de tamaño (modelación), predomina la formación de hueso. Cuando el esqueleto alcanza su madurez, la degradación y renovación óseas que permiten el mantenimiento del esqueleto se llama remodelación (7)

La masa ósea máxima depende de varios factores, como el tipo de receptores de la vitamina D que se han heredado, el estado de nutrición, el grado de actividad física, la edad y el estado hormonal. La masa ósea máxima se alcanza al comienzo de la edad adulta y, en ese momento, cada año se recambia o remodela un 5 al 10% aproximadamente del esqueleto, y la cantidad de hueso formado y reabsorbido por las unidades multicelulares básicas se mantiene en equilibrio. Sin embargo, al comenzar el cuarto decenio de la vida, la cantidad de hueso que se reabsorbe supera al que se forma y comienza una disminución constante de la masa esquelética. (7)

Descalcificantes

El proceso de tinción de biopsias de hueso necesita de un paso fundamental, el cual es la decalcificación, la cual puede ser llevada a cabo por diferentes sustancias químicas, dentro de los cuales tenemos

OSTEOMOLL

Es un producto comercial que es usado para descalcificar muestras de hueso las cuales luego serán teñidas, el producto contiene una solución de CH_2O al 4% y HCL al 10% , lo cual permite una perfecta descalcificación del hueso que será teñido posteriormente, el proceso toma aproximadamente 8 horas. El tiempo que se debe usar para descalcificar la biopsia de hueso es determinado en cada laboratorio de acuerdo a las condiciones en que se procesara la muestra y a ensayos previamente realizados siempre tomando en cuenta las recomendaciones del fabricante. (2)

ACIDO NITRICO

El ácido nítrico es un descalcificante muy eficiente y que se puede usar de diferentes formas tales como ácido nítrico al 5 % o ácido nítrico en solución alcohólica al 7 %, es un líquido corrosivo, tóxico, que puede ocasionar graves quemaduras. (8)

En el caso de que la solución de ácido nítrico sea alcohólica el tiempo medio de descalcificación para un bloque óseo de 5mm de espesor es de 12 a 24 horas.

Ventajas:

- Provoca rápida descalcificación
- Causa baja retracción tisular.
- Mejor coloración de los núcleos que la solución de formol y nítrico
- No es necesario neutralizar el agente descalcificante sino que puede pasar directamente el tejido a etanol de 70° para iniciar la deshidratación.

Inconvenientes:

- El prolongado tiempo de descalcificación suele anular la fijación previa y alterar progresivamente el tejido.

EDTA

El EDTA es el ácido etildiaminotetraacético, este ácido produce sustracción de iones cálcicos, lo cual se realiza de forma muy lenta pero posee la ventaja de no inducir artefactos, como también preservar mejor las características morfológicas del tejido y conservar mejor los antígenos, esto es de suma utilidad en inmunohistoquímica. (9)

Pruebas de control sobre el grado de descalcificación tisular

Encontrar el tiempo óptimo de descalcificación tisular es importante porque una duración mayor provoca maceración y destrucción celular y un acortamiento provoca que no se puedan tener cortes adecuados en el micrótomos. Por ese motivo es de suma importancia tener mecanismo que permitan establecer el control y saber que el proceso está siendo exitoso.

Existen 3 tipos de métodos:

1. Físicos: que se basan en la experiencia del técnico para detectar mediante el tacto el grado de dureza y calcificación tisular, histológicamente es muy subjetivo y puede dañar el tejido durante la manipulación por lo cual no son aconsejables.
2. Radiológicos: bastante sensibles pero requieren equipos complejos y costosos.
3. Químicos: son los que se usan con mayor frecuencia y se basan en la detección de iones cálcicos en el líquido descalcificante. Cuando en los sucesivos recambios de líquido dejan de encontrarse iones cálcicos se considera que el proceso ha finalizado.

(10)

2.2. Antecedentes:

2.2.1. Antecedentes Internacionales:

González-Chávez y colaboradores en el año 2013 realizaron un estudio en el cual encontraron que la solución más adecuada para descalcificación de hueso fue la de óxido nítrico al 5% y seguida por EDTA al 10%. (11)

R Sangeetha y colaboradores en el año 2013 encontraron que el uso de ácido nítrico al 5% en combinación con el uso de microwaves fue el método más eficaz para descalcificar biopsias de hueso. (12)

Karpagaselvi y colaboradores en el año 2012 compararon cinco diferentes descalcificantes de los cuales el EDTA neutro fue el que descalcificó más lentamente, pero el que mostró el mejor resultado comparado con el resto de descalcificantes. (13)

2.2.2. Antecedentes Nacionales:

No existen, referencias nacionales sobre este tema.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño del Estudio:

Estudio experimental.

3.2. Población:

Biopsias de hueso de pacientes que fueron derivadas para estudio en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital María Auxiliadora.

3.2.1. Criterios de Inclusión:

- Biopsias de hueso que cumplan con las medidas estándar para ser analizadas, el tamaño debe ser el adecuado para poder ser procesadas.
- Biopsias de hueso que hayan sido embebidas en el fijador inmediatamente después de obtenida.
- Historia clínica con todos los datos del paciente

3.2.2. Criterios de Exclusión:

- Biopsias de hueso que no cumplen con las medidas adecuadas para ser procesadas.
- Biopsias de hueso que no fueron fijadas correctamente.
- Biopsias de hueso de pacientes que no registren datos completos en su historia clínica.

3.3. Muestra:

No se calcula el tamaño de la muestra, ya que se pretende evaluar 40 biopsias de hueso a las cuales se tuvo acceso para el estudio comparativo, pues tomando en cuenta que es un trabajo experimental que se tomará como piloto para futuros estudios se procesarán tan solo las muestras a las cuales se pudo acceder durante el periodo que realice mi internado.

La totalidad de muestras serán procesadas por los dos métodos planteados, el primer método será el gold estándar que se usa en el laboratorio y el segundo serán procesados usando el vinagre, al final tendremos 80 láminas para ser analizadas, tendremos dos láminas por cada biopsia.

3.4. Operacionalización de Variables:

| Variable | Definición Conceptual | Definición Operacional | Escala de Medición | Forma de Registro |
|--|--|------------------------|--------------------|-------------------|
| <u>Principal:</u> vinagre | Líquido miscible en agua, con sabor agrio, que proviene de la fermentación acética del alcohol | Acidez | Numeral | 0 - 14 |
| <u>Secundarias:</u> Citoplasma | Es la parte del protoplasma que, en una célula eucariota, se encuentra entre el núcleo celular y la membrana plasmática. | Coloración | Numeral | 0 - 4 |
| Núcleo | Es un orgánulo membranoso que se encuentra en el centro de las células eucariotas. Contiene la mayor parte del material genético | Forma | Numeral | 0 - 4 |
| Colorantes | Un colorante es una sustancia que es capaz de teñir estructuras de células vegetales y animales | Intensidad. | Numeral | 0 - 4 |
| | | | | |

3.5. Procedimientos y Técnicas:

La biopsia de hueso es obtenida por el médico encargado, después de este procedimiento las muestras llegan al laboratorio de anatomía patológica para su procesamiento.

Después de obtenida la biopsia de hueso se procederá a la fijación mediante el uso de formol al 10%.

Las muestras serán tratadas por duplicado usando el método estándar y el método usando el vinagre. Todas las láminas serán fotografiadas a una magnificación de 10X y de 40x, dichas fotografías serán analizadas mediante el software MCID, que nos permitirá comparar cada lámina con respecto a los parámetros de densidad óptica y morfología lo cual nos permitirá saber si existen diferencias entre los métodos.

MCID es un software para el análisis completo de imágenes que puede ser optimizado para uso en diferentes casos, el cual puede aceptar fotografías en diferentes formatos provenientes de cámaras, scanners, densitómetros y diferentes aparatos. El software es compatible también con el formato de cámaras tales como CoolSNAP or Qimaging, este software nos permitirá analizar la fotografías de las láminas y poder analizarlas de acuerdo a los valores obtenidos en el software. (14)

Para la evaluación de las biopsias de hueso que serán descalcificadas con vinagre y luego teñidas se usara el Instrumento de evaluación de uso común en el laboratorio de anatomía patológica el cual está destinado a indagar la correcta coloración y estructura de los organelos de la célula para lo cual se usan criterios ya pre establecidos en histomorfología (Color del núcleo, Color del citoplasma, Detalles del núcleo, Detalles del citoplasma y Coloración de las fibras colágenas) que se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1: Criterio histomorfológico

| Criterio | Escala (cada criterio será evaluado sobre una escala de (1 al 4)) |
|--|---|
| Coloración del núcleo Coloración del citoplasma Coloración de los detalles del núcleo Coloración de los detalles del citoplasma Coloración de las fibras colágenas | <ul style="list-style-type: none">• Calificación pobre: escala 1.• Calificación satisfactoria: escala 2• Calificación buena: escala 3.• Calificación excelente: escala 4 |

Dos expertos serán los encargados de evaluar cada lámina, todas las láminas serán por duplicado, una lámina que contendrá muestra de hueso que será descalcificada por el método gold estándar y una lámina que contendrá muestra de hueso que será descalcificada con vinagre. La evaluación será llevada a cabo en ciego para los patólogos evaluadores, la calificación obtenida por cada patólogo se promediará y se obtendrá un valor que se incluirá dentro de la siguiente escala.

- Calificación pobre: escala 1.
- Calificación satisfactoria: escala 2
- Calificación buena: escala 3.

- Calificación excelente: escala 4

| | | | |
|-------|---------------|-------|-----------|
| Pobre | Satisfactoria | Buena | Excelente |
| 1 | 2 | 3 | 4 |

DESCALCIFICACION CON ACIDO NITRICO 5% Y VINAGRE

Las muestras se fijan en Formol al 10%, posteriormente se someten a un proceso de descalcificación con solución de ácido nítrico al 5% y vinagre, después se realiza el procesamiento histológico de rutina y coloración con la técnica de hematoxilina – eosina.

Tanto las muestras que serán descalcificadas con ácido nítrico y vinagre desde su recepción en el laboratorio de histopatología se dejan fijando hasta el día siguiente a primera hora de mi jornada laboral (7am). Después se sustituye el fijador por el líquido descalcificante.

ACIDO NITRICO 5 %

Fijación con formol: 15 -20 hrs en promedio

Descalcificación: 6 hrs

Luego se coloca el fragmento descalcificado en el procesador de tejido Leica TP1020 en su programación de rutina normal de 1 pm a 7 am del día siguiente (18 hrs)

Como paso siguiente se continua con el proceso de inclusión en parafina formando los bloques o tacos de parafina para su posterior microtomía o corte y coloración usando la técnica de hematoxilina – eosina.

VINAGRE

Fijación con formol: 15 -20 hrs en promedio

Descalcificación: 24 hrs (desde 7am hasta 7am del día siguiente)

Luego se coloca el fragmento descalcificado en el procesador de tejido Leica TP1020 para su posterior programación de rutina normal de 1 pm a 7 am del día siguiente (18 hrs)

Como paso siguiente se continua con el proceso de inclusión en parafina formando los bloques o tacos de parafina para su posterior microtomía o corte y coloración usando la técnica de hematoxilina – eosina.

NOTA: con la finalidad de reducir tiempos se puede optar por un programa más corto en el procesador de tejidos (6 hrs), pero eso dependerá de la decisión del histotecnólogo y la urgencia para el resultado de la biopsia.

3.6. Plan de Análisis de Datos:

Los datos obtenidos serán analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 21.0. Se determinarán medidas de tendencia central. Se emplearán tablas de frecuencia y de contingencia. Se determinará la asociación entre variables a través de la prueba chi cuadrado para las variables cualitativas y la prueba t de student, análisis de varianza (ANOVA) y análisis de covarianza para las variables cuantitativas, considerando estadísticamente significativo los valores de $p < 0,05$.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Descripción de resultado

| | Patologo 1 | | | | | | | | | | | | | Patologo 2 | | | | | | | | | | | | |
|----|---------------|----|----|----|----|----|---------|----|----|----|----|----|---------------|------------|----|----|----|----|---------|----|----|----|----|----|-------|--|
| | ACIDO NITRICO | | | | | | VINAGRE | | | | | | ACIDO NITRICO | | | | | | VINAGRE | | | | | | | |
| | CODIGO | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | TOTA | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | TOTA | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | TOTAL | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | TOTAL | |
| 1 | 5302 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | 4 | 3 | 3 | 2 | 4 | 16 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | 4 | 4 | 4 | 2 | 4 | 18 | |
| 2 | 1238 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 3 | 7495 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 16 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 17 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 15 | |
| 4 | 1902 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 17 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 16 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 17 | |
| 5 | 4498 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 16 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 17 | 4 | 3 | 4 | 2 | 4 | 17 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 18 | |
| 6 | 4508 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 17 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 7 | 5779 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 18 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 16 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 8 | 4537 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 18 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 9 | 6885 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 10 | 4138 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 17 | |
| 11 | 7055 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 17 | |
| 12 | 1282 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 16 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 18 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | |
| 13 | 1670 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 15 | 3 | 3 | 4 | 3 | 4 | 17 | 4 | 2 | 3 | 2 | 4 | 15 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | |
| 14 | 3935 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 16 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 18 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 17 | |
| 15 | 3317 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 18 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 16 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 16 | 5270 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 18 | |
| 17 | 4688 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 18 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | |
| 18 | 4533 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 17 | 3 | 2 | 4 | 3 | 3 | 15 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | |
| 19 | 5338 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 16 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | |
| 20 | 5200 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | |
| 21 | 1661 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 18 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 17 | |
| 22 | 4352 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 17 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 18 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 16 | |
| 23 | 5905 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 3 | 4 | 3 | 17 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 17 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 17 | |
| 24 | 3902 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 17 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 17 | |
| 25 | 5976 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 18 | 3 | 2 | 3 | 4 | 4 | 16 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 26 | 4318 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 17 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | |
| 27 | 4214 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 16 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | |
| 28 | 5953 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 16 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | |
| 29 | 5198 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 18 | 3 | 4 | 3 | 3 | 4 | 17 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | 3 | 4 | 4 | 3 | 4 | 18 | |
| 30 | 4998 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 19 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 18 | 4 | 4 | 3 | 3 | 4 | 18 | |
| 31 | 5266 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 3 | 4 | 3 | 4 | 3 | 17 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 18 | |
| 32 | 1952 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | |
| 33 | 1432 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 17 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | |
| 34 | 8026 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 16 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 18 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 18 | |
| 35 | 8125 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 18 | |
| 36 | 6012 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 19 | |
| 37 | 7236 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 15 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 2 | 3 | 4 | 3 | 3 | 15 | |
| 38 | 1099 | 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 18 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 15 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 18 | 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 16 | |
| 39 | 2589 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 17 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 18 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | |
| 40 | 7335 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 18 | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 | 17 | 4 | 3 | 3 | 4 | 4 | 18 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | |

ACIDO NITRICO

TABLA 2. Análisis Descriptivos (ácido nítrico)

| Patologo | Summary of Acido nitrico | | |
|----------|--------------------------|-----------|-------|
| | Mean | Std. Dev. | Freq. |
| 1 | 17.9 | 1.0813097 | 40 |
| 2 | 18.175 | .98416957 | 40 |
| Total | 18.0375 | 1.0365931 | 80 |

En los Patólogos que han procesado la técnica con ácido nítrico se observa que el Patólogo 1 presenta una media de 17.9 y el Patólogo 2 es 18.175, no son lo suficiente para señalar diferencias significativas

TABLA 3. Prueba de Normalidad Shapiro Wilk (ácido nítrico)

```
. swilk Acidonit if Patologo==1
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

| Variable | Obs | W | V | z | Prob>z |
|----------|-----|---------|-------|-------|---------|
| Acidonit | 40 | 0.97124 | 1.137 | 0.270 | 0.39370 |

```
. swilk Acidonit if Patologo==2
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

| Variable | Obs | W | V | z | Prob>z |
|----------|-----|---------|-------|-------|---------|
| Acidonit | 40 | 0.95073 | 1.947 | 1.403 | 0.08037 |

Se ha utilizado la prueba de normalidad de Shapiro Wilk para contrastar el supuesto de normalidad. En este caso podemos apreciar que las distribuciones de ambos patólogos son normales, cumpliendo con el supuesto

TABLA 4. Prueba de homogeneidad de Varianza y ANOVA (ácido nítrico)

| Source | Analysis of Variance | | | F | Prob > F |
|----------------|----------------------|----|------------|------|----------|
| | SS | df | MS | | |
| Between groups | 1.5125 | 1 | 1.5125 | 1.41 | 0.2378 |
| Within groups | 83.375 | 78 | 1.06891026 | | |
| Total | 84.8875 | 79 | 1.07452532 | | |

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.3407$ Prob> $\chi^2 = 0.559$

Se debe cumplir con el supuesto de normalidad y de homogeneidad de varianza, según el estadístico de Bartlett's se obtiene un $p = 0.559$, cumpliendo que las varianzas son homogéneas.

$H_0: \mu \text{ patólogo 1} = \mu \text{ patólogo 2}$

$H_1: \mu \text{ patólogo 1} \neq \mu \text{ patólogo 2}$

Se realizó la prueba de ANOVA, considerando el ensayo como cuantitativo, en función a los valores obtenidos de ácido nítrico por la técnica. Se obtiene un $p = 0.2378$ se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que la cantidad de ácido nítrico en la prueba por cada patólogo no son estadísticamente iguales entre sí.

VINAGRE

TABLA 5. Análisis Descriptivos (vinagre)

| Patologos | Summary of Vinagre | | |
|-----------|--------------------|-----------|-------|
| | Mean | Std. Dev. | Freq. |
| 1 | 17.075 | 1.1632735 | 40 |
| 2 | 17.75 | 1.0063898 | 40 |
| Total | 17.4125 | 1.1328663 | 80 |

En los Patólogos que han procesado la técnica con vinagre se observa que el Patólogo 1 presenta una media de 17.075 y el Patólogo 2 es 17.75, se observa que casi no muestran diferencias significativas

TABLA 6. Prueba de Normalidad Shapiro Wilk (vinagre)

```
. swilk Vinagre if Patologos==1
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

| Variable | Obs | W | V | z | Prob>z |
|----------|-----|---------|-------|--------|---------|
| Vinagre | 40 | 0.99608 | 0.155 | -3.926 | 0.99996 |

```
. swilk Vinagre if Patologos==2
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

| Variable | Obs | W | V | z | Prob>z |
|----------|-----|---------|-------|-------|---------|
| Vinagre | 40 | 0.89959 | 3.969 | 2.901 | 0.00186 |

Se ha utilizado la prueba de normalidad de Shapiro Wilk para contrastar el supuesto de normalidad. En este caso podemos apreciar que el patólogo 1 cuenta con una distribución normal, pero el patólogo 2 no cuenta con una distribución normal. La prueba de ANOVA es una prueba robusta frente a la violación de supuestos: Esta afecta en forma mínima por la violación de supuesto de normalidad poblacional y homogeneidad de varianza, siempre y cuando las muestras sean del mismo tamaño

TABLA 7. Prueba de homogeneidad de Varianza y ANOVA (vinagre)

| Source | Analysis of Variance | | | F | Prob > F |
|----------------|----------------------|----|------------|------|----------|
| | SS | df | MS | | |
| Between groups | 9.1125 | 1 | 9.1125 | 7.70 | 0.0069 |
| Within groups | 92.275 | 78 | 1.18301282 | | |
| Total | 101.3875 | 79 | 1.28338608 | | |

Bartlett's test for equal variances: chi2(1) = 0.8053 Prob>chi2 = 0.370

Según el estadístico de Bartlett's se obtiene un $p = 0.370$, cumpliendo que las varianzas son homogéneas.

$H_0: \mu \text{ patólogo 1} = \mu \text{ patólogo 2}$

$H_1: \mu \text{ patólogo 1} \neq \mu \text{ patólogo 2}$

Se realizó la prueba de ANOVA, considerando el ensayo como cuantitativo, en función a los valores obtenido de Vinagre por la técnica. Se obtiene un $p = 0.0069$ no se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que la cantidad de vinagre en la técnica por cada patólogo son estadísticamente iguales entre si iguales

AMBAS TECNICAS

TABLA 8. Análisis Descriptivos (ácido nítrico y vinagre)

| Tecnica | Summary of Datos | | |
|-----------|------------------|-----------|-------|
| | Mean | Std. Dev. | Freq. |
| Acido nit | 18.0375 | 1.0365931 | 80 |
| Vinagre | 17.4125 | 1.1328663 | 80 |
| Total | 17.725 | 1.1268591 | 160 |

En las dos técnicas se observa que el ácido nítrico presenta una media de 18.0375 y el vinagre 2 es 17.4125, no son lo suficiente para señalar diferencias significativas

TABLA 9. Prueba de Normalidad Shapiro Wilk (ácido nítrico y vinagre)

```
. swilk Datos if Tecnica==1
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

| Variable | Obs | W | V | z | Prob>z |
|----------|-----|---------|-------|-------|---------|
| Datos | 80 | 0.97978 | 1.388 | 0.718 | 0.23647 |

```
. swilk Datos if Tecnica==2
```

Shapiro-Wilk W test for normal data

| Variable | Obs | W | V | z | Prob>z |
|----------|-----|---------|-------|--------|---------|
| Datos | 80 | 0.98669 | 0.914 | -0.198 | 0.57854 |

Se ha utilizado la prueba de normalidad de Shapiro Wilk para contrastar el supuesto de normalidad. En este caso podemos apreciar que las distribuciones de ambas técnicas son normales, cumpliendo con el supuesto.

TABLA 10. Prueba de homogeneidad de Varianza y ANOVA (ácido nítrico y vinagre)

| Source | Analysis of Variance | | | | |
|----------------|----------------------|-----|------------|-------|----------|
| | SS | df | MS | F | Prob > F |
| Between groups | 15.625 | 1 | 15.625 | 13.25 | 0.0004 |
| Within groups | 186.275 | 158 | 1.1789557 | | |
| Total | 201.9 | 159 | 1.26981132 | | |

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(1) = 0.6184$ Prob> $\chi^2 = 0.432$

Se debe cumplir con el supuesto de normalidad y de homogeneidad de varianzas, según el estadístico de Bartlett's se obtiene un $p = 0.559$, cumpliendo que las varianzas son homogéneas.

$H_0: \mu \text{ ácido nítrico} = \mu \text{ vinagre}$

$H_1: \mu \text{ ácido nítrico} \neq \mu \text{ vinagre}$

Se realizó la prueba de ANOVA, considerando el ensayo como cuantitativo, en función a los valores obtenidos por las técnicas. Se obtiene un $p = 0.0004$ no se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que la media de ambas técnicas son estadísticamente iguales entre sí.

CONCLUSIONES

Se concluye que todos los parámetros estudiados no presentan diferencias significativas entre el análisis dentro de cada grupo y el análisis entre grupos, por lo cual podemos afirmar que ambas técnicas son igualmente eficientes para ser usadas dentro del laboratorio de patología.

Se concluye que no existen diferencias entre la tinción del citoplasma entre ambas técnicas.

Se concluye que no existe diferencias entre la tinción del núcleo entre ambas técnicas.

RECOMENDACIONES

Se debería planear un experimento con un mayor número de muestras y con un mayor número de patólogos evaluadores lo cual nos permitiría validar la técnica que hemos probado en este experimento.

La validación de la técnica podría llevarnos a poder usar esta técnica en el laboratorio.

Se recomienda trabajar con ácido acético en concentraciones diferentes y evaluar los tiempos que serán necesarios

Se recomienda evaluar la eficiencia del vinagre en piezas quirúrgicas de mayor tamaño y en las diferentes patologías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Sison EA, Brown P. The bone marrow microenvironment and leukemia: biology and therapeutic targeting. *Expert review of hematology*. 2011;4:271–83.
- 2.- OSTEOMOLL® and OSTEOSOFT® - Color-Coded Decalcifier Solutions. Revisado on line 20 agosto 2015. Se encuentra disponible en. <http://www.merckmillipore.com/GB/en/ivd-materials-and-reagents/osteomoll-osteosoft/>
- 3.- Chan GK, Duque G . Age-related bone loss: old bone, new facts. *Gerontology* 2002. 48:62-71.
4. Boskey AL, Spevak L, Weinstein RS . Spectroscopic markers of bone quality in alendronate-treated postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2009 20:793-800.
5. Frost HM, Villanueva AR, Roth H. Measurement of bone formation in a 57 year old man by means of tetracyclines. *Henry Ford Hosp Med Bull*. 1960; 8:239–54.
6. Cotran R. S., Kumar V., Path F. R. C, Collins T. Robbins Patología Estructural y Funcional, 6a Edición, 2000, 28:1260-1263, 1274 -1276.
7. Cotran R. S., M. D., Kumar V., M.D., Path F. R. C..., Collins T., M.D., Ph.D. Robbins Patología Estructural y Funcional, 6a Edición, 2000, 28:1260-1263, 1274 -1276.
8. Ralph A. Burns: Fundamentos de química. Pearson educación 2003.pp 170
9. Ebbing Darrel D. y Gammon Steven D.: Química general. 9^{na} edición. Edit. Cengage Learnig S.A. 2010. pp 87
10. García, Belso, Salaz, Gómez, Muñoz, Silva, Castilla, De Torres, Ania, Ochoa, Cara, Puertas y Vílchez.:Técnico especialista en Anatomía Patológica del servicio Gallego de Salud. Volumen 1.Primera edición 1996 Edit. MAD S.L. Pags. 319 – 326
- 11.González-Chávez SA Pacheco-Tena C, Macías-Vázquez CE, Luévano-Flores E., Assessment of different decalcifying protocols on Osteopontin and Osteocalcin immunostaining in whole bone specimens of arthritis rat model by confocal immunofluorescence. [Int J Clin Exp Pathol](#). 2013 Sep 15;6(10):1972-83
12. R Sangeetha, K Uma, y Vidya Chandavarkar , Comparison of routine decalcification methods with microwave decalcification of bone and teeth. [J Oral Maxillofac Pathol](#). 2013 Sep;17(3):386-91
13. Karpagaselvi, Jayalakshmi Kumarswamy and Lakshmi Krishnan , Evaluation and comparison of decalcification agents on the human teeth. *J Oral Maxillofac Pathol*.

2012 May-Aug; 16(2): 222–227

14. <http://www.mcid.co.uk/> , accesado el 12 de octubre del 2015.

ANEXOS

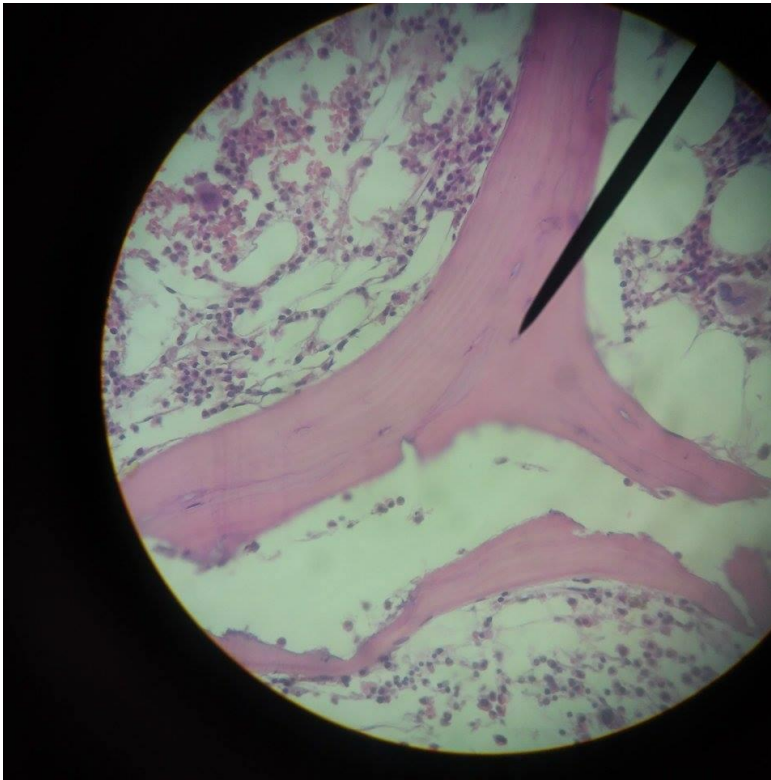


Lámina n°1: Ácido nítrico (40X)

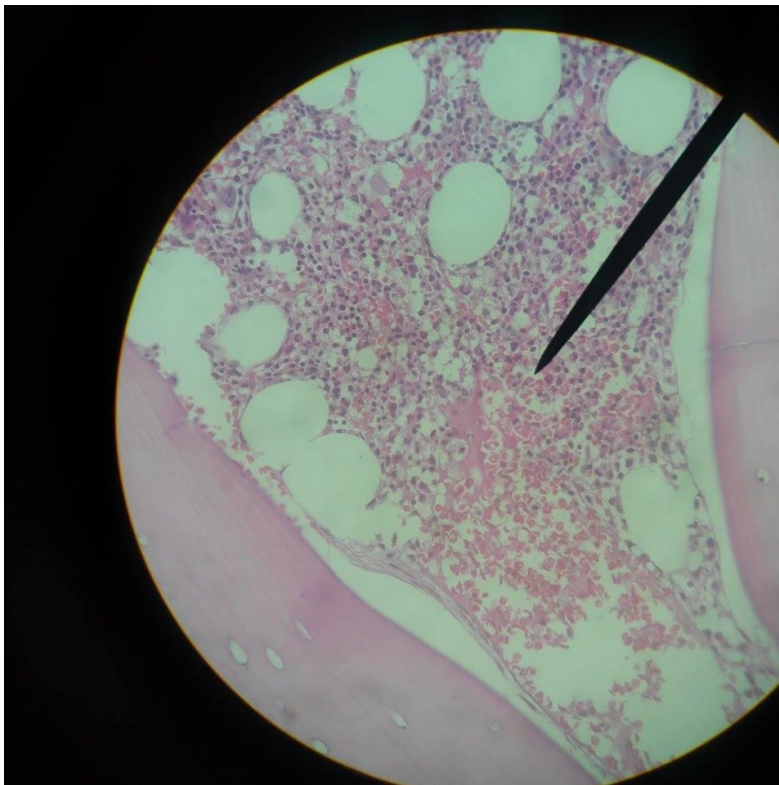


Lámina N°2: Ácido nítrico (40 X)

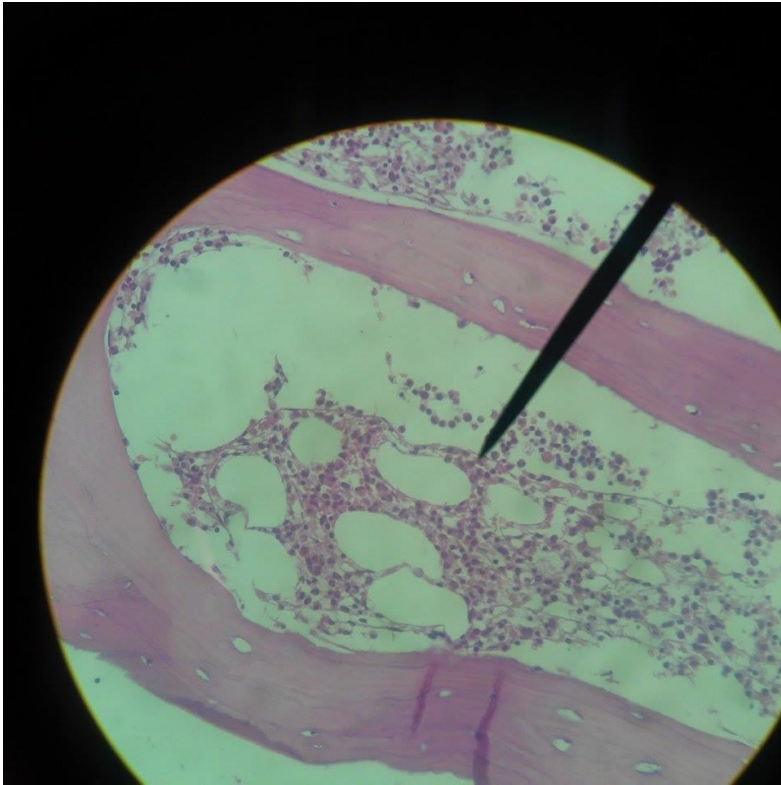


Lámina N°3: Acido nítrico (40X)

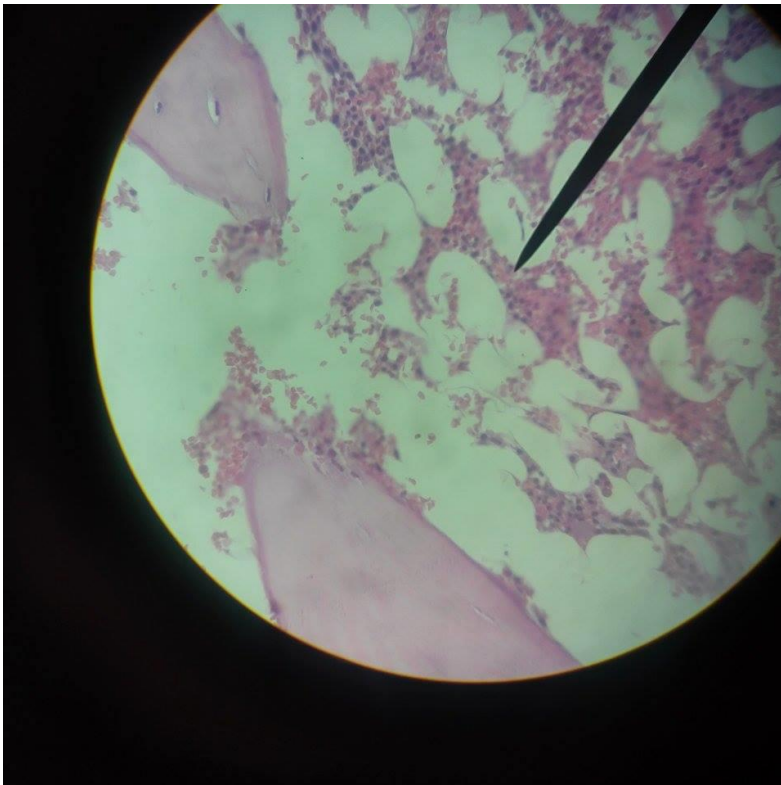
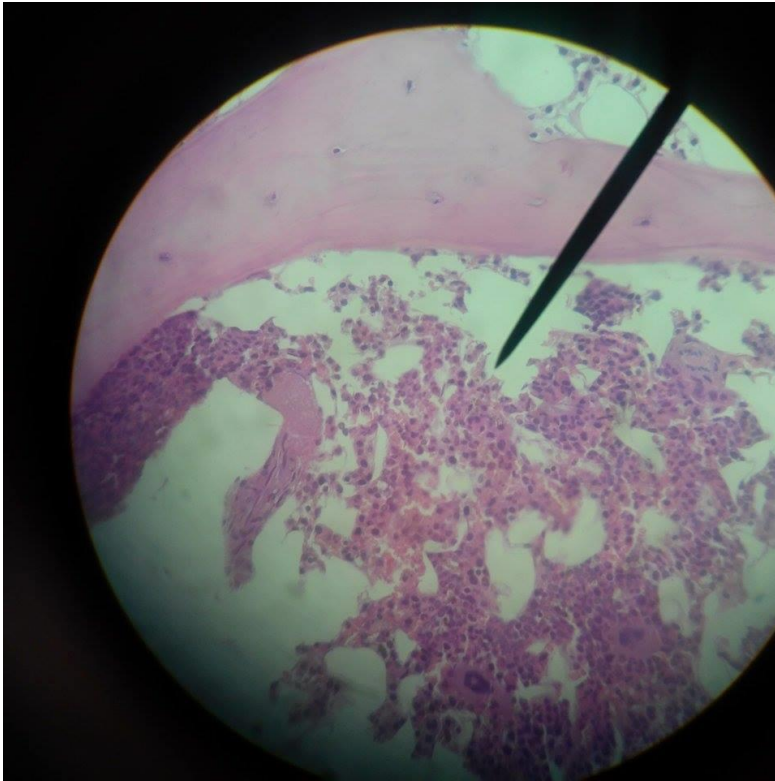


Lámina N°4: Acido nítrico (40X)

VINAGRE (40X)



Lamina N°5: Vinagre (40X)

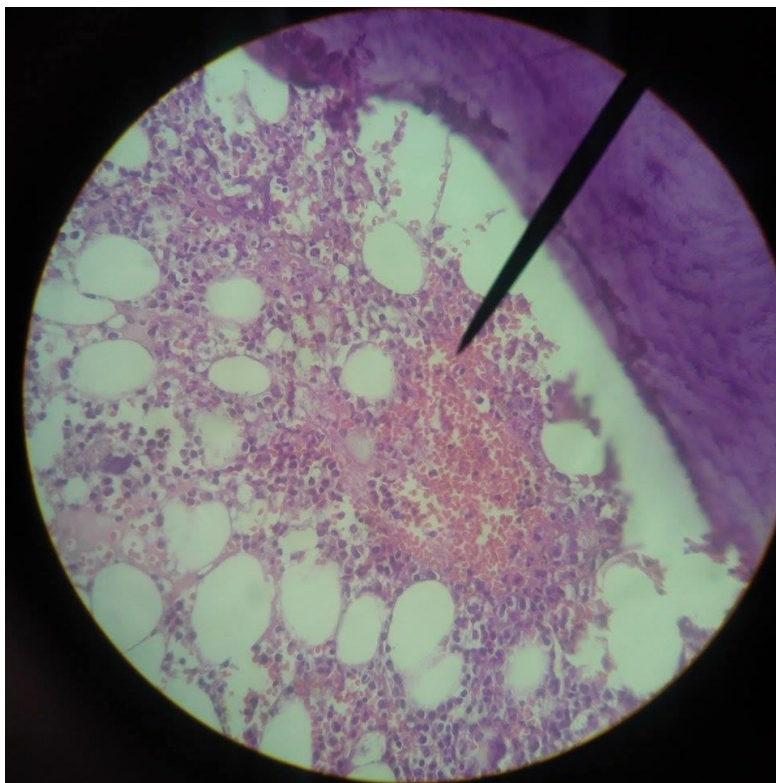


Lámina N°6: Vinagre (40X)

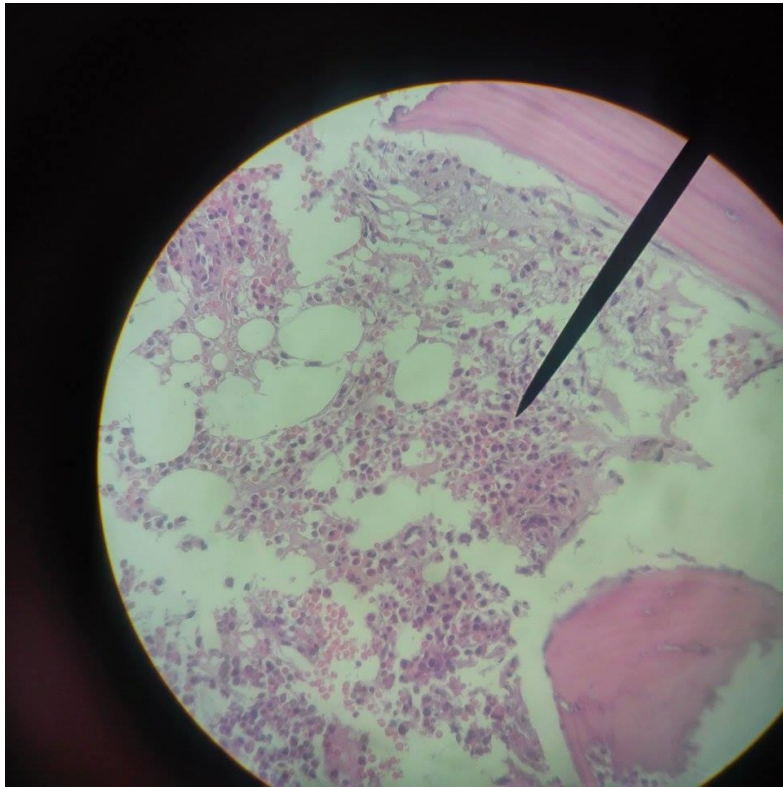


Lámina N°7: Vinagre (40X)

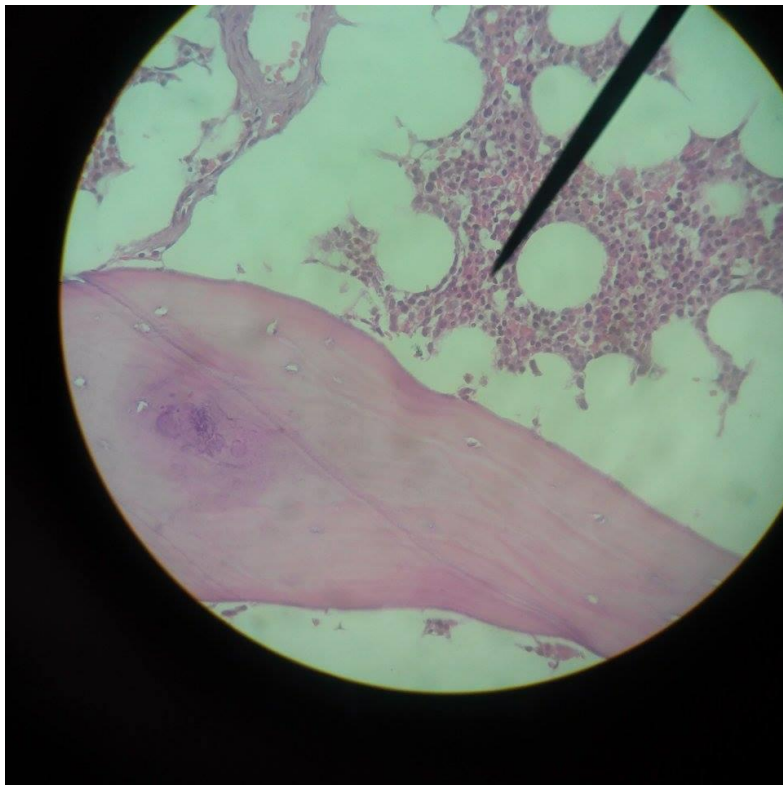


Lámina N°8: Vinagre (40X)

MATRIZ DE CONSISTENCIA

| PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN | VARIABLES DE ESTUDIO | DIMENSIONES E INDICADORES | INSTRUMENTO DE MEDICIÓN | METODOLOGÍA |
|--|---|--|---------------------------|-------------------------|--|
| <p><u>Problema General:</u> ¿El vinagre es un descalcificante eficiente de las biopsias de hueso?</p> | <p><u>Objetivo General:</u> Determinar si el vinagre es un descalcificante eficiente de las biopsias de hueso</p> | <p><u>Variable Principal:</u> Ácido acético</p> | pH | PH metro. | <p><u>Diseño de Estudio:</u> Experimental <u>Población:</u> Todas las biopsias de hueso que llegaron al laboratorio de Anatomía patológica..</p> <p><u>Muestra:</u> No se calcula el tamaño de muestra ya que se pretende estudiar 56 biopsias a las cuales se tuvo acceso durante el internado..</p> <p><u>Hipótesis :</u> H1: El vinagre es un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del Hospital María Auxiliadora H0: El vinagre no es un descalcificante eficiente de biopsias de hueso obtenidas de pacientes del Hospital María Auxiliadora</p> |
| <p><u>Problemas Específicos:</u> ¿El vinagre modificará las características morfológicas del citoplasma de las biopsias de hueso?</p> | <p><u>Objetivos Específicos:</u> Determinar si el vinagre modificará las características morfológicas del citoplasma de las biopsias de hueso.</p> | <p><u>Variables Secundarias:</u> Citoplasma</p> | Coloración | Escala numeral | |
| <p>¿El vinagre modificará las características del núcleo de biopsias de hueso?</p> | <p>Determinar si el vinagre modificará las características del núcleo de biopsias de hueso.</p> | Núcleo | Forma | Escala numeral | |
| <p>¿El vinagre modificará la afinidad de las biopsias de hueso ante los colorantes usados normalmente en el laboratorio de patología?</p> | <p>. Determinar si el vinagre modificará la afinidad de las biopsias de hueso ante los colorantes usados normalmente en el laboratorio de patología.</p> | Tintes | Calidad de tinción | Escala numeral | |

