



alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los
laboratorios de patología

LORENA BEATRIZ HOYOS SANTOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES

FACULTAD DE SALUD

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA HUMANA

MANIZALES

2022

ALTERNATIVAS AL FORMOL COMO FIJADOR Y CONSERVADOR DE
ESTRUCTURAS Y TEJIDOS EN LOS LABORATORIOS DE PATOLOGÍA

LORENA BEATRIZ HOYOS SANTOS

OSCAR ANDRÉS ALZATE MEJÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES

FACULTAD DE SALUD

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA HUMANA

MANIZALES

2022

RESUMEN

El formaldehído ha sido catalogado como una sustancia con propiedades tóxicas, cancerígenas y mutagénicas donde su principal vía de ingreso al cuerpo es por el sistema respiratorio, causando irritación y afecciones crónicas que incluso derivan en cáncer. La presente investigación se centró en evaluar diferentes alternativas al formol como fijador y conservador de piezas anatómicas para el estudio histopatológico en los laboratorios de patología. Lo anterior enmarcado en la necesidad de establecer el uso de herramientas y compuestos que sean amigables con el medio ambiente y la salud de los profesionales. La investigación es de diseño cuasi-experimental. El procedimiento tuvo una duración de 28 días, realizando mediciones en los días 1, 5, 7, 14, 21 y 28, siguiendo el diseño propuesto por Wolff et al., (13), dichas mediciones permitieron medir la capacidad de fijación de las sustancias usadas como también evaluar la calidad de la conservación para el diagnóstico. Como principales resultados se encontró bajas variaciones en cuanto al color y la consistencia de las muestras, manteniendo el color natural y la consistencia normal. Al finalizar de todo el experimento se hizo la respectiva evaluación de la calidad de la tinción para el diagnóstico, siendo excelente en las sustancias usadas.

Palabras claves: Anatomía, Patología, Formaldehído, Fijación, Conservación (DeCS).

ABSTRACT

Formaldehyde has been classified as a substance with toxic characteristics, carcinogenic and mutagenic characteristics where its main route of entry into the body is through the respiratory system, causing irritation and chronic conditions that could even lead to cancer. The current research was focused on evaluating different alternatives to formalin as a fixative and preservative of anatomical pieces for histopathological studies in pathology laboratories. This is framed in the need to establish the use of tools and compounds that are friendly to the environment and the health of professionals. The research is of quasi-experimental design. The procedure lasted 28 days, taking measurements on days 1, 5, 7, 14, 21 and 28, following the design proposed by Wolff et al. (13). These measurements allowed measuring the binding capacity of the substances used as well as evaluating the quality of conservation for diagnosis. The main results were low variations in the color and consistency of the samples, maintaining the natural color and normal consistency. At the end of the experiment, the respective evaluation of the quality of the staining for diagnosis was made, being excellent in the substances used.

Key words: Anatomy, Pathology, Formaldehyde, Fixation, Conservation (DeCS).

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1 PRESENTACIÓN | 11 |
| 2 INTRODUCCIÓN..... | 12 |
| 3 ÁREA PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN | 14 |
| 4 JUSTIFICACIÓN | 18 |
| 5 REFERENTE TEÓRICO | 20 |
| 5.1 ANTECEDENTES | 20 |
| 5.2 MARCO TEÓRICO | 25 |
| 5.2.1 Los fijadores | 25 |
| 5.2.2 Métodos de fijación | 26 |
| 5.2.3 Formaldehído..... | 29 |
| 5.2.4 Formaldehído como fijador de piezas anatómicas (proceso de fijación) | 30 |
| 5.2.5 Sustancias conservadoras alternativas al formaldehído para el proceso de fijación ... | 32 |
| 5.2.6 Efectividad de fijación de estructuras anatomopatológicas..... | 33 |
| 6 OBJETIVOS..... | 36 |
| 6.1 GENERAL | 36 |
| 6.2 ESPECÍFICOS | 36 |
| 7 METODOLOGÍA..... | 37 |
| 7.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN..... | 37 |
| 7.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN..... | 37 |
| 7.3 POBLACIÓN Y MUESTRA | 38 |

| | |
|---|----|
| 7.4 PROCEDIMIENTO | 39 |
| 7.5 MATERIALES E INSTRUMENTOS | 41 |
| 7.6 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES | 43 |
| 7.7 PLAN DE ANÁLISIS | 44 |
| 7.8 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN | 45 |
| 7.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS | 45 |
| 8 RESULTADOS | 47 |
| 9 DISCUSIÓN | 56 |
| 10 CONCLUSIONES | 62 |
| 11 RECOMENDACIONES | 64 |
| 12 REFERENCIAS | 65 |
| 13 ANEXOS | 69 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Métodos de fijación | 26 |
| Tabla 2. Efectos del formaldehído sobre la salud..... | 29 |
| Tabla 3. Ingredientes de la Solución chilena..... | 33 |
| Tabla 4. Operacionalización de variables..... | 43 |
| Tabla 5. Plan de análisis | 44 |
| Tabla 6. Formato para la recolección de información..... | 45 |
| Tabla 7. Consistencia y color por cada tipo de solución conservante | 47 |
| Tabla 8. Medias de peso y diámetro de 8 muestras de apéndice en soluciones conservantes | 48 |
| Tabla 9. Medias de peso y diámetro de 8 muestras de vesícula en diferentes soluciones conservantes..... | 48 |
| Tabla 10. Medias del peso y diámetro de 4 muestras de útero en diferentes soluciones conservantes..... | 49 |
| Tabla 11. Medias del peso y diámetro de 2 muestras de amígdala en diferentes soluciones conservantes..... | 49 |
| Tabla 12. Peso y diámetro de una muestra de próstata en diferentes soluciones conservantes | 49 |
| Tabla 13. Peso y diámetro de una muestra de masa mama derecha en diferentes soluciones conservantes..... | 50 |
| Tabla 14. Peso y diámetro de muestras de lipoma de espalda en diferentes soluciones conservantes..... | 50 |
| Tabla 15. Consistencia y color por cada tipo de solución conservante | 51 |

| | |
|---|----|
| Tabla 16. Medias de peso y diámetro de 4 muestras de ovario en diferentes soluciones conservantes..... | 52 |
| Tabla 17. Medias de peso y diámetro de 3 muestras de piel en diferentes soluciones conservantes..... | 52 |
| Tabla 18. Resultados de la evaluación de calidad de la fijación para el diagnóstico desde análisis microscópico – Muestras frescas..... | 53 |
| Tabla 19. Resultados de la evaluación de calidad de la fijación para el diagnóstico desde análisis microscópico – Muestras fijadas en formol..... | 54 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Muestras de diferentes cortes (Fotografías tomadas por la autora)..... | 38 |
| Figura 2. Procedimiento de la investigación | 40 |
| Figura 3. Muestra en diferentes estadios de medición (Fotografías tomadas por la autora). | 41 |
| Figura 4. Elementos de laboratorio (Fotografías tomadas por la autora). | 42 |
| Figura 5. Imágenes de microscopio de las muestras analizadas..... | 54 |
| Figura 6. Imágenes de microscopio de las muestras analizadas..... | 55 |

LISTA DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| Anexo A. Aval del comité de bioética..... | 69 |
| Anexo B. Protocolo laboratorio de morfología | 77 |
| Anexo C. Resultados de evaluación del Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas) | 96 |

1 PRESENTACIÓN

Las investigaciones orientadas hacia la biología humana son de amplio espectro, con lo cual existe la posibilidad de centrarse en problemáticas complejas o que incidan multidimensionalmente. En este sentido, se ha propuesto una investigación que involucra el desarrollo práctico y metodológico en el que hacer del laboratorio de patología y también la incidencia que tendría en las personas involucradas en dichos procesos. Entonces, por un lado, se plantea una investigación en donde es posible evaluar la efectividad del uso de sustancias alternativas al formol en el proceso de fijación y conservación de muestra anatómicas. Mientras que, por el otro, se busca reducir el impacto negativo del uso del formol en el laboratorio de patología.

De acuerdo a lo anterior, aquí se presenta una investigación en donde la metodología de laboratorio puede servir como un punto de partida para evaluar sistemáticamente muestras anatómicas en tres sustancias conservantes: formol, solución chilena y glicocol, teniendo en cuenta que esta última hace parte de la producción intelectual de los integrantes del laboratorio. Este proceso permite la incorporación de las habilidades investigativas adquiridas en el nivel de maestría al servicio de la generación de nuevos conocimientos que sean replicables y confiables. Por este motivo se plantean pruebas que demuestren los cambios a través del tiempo y la correspondiente puesta en escena del debate académico frente a los hallazgos finales, a la luz de investigaciones antecedentes.

En este orden de ideas, la investigación se adelantó con la posibilidad de ser un punto de partida para nuevos trabajos de indagación y así proponer un nuevo escenario a la luz de la innovación y la renovación del quehacer en el laboratorio de patología. Los hallazgos expuestos aquí, pueden ser aplicados, y su generalización a través del tiempo será el producto de posteriores investigaciones y la refinación continua de nuevos hallazgos.

2 INTRODUCCIÓN

El trabajo en los laboratorios de patología exige el uso de diferentes sustancias para llevar a cabo procesos de fijación y conservación de muestras anatómicas, dichas sustancias suelen ser de composición tóxica y peligrosas para los seres vivos. Esta realidad ha motivado la indagación y búsqueda por nuevas sustancias que sean alternativas a las tradicionales, en donde prima el uso del formol. Sin embargo, el uso del formol ha sido extendido y permanente por la seguridad que ha demostrado en el alcance de los objetivos de fijación y conservación. Hecho comprobado a través del tiempo y duplicado en la disciplina.

En este sentido la motivación de la presente investigación es desde el punto de vista laboral, metodológico y práctico. Los resultados de la evaluación de posibles sustancias fijadoras y conservadoras alternativas al formol, sería una vía razonable para establecer, desde la experimentación si se puede innovar en el uso de sustancias tóxicas en los laboratorios de patología. Aunque en la actualidad se han ejecutado investigaciones relacionadas con la evaluación de sustancias alternativas al formol, en la presente investigación se han seleccionado la solución chilena y el glisocol.

De acuerdo con lo anterior el trabajo presenta, además de soluciones alternativas y novedosas, también el uso de una metodología ejecutada por una investigación antecedente donde se evalúa a través de 28 días los cambios en peso, diámetro, consistencia y color, para finalmente evaluar la calidad de la tinción para el diagnóstico, con el uso del microscopio. Cabe destacar que esta última prueba fue realizada con la colaboración del Dr. Alejandro Posada Restrepo en el Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas).

Ahora bien, el trabajo se presenta con los siguientes apartados, en primera medida un abordaje problemático que contextualiza al lector sobre las necesidades de ejecutar la investigación y sus implicaciones prácticas. Posteriormente se hace un abordaje teórico y práctico desde publicaciones que subyacen a las motivaciones de la investigación, el recorrido permite delimitar el alcance investigativo desde los puntos de partida en los hallazgos más actuales relacionados al fenómeno objeto de estudio.

Seguidamente al establecimiento de los propósitos de la investigación se esboza la metodología llevada a cabo en la investigación, allí mismo se delimita el tipo de investigación, técnicas, métodos, procedimientos, muestras, variables y plan de análisis final. Luego se entregan los resultados del trabajo de campo y su correspondiente descripción. En seguida se discuten los hallazgos con otras investigaciones similares a la presente, para posteriormente llegar a las debidas conclusiones y recomendaciones.

3 ÁREA PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN

En los laboratorios universitarios de investigación biomédica, específicamente en anatomía es importante la fijación de las muestras anatómicas de diferentes estructuras, para lo cual se hace uso de mezclas que contienen formaldehído (1). El formaldehído tiene dos ventajas importantes en el trabajo de laboratorio, por un lado la obtención de buenos resultados de conservación y fijación, como de otro lado, un precio aceptable en el mercado para la finalidad del mismo (2). En este sentido, el trabajo dentro de los laboratorios de formación universitaria en el área de la salud no podría prescindir de una sustancia química como el formaldehído en sus prácticas académicas.

En los laboratorios de patología se hace uso de diversidad de herramientas y elementos para llevar a cabo diferentes procedimientos. Se destaca el uso de sustancias químicas como insumo en algunas actividades, este es el caso del formaldehído, el cual ha suscitado un uso generalizado como sustancia conservante en el proceso de fijación de muestras (3). Según Peñalver et al.,(4) en los laboratorios de anatomía y patología se resalta el uso del formaldehído para procesamiento de tejidos, manipulación de piezas anatómicas conservadas, lavado de piezas, vaciado de casetes, eliminación de residuos y la realización de cortes histológicos (biopsias). Además, las soluciones hechas con 5% o más de formaldehído se constituyen como un fijador de tejidos eficaz (5). Por estas razones el uso del formaldehído es generalizado en los laboratorios de patología.

En el marco de las consideraciones hasta aquí expuestas, el formaldehído se podría catalogar como la opción generalizada por sus características particulares, sin embargo, se han adelantado estudios sobre los efectos nocivos en el medio ambiente y en los seres humanos por su exposición. Frente a esto se cita en primera instancia la investigación adelantada por la International Agency for Research on Cancer(5) en donde sus estudios remontados a 1995 ya advertían sobre la necesidad de clasificar al formaldehído como probablemente carcinógeno en humanos. En la Unión Europea desde el 1 de abril de 2015 se instauró una nueva clasificación del formaldehído como sustancia cancerígena de categoría 1B y mutágena de categoría 2 (1).

Hasta la actualidad, se han elaborado trabajos en donde se ha podido demostrar diferentes afecciones relacionadas con la exposición al formaldehído, como: irritación de nariz y garganta, dificultades respiratorias, bronquitis, sensibilización alérgica (2); secuelas respiratorias crónicas, pérdida progresiva del olfato, asma, rinitis, sinusitis, síntomas neurológicos como cefalea, fatiga, somnolencia, pérdida de la concentración, efectos mutagénicos y carcinogénicos (6,7); cáncer del cávum (carcinoma de nasofaringe), sospecha de leucemia, posible cáncer nasosinusal, tanto la genotoxicidad como la citotoxicidad juegan un importante papel en la carcinogénesis por formaldehído en los tejidos nasales (5).

En Colombia, para el año 2015 se realizó un estudio en donde se presentó la distribución de 25 agentes cancerígenos en la población de trabajadores de todo el país. En donde el formaldehído se ubicó en el número seis con una incidencia de 2,2% y un número estimado de personas de 185.345 (8). Quiere decir que en Colombia existe un riesgo latente, mientras en las instituciones de educación superior sigue siendo utilizado el formaldehído como la mejor alternativa en el proceso de fijación de estructuras al igual en los laboratorios de patología.

Adicionalmente, se resalta que en el año 2014 la emisión del Decreto 1477 (9), en donde se emite la Tabla de Enfermedades Laborales, allí el Ministerio del Trabajo señala como factor de riesgo ocupacional al formaldehído para las siguientes enfermedades: laringotraqueitis aguda, asma, bronquitis, neumonitis, bronquitis química aguda, edema pulmonar químico, inflamación de vías respiratorias, síndrome de disfunción reactiva de las vías aéreas RADS, bronquiolitis obliterante crónica, enfisema crónico difuso, fibrosis pulmonar crónica, dermatitis alérgica. No obstante, el Decreto 1477 no presenta el efecto cancerígeno del formaldehído, según lo registra el análisis elaborado por Idrobo-Avila, Vasquez-López, & Vargas-Cañas(10) sobre la exposición ocupacional al formaldehído.

En este orden de ideas, los estudios de los efectos del formaldehído están siendo documentados ampliamente e incluso relacionados desde la emisión de normativas a nivel nacional e informes de orden internacional. Esto con la finalidad de mitigar el impacto que pueda producir en la salud de las personas expuestas a este agente químico. Por esta razón,

se han desarrollado algunas investigaciones donde se buscan formas para mejorar el trabajo en los laboratorios de patología y mitigar la exposición a este agente químico.

Muestra de ello es la investigación realizada por Mora (11) en el Hospital de México, en donde concluye sobre los diferentes factores que inciden en la exposición al formaldehído en los trabajadores de anatomía patológica, como hacinamiento, falta de especialización de tareas por área de trabajo, carencia de equipos de extracción y protección personal. Ante los hallazgos de Mora (11) se recomienda la ejecución de un monitoreo riguroso y periódico a todos los procesos que incorporen el uso del formaldehído, con el fin de mitigar la exposición de los trabajadores, asimismo se recomienda la disposición de implementos de protección para el personal.

De otro lado, Calvo (12) ha desarrollado una investigación en donde plantea un protocolo para la vigilancia en personas expuestas al formaldehído. En donde ha especificado la importancia de llevar a cabo protocolos de vigilancia en las prácticas clínicas, siendo un mecanismo para garantizar que se cumpla la normatividad referente a salvaguardar la salud de los trabajadores. Ahora bien, la periodicidad de seguimiento de las posibles afectaciones por exposición a formaldehído requiere de recursos ingentes en la toma de muestras y análisis de las mismas, significando un mayor esfuerzo para mitigar los efectos en los trabajadores.

Sobre esto último se trae a colación los resultados de Peñalver et al.,(4), quienes señalan la importancia de implementar medidas de disminución de vapores y mejorar los sistemas de ventilación de los laboratorios de patología, en la sala y área de tallado, respectivamente. Sin embargo, son enfáticos en manifestar la necesidad de ir un paso más allá, en lugar de hacer cuidados de mitigación del daño, es ideal la sustitución del formaldehído por otro agente químico de menor toxicidad. Esto último, teniendo en cuenta que han sido poco concluyentes los estudios que hasta ahora se han realizado con otros fijadores alternativos.

En el marco de las consideraciones hasta aquí descritas, se encontró que existe la necesidad de seguir experimentando con posibles sustitutos del formaldehído como sustancia fijadora

y conservadora de piezas anatómicas para el estudio histopatológico en laboratorios de anatomía, atendiendo a dos factores, por un lado, la protección de los profesionales, y de otro lado, obtener la mejor calidad final del proceso de fijación en las piezas y tejido anatómicos. En este sentido, se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la alternativa al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología?

4 JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto partió de la identificación de la necesidad de proponer una alternativa de fijación y conservación de piezas anatómicas y tejidos que brindara mayor seguridad al personal del laboratorio de patología, manteniendo la calidad de los tejidos, con el fin de garantizar la posibilidad de realizar los procedimientos adecuados y seguros. El proyecto formula dos escenarios concretos para la aplicación de los hallazgos, en primera instancia, la utilidad de comprobar la efectividad de las sustancias conservantes alternativas al formol en el proceso de fijación de estructuras anatomopatológicas, en donde los resultados podrían replicarse en otros laboratorios de patología, siendo un punto de partida para nuevas investigaciones. De otro lado, posibilitaría el mejoramiento de la gestión de laboratorio de patología en dos áreas, talento humano y de recursos. La primera, al mitigar los efectos nocivos del formaldehído, brindando un ambiente laboral seguro para los especialistas y equipo que trabaja en el laboratorio de patología. La segunda, en la toma de decisiones sobre la reducción de costos de funcionamiento en la selección de sustancias de fijación y conservación, sin sacrificar la efectividad y calidad de los procedimientos de fijación de estructuras anatomopatológicas.

La importancia del proyecto radica en el alcance del mismo en los procedimientos de laboratorios de Patología para la fijación y conservación de piezas anatómicas, en donde se propende por la ejecución de trabajos más seguros para el personal de laboratorio y las piezas fijadas para posteriores trabajos de investigación en el área. En este sentido, se busca proponer nuevas formas de ejecutar procesos importantes con alternativas donde se reduzca la exposición a sustancias tóxicas y cancerígenas como el formaldehído. Otro aspecto a resaltar, tiene que ver con la posibilidad de reducir los gastos asociados a la adquisición de sustancias fijadoras y conservadoras de estructuras anatomopatológicas, dentro del laboratorio de patología, por otras sustancias alternativas, con efectividad igual o superior.

En adición a lo anterior, se plantea un proyecto novedoso para las condiciones contextuales y caso puntual del laboratorio de patología de la ciudad de Manizales. Se parte de las diversas investigaciones realizadas a nivel mundial y sus hallazgos, para brindar algunas

lucen sobre las posibles sustancias alternativas fijadoras y conservadoras de estructuras anatomopatológicas, dentro del laboratorio de patología. Sin embargo, es necesario validar los resultados antecedentes con pruebas experimentales en las condiciones particulares de los laboratorios de patología para tomar las decisiones más acertadas en la selección de las mejores sustancias conservantes para el proceso de fijación de estructuras anatomopatológicas según su efectividad.

Finalmente, la construcción de este proyecto se hace a partir de la búsqueda rigurosa de material bibliográfico proveniente de artículos de revistas indexadas y otras fuentes de rigor científico, proveyendo al campo de estudio una nueva revisión contextualizada en el estado del arte actual frente al uso de sustancias conservantes alternativas de fijación para piezas anatómicas y tejidos, diferentes a las usadas en la actualidad, donde su componente principal es el formaldehído. Con lo cual, la producción de conocimiento, partirá de los últimos hallazgos sobre la temática y así proponer nuevas alternativas que llenen los vacíos de conocimiento. Este hecho resultaría en nuevos aportes académicos por parte de la Maestría en Biología Humana, para el quehacer del laboratorio de morfología y en este caso de patología, evidenciándose en la producción de la tesis de Maestría, el artículo publicado y la participación en ponencias y congresos, en donde la Maestría será fuente de nuevas propuestas investigativas aplicadas a solucionar problemas concretos del área de conocimiento.

Los hallazgos serían de gran utilidad para el laboratorio de Morfología de la UAM, incidiendo también, en los programas académicos que hacen uso de este espacio para el desarrollo de sus investigaciones, incluyendo la Maestría en Biología Humana. Entonces, los procedimientos del laboratorio de Morfología, resultarían más seguros y económicamente viables, aportando al desarrollo de nuevos conocimientos.

5 REFERENTE TEÓRICO

5.1 ANTECEDENTES

En una búsqueda previa de investigaciones acerca del fenómeno objeto de estudio, se han sistematizado algunos artículos investigativos preliminarmente para establecer el estado del arte sobre el uso de sustancias alternativas al formaldehído para el fijado de piezas anatómicas.

- Muestra de ello es el trabajo adelantado por Wolff et al.(13) quienes plantearon el comparar dos métodos de conservación cadavérica, uno con formol (solución de Montevideo) y otro sin formol (método de Prives) utilizando la placenta humana como órgano experimental, evaluando sus parámetros macroscópicos. Investigación que surgió como respuesta a las desventajas relacionadas con el uso del formaldehído, del cual se reconocen efectos nocivos para la salud humana y la naturaleza, pero por su bajo costo y disponibilidad permanente, ha sido un producto constante en las técnicas de fijación anatómica. Para el alcance del objetivo se planteó una metodología de tipo mixta (cuantitativa-cualitativa) cuasi experimental. La investigación se llevó a cabo en el Hospital Pereira Rossell de Montevideo (Uruguay), en donde se tomaron 46 muestras de placenta humana con un peso promedio mayor a 400 g, las cuales se dividieron en dos grupos, un grupo tratado con formol (22) y otro tratado sin formol (24). La solución propuesta sin formol, denominada Prives contuvo: Glicerina (45%), Acetato de potasio (10%), Agua (40%) y Timol (5%). Siendo preparada manualmente en el laboratorio. El experimento tomó 28 días, divididos en dos, las primeras dos semanas fue en el momento en que las placentas estuvieron sumergidas en las preparaciones y dejadas a temperatura ambiente. Mientras las otras dos semanas, las placentas estuvieron al aire libre y a temperatura ambiente, luego de ser retiradas de la solución. Los investigadores hicieron medidas en tres momentos: día 14, 21 y 28, En donde recolectaron información cuantitativa (peso, diámetro mayor y diámetro menor) y cualitativa (consistencia, color, olor y crecimiento micro/macro organismos). Al finalizar la investigación, Wolff et al. (13) aseguraron que el método Prives sin formaldehído es una opción de calidad para la

fijación de piezas anatómicas, para el caso concreto de las placentas humanas. Se mantuvo las características macroscópicas evaluadas, evitó la proliferación de microorganismos, los tejidos se preservaron de manera fresca y elástica (propiedades generalmente afectadas por el uso del formaldehído). En este orden de ideas, consideran el método Prives como una alternativa de mejor calidad y seguridad para su uso en la fijación de piezas humanas, mientras recomiendan hacer mayores estudios extrapolados a animales de tamaño pequeño y a cadáveres humanos.

- De otro lado, la investigación llevada a cabo por Belloni et al.,(14) se centró en evaluar un nuevo método de fijación denominado PAXgene (PreAnalytix, Switzerland) en comparación con la técnica tradicional con el uso de formaldehído, esto en muestras congeladas de melanoma. La sustancia PAXgene está compuesta por metanos y ácido acético, su composición es orgánica, es soluble y la mezcla contiene alcoholes como el etanol para estabilizarla. Se destaca, en la descripción del compuesto, la propiedad de preservar la morfología, contenido proteico y la integridad del ácido nucleico. Los investigadores tomaron 12 muestras de melanoma a pacientes en proceso de cirugía en el Departamento de Dermatología del Hospital Universitario de Zúrich, Suiza. Al ser tomadas las muestras se fijaron con el uso de nitrógeno líquido, PAXgene y con formaldehído. Para el caso de las muestras fijadas con PAXgene, se siguieron las indicaciones de tamaño máximo, de tiempo y temperatura, recomendados por el fabricante. En cuanto a la valoración final, los investigadores compararon la morfología y la inmunohistoquímica de ambos métodos, la calidad del ácido nucleico en función del método de fijación y calidad del ADN mediante secuenciación directa. Dentro de los hallazgos de la investigación adelantada por Belloni et al.,(14), se destaca que el uso del PAXgene provee ventajas en la detección de ácido nucleico, útiles para los marcadores específicos vinculados a enfermedades que requieren un análisis de ampliación más largo. Sin embargo, con miras al trabajo de rutina llevado en un laboratorio de patología, recomiendan continuar con el uso de los métodos de fijación tradicionales. Esto, debido a la fijación con PAXgene provee ventajas significativas en algunos análisis moleculares, ventaja que no es suficiente para cambiar el método tradicional. Según se ha revisado en la referenciada investigación, es necesario realizar

investigaciones complementarias para avanzar en el conocimiento de métodos alternativos al del uso del formaldehído, con resultados a la medida de las necesidades del trabajo de laboratorio.

- Una investigación adicional se ha llevado a cabo por Stefanits et al.,(15) con el fin de presentar el uso de un fijador denominado KINFix (*Klinisches Institut für Neurologie Fixative*), el cual es libre de formaldehído. El uso de este fijador se ha realizado como un sustituto del fijador comercial RCL2 el cual fue discontinuado del mercado. En efecto, los investigadores al encontrarse con la no disponibilidad del fijador basado en etanol, decidieron elaborar el fijador KINFix con base en los componentes del RCL2. Entonces la receta utilizada por los autores ha sido: “para la solución de trabajo, añadir 537 mL de ácido acético a 2.000 mL de ddH₂O (¡Cuidado, no verter ddH₂O en el ácido acético!) Llenar hasta 3.000 mL de volumen con ddH₂O. Añadir 480 g de trehalosa. Diluir con 5.000 mL de etanol 100%. El resultado es 8.000 mL de solución de trabajo KINFix lista para usar” (15). Para la fijación se tomaron muestras de tejido neuroquirúrgico de tamaños de 20x20x5 mm máximo. Los investigadores hicieron el estudio comparativo con KINFix, RCL2 y formaldehído, al finalizar el estudio encontraron que el fijador KINFix era útil para conservar las características histológicas, además obtuvo un buen desempeño en la preservación de las proteínas y los ácidos nucleicos. Ahora bien, según Stefanits et al.,(15) el fijador propuesto en la investigación debe ser tomado como una alternativa, sin que necesariamente deba ser generalizado su uso, no obstante lo consideraron, inicialmente, como un complemento para las fijaciones anatómicas convencionales realizadas con formaldehído.
- De otro lado, Bussolati et al.,(16) realizaron una investigación en donde probaron una sustancia alternativa al formaldehído, en este caso el glyoxal. Sustancia que comercialmente se obtiene con el 40% de concentración, sin embargo, los investigadores advierten resultados de baja calidad, comparativamente con los obtenidos por medio del uso tradicional del formaldehído. Por este motivo, optaron por la reducción de la acidez del glyoxal, para crear un fijador neutro eliminando los ácidos del glyoxal dialdehído. Luego de la producción en laboratorio del glyoxal libre de ácido, se utilizó en la fijación de 30 muestras quirúrgicas humanas, de las cuales 25

fueron tomadas de cáncer de colon y 5 de cáncer de estómago. Las muestras utilizadas fueron fijadas paralelamente con el uso de glyoxal y con formaldehído. Asimismo, las muestras fueron teñidas en Hematoxilina y Eosina. Finalmente, los investigadores encontraron resultados similares en cuanto a la preservación de las propiedades estructurales y macromoleculares de las células y tejidos, comparativamente al uso del glyoxal libre de ácido y el formaldehído. Esta comprobación se considera de importancia, al leerse en su discusión que han invalidado otras investigaciones en donde se consideraban las fijaciones con uso de formaldehído como superiores a la glyoxal, afirmaciones que no tuvieron en cuenta el efecto negativo de la acidez de la sustancia de fijación. Mientras la citada investigación, ha encontrado idoneidad como alternativa fijadora del glyoxal comparativamente con el formaldehído, siempre y cuando se reduzca o eliminen los ácidos glioxílico, glicólico, fórmico, acético y oxálico(16).

- En adición se cita la investigación llevada a cabo por Haizuka et al.,(3) quienes se propusieron a establecer los efectos fijadores del NVP (N-Vinyl-2-pyrrolidone) en cadáveres humanos, como una alternativa para reemplazar el uso del formaldehido. Los investigadores partieron de reconocer en otras investigaciones hechas con animales efectos fijadores, antimicrobianos y conservadores. En el experimento se utilizaron 15 cadáveres de entre los 67 y 98 años de edad. El trabajo para embalsamar se realizó en diferentes concentraciones de NVP (4% – 5%, baja; 10% - 10,5%, media; 21,5%, alta), además se prepararon tres cadáveres que sirvieron de control para el experimento, los cuales fueron inyectados con una preparación de formaldehído (5% formalina, 5% glicerol, 5% fenol, 52% alcohol, 33% agua). Para el análisis estadístico final, los investigadores utilizaron el paquete estadístico de t student para muestras independientes, en donde se midieron propiedades macroestructurales de movimiento y consistencia. Los hallazgos de la investigación permitieron determinar que el NVP en concentraciones entre 4% y 21,5% es un adecuado fijador, desinfectante y conservante de cadáveres. Además, los cuerpos resultaron óptimos para el desarrollo de las habilidades en los estudiantes de medicina, ya que las articulaciones se mantuvieron móviles, como también mantuvieron las condiciones de calidad de los nervios cutáneos, venas, ligamento, tendones y viseras, facilitando su manipulación. En este sentido, el

NVP resultó ser una alternativa adecuada frente al uso del formaldehído para el embalsamamiento de cadáveres humanos en diferentes concentraciones.

- Otra investigación se adelantó por parte de Cisne et al.,(17) en donde se planteó como objetivo central el de establecer las propiedades fijadoras de una solución con base en etanol que contiene ácido tánico. El proceso se realizó con la obtención de tejidos de corazón, intestino y cerebro provenientes de 15 ratones, los cuales, luego de hacerles la eutanasia, se les extrajo 5 muestras por cada tejido, una por cada ratón. Las muestras se almacenaron a temperatura ambiente en las soluciones preparadas para tal fin: formalina (10%), etanol (70%) y solución etanólica de ácido tánico. Luego se realizó la extracción de los tejidos para su deshidratación y limpieza, para luego ser incrustados en la parafina. El proceso de tinción se hizo con Hematoxilina y Eosina, Gomori y Resorcina-fucsina de Weigert. La valoración cuantitativa de la tinción histoquímica se realizó con histogramas de intensidad de píxeles, ya que estos han servido para demarcar las áreas de interés, y previamente se eliminó el posible ruido o material no especificado. Dentro de los hallazgos señalan que la solución etanólica de ácido tánico es superior a las otras dos, en cuanto a su capacidad de preservar los tejidos fijados, siendo menos tóxico para quienes manipulan las sustancias. Además, preserva los tejidos a nivel microscópico, demostrado con imágenes que guardaron mejor los detalles y con histogramas de intensidad de píxeles.
- Por último la investigación de Giménez et al.,(18) hace una comparación entre sustancias conservantes alternativas de fijación en anatomía patológica: Fine-Fix (Milestone), Green-Fix (Diapath) y Molecular Fixative (Sakura). En el procedimiento se buscó valorar la capacidad de fijación tisular y de permeación tisular en muestras de tamaño medio. Los parámetros de comparación establecidos en la investigación han sido: impregnación tisular de los fijadores, calidad y facilidad del corte, calidad de la tinción Hematoxilina-Eosina, calidad de las Tinciones Especiales, y calidad de las técnicas inmunohistoquímicas. Según los autores, los resultados muestran un buen desempeño de los productos denominados Fine-Fix y Molecular Fixative, comparativamente con el uso del formaldehído, esto en la calidad de las fijaciones, sin embargo, los autores consideran que los resultados no son del todo concluyentes,

motivo por el cual se deben ejecutar nuevas investigaciones en donde sean resueltos problemas relacionados con las técnicas Inmunohistoquímicas, a fin de validar las sustancias alternativas al formaldehído.

5.2 MARCO TEÓRICO

5.2.1 Los fijadores

Estas sustancias permiten la recuperación de las moléculas intactas de los tejidos que han sido fijados. Cualquier fijador debe inhibir que los tejidos se vean afectados por el crecimiento de bacterias y agentes infecciosos, manteniendo así la integridad tisular y celular de los mismos. Las características ideales que deben tener los fijadores son las siguientes, según Eltuom et al (19):

1. Deben ser eficaces para una amplia variedad de tejidos y órganos, incluido el tejido graso, el tejido linfoide y el tejido neural, así como para ser usados en diferentes especies de animales sin importar su tamaño.
2. Deben ser adecuados para todos los procedimientos y pruebas de un laboratorio de histología: tinciones de rutina, tinciones especiales, inmunotinciones y técnicas de hibridación.
3. Deben dar los mejores resultados morfológicos en la tinción de hematoxilina y eosina (H&E), y la tinción de las secciones debe ser estable durante el tiempo que dure su almacenamiento.
4. Deben ser estables, y con una vida útil de al menos 1 año.
5. Deben ser compatibles con la mayoría de los procesadores de tejidos.
6. Deben penetrar y fijar el tejido en un tiempo realista.
7. Deben ser cómodo de usar y de almacenar, sin ser extremadamente inflamables.
8. Deben servir para el almacenamiento de muestras a largo plazo.
9. Deben plantear riesgos toxicológicos mínimos para el uso rutinario en el laboratorio.
10. Deben ser rentables.
11. Deben ser fácilmente desechables y reciclables.

12. Deben fijar los tejidos para que se corten fácilmente al incrustarlos en la parafina.

5.2.2 Métodos de fijación

La fijación de los tejidos puede realizarse por métodos físicos y/o químicos. La mayoría de los métodos de fijación utilizados en el procesamiento de tejidos para diagnósticos histopatológicos se basan en la fijación química realizada mediante fijadores líquidos. Los métodos físicos, como el calentamiento, el microondas y la liofilización son procesos independientes y no se utilizan habitualmente en la práctica rutinaria de la patología médica o veterinaria, anatomía e histología, salvo el uso de la fijación por calor seco de los microorganismos antes de la tinción de Gram, (20). A continuación, se relacionan los diversos métodos de fijación:

Tabla 1. Métodos de fijación

| | | |
|----------|---|---|
| Físicos | Fijación por calor | En histopatología el calor se utiliza principalmente para acelerar otras formas de fijación. Cada componente es menos soluble en agua después de la fijación por calor, como se da en el caso de un huevo cuando se calienta, en donde la clara y la yema pueden identificarse por separado. Cuando se toma una sección congelada y se coloca en un portaobjetos de un microscopio caliente, esta se adhiere al portaobjetos fijándose como consecuencia del calor y la deshidratación. |
| | Fijación por microondas | El calentamiento por microondas acelera la fijación y puede reducir de más de 12 horas a menos de 20 minutos el tiempo de fijación de algunas muestras brutas y secciones histológicas. Este procedimiento presenta ciertos riesgos de seguridad y debe ser aplicado con equipos de microondas especiales. |
| | Liofilización y sustitución por congelación | La liofilización es una técnica útil para estudiar materiales solubles y moléculas pequeñas; los tejidos se cortan en secciones finas, se sumergen en nitrógeno líquido y el agua se elimina en una cámara de vacío a -40°C. El tejido puede fijarse posteriormente con vapor de formaldehído. En sustitución, los especímenes se sumergen en fijadores a -40°C, como acetona o alcohol, que eliminan lentamente el agua mediante la disolución de cristales de hielo, y las proteínas no se desnaturalizan; Llevando la temperatura gradualmente a 4°C se completa el proceso de fijación. |
| Químicos | Fijadores coagulantes | Tanto las soluciones orgánicas como las no orgánicas pueden coagular las proteínas, haciéndolas insolubles. La coagulación de dichas proteínas mantiene la histomorfología de los tejidos a nivel del microscopio óptico. |
| | Fijadores coagulantes deshidratantes | Los fijadores coagulantes más utilizados son alcoholes (etanol, metanol) y acetona. El metanol está más cerca de la estructura del agua que el etanol, por lo tanto, el etanol compite más fuertemente |

| | | |
|--|--|--|
| | | que el metanol en la interacción con las zonas hidrofóbicas de las moléculas; así, la fijación del coagulante comienza a una concentración del 50-60% para el etanol, pero requiere una concentración del 80% o más para el metanol. |
| | Otros tipos de fijadores coagulantes | <p>Los coagulantes ácidos, como el ácido pícrico y el ácido tricloroacético, cambian las cargas de las cadenas laterales ionizables, de las proteínas e interrumpen el enlace electrostático y de hidrógeno. Estos ácidos también pueden insertar un anión lipofílico en una región hidrofílica y, por tanto, alterar las estructuras terciarias de las proteínas. El ácido acético coagula los ácidos nucleicos, pero no fija proteínas, por lo que se añade a otros fijadores para evitar la pérdida de ácidos nucleicos.</p> <p>El ácido tricloroacético puede penetrar dominios hidrofóbicos de las proteínas y el anión producido reacciona con los grupos aminos cargados. Esta interacción precipita las proteínas y extrae ácidos nucleicos. El ácido pícrico o trinitrofenol se disuelve ligeramente en agua para formar una solución ácida débil (pH 2.0). En las reacciones, forma sales con los grupos básicos de proteínas, lo que provoca la coagulación de las mismas. Si la solución se neutraliza, la proteína precipitada puede redisolverse. La fijación con ácido pícrico produce una tinción más brillante, pero las soluciones de pH bajo de ácido pícrico pueden causar hidrólisis y pérdida de ácidos nucleicos.</p> |
| | Fijadores de reticulación no coagulantes | <p>Se seleccionaron varios productos químicos como fijadores por su potencial acción de formar enlaces cruzados dentro y entre las proteínas y los ácidos nucleicos. El entrecruzamiento puede no ser un mecanismo importante en los actuales tiempos cortos de fijación, y por lo tanto los "fijadores covalentes aditivos" pueden ser un mejor nombre para este grupo.</p> <p>Algunos ejemplos son el formaldehído, el glutaraldehído y otros aldehídos, como el hidrato de cloral y el glyoxal, sales metálicas como el cloruro de mercurio y de zinc, y otros compuestos metálicos como el tetróxido de osmio. Los grupos aldehídos son química y biológicamente reactivos y son responsables de muchas reacciones histoquímicas.</p> |
| | Fijación de formaldehido | <p>El formaldehído en su forma de tampón neutro al 10% (NBF) es el fijador más utilizado en el diagnóstico patológico. El formaldehído puro es un vapor que, cuando se disuelve completamente en agua, forma una solución que contiene entre un 37% y un 40% de formaldehído; esta solución acuosa se conoce como "formalina".</p> <p>El "formol al 10%" que se utiliza habitualmente en la fijación de tejidos es una solución al 10% de formol y contiene aproximadamente un 4% en peso y volumen de formaldehído.</p> |
| | Fijación de glutaraldehído | <p>Se sabe menos sobre las reacciones biológicas y los efectos del glutaraldehído en comparación con el formaldehído, ya que no se ha utilizado tan ampliamente en aplicaciones biológicas. El glutaraldehído es un aldehído bifuncional que probablemente se combina con los mismos grupos reactivos que el formaldehído. En soluciones acuosas el glutaraldehído se polimeriza, formando</p> |

| | | |
|----------------------|---|--|
| | | compuestos cíclicos y compuestos oligoméricos. |
| | Fijación de tetróxido de osmio | El tetróxido de osmio es un sólido tóxico, soluble en agua y en disolventes no polares y puede reaccionar con sitios hidrofílicos e hidrofóbicos, incluyendo las cadenas laterales de las proteínas, causando potencialmente la reticulación. La reacción mejor caracterizada del osmio es su reacción con los enlaces insaturados de los lípidos y fosfolípidos. |
| | Fijadores de reticulación para microscopio de electrones | Los lípidos de las estructuras celulares (membranas citoplasmática y nuclear, las mitocondrias, los gránulos secretores, retículo endoplásmico liso y rugoso.), pueden ser extraídos mediante muchos fijadores con deshidratantes (por ejemplo, alcoholes). Por lo tanto, para el examen ultra estructural es importante utilizar un fijador que no solubilice los lípidos. Los fijadores preferidos son un fijador de reticulación fuerte como el glutaraldehído, una combinación de glutaraldehído y formaldehído, o Carson's modificado de Millonig, seguido de una post-fijación en un agente que lo estabilice aún más. |
| | Cloruro de mercurio | Históricamente, el cloruro mercúrico era muy favorecido por sus cualidades para mejorar las propiedades de tinción de los tejidos, especialmente para las tinciones de tricromía. Sin embargo, ahora rara vez se utiliza en el laboratorio clínico debido los problemas de salud y seguridad que conlleva el uso de un fijador que contiene mercurio, y también debido a la utilización de "tinciones especiales". Otra gran desventaja de la fijación con cloruro de mercurio es la formación inevitable de depósitos de color negro intenso de pigmentos mercuriales. |
| Fijadores especiales | Fijación de dicromato y ácido crómico | El trióxido de cromo se disuelve en agua para producir una solución ácida de ácido crómico, con un pH de 0,85. El ácido crómico es un potente agente oxidante que produce un aldehído a partir de los residuos de 1, 2-diglicol de los polisacáridos. Estos aldehídos pueden reaccionar en las tinciones histoquímicas (PAS y argentafina/argirófilo) y deben aumentar el fondo de la tinción inmunohistoquímica. |
| | Iones metálicos como suplemento fijador | El mercurio, el plomo y el zinc son los más utilizados en los fijadores actuales, por ejemplo, se sugiere que el formaldehído con zinc es un mejor fijador para la inmunohistoquímica que el formaldehído solo. Sin embargo, esto depende del pH del formaldehído, así como del formaldehído con zinc. |
| Fijadores compuestos | Los patólogos utilizan fijadores a base de formaldehído para garantizar patrones histomorfométricos reproducibles. Se pueden añadir otros agentes al formaldehído para producir efectos específicos que no son posibles con el formaldehído solo. El deshidratante etanol, por ejemplo, puede añadirse al formaldehído para producir formalina alcohólica. Los fijadores compuestos son útiles para tejidos específicos, por ejemplo, la formalina alcohólica para la fijación de algunos tejidos grasos, como la mama, en los que la conservación de los lípidos no es importante. Además, la fijación de muestras brutas en formalina alcohólica puede ayudar a identificar los ganglios linfáticos incrustados en la grasa. Algunos fijadores combinados que incluyen formalina alcohólica son buenos para preservar el inmunoreconocimiento del antígeno, pero pueden incrementar la tinción inespecífica o de fondo en los estudios de inmunohistoquímica. | |

Fuente: Elaboración propia con base en Suvarna et al. (20)

5.2.3 Formaldehído

Es una sustancia química con fórmula HCHO, la cual tiene diversidad de sinónimos, donde los más comunes son la formalina (solución con agua) y formol (21). Se caracteriza por ser incoloro, inflamable, explosivo en estado gaseoso, irritante para los ojos y vías respiratorias (22). Además, es una sustancia química muy reactiva con la capacidad de reaccionar consigo misma y crear paraformaldehído. Generalmente la forma en que se comercializa el formaldehído es en concentraciones del 30% y 40% de formaldehído, 15% de metanol como agente estabilizante, y entre el 48% y 53% de agua (21).

Ahora bien, la producción de formaldehído es generalizada para su uso en diversas industrias como en la producción de papel, textiles, madera, aislamientos, resinas, lubricantes, componentes eléctricos, detergentes, cosméticos, jugos de caña, desinfectantes, refinación de petróleo, preservantes, cueros y preservación de tejidos (21). Ante la amplia utilización de esta sustancia química, se ha requerido de mayor vigilancia frente a los factores de riesgo de su uso y los efectos en la salud de las personas que manipulan el formaldehído.

Sobre esto último, el formaldehído usa tres vías de acceso al cuerpo humano, al: respirarlo, ingerirlo o entrar en contacto con la piel. Las dos primeras vías de acceso son las de mayor velocidad de absorción (22). Los tejidos del cuerpo tienen la capacidad de degradar el formaldehído convirtiéndolo en formol que luego es excretado por la orina. Sin embargo, se han documentado efectos sobre la salud de acuerdo a las concentraciones de la sustancia química.

Tabla 2. Efectos del formaldehído sobre la salud

| Concentración | Efectos | |
|---------------|-----------|--|
| | Código | Descripción |
| 1% - 5% | R40 | Posibles efectos cancerígenos |
| | R43 | Posibilidad de sensibilización al contacto con la piel |
| 5% - 25% | R20/21/22 | Nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel |
| | R36/37/38 | Irrita los ojos, la piel y las vías respiratorias |
| | R40 | Posibles efectos cancerígenos |

| | | |
|-------|-----------|--|
| | R43 | Posibilidad de sensibilización al contacto con la piel |
| > 25% | R23/24/25 | Tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel |
| | R34 | Provoca quemaduras |
| | R40 | Posibles efectos cancerígenos |
| | R43 | Posibilidad de sensibilización al contacto con la piel |

Fuente: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (21).

5.2.4 Formaldehído como fijador de piezas anatómicas (proceso de fijación)

El proceso de fijación de los tejidos se efectúa en el laboratorio de patología basado en los fundamentos básicos de histología, razón por la cual se presenta a continuación lo que se puede considerar como el proceso tradicional de fijación de piezas anatómicas, el cual se realiza con el uso del formaldehído. En este sentido, los pasos para el procesamiento histoquímico de los tejidos son:

Fijación: En esta etapa se busca mantener la muestra lo más parecido posible a su estado natural. Por este motivo se requiere impedir la autólisis de las células y así preservar la estructura celular. En este proceso se utiliza Formol tamponado al 10% con pH neutro o fijador de Bouin. El principal efecto es el de entrecruzar las proteínas de la muestra. Asimismo, sirven como antisépticos impidiendo la degradación de las estructuras, además actúan como mordientes, es decir, ayuda a que la posterior sustancia de tinción presente mayor afinidad con las estructuras celulares. Según el coeficiente de difusibilidad expuesto por Suvarna et al. (20), este proceso de fijación puede tardar hasta 25 horas, para una esfera de 10 mm.

Postfijación: Las técnicas de fijación pueden requerir pasos adicionales antes de iniciar el procesamiento. Los fijadores de ácido pícrico (Bouin) forman picratos solubles en agua, por lo que se hace necesario colocar las casetes de tejido directamente en alcohol al 70% para su procesamiento. Los fijadores alcohólicos, como el líquido de Carnoy, deben colocarse directamente en alcohol al 100%. Para ayudar a la visualización de pequeños fragmentos de tejido durante la incrustación, se pueden añadir unas gotas de eosina al 1%, pueden añadirse al recipiente de la muestra 30 minutos antes del procesamiento. El color

rosa del tejido se mantiene durante el procesamiento, pero se desvanece durante la tinción posterior. Suvarna et al. (20)

Deshidratación: Las muestras de los tejidos poseen una gran cantidad de agua, con lo cual es necesario efectuar la eliminación de la misma, proceso que se realiza con el uso de alcohol etílico. La deshidratación se realiza aplicando baños graduales de alcohol etílico en concentraciones creciente, iniciando al 50% hasta llegar al 100%. Los tiempos que demora sumergida la muestra en cada una de las concentraciones depende del tamaño, sin embargo, es un proceso que podría tardar hasta seis horas.

Aclaramiento: El proceso de aclaramiento, se realiza con el uso de la sustancia denominada Xilol con el fin de retirar el alcohol utilizado en el paso anterior. Ahora bien, el agua y el alcohol no son solubles con la parafina fundida, sustancia a ser aplicada en el proceso posterior.

Homogenización: Los tejidos se pasan por dos baños sucesivos de parafina líquida a una temperatura entre 58°C y 60°C, durante 1 hora en cada uno. Una vez transcurridas las 12 horas se verifica que las muestras hayan realizado el recorrido adecuadamente, si se evidencian fallas en el proceso se debe proceder a realizarlo de forma manual (23).

Inclusión: Este punto está precedido por uno denominado la impregnación, en donde la muestra es sumergida en parafina líquida, la cual, presentará unas temperaturas que oscilan entre los 40°C y los 70°C (24), y debe impregnar todo el tejido, los espacios entre las células y dentro de las células, así queda totalmente infiltrada la muestra. Este proceso puede realizarse entre tres a cuatro horas. Posteriormente se realiza la inclusión de la muestra, la cual se coloca en un molde cúbico donde se incorpora la muestra y se vierte parafina líquida, a fin de formar un bloque. Aquí la muestra se deja endurecer a temperatura ambiente.

Corte: Ahora el bloque obtenido del paso anterior debe ser cortado en finas capas para poder ser visualizado en el microscopio, para esto se utiliza un micrótomo el cual usa una

cuchilla para hacer cortes de entre 3 y 4 micras (μm) (23). Los cortes obtenidos son sumergidos en un baño de agua caliente “baño de flotación” (800 cc de agua con 0.1 de gelatina a una temperatura entre 54°C y 60°C) para que extiendan, corrigiendo arrugas y pliegues con pinceles finos. Las láminas deben ser colocadas en una gradilla y desparafinizar en el horno a una temperatura de 60°C durante 60 minutos. Posteriormente las láminas deben colocarse en dos baños consecutivos de xilol a temperatura ambiente durante 5 minutos en cada uno, y ahí sí, pueden ser colocadas (23).

Montaje y tinción: Los cortes ya preparados son puestos en un portaobjetos y luego se procede a realizar la tinción, la cual se hace según el tipo de tejido y necesidades puntuales de observación. Sin embargo, en histología la coloración más común a utilizar en el método tradicional es la tinción Hematoxilina-Eosina (HyE), conocida como tinción de rutina. La Hematoxilina es azul, tiñe al núcleo y regiones ácidas del citoplasma. Mientras la Eosina es rosa, tiñe regiones básicas del citoplasma y fibras de colágena. Los productos para hacer las tinciones son hidrosolubles, con lo cual se requiere eliminar la parafina, lo cual se hace con Xileno, para luego sumergir la muestra en etanol, progresivamente de concentración alta (100%) a concentración baja (50%), finaliza el proceso sumergiendo la muestra en agua destilada. Luego se coloca el cubre objetos, proceso que puede demorar una hora. Al finalizar se sumerge la muestra en la tinción deseada. Finalmente se realiza el montaje, en donde se coloca la muestra sobre el portaobjetos y se aplica resinas para asegurar el cubre objetos, el cual es necesario para proteger la muestra y garantizar que se observe a través del microscopio.

5.2.5 Sustancias conservadoras alternativas al formaldehído para el proceso de fijación

- **Solución fijadora conservadora Chilena (SFCCh)**

Es una solución desarrollada en Chile por el investigador Alberto Rodríguez, con el fin de obtener una alternativa diferente al formol que garantice la fijación y conservación de

piezas anatómicas manteniendo sus características (25). A continuación, se listan los diferentes componentes de la Solución chilena y las funciones de cada uno.

Tabla 3. Ingredientes de la Solución chilena

| Componente | Función principal |
|---|--|
| Cloruro de sodio (sal de cocina) | Propiedades preservantes. |
| Nitrato de Sodio | Conserva los colores. |
| Glicerina | Inhibidor de los cambios enzimáticos, preservantes, ablanda. |
| Alcohol etílico | Deshidrata y degrada la grasa. |
| Cloruro de benzalconio (de uso oftálmico) | Esporicida (antifúngico) en altas concentraciones. |
| Formaldehido | Desinfectante y conservante de muestras biológicas frescas. |
| Esencia de eucalipto (u otro aroma) | Neutraliza el olor irritante del formaldehido. |

Fuente: Franco JC. (26)

5.2.6 Efectividad de fijación de estructuras anatomopatológicas

Para el establecimiento de la efectividad de fijación de estructuras anatomopatológicas se requiere hacer un seguimiento cuantitativo y cualitativo de la incidencia de las técnicas en las piezas utilizadas.

- **Mediciones cuantitativas de la fijación de estructuras anatomopatológicas**

En los diferentes trabajos revisados en los antecedentes, el seguimiento de las mediciones cuantitativas se privilegia el uso de programas de tratamiento de datos como las hojas de cálculo de Excel, ya que se desea precisar las variaciones en las medidas y calcular su significancia estadística.

- **Peso**

El seguimiento de las piezas debe abarcar las posibles variaciones que puedan presentarse en el peso, por este motivo se considera realizar valoraciones periódicas del peso en gramos, en cuatro estadios: ante de iniciar el proceso de fijación (previo lavado), en el día

3, día 7, día 14, día 21 y día 28 (13). Este seguimiento se realiza con la medición en gramos del peso de las muestras y calculando el promedio.

- **Diámetro**

Para hacer un seguimiento comparativo del efecto de las sustancias conservantes, se requiere establecer medidas de dimensiones. Para este caso se considera el diámetro de las muestras, en un estudio ejecutado con placentas, se utilizó el diámetro placentario mayor y menor, medido en milímetros (13). Igualmente, como lo fue para el caso del peso, el seguimiento se realiza en el momento inicial y luego en periodos de tiempo: previo lavado, día 3, día 7, día 14, día 21 y día 28.

- **Mediciones cualitativas de la fijación de estructuras anatomopatológicas**

Al abordar el seguimiento de la evolución de las muestras fijadas y conservadas, desde una perspectiva cualitativa, se hace necesario establecer escalas de valoración, con lo cual se plantean escalas tipo Likert para cada uno de los atributos a identificar en la medición periódica.

- **Color**

La medición para esta variable se hace teniendo en cuenta la posibilidad de oscurecimiento de la muestra por efecto de la sustancia conservante (13). Para lo cual se propone una escala de cuatro valores: natural, poco oscuro, moderadamente oscuro, muy oscuro. Las mediciones se realizan en periodos de tiempo: previo lavado, día 3, día 7, día 14, día 21 y día 28.

- **Consistencia**

En cuanto a la consistencia, se propone una escala de valoración de tres niveles, compuesta por las siguientes características: normal o fresca, elástica o levemente sólida, sólida o tipo

caucho (13). Las mediciones se realizan en periodos de tiempo: previo lavado, día 3, día 7, día 14, día 21 y día 28.

- **Calidad de la tinción para el diagnóstico**

Una actividad fundamental llevada a cabo en el laboratorio de patología, es el del diagnóstico de cambios estructurales y funcionales relacionados con enfermedades que comprometen a los órganos, tejidos y células, con lo cual es necesario contar con imágenes de alta calidad para su análisis microscópico. En este escenario, se realizan mediciones al finalizar todo el procedimiento de fijación de las piezas anatómicas. Para este caso se consideró una escala de valoración semicuantitativa (27), la cual permite a un experto establecer la calidad de la tinción final para fines de diagnóstico, denominación dada por Moelans, et al. (28). En estudios precedentes se han propuesto escalas de tres (28,29), cuatro (27,30) y cinco (31). Para efectos de la presente investigación se propone una escala de cuatro: 1-pobre, 2-regular, 4-buena, 5-excelente.

6 OBJETIVOS

6.1 GENERAL

Evaluar diferentes alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología.

6.2 ESPECÍFICOS

- Medir la capacidad de fijación de diferentes sustancias fijadoras y conservadoras en estructuras y tejidos anatomopatológicas.
- Determinar la efectividad en la conservación de estructuras y tejidos anatomopatológicos con diferentes sustancias fijadoras y conservantes.

7 METODOLOGÍA

7.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Se planteó una investigación de diseño experimental, en donde se indaga fenómenos naturales, buscando regularidades y relaciones causales entre elementos. La característica fundamental de este diseño es el hecho de realizar la manipulación intencional de las condiciones naturales y posibles variables (32). Esto sucede mientras las variables, factores o características del fenómeno objeto de estudio son medidos, información que sirve para comprobar hipótesis y demostrar teorías. En este sentido, la investigación buscó comprobar la efectividad de una sustancia para su uso en el proceso de fijación y conservación de piezas anatómicas para el estudio histopatológico en los laboratorios de patología.

7.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación es cuasi-experimental, buscó analizar cuál es la diferencia de resultados de una acción (diferentes sustancias fijadoras y conservadoras) sobre muestras similares de piezas anatómicas (32). Entonces el trabajo en el laboratorio para la realización de pruebas, fue la base para el establecimiento de los efectos de las sustancias alternativas al formaldehído. Para este caso se consideró efectuar mediciones en periodos de tiempo: previo lavado, día 5, día 7, día 14, día 21 y día 28., es decir, se efectuaron los procesos de conservación con las sustancias y se hicieron las mediciones luego para cada una de las muestras. Se consideró como tratamiento de comparación el formaldehído, ya que es el método tradicionalmente difundido en los laboratorios de patología. De cara a los procedimientos aplicados, se aclara que una de las sustancias utilizada, llamada Glisocol, hace parte de un proyecto de investigación independiente adelantado en el laboratorio de morfología de la Universidad Autónoma de Manizales y la Universidad de Manizales, destacando que la información sobre sus componentes se encuentra en proceso de patente.

7.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se recibieron muestras del Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas), por medio del médico Patólogo Alejandro Posada. La muestra estuvo compuesta por 99 piezas patológicas de diferentes estructuras.

De allí se hizo un muestreo no probabilístico, no representativo, escogido por conveniencia. En el lapso de 9 días, empezando el 24 de agosto del 2021 y terminando el 2 de septiembre del 2021, se recolectaron 8 muestras frescas las cuales se dividieron, por las sustancias a probar (formol, solución chilena y glisocol), dando un total de 24 muestras y, 25 muestras fijadas en formol, divididas en 3 cada una, dando un total de 75 muestras fijadas en formol. En total se obtuvo 99 muestras.

Como criterio de inclusión, se tuvo en cuenta el uso de muestras disponibles en el laboratorio de patología que requirieron ser fijadas y conservadas en cantidad suficiente para la aplicación de tres sustancias conservantes diferentes, manteniendo la homogeneidad, a fin de no alterar los resultados finales. Se excluyeron las muestras que por su tamaño dificultaron el procedimiento, en este caso aquellas que fueron muy pequeñas y no se pudieron dividir.

Figura 1. Muestras de diferentes cortes (Fotografías tomadas por la autora).



7.4 PROCEDIMIENTO

El procedimiento llevado en el trabajo de laboratorio se ha desglosado (figura 1), la duración fue de 29 días. Dando inicio con la selección de muestras, medición de las mismas, y preparación de las soluciones a utilizar, diferenciadas entre estas.

Consecutivamente se realizó el proceso de fijación, momento en donde igualmente se hicieron las respectivas mediciones y toma de datos, cualitativos y cuantitativos, luego se determinó la efectividad de la conservación observando la calidad de la tinción para el diagnóstico desde un análisis en el microscópico. Finalmente, la información recabada en el proceso experimental, fue sistematizada y analizada, para emitir las correspondientes conclusiones a la luz de los hallazgos.

Para dar alcance al primer objetivo específico, se realizó la preparación de tres sustancias fijadoras en las cuales se sumergieron muestras patológicas similares.

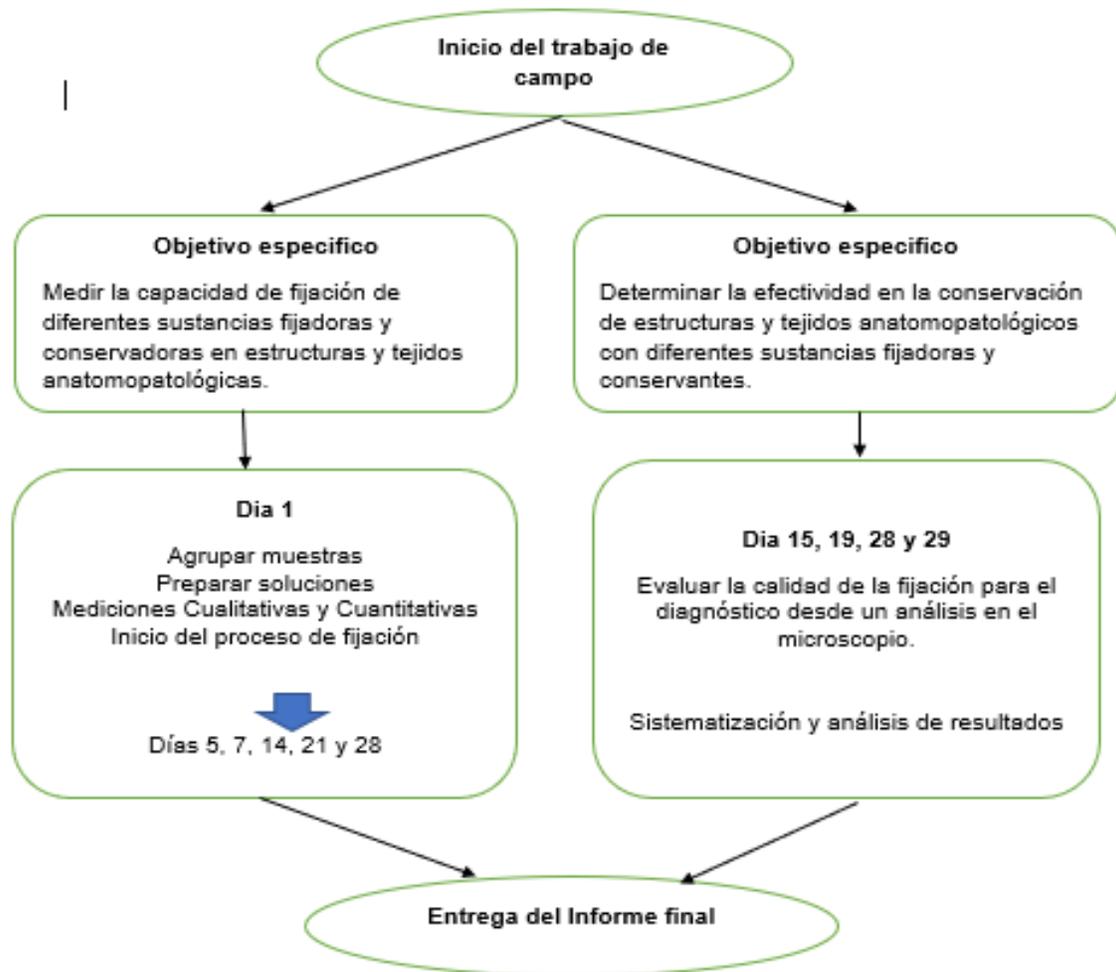
Este procedimiento se hizo a temperatura ambiente y en un envase cerrado, siguiendo el modelo de Wolff et al.,(13). Las sustancias seleccionadas para esta prueba fueron: formol, solución conservadora chilena y glisocol.

Las medidas cualitativas y cuantitativas se realizaron en seis momentos diferentes:

- a) Antes de introducir las piezas en las sustancias conservantes.
- b) En los días 5, 7, 14, 21 y 28, de acuerdo al planteamiento experimental propuesto por Wolff et al., (13).

El día 15 y 19 se hizo la entrega de las muestras al Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas), en total 9 para ser observadas por el patólogo, dichas muestras se dividieron en tres grupos: 1. Muestra fresca del nódulo epiplón; 2. Muestra de la vesícula; 3. Muestra de apéndice, las dos últimas venían previamente fijadas en formol. Para el día 28 y 29 se entregaron otras 9 muestras a fin de realizar el proceso de hacer los respectivos bloques para la observación en el microscopio. Para cada caso se usaron las tres sustancias conservantes.

Figura 2. Procedimiento de la investigación



Con miras al cumplimiento del segundo objetivo específico planteado se procedió a la realización de pruebas de laboratorio. A fin de medir parámetros de calidad en la efectividad de la conservación de las muestras seleccionadas, evaluando las estructuras anatomopatológicas de las muestras luego del proceso de fijación. Los pasos para este procedimiento de laboratorio fueron los siguientes:

- a) Extraer las muestras patológicas de las sustancias conservantes, luego se eliminó el exceso de líquido, lo cual se realizó con un lavado usando agua potable, esto a fin de obtener valores más precisos al momento de la medición.

- b) Hacer el proceso de fijación y tinción a las muestras patológicas lavadas.
- c) Observar la calidad de la fijación desde un análisis en el microscopio.

Luego de establecer cuál ha sido la efectividad de la fijación y la capacidad de conservación de las diferentes sustancias fijadoras y conservadoras utilizadas en las muestras se hizo una comparación. Esto se realizó en el proceso de laboratorio que incluyó la toma de datos en diferentes momentos (inicio, 5, 7, 14, 21 y 28 días), donde se tuvo en cuenta las diferencias entre, las variaciones de peso, las variaciones en el diámetro, consistencia de los tejidos, cambios de color y calidad de la fijación para el diagnóstico desde un análisis en el microscopio. El proceso comparativo, fue dirigido a encontrar diferencias en el proceso de fijación bajo las diferentes sustancias fijadoras y conservadoras alternativas implementadas.

Figura 3. Muestra en diferentes estadios de medición (Fotografías tomadas por la autora).



7.5 MATERIALES E INSTRUMENTOS

Para la recolección de la información se plantearon listas de chequeo, una en donde se valoraron las mediciones cuantitativas (peso, y diámetro), otra en donde se valoraron las mediciones cualitativas (color, consistencia y calidad de la fijación para el diagnóstico), para el color se utilizó escalas de valoración (natural, poco oscuro, moderadamente oscuro,

muy oscuro); para consistencia (normal o fresca, elástica o levemente sólida, sólida o tipo caucho); y para la calidad de fijación: pobre, regular, buena, excelente).

Materiales e Instrumentos a utilizar que hacen parte del laboratorio

1. Formol tamponado al 10%.
2. Solución chilena.
3. Glisocol.
4. Frascos baciloscopia o muestra laboratorio EXC Referencia 000844.
5. Caja de Tapabocas X 50 Unidades EXC Referencia Begut Sevenpharma.
6. Monogafas EXC Referencia H-0004.
7. Calculadora Casio HI-815.
8. Nevera de Poliestireno de 20 Litros.
9. Cuchillas de bisturí, Marca: Surgical Blades, Referencia: SKU:MO0250
10. Balanza analítica de precisión digital Capacidad: 600 gramos Boeco.
11. Microscopio Binocular, Referencia: M280, Marca: UNICO.
12. Cinta métrica flexómetro de uso médico, Marca: Queraltó.

Figura 4. Elementos de laboratorio (Fotografías tomadas por la autora).



7.6 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

A continuación, se presentan las diferentes variables consideradas para el desarrollo del estudio y su correspondiente operacionalización para el tratamiento estadístico.

Tabla 4. Operacionalización de variables

| Objetivos específicos | VARIABLES | Tipo de variable | Indicadores | Valor | Escalas |
|--|---------------------------------|------------------|--|----------------------|---------|
| Medir la capacidad de fijación de diferentes sustancias fijadoras y conservadoras en estructuras anatomopatológicas. | Capacidad de la fijación. | Numérica | Peso | Gramos | Razón |
| | | Numérica | Diámetro | Milímetros | Razón |
| | | Categoría | Color | Escala de valoración | Ordinal |
| | | Categoría | Consistencia | Escala de valoración | Ordinal |
| Determinar la efectividad en la conservación de estructuras anatomopatológicas con diferentes sustancias fijadoras y conservantes. | Efectividad en la conservación. | Categoría | Efectividad en la conservación desde un análisis en el microscópico. | Escala de valoración | Nominal |

7.7 PLAN DE ANÁLISIS

La información recolectada durante el proceso de trabajo de campo se tabuló y siguió el siguiente plan de análisis:

Tabla 5. Plan de análisis

| Indicadores | Escalas | Valor | Método de medición | Análisis descriptivo | Análisis inferencial Paramétrico |
|--|----------------|---------------------------------|--|--|--|
| Peso | Razón | Gramos | Balanza analítica de precisión digital Capacidad: 600 gramos Boeco. | Distribución de frecuencias Medidas de tendencia central Medidas de variabilidad | Prueba ANNOVA Test de Tukey Prueba Pos Hoc |
| Diámetro | Razón | Milímetros | Cinta métrica flexómetro de uso médico, Marca: Queraltó. | | |
| Color | Ordinal | Natural (0) | Observación del investigador | | |
| | | Poco oscuro (1) | | | |
| | | Moderadamente oscuro (2) | | | |
| Consistencia | Ordinal | Muy oscuro (3) | Observación del investigador | | |
| | | Normal o fresca (0) | | | |
| | | Elástica o levemente sólida (1) | | | |
| Calidad de la fijación para el diagnóstico | Nominal | Sólida o tipo caucho (2) | Observación del investigador | | |
| | | Pobre (1) | | | |
| | | Regular (2) | | | |
| | | Buena (4) | | | |
| | | Excelente (5) | | | |

Para el proceso de recolección de información se diligenció la siguiente tabla con la información correspondiente, para su sistematización con el uso del software estadísticos SPSS versión 26.

Tabla 6. Formato para la recolección de información

| Muestra | Fecha | Color | Consistencia | Diámetro | Peso | Calidad de la tinción para diagnóstico |
|----------------|--------------|--------------|---------------------|-----------------|-------------|---|
| 1 | | | | | | |
| 2 | | | | | | |
| 3 | | | | | | |
| 4 | | | | | | |
| N | | | | | | |

7.8 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

La información recolectada de campo se organizó y tabuló en un libro de Excel, se diferenciaron las mediciones de cada una de las muestras para cada sustancia usada, separando los resultados cuantitativos y cualitativos. Se hizo un análisis estadístico descriptivo y un análisis de varianza a los diferentes resultados para demostrar la efectividad de la fijación y conservación. Para el análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 26.

7.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS

La presente investigación se considera en la categoría de investigación con riesgo mínimo. Esto es porque las fuentes de información y el material de trabajo hace parte de muestras que se dispongan dentro del laboratorio de patología. Con lo cual, se hizo una solicitud formal a este laboratorio para disponer de material con fines estrictamente académicos en donde todos los procedimientos y resultados obtenidos estarán disponibles al personal del laboratorio de patología para su consulta.

No se afecta negativamente los análisis de rutina que el laboratorio de patología participante esté practicando a sus pacientes, los cuales podrán obtener un adecuado

informe de patología, tal y como lo harían si parte de sus tejidos nunca se hubieran utilizado para la realización de este trabajo investigativo.

Así mismo, la participación del laboratorio de patología dentro de la investigación no fue una causal de beneficio económico o material alguno. Además, la información publicada al finalizar el trabajo solo relaciona aspectos académicos y experimentales del trabajo de campo.

Finalmente, el trabajo de investigación ha sido avalado por el comité de bioética de la Universidad Autónoma de Manizales (Anexo A), esto luego de haber diseñado un protocolo para el laboratorio de morfología que incluyera la presente investigación (Anexo B).

8 RESULTADOS

En el presente apartado se exponen los resultados obtenidos que corresponden al trabajo de campo ejecutado con las diferentes muestras previamente fijadas en formol y muestras frescas. Para el caso de las muestras previamente fijadas en formol, en total se utilizaron 25 muestras conformadas por siete tejidos humanos distintos, en cantidades diferentes: Amígdala (2), Apéndice (8), Lipoma de espalda (1), Masa mama derecha (1), Próstata (1), Útero (4) y Vesícula (8). Para las muestras frescas, se usaron ocho muestras de diferentes tejidos humanos: Ovario (4), Piel (3) y Nódulo epiplón (1).

Resultados de las muestras fijadas en formol

En primera instancia se presentan las medidas correspondientes a la medición de consistencia y color para las 25 muestras de tejidos previamente fijados en formol. Dichas mediciones se hicieron a través de 28 días, arrojando los siguientes resultados. Las muestras evaluadas fueron las de Amígdala, Apéndice, Lipoma de espalda, Masa mama derecha, Próstata, Útero y Vesícula.

Como se puede observar en la tabla 7, los resultados obtenidos durante las mediciones en los días 1, 5, 7, 14, 21 y 28, muestran que no existen diferencias en la consistencia y el color. Lo anterior para todos los tipos de tejidos como también para los tres tipos de solución conservante.

Tabla 7. Consistencia y color por cada tipo de solución conservante

| Día | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|---------|--------------|---------|------------------|---------|--------------|---------|
| | Consistencia | Color | Consistencia | Color | Consistencia | Color |
| 0 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |
| 5 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |
| 7 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |
| 14 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |
| 21 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |
| 29 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |

En las tablas posteriores se exponen los resultados obtenidos de las mediciones de diámetro y peso hechas en los diferentes días. Las tablas se presentan para cada uno de los diferentes tejidos, en relación con las tres diferentes soluciones conservantes. Se aplicó la prueba de

ANNOVA de un factor para identificar las variaciones de las medias de peso y diámetro entre los días de medición para cada solución conservante. Se observa un valor p cercano a 1,0 para cada una de las variables.

En la tabla 8 se observan los resultados correspondientes a ocho muestras de apéndice, para el caso del diámetro el cambio a través de los 28 días de este, con el uso de formol, solución chilena y glisocol no presentó diferencia estadísticamente significativa en la media. Asimismo, para el cambio del peso, se observó que este fue prácticamente constante a través del tiempo.

Tabla 8. Medias de peso y diámetro de 8 muestras de apéndice en soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) |
| 0 | 1,5 | 2,3 | 1,8 | 3,1 | 1,1 | 2,1 |
| 5 | 1,5 | 2,3 | 1,8 | 2,9 | 1,1 | 2,1 |
| 7 | 1,5 | 2,3 | 1,8 | 2,9 | 1,1 | 2,1 |
| 14 | 1,5 | 2,3 | 1,8 | 2,9 | 1,0 | 2,1 |
| 21 | 1,2 | 2,1 | 1,7 | 2,9 | 0,9 | 2,1 |
| 28 | 1,2 | 2,1 | 1,7 | 2,9 | 0,9 | 2,1 |
| p valor | 0,958 | 1,000 | 0,997 | 0,959 | 0,926 | 1,000 |

En la tabla 9 se puede observar las mediciones hechas en ocho muestras de vesícula durante los 28 días. Tanto en la variación del peso y diámetro, para las tres sustancias, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 9. Medias de peso y diámetro de 8 muestras de vesícula en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) |
| 0 | 1,8 | 3,8 | 2,0 | 3,8 | 2,8 | 4,4 |
| 5 | 1,9 | 3,8 | 2,1 | 3,8 | 2,8 | 4,4 |
| 7 | 1,8 | 3,8 | 2,1 | 3,8 | 2,8 | 4,4 |
| 14 | 1,8 | 3,8 | 2,0 | 3,8 | 2,8 | 4,4 |
| 21 | 1,6 | 3,6 | 2,0 | 3,7 | 2,5 | 4,3 |
| 28 | 1,6 | 3,6 | 2,0 | 3,7 | 2,5 | 4,3 |
| p valor | 0,969 | 0,981 | 1,000 | 0,995 | 0,995 | 1,000 |

En la tabla 10 se muestran los resultados de las mediciones para cuatro muestras de útero, se identifica que no hubo variaciones estadísticamente significativas en peso y diámetro a través de los días para cada una de las soluciones conservantes.

Tabla 10. Medias del peso y diámetro de 4 muestras de útero en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) |
| 0 | 2,5 | 2,8 | 2,9 | 3,3 | 3,3 | 3,0 |
| 5 | 2,5 | 2,8 | 3,0 | 3,3 | 3,3 | 3,0 |
| 7 | 2,4 | 2,8 | 3,0 | 3,3 | 3,2 | 3,0 |
| 14 | 2,4 | 2,8 | 3,0 | 3,3 | 3,2 | 3,3 |
| 21 | 2,4 | 2,8 | 3,0 | 3,3 | 3,2 | 3,3 |
| 28 | 2,4 | 2,8 | 3,0 | 3,3 | 3,2 | 3,3 |
| p valor | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 0,996 |

En la tabla 11 se observa las variaciones de peso y diámetro para dos muestras de amígdala, las cuales no presentan variaciones estadísticamente significativas a través de los 28 días.

Tabla 11. Medias del peso y diámetro de 2 muestras de amígdala en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) |
| 0 | 0,7 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 1,6 | 2,0 |
| 5 | 0,8 | 2,0 | 1,9 | 2,0 | 1,7 | 2,0 |
| 7 | 0,8 | 2,0 | 1,9 | 2,0 | 1,7 | 2,0 |
| 14 | 0,8 | 2,0 | 1,9 | 2,0 | 1,7 | 2,0 |
| 21 | 0,8 | 2,0 | 1,9 | 2,0 | 1,7 | 2,0 |
| 28 | 0,8 | 2,0 | 1,9 | 2,0 | 1,7 | 2,0 |
| p valor | 0,966 | 1,000 | 0,999 | 1,000 | 0,966 | 1,000 |

De otro lado, se presentan a continuación las muestras a las cuales se les hizo el mismo procedimiento, pero por unidad, las cuales corresponden a próstata, masa mama derecha y lipoma de espalda.

En la tabla 12 se observa que las variaciones en el peso y diámetro para la muestra de próstata en las diferentes soluciones conservantes es baja y prácticamente se mantienen los valores a través de los días.

Tabla 12. Peso y diámetro de una muestra de próstata en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|------|--------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| | Peso | Diámetro | Peso | Diámetro | Peso | Diámetro |
| 0 | 3,9 | 4,0 | 3,2 | 4,0 | 2,7 | 4,0 |
| 5 | 3,8 | 4,0 | 3,2 | 4,0 | 2,7 | 4,0 |
| 7 | 3,8 | 4,0 | 3,2 | 4,0 | 2,7 | 4,0 |
| 14 | 3,8 | 4,0 | 3,2 | 4,0 | 2,7 | 4,0 |
| 21 | 3,8 | 4,0 | 3,2 | 4,0 | 2,7 | 4,0 |
| 28 | 3,8 | 4,0 | 3,2 | 4,0 | 2,7 | 4,0 |

En la tabla 13 se observa que las variaciones en el peso y diámetro para la muestra de masa mama derecha en las diferentes soluciones conservante es baja y prácticamente se mantienen los valores a través de los días.

Tabla 13. Peso y diámetro de una muestra de masa mama derecha en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|-----------|--------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| | Peso | Diámetro | Peso | Diámetro | Peso | Diámetro |
| 0 | 0,3 | 1,0 | 0,2 | 2,0 | 0,2 | 1,0 |
| 5 | 0,3 | 1,0 | 0,2 | 1,0 | 0,3 | 1,0 |
| 7 | 0,3 | 1,0 | 0,2 | 1,0 | 0,3 | 1,0 |
| 14 | 0,3 | 1,0 | 0,2 | 1,0 | 0,3 | 1,0 |
| 21 | 0,3 | 1,0 | 0,2 | 1,0 | 0,3 | 1,0 |
| 28 | 0,3 | 1,0 | 0,2 | 1,0 | 0,3 | 1,0 |

En la tabla 14 se observa que las variaciones en el peso y diámetro para la muestra de lipoma de espalda en las diferentes soluciones conservante es baja y prácticamente se mantienen los valores a través de los días.

Tabla 14. Peso y diámetro de muestras de lipoma de espalda en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|-----------|--------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| | Peso | Diámetro | Peso | Diámetro | Peso | Diámetro |
| 0 | 4,1 | 4,0 | 3,7 | 5,0 | 4,0 | 5,0 |
| 5 | 4,0 | 4,0 | 3,7 | 5,0 | 3,9 | 5,0 |
| 7 | 3,8 | 4,0 | 3,7 | 5,0 | 3,8 | 5,0 |
| 14 | 3,8 | 4,0 | 3,6 | 5,0 | 3,8 | 5,0 |
| 21 | 3,8 | 4,0 | 3,6 | 5,0 | 3,8 | 5,0 |
| 28 | 3,8 | 4,0 | 3,6 | 5,0 | 3,8 | 5,0 |

Posteriormente a la presentación de las muestras previamente fijadas en formol, ahora se presentan los resultados de las muestras frescas.

Resultados de las muestras frescas

En este apartado se presentan los resultados de las mediciones efectuadas en las ocho muestras de tejido fresco conformadas por ovario, piel y nódulo epiplón. Las mediciones fueron ejecutadas durante 28 días.

En la tabla 15 se puede observar los resultados obtenidos en consistencia y color desde el día 0 hasta el día 28 para todas las muestras conservadas en solución chilena, formol y glisocol. Para el caso del formol, desde el día 5 pasó de ser una consistencia normal a sólida, la cual se mantuvo. En cuanto al color, fue variando de natural a poco oscuro en los días 5 y 7, para terminar en moderadamente oscuro desde el día 14 al 28. La solución chilena mantuvo la consistencia normal a través de los 28 días y el color cambió de natural a poco oscuro, lo cual sucedió en los primeros 5 días y se mantuvo hasta el final del experimento. Las muestras de glisocol mantuvieron una consistencia normal los 28 días y el color cambió de normal a poco oscuro en el día 14, lo cual se mantuvo hasta el día 28.

Tabla 15. Consistencia y color por cada tipo de solución conservante

| Día | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|----------------|--------------|----------------------|------------------|-------------|--------------|-------------|
| | Consistencia | Color | Consistencia | Color | Consistencia | Color |
| 0 días | Normal | Natural | Normal | Natural | Normal | Natural |
| 5 días | Sólida | Poco oscuro | Normal | Poco oscuro | Normal | Natural |
| 7 días | Sólida | Poco oscuro | Normal | Poco oscuro | Normal | Natural |
| 14 días | Sólida | Moderadamente oscuro | Normal | Poco oscuro | Normal | Poco oscuro |
| 21 días | Sólida | Moderadamente oscuro | Normal | Poco oscuro | Normal | Poco oscuro |
| 28 días | Sólida | Moderadamente oscuro | Normal | Poco oscuro | Normal | Poco oscuro |

A continuación, se presentan las tablas correspondientes a las mediciones de peso y diámetro en los días 0, 5, 7, 14, 21 y 28. Las tablas se presentan una por cada tejido, además se usó la prueba estadística de ANNOVA para un factor con el fin de establecer las posibles diferencias estadísticamente significativas en las variaciones de las medias de peso y diámetro en los diferentes días.

En la tabla 16 se muestran los resultados para peso y diámetro en 4 muestras de ovario. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la variación de peso y diámetro a través de los 28 días en las tres diferentes sustancias conservantes. Se observa un valor p cercano a 1,0 para cada una de las variables.

Tabla 16. Medias de peso y diámetro de 4 muestras de ovario en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) |
| 0 | 0,8 | 3,0 | 0,8 | 3,8 | 1,3 | 3,3 |
| 5 | 0,7 | 2,8 | 0,9 | 3,8 | 1,3 | 3,3 |
| 7 | 0,7 | 2,8 | 0,9 | 3,8 | 1,3 | 3,3 |
| 14 | 0,7 | 2,8 | 1,0 | 3,8 | 1,2 | 3,3 |
| 21 | 0,7 | 2,8 | 1,0 | 3,8 | 1,1 | 3,3 |
| 28 | 0,7 | 2,8 | 1,0 | 3,8 | 1,1 | 3,3 |
| p valor | 1,000 | 1,000 | 0,999 | 1,000 | 0,999 | 1,000 |

En la tabla 17 se presentan los resultados de las mediciones en tres muestras de piel. Al aplicar la prueba de ANNOVA, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas de variación de peso y diámetro entre los días 0 y 28. Lo anterior aplicó para las tres sustancias conservantes.

Tabla 17. Medias de peso y diámetro de 3 muestras de piel en diferentes soluciones conservantes

| Días | Formol | | Solución chilena | | Glisocol | |
|----------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|
| | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) | \bar{x} peso (g) | \bar{x} diámetro (cm) |
| 0 | 0,7 | 2,0 | 0,5 | 1,7 | 0,4 | 3,0 |
| 5 | 0,7 | 2,0 | 0,5 | 1,7 | 0,4 | 3,0 |
| 7 | 0,7 | 2,0 | 0,5 | 1,7 | 0,4 | 2,7 |
| 14 | 0,7 | 2,0 | 0,5 | 1,7 | 0,4 | 2,7 |
| 21 | 0,7 | 2,0 | 0,5 | 1,7 | 0,4 | 2,7 |
| 28 | 0,7 | 2,0 | 0,5 | 1,7 | 0,4 | 2,7 |
| p valor | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 0,956 | 1,000 | 0,553 |

Por último, los resultados de la muestra de nódulo epiplón fueron omitidas, ya que durante el trabajo de laboratorio se enviaron al laboratorio del Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas). En consecuencia, las mediciones correspondientes a los días 21 y 28 no fueron realizadas.

En seguida se presentan los resultados de la valoración de la calidad de la fijación para el análisis microscópico. Dicha evaluación fue ejecutada por el Dr. Alejandro Posada Restrepo en el Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas). Las muestras fueron enviadas al completar 15 y 29 días en las sustancias fijadoras. Cabe destacar que el trabajo realizado en dicho laboratorio consideró estos parámetros: preservación de arquitectura tisular microscópica, conservación del contorno celular, preservación de la basófilo nuclear

y ausencia de necrosis y/o apoptosis. Lo anterior para entrar a considerar que las muestras en las imágenes fueron de calidad y con buena preservación.

Resultados de la evaluación de las muestras frescas ofrecidas por el medico patólogo para para el diagnóstico desde análisis microscópico (anexo c)

Se da inicio con los resultados correspondientes a las muestras frescas, las cuales corresponden a una de nódulo epiplón y una de ovario. Las observaciones a través del microscopio se hicieron para determinar calidad de la muestra y calidad de la tinción para el diagnóstico.

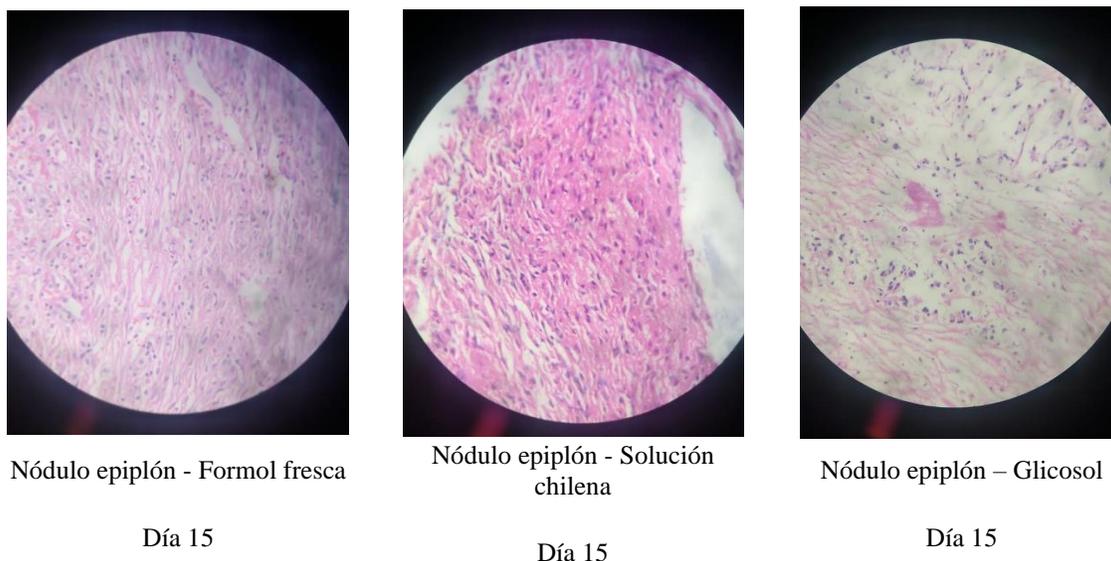
En la tabla 18 se observa que, en general para cada una de las soluciones conservantes (formol, glisocol y solución chilena) la calidad ha sido adecuada, con una excelente calidad de la tinción para el diagnóstico.

Tabla 18. Resultados de la evaluación de calidad de la fijación para el diagnóstico desde análisis microscópico – Muestras frescas

| | | Formol | | Glisocol | | Solución chilena | |
|----------------|-----------------------|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| | | Calidad de la tinción para diagnóstico | Calidad de muestra antes de evaluar | Calidad de la tinción para diagnóstico | Calidad de muestra antes de evaluar | Calidad de la tinción para diagnóstico | Calidad de muestra antes de evaluar |
| 15 días | Nódulo Epiplón | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada |
| 29 días | Ovario | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada |

A continuación, se presentan las imágenes de las muestras de nódulo epiplón, que fueron observadas a través del microscopio. Durante la observación fue posible observar tejido conectivo denso con ocasionales linfocitos dispersos. Asimismo, se observó la ausencia de especializaciones citoplásmicas.

Figura 5. Imágenes de microscopio de las muestras analizadas



Fuente: Fotografías suministradas por el Dr. Alejandro Posada Restrepo del Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas)

Resultados de la evaluación de las muestras fijadas en formol ofrecidas por el medico patólogo para para el diagnóstico desde análisis microscópico (anexo c)

Además, para las muestras fijadas en formol se tomaron una de apéndice y otra de vesícula a fin de observar la calidad antes de evaluar y la calidad de la tinción para el diagnóstico.

En la tabla 19 se observa que las muestras de apéndice y vesícula tuvieron una calidad antes de evaluar, adecuada. En cuanto a la calidad de la tinción para el diagnóstico, excelente.

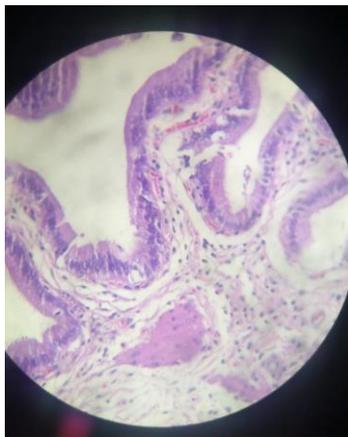
Resultados presentes también en las tres diferentes sustancias conservantes.

Tabla 19. Resultados de la evaluación de calidad de la fijación para el diagnóstico desde análisis microscópico – Muestras fijadas en formol

| | | Formol | | Glisocol | | Solución chilena | |
|----------------|-----------------|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| | | Calidad de la tinción para diagnóstico | Calidad de muestra antes de evaluar | Calidad de la tinción para diagnóstico | Calidad de muestra antes de evaluar | Calidad de la tinción para diagnóstico | Calidad de muestra antes de evaluar |
| 19 días | Apéndice | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada |
| | Vesícula | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada |
| 28 días | Apéndice | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada |
| | Vesícula | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada | Excelente | Adecuada |

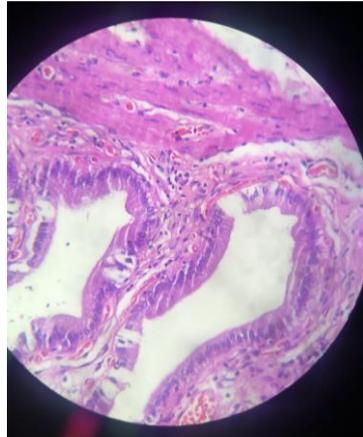
En las imágenes siguientes, se aprecia la calidad de las muestras de vesícula biliar vistas al microscopio. En estas muestras en especial se requiere identificar las numerosas microvellosidades ubicadas en la superficie luminal. Además, es posible observar las células epiteliales absortivas. Asimismo, la identificación de los vasos sanguíneos, células plasmáticas y linfocitos, esto de manera dispersa. También es posible ver con claridad la capa muscular.

Figura 6. Imágenes de microscopio de las muestras analizadas



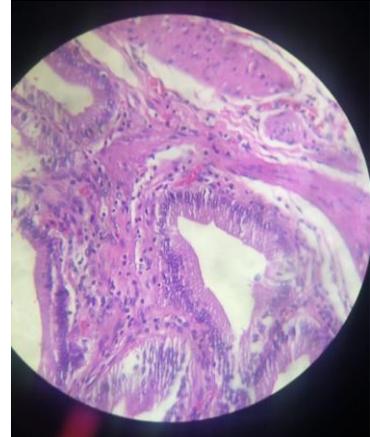
Vesícula biliar - Formol fresca

Día 28



Vesícula biliar - Solución chilena

Día 28



Vesícula biliar – Glicosol

Día 28

Fuente: Fotografías suministradas por el Dr. Alejandro Posada Restrepo del Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas)

9 DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación permitió establecer hallazgos referentes a la comparación entre sustancias conservantes. En primera medida se encontró que las muestras patológicas previamente fijadas en formol no tuvieron cambios significativos en cuanto a la consistencia y el color, según las mediciones realizadas durante los 28 días, lo cual se observó en el caso de las tres sustancias conservantes: formol, solución chilena y glisocol. Durante el tiempo de las diferentes mediciones la consistencia fue normal y el color natural. Lo anterior se diferencia del estudio adelantado por Wolff et al. (13), quien al usar formol y la sustancia prives (Glicerina (45%), Acetato de potasio (10%), Agua (40%) y Timol (5%)), si observó cambios en la consistencia y el color, para el caso del formol la consistencia se tornó sólida y el color marrón. Mientras que la sustancia prives mantuvo una consistencia fresca y elástica y el color natural de la muestra (rojo).

En los resultados obtenidos en la presente investigación, también se evidenciaron cambios en las muestras frescas, las cuales en su consistencia se tornaron sólidas por el uso de formol, asimismo el formol oscureció moderadamente las muestras. De otro lado, para la solución chilena y glisocol los cambios en el color fueron solo de natural a poco oscuro, y la consistencia permaneció normal. Estos hallazgos son consistentes con el trabajo de Wolff et al. (13), ya que en sus resultados muestra que la sustancia alternativa al formol mantuvo el color natural y la consistencia varió solo de fresca a elástica, por lo cual, enfatizan, que es una alternativa de mejor calidad y seguridad para su uso en la fijación de piezas humanas.

Ahora bien, de cara al peso y el diámetro de las muestras, en el estudio adelantado por Wolff et al. (13) se observó que la media en cada caso disminuyeron, lo cual es natural por los procesos de conservación que extraen agua y la deshidratación causa cambios en el diámetro y peso. En comparación con los hallazgos del presente trabajo de investigación, aquí los resultados mostraron valores que se mantuvieron relativamente constantes a través del tiempo.

Retomando la consistencia y color, cabe destacar el estudio de Haizuka et al. (3) quienes mostraron resultados estadísticamente significativos con la aplicación de la prueba de t student, se comparó unas sustancias de N-vinilpirrolidona y formol (grupo control), aplicadas en cadáveres. Al finalizar se encontró que el uso de la sustancia alternativa al formol mantuvo la calidad de los tejidos, consistencia y elasticidad, validándola para su futuro uso en el laboratorio. Dichos hallazgos son consistentes con los arrojados en el presente trabajo de investigación, incluso posibilitando la realización de trabajos futuros con cadáveres.

Ahora bien, al realizar la evaluación de calidad de la fijación para el análisis de microscopio, en los días 15 y 29, se encontró que el uso de las sustancias conservantes (formol, solución chilena y glicocol), mantienen la calidad de las estructuras, y no existen diferencias significativas. Este resultado se pudo evidenciar igualmente en los hallazgos de Cisne et al. (17) quienes concluyeron que el uso de solución a base de formol puede ser reemplazada por sustancias conservantes a base de etanol, lo cual se demostró en pruebas de microscopio que muestran la consistencia en la calidad de la tinción final para el diagnóstico. Incluso se cita la necesidad de cambiar un paradigma sobre el uso del formol, el cual es tóxico y no presenta resultados excepcionales en la calidad final de las muestras.

Por otra parte, Giménez et al., (18) establece que para el proceso de fijación tisular y de permeación tisular en muestras de tamaño medio en piezas anatómicas de sustancias alternativas como: Fine-Fix (Milestone), Green-Fix (Diapath) y Molecular Fixative (Sakura) permiten un buen desempeño en las dos primeras piezas Fine-Fix y Molecular Fixative, sin embargo, los resultados no se pueden obtener de forma inmediata ya que la sustitución de formol en dichos productos alternativos generan problemas con algunas técnicas de análisis, por ende, se requiere de investigaciones previas para resolver dicha problemática en las técnicas Inmunohistoquímicas, a fin de validar las sustancias alternativas al formaldehído. Por ende, es necesario evitar el uso del formol ya que no genera resultados específicos en las muestras.

Así como en la presente investigación se realizó la correspondiente evaluación por microscopio con ayuda de Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas), el desarrollo de investigaciones relacionadas con la evaluación de sustancias conservantes se hace en el marco del diagnóstico, para la cual se requiere proteger las estructuras microscópicas de los tejidos. Ahora bien, la evaluación de las sustancias elegidas, formol, solución chilena y glisocol, resultaron efectivas a este cometido. Cabe citar en este punto, la investigación de Bussolati et al. (16), quienes utilizaron sustancias comerciales de glioxal, un compuesto químico orgánico libre de ácidos, luego de la realización de pruebas en 30 muestras concluyeron que, esta sustancia alternativa al formol conserva las propiedades estructurales y macromoleculares de las células y los tejidos.

En la misma vía el estudio de Stefanits et al. (15) es concordante con los hallazgos de la presente investigación, debido a que encontró resultados positivos en el uso de sustancias alternativas al formol, para este caso concreto utilizando una mezcla de ácido acético y etanol. Al ejecutar una comparación con el proceso de fijación y conservación con el uso de formol, encontraron que se mantienen los detalles morfológicos de los tejidos, además que permite el almacenamiento de los tejidos a temperatura ambiente. De otro lado la baja degradación de los componentes de los tejidos es leve, no inevitable, pero en las pruebas de laboratorio y microscopia fueron de alta calidad. Siendo estos resultados un referente que respalda el uso de sustancias alternativas al formol para los procesos de fijación y conservación de tejidos humanos. Otra investigación que usó etanol, en la conservación de muestras de tumores, fue la de Belloni et al. (14), quienes desearon evaluar esta nueva técnica de conservación de tejidos (usando etanol) en comparación con la fijación con formol y las muestras de tejido fresco congelado. Uno de los hallazgos tiene que ver con la conservación de la calidad final de los tejidos para el trabajo de microscopia en el diagnóstico. De otro lado, resaltan la importancia de implementar sustancias alternativas que eviten las intoxicaciones y reduzcan los gastos excesivos, como lo es el formol y la congelación a temperatura de -70°C , respectivamente.

En el marco de las consideraciones hasta aquí descritas se destaca como principal fortaleza de esta investigación el hecho de que los resultados son comparativamente afines con otras

investigaciones relacionadas, llegando hasta el punto de la evaluación de la calidad para las pruebas de microscopía, esto último permite que sean tomadas las sustancias alternativas al formol (la solución chilena y el glisocol), como sustancias efectivas en los propósitos de los laboratorios de patología. De otro lado, la medición de la consistencia y color de las muestras permitió establecer un seguimiento concreto de la evolución de las muestras, corroborando que la solución chilena y el glisocol si cumplen con parámetros de calidad.

Sin embargo, se destaca que en futuras investigaciones se deberían buscar otras relaciones, por ejemplo, hacer la indagación con muestras de un solo tejido y destacar los mejores resultados entre sustancias conservantes. Esto a fin de refinar la selección de la mejor sustancia. Posteriormente se propondrían otras investigaciones en donde se identificará, si una sustancia pudiese tener cambios estadísticamente significativos dependiendo del tejido humano para la fijación, conservación, y posterior tinción para el diagnóstico como por ejemplo las pruebas moleculares, las cuales, se utilizan en muestras de tejidos o sangre para determinar y a su vez verificar si existen ciertas proteínas, genes u otras moléculas de enfermedad o afección. Cabe mencionar, que las pruebas moleculares permiten también planificar un tratamiento y medir su eficacia, por lo cual, su inclusión en algunas muestras puede ser potencialmente positivos en la optimización de los productos alternativos estudiando en el presente estudio. Ahora bien, a manera de listado de chequeo se proponen las siguientes actividades a ser desarrolladas en el laboratorio de patología para el estudio de sustancias alternativas al formol, que sería un trabajo complementario al presente para llegar a resultados concluyentes:

- a) Ejecutar evaluaciones de la efectividad de la fijación de las sustancias alternativas al formol durante las primeras 24 a 48 horas. Esta prueba demostraría si las sustancias son adecuadas para los tratamientos que requieren respuestas rápidas y oportunas, manteniendo la calidad de los tejidos y su integridad para el diagnóstico en el laboratorio de patología.
- b) Hacer pruebas en donde se utilicen solo muestras en fresco, para eliminar el posible sesgo relacionado con el uso de muestras previamente fijadas en formol. Además, teniendo en cuenta una mayor cantidad y variedad de tejidos para evaluar.

- c) Así mismo, al evaluar las sustancias hacer cruces entre tipos de tejidos, tipos de sustancias y métodos de tinción, incluyendo tratamiento totalmente aleatorizados, como lo exigen los experimentos puros. En este punto se pueden adicionar estudios más especializados como coloraciones especiales o de histoquímica, estudios de inmunohistoquímica y pruebas de biología molecular.

Los resultados encontrados adicionan nuevos conocimientos para evaluar diferentes alternativas al formol como fijador y conservador de piezas anatómicas para el estudio histopatológico en donde se evidencia que el formol mantiene de forma significativa la adecuada estructura de las piezas anatómica, siendo de esa manera un buen método de uso en los laboratorio de patología para la realización de cualquier diagnóstico, ya que le garantiza de mejor forma observar y analizar las estructura, desarrollo y funciones de las muestras de personas con diferentes afecciones.

Por otra parte, el formaldehído o formol es una sustancia química muy reactiva con la capacidad de reaccionar consigo misma (21), por lo cual, posee un uso generalizado en diversas industrias. En esta investigación su uso se relaciona con la histopatología como un preservante de tejidos, de forma más específica como: un fijador y conservador de piezas anatómicas en los laboratorios que se lleva a cabo mediante los fundamentos básicos de histología en los tejidos a través de una serie de procesamiento histoquímico basados en etapas de fijación, postfijación, deshidratación, aclaramiento, homogenización, inclusión, corte, montaje y tinción, siendo un proceso con etapas de similar importancia para garantizan calidad en el momento de la evaluación adecuada de los tejidos a través del microscopio.

Sin duda el formol o formaldehído resulta ser efectiva en las evaluaciones de sustancias conservantes y de piezas anatómicas, por lo tanto, su aplicación en los tejidos permite mantener siempre la muestra lo más parecido posible a su estado natural con el propósito de entrecruzar las proteínas e impidiendo la degradación de las estructuras para una mayor afinidad con las estructuras celulares. Sin embargo, unas de las debilidades que presenta el formol en las prácticas de laboratorio es que presenta 3 vías de acceso al cuerpo humano

mediante, la respiración, ingerirlo o al entrar en contacto con la piel, siendo las dos primeras vías de acceso las de mayor velocidad de absorción (22), por ello, su utilización requiere de mayor vigilancia frente a los factores de riesgo de su uso y los efectos en la salud de las personas que lo manipulan.

Ahora bien, otra fortaleza encontrada en el estudio es que, al evaluar las diferentes alternativas al formol como fijador y conservador de piezas anatómicas para el estudio histopatológico en los laboratorios, se mantiene la estructura original durante todo el proceso histoquímico, calidad de los tejidos, facilitando el proceso de evaluación y diagnóstico por parte del patólogo.

10 CONCLUSIONES

Una vez realizada la evaluación de las tres sustancias conservantes: formol, solución chilena y glisocol, como fijadores y conservadores de los tejidos de piezas anatómicas, se pudo evidenciar que no se presentaron cambios significativos en la consistencia y el color de las muestras patológicas, las cuales fueron observadas durante 28 días. El volumen de las muestras también fue preservado, así como su color y consistencia. Lo anterior permite concluir que las tres sustancias pueden ser empleadas de forma confiable y satisfactoria como fijadoras y conservadoras de piezas anatómicas.

Es de anotar que los cambios que se observaron en las muestras frescas, en los casos en los que se utilizaron la solución chilena y el glisocol, fueron positivos, puesto que el color de las muestras pasó de ser natural a un poco oscuro y su consistencia permaneció normal. Por otra parte, en los casos en los que se empleó el formol, las muestras se tornaron sólidas en su consistencia y moderadamente más oscuras. Estos hallazgos permiten establecer que las dos sustancias fijadoras usadas en el experimento como alternativas al formol, son opciones viables dada su calidad para la fijación de piezas anatómicas, pues no alteran de forma significativa la estructura ni elasticidad de las mismas.

Al examinar la calidad de la fijación de las muestras para su análisis en el microscopio, a los días 15 y 29, se pudo establecer que las tres sustancias fueron igualmente efectivas, y así lo reflejaron los resultados, los cuales permitieron observar que la calidad de la tinción para el diagnóstico fue excelente. Si bien es cierto que las muestras frescas presentaron ciertas variaciones, estas no se consideran significativas, pues son una consecuencia normal de la aplicación del formaldehído durante el proceso de fijación de los tejidos.

En cuanto a los cambios que se dieron con relación al peso y el diámetro de las muestras, estos fueron bajos, sin ser estadísticamente significativos. Así mismo, la calidad final de las muestras no se vio afectada, pues al ser enviadas al laboratorio, conservaron sus características propias, haciéndolas adecuadas para el tratamiento y la posterior emisión de diagnósticos por parte del patólogo, lo cual se corroboró incluso con las fotos de los tejidos

en el microscopio. Por esa razón, emplear otras sustancias conservantes en las pruebas de microscopio permite una consistencia de calidad en la tinción final para el diagnóstico.

Todo lo anterior, permite concluir que el uso de otras sustancias fijadoras y conservadoras diferentes al formol, para el caso específico de este estudio la solución chilena y el glicocol, resulta potencialmente viable y ventajoso para el desarrollo de estudios histopatológicos en los laboratorios de patología.

11 RECOMENDACIONES

Es necesario ejecutar investigaciones en donde se realice el procedimiento de fijación de tejidos frescos y se hagan seguimientos durante las primeras 24 a 48 horas, a fin de establecer la efectividad de las sustancias alternativas al formol, en etapas tempranas del proceso.

Se recomienda adelantar nuevas investigaciones en donde se utilice un solo tipo de tejido y mayor tiempo en la fijación y conservación, a fin de refinar la calidad de las sustancias utilizadas, y así seleccionar la más conveniente desde el punto de vista práctico para el laboratorio de patología.

Desde la presente investigación se puede dar inicio a nuevos estudios en donde se evalúe con que tipos de tinción las soluciones alternativas al formol tienen la mejor respuesta en calidad. Así mismo, se pueden llegar a emplear pruebas moleculares con las nuevas sustancias alternativas para evaluar la enumeración o identificación de microorganismos patógenos en los tejidos a través de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), como una técnica de gran aplicabilidad a futuro reduciendo los niveles de toxicidad en los laboratorios.

Como recomendación final se debe velar por la protección de los trabajadores de los laboratorios de patología, los cuales se ven expuestos al peligro por el uso constante del formol en sus análisis, por esa razón, aplicar nuevas sustancias en las pruebas moleculares garantizaría menos toxicidad cancerígena, teratogénico y mutagénico en aquellos individuos que utilizan el formol en sus prácticas de laboratorio, respaldando de igual forma la calidad de los procedimientos.

12 REFERENCIAS

1. Comisión Sectorial CRUE Sostenibilidad. Guía para la utilización de formaldehído como conservante y fijante de muestras anatómicas. España: Conferencia de Rectores de las Universidades Españolas; 2015. 39 p.
2. Muñetón C, Ortiz J. Conservación y elaboración de piezas anatómicas con sustancias diferentes al formol en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle. *Rev Med Vet (Bogota)*. 2011;(22):51–5.
3. Haizuka Y, Nagase M, Takashino S, Kobayashi Y, Fujikura Y, Matsumura G. A new substitute for formalin: Application to embalming cadavers. *Clin Anat*. 2018 Jan;31(1):90–8.
4. Peñalver M, Mazón L, Rosado M, Sánchez-Cifuentes M, Colino E, Berrocal P. ¿Se puede controlar el Formaldehído? *Rev la Asoc Española Espec en Med del Trab*. 2016;25(4):195–259.
5. International Agency for Research on Cancer. La OMS considera cancerígeno el formaldehído. *Rev Española Patol*. 2005;38(1):62–3.
6. Arts J. How to assess respiratory sensitization of low molecular weight chemicals? *Int J Hyg Environ Health*. 2020 Apr;225:113469.
7. Duan J, Xie J, Deng T, Xie X, Liu H, Li B, et al. Exposure to both formaldehyde and high relative humidity exacerbates allergic asthma by activating the TRPV4-p38 MAPK pathway in Balb/c mice. *Environ Pollut*. 2020 Jan;256:113375.
8. Instituto Nacional de Cancerología. Análisis de situación del cáncer en Colombia 2015. Bogotá D.C.: Instituto Nacional de Cancerología ESE; 2017. 133 p.
9. Colombia. Ministerio del Trabajo. Decreto 1477 - Por el cual se expide la Tabla de Enfermedades Laborales. Bogotá D.C.: Diario Oficial No. 49.234; 2014. 109 p.

10. Idrobo-Avila EH, Vasquez-López JA, Vargas-Cañas R. La exposición ocupacional al formol y la nueva tabla de enfermedades laborales. *Rev Salud Pública*. 2017 May;19(3):382–5.
11. Mora C. Análisis de la exposición ocupacional a formaldehído en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital México. Cartago, Costa Rica: Trabajo para optar por el título de Maestría en Salud Ocupacional con Énfasis en Higiene Ambiental. Instituto Tecnológico de Costa Rica; 2019. 59 p.
12. Calvo S. Propuesta de un protocolo de vigilancia sanitaria específica para el personal sanitario expuesto a formaldehído. Elche, España: Trabajo fin de Máster Universitario en Prevención de Riesgos Laborales. Universidad Miguel Hernández; 2018. 29 p.
13. Wolff D, Villa P, Neirreitter A, Ruibal C, Ugon G, Salgado G, et al. Estudio Comparativo entre Soluciones Conservadoras con y sin Formol en Placenta Humana. *Int J Morphol*. 2012;30(2):432–8.
14. Belloni B, Lambertini C, Nuciforo P, Phillips J, Bruening E, Wong S, et al. Will PAXgene substitute formalin? A morphological and molecular comparative study using a new fixative system. *J Clin Pathol*. 2013 Feb;66(2):124–35.
15. Stefanits H, BieÅ,,kowski M, Galanski M, MituloviÄ‡ G, Ströbel T, Gelpi E, et al. KINFix – A formalin-free non-commercial fixative optimized for histological, immunohistochemical and molecular analyses of neurosurgical tissue specimens. *Clin Neuropathol*. 2016 Jan;35(01):3–12.
16. Bussolati G, Annaratone L, Berrino E, Miglio U, Panero M, Cupo M, et al. Acid-free glyoxal as a substitute of formalin for structural and molecular preservation in tissue samples. Bianchi C, editor. *PLoS One*. 2017 Aug;12(8):e0182965.
17. Cisne R, Souza AMT, Pereira-Sampaio MA, Babinski MA, Gorniak SL, Papa PC.

Tannic Acid Solution: A Better Fixative Solution Than Formalin for Elastin and Collagen-Toxic and Morphological Assessment. *Anat Rec.* 2018 Sep;301(9):1544–50.

18. Giménez J, Fontana A, Moñita A, Sanz Y, Sota P, Pérez A, et al. Alternativas al formol como fijador de piezas y tejidos anatómicos. *Libr Blanco la Anatomía Patológica en España.* 2011;Suplemento:101–40.
19. Eltoun I, Fredenburgh J, Grizzle WE. Advanced Concepts in Fixation: 1. Effects of Fixation on Immunohistochemistry, Reversibility of Fixation and Recovery of Proteins, Nucleic Acids, and other Molecules from Fixed and Processed Tissues. 2. Developmental Methods of Fixation. *J Histotechnol.* 2001 Sep;24(3):201–10.
20. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques.* (7th. Edition). Churchill Livingstone; 2013. 603 p.
21. Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. *Guías para manejo seguro y gestión ambiental de 25 sustancias químicas.* Bogotá D.C.: Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial; 2003. 424 p.
22. ATSDR. *Resumen de Salud Pública. Formaldehído.* División de Toxicología y Medicina Ambiental. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades; 1999. 7 p.
23. Realpe F, Agredo G, Zarama YC. *Manual de procedimientos y protocolos en el laboratorio de patología de un hospital nivel III de la ciudad de Popayán.* Popayán, Colombia: Trabajo de Especialización en auditoría y garantía de la calidad en salud con énfasis en epidemiología. Universidad del Cauca; 2012. 109 p.
24. The Royal College of Patologists. Object 36: Paraffin wax.
25. Ortega LA. *Recuperación restauración de componentes anatómicos humanos*

extremidades superiores. Bogotá D.C.: Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia; 2014. 118 p.

26. Franco JC. Restauración de piezas anatómicas humanas, Universidad Nacional de Colombia. 2013. Bogotá D.C.: Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia; 2014. 82 p.
27. Özkan N, Şalva E, Çakalağaoğlu F, Tüzüner B. Honey as a substitute for formalin? *Biotech Histochem*. 2012 Feb;87(2):148–53.
28. Moelans CB, ter Hoeve N, van Ginkel J-W, ten Kate FJ, van Diest PJ. Formaldehyde Substitute Fixatives. *Am J Clin Pathol*. 2011 Oct;136(4):548–56.
29. Masir N, Ghoddoosi M, Mansor S, Abdul-Rahman F, Florence CS, Mohamed-Ismail NA, et al. RCL2, a potential formalin substitute for tissue fixation in routine pathological specimens. *Histopathology*. 2012 Apr;60(5):804–15.
30. Patil S, Premalatha B, Rao RS, Ganavi B. Revelation in the Field of Tissue Preservation – A Preliminary Study on Natural Formalin Substitutes. *J Int Oral Heal*. 2013;5(1):31–8.
31. Titford ME, Horenstein MG. Histomorphologic assessment of formalin substitute fixatives for diagnostic surgical pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(4):502–6.
32. Hernández R, Fernández C, Baptista M del P. Metodología de la investigación. 6^a. México D.F.: McGraw-Hill; 2014. 632 p.

13 ANEXOS

Anexo A. Aval del comité de bioética

| | | |
|---|---|---|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

A. DATOS GENERALES DEL PROYECTO O PROGRAMA

1. Título del proyecto o programa: **Alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología.**
2. Nombre de las instituciones participantes: **Universidad Autónoma de Manizales**
3. Nombre de los grupos de investigación: **Cuerpo movimiento**
4. Nombre de los semilleros de investigación: **Morfi**
5. Duración del proyecto: **26 meses**
6. Número del acta y fecha de aprobación del proyecto por el comité de investigación: **Pendiente**
7. Código del proyecto en comité de investigación: **Pendiente**

B. DATOS DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL, COINVESTIGADORES Y ASISTENTES DE INVESTIGACIÓN O SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN¹

Datos de los investigadores principales

1. Nombre: **Lorena Beatriz Hoyos Santos**
2. Título académico: **Bacterióloga**
3. Número de contacto: **300 528 9928**
4. Correo electrónico: **lorenab.hoyoss@autonoma.edu.co**
5. Grupo de Investigación: **Cuerpo movimiento**
6. Departamento al que pertenece: **Maestría en Biología Humana**
7. Institución: **Universidad Autónoma de Manizales**

8. Nombre: **Oscar Andrés Alzate Mejía**
9. Título académico: **Magister de Biotecnología en salud**
10. Número de contacto: **3116192694**
11. Correo electrónico: **oalzate@autonoma.edu.co**
12. Grupo de Investigación: **Cuerpo movimiento**
13. Departamento al que pertenece: **Ciencias Básicas Biológicas**
14. Institución: **Universidad Autónoma de Manizales**

C. DATOS SOBRE EL ALCANCE DEL PROYECTO O PROGRAMA

1. Resumen del proyecto:

El formaldehído ha sido catalogado como una sustancia con propiedades tóxicas, cancerígenas y mutagénicas donde su principal vía de ingreso al cuerpo es por el

¹ Pueden ser estudiantes de maestría o especialización clínica en odontología o de doctorado y sus tutores.

| | | |
|---|---|--|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

sistema respiratorio, causando irritación y afecciones crónicas que incluso derivan en cáncer. El presente proyecto de investigación se ha centrado en proponer diferentes alternativas al uso del formol tamponado al 10% con pH neutro como fijador y conservador de piezas y tejidos anatómicos en los laboratorios de patología. Lo anterior enmarcado en la necesidad de establecer el uso de herramientas y compuestos que sean amigables con el medio ambiente y la salud de los profesionales. Ahora bien, para alcanzar el referido propósito se plantean los siguientes objetivos específicos: Medir la capacidad de fijación de diferentes sustancias fijadoras en estructuras y tejidos anatomopatológicos. Determinar la efectividad en la conservación de estructuras anatomopatológicas con diferentes sustancias conservantes.

La investigación es cuantitativa de tipo cuasiexperimental. El procedimiento consiste en la identificación de la capacidad fijadora y conservadora de diferentes sustancias en estructuras anatomopatológicas, integrándolas experimentalmente, y en lo posible, en el proceso de los laboratorios de patología de la ciudad. Se recibirán muestras de los laboratorios de patología de la IPS oncólogos de occidente y de Citosalud por medio del médico Patólogo Alejandro Posada. La muestra está compuesta por 32 piezas patológicas de diferentes estructuras. De allí se hace un muestreo no probabilístico, no representativa, escogida por conveniencia, distribuyendo cada una de las 32 piezas en 3 grupos para la aplicación de las sustancias fijadoras y conservadoras (tres soluciones en total). Como criterio de inclusión, se tendrá en cuenta el uso de muestras disponibles en los laboratorios de patología que requieran ser fijadas y conservadas en cantidad suficiente para la aplicación de tres sustancias conservantes diferentes, manteniendo la homogeneidad, a fin de no alterar los resultados finales. Se excluirán las muestras que por su tamaño dificulten el procedimiento, en este caso aquellas que sean muy pequeñas y no se puedan dividir.

En cuanto a los resultados esperados, se quiere identificar las sustancias fijadoras y conservadoras de estructuras anatomopatológicas en diferente grado y tiempo. Asimismo, por medio de una validación estadística de las variables cuantitativas del experimento, se determinará la efectividad de las sustancias puestas a prueba. Luego serán seleccionadas las mejores sustancias conservantes para el proceso de fijación de estructuras anatomopatológicas según su efectividad. Por último, se espera la reducción de la exposición del personal del laboratorio de patología a efectos causados por la toxicidad del formol, y la posible disminución de los gastos relacionados con la adquisición de sustancias conservadoras para el proceso de fijación de estructuras anatomopatológicas en el laboratorio de patología de la ciudad.

Fecha de inicio Maestría: 01 agosto del 2019

Fecha de terminación Maestría: 01 diciembre del 2021

| | | |
|---|---|--|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

2. Indicar las implicaciones éticas, bioéticas y de integridad científica.

Para el caso de la presente investigación, al tratarse del manejo de tejidos provenientes de seres humanos, se siguen los lineamientos estipulados por la Resolución 008430 de 1993, en donde se señala la necesidad de contar con protocolos y estándares para el seguimiento de la procedencia y manejo de los tejidos según la normatividad que los rige en los procedimientos de laboratorio. De otro lado, se debe garantizar el respeto por la fuente de obtención de las muestras a ser procesadas.

3. Tipo de riesgo según la Resolución 008430 de 1993, por medio de la cual el Ministerio de Salud, establece las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud:

1. **Investigación sin riesgo:** (Si marca esta opción, anexar consentimiento, asentimiento informado cuando aplique y/o cartas de aval de instituciones externas donde se hará recolección de información)
2. **Riesgo mínimo:** (Si marca esta opción, anexar consentimiento, asentimiento informado y/o cartas de aval de instituciones externas donde se hará recolección de información y protocolo si lo considera)
3. **Riesgo mayor al mínimo:** (Si marca esta opción, anexar consentimiento, asentimiento informado y protocolo para el manejo de seres vivos en investigación y/o cartas de aval de instituciones externas donde se hará recolección de información)

4. Describa cada una de las fuentes y naturaleza de los fondos de la investigación.

| Fuentes | TOTAL PRESUPUESTO | FINANCIADO | CONTRAPARTIDA |
|------------------------------|-------------------|------------|---------------|
| Rubros | | | |
| 1. Personal | \$ 5.000.000 | | \$ 5.000.000 |
| 2. Viajes | \$ 3.000.000 | | \$ 3.000.000 |
| 3. Salidas de Campo | \$ - | | N/A |
| 4. Materiales | \$ 2.000.000 | | \$ 2.000.000 |
| 5. Bibliografía | \$ | | \$ |
| 6. Descripción Equipos | \$ | | \$ |
| 7. Software | \$ - | | N/A |
| 8. Servicios Técnicos | \$ | | \$ |
| 9. Mantenimiento | \$ - | | N/A |
| 10. Publicaciones y Patentes | \$ | | \$ |

| | | |
|---|---|--|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

| | | | | |
|---------------------------|-----------|-------------------|-----------|-------------------|
| 11. Legalización Contrato | \$ | - | | N/A |
| 12. Otros | \$ | | | \$ |
| 13. Administración | \$ | - | | N/A |
| TOTALES | \$ | 10.000.000 | \$ | - |
| | | | \$ | 10.000.000 |

5. Describa si el proyecto de investigación requiere algún tipo de permisos o licencias para su desarrollo.

No aplica.

6. Describan los acuerdos de propiedad Intelectual asumidos por los integrantes del proyecto de investigación.

Correspondiente a la Maestría en Biología Humana. Publicación por la estudiante, el tutor y el médico asesor.

7. Describa si el proyecto de investigación utilizará microorganismos susceptibles de afectar de alguna manera el ecosistema en general y cuál será su manejo.

No aplica.

8. Área de Investigación: De acuerdo a los siguientes grupos, ¿defina el área que usted considera, especificando por qué?)

Grupo I: Investigación con Humanos: _____

Grupo II: Investigación que requiere Acceso a contrato de Recursos Vegetales o Diversidad Biológica: _____

Grupo III: Investigación con microorganismos: _____

Grupo IV: Investigación con organismos genéticamente modificados: _____

Grupo V: Investigación social: _____

Grupo VI: Investigación urbanística: _____

Grupo VII: Investigación no incluida en los grupos anteriores: X

Grupo VIII: Otra _____ ¿Cuál? _____

¿Por qué escogió el área? _____

| | | |
|---|---|--|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

D. DECLARATORIA DE INHABILIDADES, INCOMPATIBILIDADES, CONFLICTOS DE INTERESES Y ACUERDO DE CONFIDENCIALIDAD PARA INVESTIGADORES⁽²⁾(³)

Descripción de las inhabilidades: Ninguno.

Descripción de las incompatibilidades: Ninguno.

Descripción de los conflictos de intereses: Ninguno.

Acuerdo de confidencialidad: En razón a que tendré (mos) acceso a información confidencial me (nos) comprometo (s) a:

- No incurrir en las siguientes conductas (copiar, citar, usar o divulgar los contenidos del proyecto de investigación sin las autorizaciones que correspondan de acuerdo con lo convenido con los autores, población participante o las entidades financiadoras).
- No hacer uso diferente a los resultados del proyecto, de la información a la que tenga acceso en razón del proyecto mismo, para beneficio propio o de terceros diferentes a los del proyecto.

Acuerdo de integridad científica:

- Haré (mos) exposición de los resultados de manera fiel a lo expresado en ellos, de

² **Inhabilidad:** es la incapacidad, ineptitud o circunstancias que le impiden a una persona adelantar una investigación, y en ciertos casos, impide el ejercicio de investigador a quien ya se encuentre vinculado al proyecto. De igual manera se tendrán en cuenta las inhabilidades sobrevinientes, de las cuales cada investigador dará cuenta al Comité según el caso.

Incompatibilidad: imposibilidad jurídica de coexistencia de dos actividades, que hace referencia a aquella situación jurídica relacionada con la aceptación de cargos y/o investigaciones de los que se debe de manera manifiesta un conflicto de intereses. Se recuerda que en caso de que el investigador incurra en una inhabilidad o incompatibilidad, deberá separarse del proyecto de investigación.

Conflicto de intereses: son aquellas situaciones de riesgo que tienen lugar en cualquier circunstancia en que un interés interfiere o puede interferir con la capacidad de una persona, organización o institución para actuar de acuerdo con el interés de otra parte. Para estos efectos téngase en cuenta los siguientes tipos de conflictos de intereses: **Financiero:** cuando el investigador tiene participación en una empresa, organización o equivalente que se relaciona o indirectamente con las actividades propias del proyecto de investigación. **Intelectual:** cuando se tiene un interés intelectual, académico o científico en un tema en particular. La declaración de este tipo de intereses es indispensable para salvaguardar la calidad y objetividad del trabajo científico. **Pertenencia:** derechos de propiedad intelectual o industrial que estén directamente relacionados con las temáticas o actividades de investigación. **Familiar:** cuando alguno de los familiares, hasta tercer grado de consanguinidad y segundo de afinidad, están relacionados de manera directa o indirecta en los aspectos financiero o intelectual, con las actividades investigativas a desarrollar.

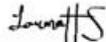
³ Estas definiciones son tomadas de la Universidad Libre seccional Pereira (s.f). Documento del comité de ética.

| | | |
|---|---|--|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

acuerdo con los métodos empleados, considerando que estos sirven para la toma de decisiones informadas.

- La custodia de la información del proyecto estará a cargo de:

INVESTIGADORES

| | |
|---|--|
| Nombre: Lorena Beatriz Hoyos Santos Cedula: 1102843079 | Firma:  |
| Nombre: Oscar Andrés Alzate Mejía Cedula: 75095838 | Firma:  |

En sesión del día 11 de agosto de 2021 como consta en el acta 121 del Comité de Bioética de la Universidad. Exposición oral de forma virtual. Se analizó el proyecto y se conceptuó de la siguiente manera:

Es aprobado como investigación de riesgo mayor al mínimo, no por las personas que participan sino los mismos investigadores por el manejo de las estructuras anatómicas de los cadáveres y el material que van a poner a prueba. En el manejo de las diferentes sustancias debe tener un protocolo de vertimiento y manejo de materiales usados. Se deben actualizar los protocolos de bioseguridad para los integrantes del laboratorio antes durante y después del manejo de las estructuras. Después de la sesión fue entregado al comité todos los documentos corregidos y fueron aprobados los ajustes a los protocolos.

| | | | |
|----------------------------|---|--|---|
| María del Carmen Vergara Q | Coordinadora de la Unidad de Investigación, relatora del Comité de Bioética | reddeinvestigacion@atonoma.edu.co |  |
| Jackeline Mulette | Representante del área clínica de Odontología-SALUD | jmullet@atonoma.edu.co |  |

| | | |
|---|---|---|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

| | | | |
|---------------------------|--|--------------------------|---|
| Andrea del Pilar González | Representante del área clínica de Fisioterapia-SALUD | andrepqm@autonoma.edu.co |  |
| Juan Manuel Vargas | Experto en ética | jvargas@autonoma.edu.co |  |

Responsabilidad Ética, Bioética y de Integridad Científica del Investigador: el aval otorgado por el Comité de Bioética en Investigación de la Universidad Autónoma de Manizales, sobre un proyecto de investigación llevado a su consideración, no releva, ni sustituye la responsabilidad ética, bioética y de integridad científica de los investigadores, por tanto, ellos deben asumir siempre la responsabilidad de la integridad en todos los aspectos del proyecto o programa.

El comité de Bioética de investigación de la UAM podrá hacer seguimiento al proceso de investigación para asegurar que se cumpla con los requisitos que permitan proteger la vida e integridad de los seres vivos que en ella participan, al igual que el uso y la custodia de la información. Los investigadores deben informar cualquier cambio al proyecto que modifique el tipo de riesgo o altere la información aquí contenida al comité de Bioética.

Nota: Este formato se debe entregar con una semana de anticipación a la fecha de sesión mensual del Comité de Bioética de Investigación (CEI) de la UAM con los anexos correspondientes.

Anexar:

1. El formulario se debe enviar al correo electrónico a comitedebioeticauam@autonoma.edu.co
2. Anexo consentimiento informado, asentimiento o autorización de instituciones

| | | |
|---|---|--|
|  | SOLICITUD DE AVAL ÉTICO, BIOÉTICO Y DE INTEGRIDAD CIENTÍFICA PARA LOS PROYECTOS O PROGRAMAS DE INVESTIGACIÓN QUE SE REALIZARÁN CON LA PARTICIPACIÓN DE SERES VIVOS Y MATERIAL ORGÁNICO POR PARTE DE INVESTIGADORES DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MANIZALES¹ | CÓDIGO: GIN-FOR-038 |
| | | VERSIÓN: 1 FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 27/MAR/2020 |

- externas (cuando aplica)
3. Anexo protocolo para el manejo de seres vivos en investigación (no aplica)
 4. Anexo protocolo para el manejo de desechos orgánicos en investigación (cuando aplica) Los que corresponden al manejo del laboratorio de patología.
 5. Anexo presentación en PowerPoint al comité de bioética UAM



PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA.

Proyecto de investigación: Alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología.



Lorena Beatriz Hoyos Santos (Estudiante de Maestría en Biología Humana)
Oscar Andrés Álzate Mejía (Asesor. Docente coordinador laboratorio).

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

ALCANCE

El presente documento está destinado para el personal responsable del transporte, procesamiento y descarte de las muestras utilizadas en el proyecto *Alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología*. Que se llevara a cabo en el laboratorio de Morfología de la Universidad Autónoma de Manizales

OBJETIVO

Describir los procesos y criterios para el transporte, procesamiento y descarte de las muestras utilizadas en el proyecto *Alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología*.

INTRODUCCIÓN

El formaldehído ha sido catalogado como una sustancia con propiedades tóxicas, cancerígenas y mutagénicas donde su principal vía de ingreso al cuerpo es por el sistema respiratorio, causando irritación y afecciones crónicas que incluso derivan en cáncer.

El proyecto de investigación *Alternativas al formol como fijador y conservador de estructuras y tejidos en los laboratorios de patología*, se ha centrado en proponer diferentes alternativas al uso del formol tamponado al 10% con pH neutro como fijador y conservador de piezas y tejidos anatómicos en los laboratorios de patología. Lo anterior enmarcado en la necesidad de establecer el uso de herramientas y compuestos que sean amigables con el medio ambiente y la salud de los profesionales.

La investigación es de enfoque cuantitativo y tipo cuasi experimental.

El procedimiento consiste en la identificación de la capacidad fijadora y conservadora de diferentes sustancias en estructuras anatomopatológicas, integrándolas experimentalmente, y en lo posible, en el proceso de los laboratorios de patología de la ciudad.

En cuanto a los resultados esperados, se quiere identificar las sustancias fijadoras y conservadoras de estructuras anatomopatológicas en diferente grado y tiempo. Asimismo, por medio de una validación estadística de las variables cuantitativas del experimento, se determinará la efectividad de las sustancias puestas a prueba. Luego serán seleccionadas las mejores sustancias conservantes para el proceso de fijación de estructuras anatomopatológicas según su efectividad. Por último, se espera la reducción de la exposición del personal del laboratorio de patología a

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

efectos causados por la toxicidad del formol, y la posible disminución de los gastos relacionados con la adquisición de sustancias conservadoras para el proceso de fijación de estructuras anatomopatológicas en el laboratorio de patología de la ciudad.

El proyecto se desarrollará en el Laboratorio de Morfología (Anfiteatro) que se localiza en el primer piso bloque 13, es un laboratorio diseñado para la docencia de la anatomía y cuenta con la infraestructura necesaria para la actividad académica. Allí se desarrollan clases prácticas de anatomía con cadáveres. El anfiteatro está a disposición de estudiantes de pregrado y postgrado de odontología, fisioterapia, Ingeniería biomédica, atención pre hospitalaria. Así mismo ofrece sus servicios a otros programas de salud de las diferentes universidades de la ciudad. En este servicio se incluye la sala denominada Ananoteca con huesos humanos y réplicas de partes del cuerpo humano.

La capacidad de atención del laboratorio es de 30 estudiantes y docente para sesiones de 2 horas. Maneja un Horario de lunes a viernes de 8:00 a.m. a 12:00 m, 2:00 p.m. a 6:00 p.m. y los sábados de 8:00 a.m. a 1:00 p.m. Número de trabajadores: Un auxiliar y el docente responsable del grupo.

Residuos que genera: Biosanitarios, anatomopatológicos, industriales, sólidos impregnados.

Para el caso de la presente investigación, al tratarse del manejo de tejidos provenientes de seres humanos, se siguen los lineamientos estipulados por la Resolución 008430 de 1993, en donde se señala la necesidad de contar con protocolos y estándares para el seguimiento de la procedencia y manejo de los tejidos según la normatividad que los rige en los procedimientos de laboratorio. De otro lado, se debe garantizar el respeto por la fuente de obtención de las muestras a ser procesadas.

Con base en lo descrito previamente se realizó el presente documento dirigido al personal responsable del transporte, procesamiento y descarte de las muestras utilizadas en el proyecto antes mencionado.

BIOSEGURIDAD

TRANSPORTE DE MUESTRAS

El envío de las muestras hasta el laboratorio debe tener como finalidad un transporte seguro en las condiciones adecuadas, con el menor tiempo posible. Las personas encargadas de esta actividad están en riesgo de exposición a sustancias tóxicas y material infeccioso o contaminado, que pudiera liberarse de recipientes rotos o con fugas, por lo cual es importante que su embalaje garantice la integridad del personal que los manipula.

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

CRITERIOS DE RECHAZO DE MUESTRAS:

Al momento de recibir las muestras en el laboratorio de Morfología, se debe verificar las condiciones en las que se recibe con el fin de confirmar que cumplen con los requisitos de calidad y cantidad.

Las muestras tendrán los siguientes criterios de exclusión:

- Cuando no cumplan con la cantidad necesaria para implementar en las sustancias a probar.
- Muestra recolectada en recipientes no aptos para el análisis.
- Muestra que no cumplen con las condiciones de embalaje y transporte.
- Muestra que puede presentar algún riesgo al manipularla por derrames por no cumplir con adecuado embalaje.

| Fases y Procedimientos a realizar antes, durante, y después de los procedimientos | Fases y Procedimientos a realizar antes, durante, y después de los procedimientos | Posibles riesgos a los que se exponen los participantes | Acciones que se implementarán para minimizar los riesgos | Acciones que se implementarán en caso que suceda un evento adverso | Evidencias científicas que demuestran que las acciones a implementar tienen sustento teórico con las referencias |
|---|--|--|---|---|--|
| ANTES | Transporte de estructuras patológicas (desde el instituto Caldense de Patología, Oncólogos de occidente y Citalud al laboratorio de patología de la UAM) | Riesgo de exposición a sustancias tóxicas y material infeccioso o contaminado, que pudiera liberarse de recipientes rotos o con fugas. | <p>Recipientes de vidrio transparente, boca ancha y tapa de plástico o caucho de cierre hermético.</p> <p>Recipiente de plástico translucido o de color blanco, boca ancha y tapa de plástico o caucho de cierre hermético.</p> <p>Al momento de estar en contacto con las muestras</p> | <p>Aire fresco. En caso necesario, respiración por medios instrumentales. Si hay dificultad para respirar, entonces suministrar oxígeno. Llamar al médico.</p> <p>Aclarar con abundante agua durante mínimo 20 minutos, manteniendo abiertos los párpados. Evitar</p> | <p>CORPONOR (2015) Hoja de seguridad formaldehído</p> <p>ROTH (2016) Ficha de datos de seguridad: Solución de formaldehído</p> <p>CIEMTO (2016) Hoja de datos de seguridad: Formaldehído</p> |



**PROTOCOLO
LABORATORIO DE
MORFOLOGÍA**

CÓDIGO: GIN-FOR-033
 VERSIÓN: 1
 FECHA ELABORACIÓN
 DEL DOCUMENTO:
 18/FEB/2019

| | | | | | |
|--|--|--|---|--|---|
| | | | <p>tener presente las normas de Bioseguridad como: Guantes, bata, tapabocas, gorro y monogafas.</p> <p>Las muestras serán transportadas en neveras de poliestireno para fijación, conservación y mayor precaución</p> | <p>que el agua contaminada tras lavar el ojo afectado entre en contacto con el ojo en buen estado. Llamar al oftalmólogo.</p> <p>Aclarar con abundante agua, preferiblemente tibia, durante mínimo 20 minutos. Eliminar ropa contaminada. En caso de presentarse irritación persistente consultar a un médico.</p> | <p>INS (2020) Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia</p> |
| | | | | | |

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | |
|----------------|---|--|--|--|--|
| DURANTE | <p>Sumergir las muestras patológicas en Formol.</p> <p>Extraer las muestras patológicas de las sustancias conservantes (28 días).</p> <p>Hacer el proceso de fijación y tinción.</p> <p>Observar la calidad de la fijación desde un análisis en el microscópico.</p> <p>Determinar la efectividad en la conservación de estructuras anatomopatológicas con diferentes sustancias fijadoras y conservantes</p> | <p>Inhalación: Irritación del tracto respiratorio superior, acompañada de tos, disnea. Cuando la exposición es prolongada puede causar dolor de cabeza, palpitaciones, inflamación de las vías respiratorias originando laringitis y bronconeumonía. En casos extremos puede ocasionar muerte por edema. Exposiciones repetidas a bajas concentraciones, pueden ocasionar irritación de las</p> | <p>Hasta 0,3 ppm se recomienda la utilización de respirador con mascara facial completa con cartucho para formaldehído. Para concentraciones superiores o desconocidas usar respiradores de línea de aire (SAR) o respiradores de aire auto contenido (SCBA). NIOSH recomienda usar siempre SAR o SCBA por ser sospechoso carcinógeno.</p> | <p>Aire fresco. En caso necesario, respiración por medios instrumentales. Si hay dificultad para respirar, entonces suministrar oxígeno. Llamar al médico.</p> | <p>CORPONOR (2015) Hoja de seguridad formaldehído</p> <p>ROTH (2016) Ficha de datos de seguridad: Solución de formaldehído</p> <p>CIEMTO (2016) Hoja de datos de seguridad: Formaldehído</p> <p>INS (2020) Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia</p> |
|----------------|---|--|--|--|--|

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | |
|--|--|---|--|--|--|
| | | mucosas, dolor de garganta, faringitis, resequedad de la boca, nariz y garganta. | | | |
| | | Contacto con los ojos: Puede causar graves quemaduras, y en casos extremos ceguera. Una exposición prolongada puede ocasionar conjuntivitis. | Gafas de protección, aunque la protección visual se encuentra incluida en el respirador recomendado (pieza facial completa). | | Aclarar con abundante agua durante mínimo 20 minutos, manteniendo abiertos los párpados. Evitar que el agua contaminada tras lavar el ojo afectado entre en contacto con el ojo en buen estado. Llamar al oftalmólogo. |
| | | Contacto con la piel: Contactos repetidos con el producto pueden causar irritación e incluso en | Para exposiciones superiores a 8 horas, usar caucho de butilo | | Aclarar con abundante agua, preferiblemente tibia, durante mínimo 20 |

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | |
|--|--|---|---|---|--|
| | | <p>algunos casos producir úlceras. Contactos prolongados pueden generar dermatitis y sensibilidad de la piel.</p> | <p>o nitrilo, Vitón. Para exposiciones superiores a 4 horas, usar neopreno, PVC.</p> <p>Utilizar ropa de trabajo adecuada que evite el contacto del producto, overol resistente al químico.</p> <p>Las diferentes estructuras se deben manipular con las pinzas adecuadas que se encuentran dentro del laboratorio.</p> | <p>minutos. Eliminar ropa contaminada. En caso de presentarse irritación persistente consultar a un médico.</p> | |
|--|--|---|---|---|--|

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOKOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | |
|----------------|--|--|-----|---|--|
| DESPUES | Manejo de residuos peligrosos después de los procedimientos | Ingestión: Irritación e inflamación de la boca, garganta, esófago y estómago, diarrea. Puede presentarse daño en los riñones y en el sistema nervioso central con síntomas como convulsión, inconsciencia y muerte, para dosis superiores a 30 ml. de formaldehído al 40% en peso. La cantidad necesaria para producir la muerte es de 0,03L a 0,50L. | N/A | Enjuagar la boca con agua y luego suministrarla en abundancia. Aplicación posterior: Carbón activo (20-40 gramos de suspensión al 10%). Llamar al médico. Si el paciente está convulsionando, inconsciente o perdiendo la consciencia no suministrar nada por la boca. No provocar el vómito, si este ocurre espontáneamente, mantener a la víctima inclinada para reducir el riesgo de aspiración. | |
|----------------|--|--|-----|---|--|

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

PROTOCOLO MANEJO DE RESIDUOS PELIGROSOS DESPUÉS DE LOS PROCEDIMIENTOS

| ID | ACTIVIDAD | DESCRIPCIÓN | RESPONSABLE | | REGISTROS | SISTEMAS DE INFORMACIÓN O APLICATIVOS |
|----|---|--|---------------------------------|-----------------------------|-----------|---------------------------------------|
| | | | DEPENDENCIA O UNIDAD DE GESTIÓN | CARGO Y/O PUESTO DE TRABAJO | | |
| 1 | Separar el residuo de acuerdo con sus características. | Los residuos sólidos y líquidos se separan de acuerdo con su peligrosidad en los recipientes respectivos. Los cortopunzantes en guardianes, separar adecuadamente las radiografías en láminas de plomo, acetatos y plástico y cartón, los sólidos no peligrosos, tales como reciclables, orgánicos y ordinarios o inertes, en la caneca gris, beige y verde respectivamente. (Procedimiento manejo de residuos sólidos) el vidrio | Laboratorio | Generador del residuo | N.A | N.A |

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|---|--|--|-------------|--------------|----------------|-----|
| | | <p>en especial puede ser dispuesto en caneca blanca, los peligrosos que incluyen orgánicos sin metales pesados, halógenos o nitrógeno, orgánicos con halógenos, nitrógeno o azufre, acuosos con metales pesados, acuosos sin metales pesados y órgano metálicos, en recipientes separados.</p> | | | | |
| 2 | <p>Registrar tipo y cantidad de los residuos sólidos y acuosos generados.</p> | <p>Registrar el tipo y cantidad de los residuos generados en prácticas docentes, proyectos de investigación y servicios de extensión, en la fecha en que sean retirados del laboratorio o que se realicen tratamientos internos previos a la disposición final.</p> | Laboratorio | Funcionarios | Formulario RH1 | N.A |

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|---|--|--|-------------|--------------|---|-----|
| 3 | Rotular el recipiente para los residuos peligrosos. | Rotular el recipiente en que se almacenan los residuos peligrosos para identificar las características de peligrosidad, lugar y actividad de origen. | Laboratorio | Funcionarios | Formato "etiquetado de residuos peligrosos". | N.A |
| 4 | Elaborar el protocolo de tratamiento de residuos peligrosos. | El laboratorio deberá elaborar los protocolos de tratamiento de cada uno de los residuos peligrosos que se generan por el desarrollo de sus actividades. | Laboratorio | Funcionarios | Formato: Protocolo de tratamiento de residuos peligrosos. | N.A |
| 5 | Implementar el protocolo de tratamiento de residuos peligroso | Cada vez que se genera el residuo, deberá seguirse e implementarse las directrices establecidas en el protocolo de tratamiento. | Laboratorio | Funcionarios | Formato: Protocolo de tratamiento de residuos peligrosos | N.A |

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|---|--|---|-------------|--------------|---|-----|
| 6 | Tratar el residuo. | <p>El tratamiento del residuo sólido y/o acuoso se realiza acuerdo con los protocolos establecidos y características de este. Es importante aclarar que no todos los residuos que se generan requieren tratamiento previo y aquellos a la disposición final se consideran pre-tratamientos. Estos detalles deben registrarse en el formato "Protocolo de residuos Peligrosos" y en el formulario RH1.</p> | Laboratorio | Funcionarios | <p>Formato: Protocolo de tratamiento de residuos peligrosos</p> <p>Formulario RH1</p> | N.A |
| 7 | Almacenar temporalmente los residuos. | <p>Los residuos se almacenan en el laboratorio para su recolección interna por parte del personal de servicios generales debidamente capacitados. Para el almacenamiento de residuos se tiene en cuenta el grado de peligrosidad y las incompatibilidades que éstos pueden tener. Este almacenamiento temporal no debe superar un año en el lugar de generación.</p> | Laboratorio | Funcionarios | N.A | N.A |

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|---|---|---|-------------|---------------------------------|--|-----|
| 8 | Realizar recolección interna de residuos | <p>Los residuos son evacuados de su sitio de generación por parte del personal de servicios generales en el menor tiempo posible para evitar la proliferación de vectores y enfermedades asociados a éstos.</p> <p>El personal del laboratorio registra en los formatos RH1 la cantidad de residuos que se evacuan del laboratorio; el personal de aseo cuenta con dinamómetros para pesar cada una de las bolsas evacuadas.</p> <p>De tratarse de animales muertos y de otros residuos de riesgo biológico que por sus procesos de descomposición o malos olores puedan generar incomodidades, deben</p> | Laboratorio | Personal de servicios generales | Formato: Recolección Interna Formulario RH1 | N.A |
|---|---|---|-------------|---------------------------------|--|-----|

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|---|---|---|------------------------------|-----|--|-----|
| | | <p>conservarse congelados en cavas, e informar de esto a servicios generales, para que los retire previo a la recolección de los residuos de riesgo biológico. La frecuencia de recolección interna está en función de la cantidad de residuos que genere cada laboratorio.</p> | | | | |
| 9 | Realizar recolección externa de residuos | <p>Los residuos de riesgo biológico son recolectados por una empresa especializada que tiene una frecuencia de recolección semanal. No deben ser líquidos de tal forma de no generar escurrimientos.</p> <p>Los residuos de riesgo químico son recolectados por empresas especializadas para incineración, previa solicitud. La frecuencia de recolección no es</p> | Empresas de gestión externa. | N.A | Registro de recolección por parte de la empresa de gestión externa para los residuos de riesgo químico | N.A |

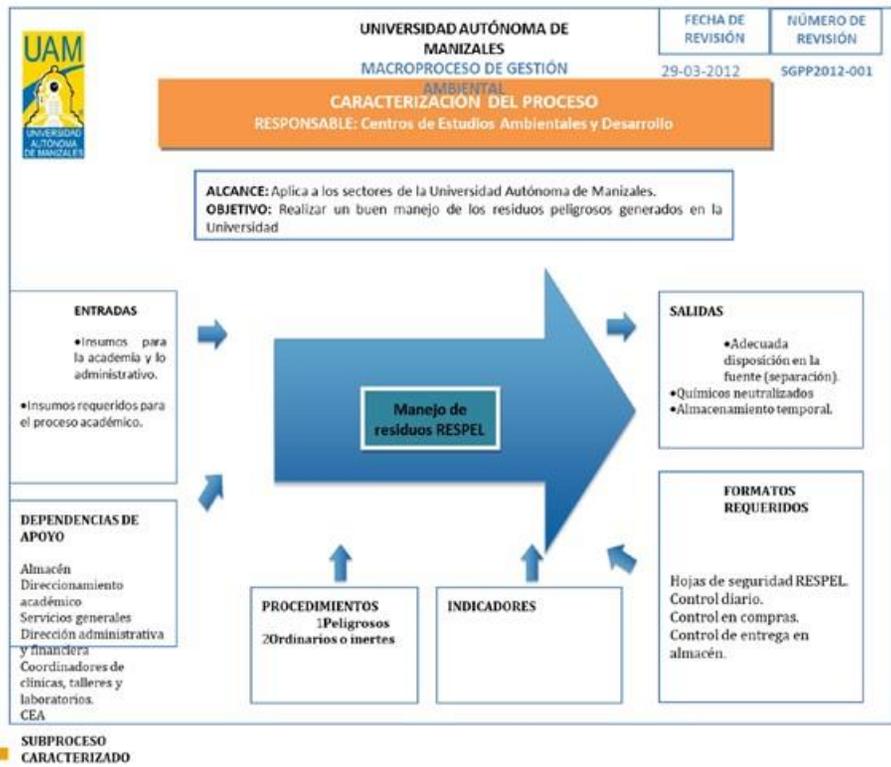
| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|
| | | <p>periódica, está en función de las tasas de generación.</p> <p>Para esta recolección, los residuos deben ser empacados en óptimas condiciones para no generar derrames y cualquier tipo de accidente, y debidamente marcados, cada caja debe tener el rotulo con el rombo de y el tipo de peligro que representa para su transporte externo. Estos adhesivos son proporcionados por de Laboratorios o por la empresa de gestión externa.</p> | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |

| | | | | | | |
|--|---|--|--------------------------------|-----|--|-----|
| | Realizar la disposición final de los residuos. | <p>La empresa de aseo contratada por realiza la disposición final de los residuos a través de técnicas como relleno sanitario, incineración y/o encapsulamiento.</p> <p>La empresa de gestión externa entrega a cada laboratorio el certificado respectivo en el que se establezca el tipo de técnica utilizada para la disposición final.</p> | Empresas de gestión externa | N.A | Certificado de disposición final por parte de la empresa de gestión externa | N.A |
|--|---|--|--------------------------------|-----|--|-----|

| | | |
|---|--|--|
|  | PROTOCOLO LABORATORIO DE MORFOLOGÍA | CÓDIGO: GIN-FOR-033 |
| | | VERSIÓN: 1 |
| | | FECHA ELABORACIÓN DEL DOCUMENTO: 18/FEB/2019 |



Anexo C. Resultados de evaluación del Instituto Caldense de Patología (Manizales – Caldas)



VIGILADA MINEDUCACIÓN

| Fecha de recepción en el instituto caldense de patología. | Número de la muestra | Tiempo de fijación | Calidad macroscópica de la muestra al llegar al instituto caldense (0=adecuada, 1= inadecuada) | Tipo de muestra | Calidad de la tinción para diagnóstico (1=pobre, 2=regular, 4=buena, 5=excelente) |
|---|----------------------|--------------------|--|---|---|
| 15-09-2021 | 1 | 15 días | Ø | Nódulo Epiplón- Formol (Fresca #6) | 5 |
| 15-09-2021 | 2 | 15 días | Ø | Nódulo Epiplón- Solución chilena (Fresca #6) | 5 |
| 15-09-2021 | 3 | 15 días | Ø | Nódulo Epiplón- Glisocol (Fresca #6) | 5 |
| 15-09-2021 | 4 | 19 días | Ø | Vesícula- Formol (Fijadas en formol #2) | 5 |
| 15-09-2021 | 5 | 19 días | Ø | Vesícula-Solución Chilena (Fijadas en formol #2) | 5 |
| 15-09-2021 | 6 | 19 días | Ø | Vesícula- Glisocol (Fijadas en formol #2) | 5 |
| 15-09-2021 | 7 | 19 días | Ø | Apéndice- Formol (Fijadas en formol #13) | 5 |
| 15-09-2021 | 8 | 19 días | Ø | Apéndice- Solución Chilena (Fijadas en formol #13) | 5 |
| 15-09-2021 | 9 | 19 días | Ø | Apéndice- Glisocol (Fijadas en formol #13) | 5 |
| Diligenció y revisó: | | | <i>Alejandro Posada Restrepo</i> | Alejandro Posada Restrepo Médico Patólogo C.C. 16.076.822 R. Med. 1870 | |

| Fecha de recepción en el instituto caldense de patología. | Número de la muestra | Tiempo de fijación | Calidad macroscópica de la muestra al llegar al instituto caldense (0=adecuada, 1=inadecuada) | Tipo de muestra | Calidad de la tinción para diagnóstico (1=pobre, 2=regular, 4=buena, 5=excelente) |
|---|----------------------|---|---|---|---|
| 24-09-2021 | 1 | 29 días | Ø | Ovario – Formol (Fresca #5) | 5 |
| 24-09-2021 | 2 | 29 días | Ø | Ovario - Solución chilena (Fresca #5) | 5 |
| 24-09-2021 | 3 | 29 días | Ø | Ovario – Glisocol (Fresca #5) | 5 |
| 24-09-2021 | 4 | 28 días | Ø | Vesícula- Formol (Fijadas en formol #4) | 5 |
| 24-09-2021 | 5 | 28 días | Ø | Vesícula-Solución Chilena (Fijadas en formol #4) | 5 |
| 24-09-2021 | 6 | 28 días | Ø | Vesícula- Glisocol (Fijadas en formol #4) | 5 |
| 24-09-2021 | 7 | 28 días | Ø | Apéndice- Formol (Fijadas en formol #6) | 5 |
| 24-09-2021 | 8 | 28 días | Ø | Apéndice- Solución Chilena (Fijadas en formol #6) | 5 |
| 24-09-2021 | 9 | 28 días | Ø | Apéndice- Glisocol (Fijadas en formol #6) | 5 |
| Diligenció y revisó: | | <p>Alejandro Posada Restrepo Médico Patólogo C.C. 16.076.822 R. Med. 1670</p> | | | |

