



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA
ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

TESIS

**“CORRELACION ENTRE EL TEST RÁPIDO DE UREASA USANDO AGAR
CHRISTENSEN Y LA HISTOLOGÍA EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN
POR *Helicobacter pylori* EN BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL DE
ALTA COMPLEJIDAD VIRGEN DE LA PUERTA AGOSTO – DICIEMBRE
2016”**

**Tesis para optar el título de
LICENCIADA EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN EL AREA DE LABORATORIO
CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA**

PRESENTADO POR:

Br: LADY LAURA ZAMBRANO CRESPIN

ASESOR:

Mg. WILDER ADEMIR REYES ALFARO

TRUJILLO – PERÚ

2017

HOJA DE APROBACIÓN

Br. LADY LAURA, ZAMBRANO CRESPIN

“CORRELACION ENTRE EL TEST RÁPIDO DE UREASA USANDO AGAR CHRISTENSEN Y LA HISTOLOGÍA EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori* EN BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL DE ALTA COMPLEJIDAD VIRGEN DE LA PUERTA AGOSTO – DICIEMBRE 2016”

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de Licenciada en Tecnología Médica con mención en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Universidad Alas Peruanas.

TRUJILLO – PERÚ

2017

DEDICATORIA

Se dedica este trabajo a:

Delia Marta, mi madre que desde siempre me ha dado la fuerza necesaria para seguir adelante, para nunca darme por vencida y lograr mis propósitos.

Mi padre y hermanos, que son un ejemplo de superación, quienes me han enseñado el valor de la constancia y han sido mi mayor apoyo durante este tiempo de estudios.

AGRADECIMIENTO

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta Tesis a:

A mi asesor Mg. Wilder Reyes Alfaro, por su apoyo moral y consejo constante en la realización y culminación del presente trabajo.

A la Q.F. Amelia Alva Ibárburo, por haber contribuido a mi desempeño laboral durante mis años de estudios, por su apoyo y consejos para la realización de este proyecto.

A mi Alma Mater “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” en cuyas aulas recibí todo el conocimiento para la realización profesional.

RESUMEN

Se realizó un estudio para determinar la correlación entre el test rápido de ureasa usando agar urea de Christensen y los hallazgos histológicos para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*. La muestra estuvo conformada por 50 biopsias mediante un muestreo no probabilístico o dirigido, que cumplieron los criterios de inclusión, y provienen de pacientes del servicio de Gastroenterología del Hospital Virgen de la Puerta de Trujillo durante el periodo de Agosto–Diciembre 2016 en los que se realizó biopsia gástrica para estudio histopatológico y test rápido de ureasa. Los resultados que se obtuvieron, para el test de ureasa con agar Christensen hubo once resultados negativos y cuatro falsos positivo los cuales se correlacionaron con la biopsia gástrica (coloración de Hematoxilina-Eosina), de los cuales treinta y cinco pacientes fueron positivos y quince negativos. Utilizando el estudio de anatomía patológica como “Gold standard” se determinó una sensibilidad del 89.7% y una especificidad del 100%. La correlación del test de ureasa con agar urea de Christensen y la histología estudiadas y valoradas por la frecuencia de detección además de la sensibilidad y especificidad (89.7% y 100% respectivamente) del test de ureasa, han resultado altas, todo esto nos hace indicar que esta prueba puede ser utilizada en la práctica médica.

Palabras clave: Helicobacter pylori, test de ureasa, agar urea de Christensen, histología.

ABSTRACT

A study was conducted to determine the correlation between the rapid urease test using Christensen urea agar and the histological findings for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. A sample consisted of 50 biopsies was obtained by a non-probabilistic or directed sampling, which met the inclusion criteria, and came from patients of the Gastroenterology Service of the Hospital Virgen de la Puerta de Trujillo during the period of August-December 2016 period in the who underwent gastric biopsy for histopathological study and rapid urease test.

The results that were obtained for the urease test with Christensen agar, there were eleven negative and four false positive results, which were correlated with the gastric biopsy (Hematoxylin-Eosin staining), of which thirty five patients were positive and fifteen negative. Using the study of pathological anatomy as "Gold standard" a sensitivity of 89.7% and a specificity of 100% was determined. The correlation of the urease test with Christensen urea agar and the histology studied and evaluated by the detection frequency in addition to the sensitivity and specificity (89.7% and 100%, respectively) of the urease test have been high, all of which indicates that this test can be used in medical practice.

Key words: Helicobacter pylori, urease test, urea agar of Christensen, histology.

INDICE

HOJA DE APROBACIÓN	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.1. Planteamiento del problema.....	2
1.2. Formulación del Problema:.....	4
1.2.1. Problema General:.....	4
1.3. Objetivos:.....	4
1.3.1. Objetivo Generales.....	4
1.3.2. Objetivos Específicos.....	4
1.4. Justificación.....	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Bases Teóricas:.....	6
2.1.1. Generalidades:	6
2.1.2. Técnica histológica	8
2.1.3. Test de Ureasa	9
2.1.4. Cultivo en agar Christensen.....	9
2.2. Antecedentes de la investigación.....	10
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	13
3.1. Tipo del Estudio.....	13
3.2. Población	13
3.3. Muestra	13
3.3.1. Criterios de Inclusión:	13
3.3.2. Criterios de Exclusión:	13
3.4 Operacionalización de Variables	14
3.5 Procedimientos y Técnicas.....	16
3.6 Plan de Análisis de Datos.....	18
CAPÍTULO IV: RESULTADOS ESTADÍSTICOS.....	19
4.1. Resultados	19
4.2. Discusión de resultados	25

4.3. Conclusión	27
4.4. Recomendaciones.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
ANEXOS.....	31

INTRODUCCIÓN

La bacteria *Helicobacter pylori* afecta aproximadamente a la mitad de la población mundial, su prevalencia muestra una alta variabilidad según la región geográfica, etnia, raza, edad, y factores socioeconómicos siendo alta en países en desarrollo y desciende en el tercer mundo. Sin embargo, en los últimos años se ha visto una tendencia decreciente en la prevalencia de *Helicobacter pylori* en muchas partes del mundo.

Las pruebas diagnósticas para detectar la infección por *Helicobacter pylori* incluyen métodos endoscópicos y no endoscópicos. Las técnicas utilizadas pueden ser directas (cultivo, demostración microscópica del microorganismo) o indirectas (utilizando ureasa, antígenos fecales, o una respuesta de anticuerpos como marcador de enfermedad).

En ocasiones, el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* mediante la histología demora por la gran cantidad de muestras que llegan al laboratorio de anatomía patológica, por esto es que esta metodología tiene como desventaja el tiempo de espera en la obtención de resultados.

Por lo que es necesario la búsqueda de nuevas alternativas con las cuales se reduzca el tiempo de espera del paciente por sus resultados, en virtud de esto el presente estudio tiene por objetivo determinar la correlación entre la histología con el test de ureasa con agar Christensen permitiéndonos tener una alternativa de método diagnóstico y sobre todo confiable, y que pueda ser utilizada en laboratorios en las cuales es necesario una respuesta rápida facilitando al equipo médico empezar a dar tratamiento a los pacientes.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Helicobacter pylori es una bacteria microaerófila, gramnegativa, de crecimiento lento y forma helicoidal con abundantes flagelos, fue descubierta por los médicos australianos Robin Warren y Barry Marshall; quienes detectaron que este microorganismo se encontraba en casi todos los pacientes con inflamación gástrica, úlcera duodenal o gástrica.¹

La supervivencia del germen en la mucosa gástrica se lleva a cabo por una serie de mecanismos que incluyen: adhesinas, que le impiden ser arrastrado por el peristaltismo, la actividad ciliar o el recambio epitelial; enzimas bacterianas, como la ureasa, que transforma la urea en amonio, produciendo un microclima alcalino que lo protege de la acidez gástrica, lipasa y proteasa que propician la desintegración del moco gástrico y la pérdida de la hidrofobicidad de la mucosa disminuyendo la capacidad de las células mucosas para secretar moco, catalasa y superóxido dismutasa como línea de defensa ante polimorfonucleares activados.¹

La infección por *Helicobacter pylori* es, probablemente, la más frecuente en el hombre, calculándose que aproximadamente el 50% de la población mundial está infectada por esta bacteria.³

Según algunos estimados, más de 50% de la población está infectada, y entre 90 a 95% de los pacientes con úlcera duodenal y 60 y 70% de aquellos con úlcera gástrica están colonizados por el microorganismo.⁴

La asociación de *Helicobacter pylori* con la úlcera duodenal es clara ya que el 90 – 95% de dichos pacientes presentan a este microorganismo y la úlcera cicatriza al erradicar la bacteria. Con respecto a la úlcera gástrica también existe una clara relación, aunque solo un 70% de este tipo de úlcera está asociado con la presencia de *Helicobacter pylori* debido a que el resto de ellas están producidas por consumo de antiinflamatorios no esteroideos.⁵

En el Perú el método invasivo de diagnóstico para *Helicobacter pylori* más común es el histológico, pero se pueden considerar otros métodos para un

diagnóstico más rápido como el test de ureasa y no invasivos como la serología con IgG con antígenos del *Helicobacter pylori* y el test de ureasa espirada usando urea marcada con C¹³ o C¹⁴.¹⁰

El test de ureasa, por su sencillez y la rapidez del resultado, es el método invasivo de elección, pero puede ser conveniente obtener biopsias adicionales y, en casos de ser negativo realizar estudios histológicos.¹⁴

En el año 1994 la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC) de la Organización Mundial de la Salud incluyó a *Helicobacter pylori* como agente biológico carcinógeno para el hombre (Categoría 1) basándose en evidencias epidemiológicas que le asocian con cáncer gástrico y en el 70% de los pacientes positivos para *Helicobacter pylori*.⁵

El 90% de los pacientes con linfoma de Tejido Linfoide Asociado a Mucosa (MALT) que se localiza preferentemente en el antro del estómago son positivos para *Helicobacter pylori*.⁵

La prevalencia de *Helicobacter pylori* en Perú tiende a disminuir en niveles socioeconómicos medio y alto hasta en un 50%.¹⁰

La relación causal entre *Helicobacter pylori* y la enfermedad ulcerosa péptica tiene sustento en varios estudios de cohortes que han mostrado que entre 10 y 15% de los sujetos infectados por *Helicobacter pylori* desarrollan úlceras en el largo plazo, el riesgo de desarrollar úlceras en sujetos infectados con *Helicobacter pylori* es 3 a 10 veces mayor que en los no infectados, y la erradicación de la bacteria reduce marcadamente la posibilidad de recurrencia, de aproximadamente 60%.¹⁰

En el Perú, probablemente, la transmisión a través del agua juegue el rol más importante. Se ha encontrado *Helicobacter pylori* en el agua procedente de la central de procesamiento desde donde se distribuye el agua a toda la ciudad, teniendo la población usuaria, mayor riesgo de presentar la infección que la que bebe agua procedente de pozos.¹⁰

1.2. Formulación del Problema

1.2.1 Problema general

¿Existe correlación entre el test rápido de ureasa usando agar Christensen y la histología, en el diagnóstico de infecciones por *Helicobacter pylori*?

1.3. Objetivos

a. Objetivo general

Determinar la correlación entre el test rápido de ureasa usando agar Christensen y los hallazgos histológicos para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*.

b. Objetivos específicos

- **OE1.**Determinar el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* mediante test de ureasa.
- **OE2.**Identificar los principales hallazgos histológicos en infecciones por *Helicobacter pylori*.
- **OE3.**Determinar la sensibilidad y especificidad del test rápido de ureasa comparado con hallazgos histológicos para el diagnóstico de infecciones por *Helicobacter pylori*.

1.4. Justificación

En el ámbito de la salud, una de las necesidades más relevantes debería ser el diagnóstico oportuno de las patologías y su posterior tratamiento.

En la actualidad, en nuestro país los pacientes con ulcera péptica sea gástrica o duodenal se incrementan, esto no es ajeno para nuestra región y más aún en nuestro medio local. En el Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta se cuenta con protocolos para diagnóstico de ulcera

péptica que son prolongados y acompañados a problemas logísticos dificultan una atención eficaz a los pacientes.

El interés científico de esta investigación se basa en la importancia del pronto diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* (test rápido de ureasa) en los pacientes con ulcera péptica del Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta, y por ende brindarles un tratamiento oportuno sin necesidad de alargar la sintomatología esperando resultados de métodos prolongados (histología).

El diseño de la presente investigación pretende proponer el test rápido de ureasa usando agar Christensen como principal método invasivo para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*, dirigido a los pacientes del Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta, que además de aminorar las visitas al hospital contribuirá a una mejor calidad de vida durante el proceso de diagnóstico.

Es por ello que a través de este estudio se pretende usar el test rápido de ureasa con agar Christensen y así brindar ayuda al equipo médico para un pronto diagnóstico y posterior tratamiento a los pacientes.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Bases Teóricas

2.1.1. Generalidades

La infección por *Helicobacter pylori* es la causa principal de la enfermedad ulcerosa gastroduodenal y constituye un cofactor primordial en el desarrollo del adenocarcinoma y linfoma gástricos.² Hoy en día se acepta que este microorganismo está relacionado con la gastritis crónica activa, la úlcera péptica (tanto gástrica como duodenal), el adenocarcinoma gástrico y el linfoma gástrico tipo MALT. Se ha postulado también su relación con la dispepsia funcional, la cardiopatía isquémica.³

La infección por *Helicobacter pylori* incrementa 9 veces el riesgo de desarrollar un adenocarcinoma gástrico, como han demostrado diversos meta-análisis. En 1994 la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer clasificó al *Helicobacter pylori* como agente carcinogénico de tipo-1, es decir con relación demostrada en dicho cáncer en humanos.³

El *Helicobacter pylori* no posee capacidad invasiva pues no se observa en forma intracelular, sin embargo, es capaz de provocar daño epitelial debido fundamentalmente a su batería enzimática.⁴

Las altas concentraciones de amonio alteran la biosíntesis del mucus gástrico, y recientemente se ha planteado que puede proporcionar una energía adicional, la cual favorece la motilidad de los flagelos por la generación de un potencial de membrana. Los datos recopilados hasta la fecha indican que *Helicobacter pylori* tiene una amplia distribución mundial y que entre 10 a 20% de individuos son portadores.⁴

Se plantea, además, que existe una relación directa entre la edad y la prevalencia de la enfermedad ulcerosa, que resulta mayor en los países en vías de desarrollo que en los desarrollados.⁴

En el caso de la infección por *Helicobacter pylori*, el microorganismo puede colonizar cualquier área del estómago o

duodeno asociada a la gastritis, aunque la zona más frecuente es el antro.⁴

Existen varios métodos para diagnosticar la presencia de *Helicobacter pylori*, los cuales se han agrupado en 2 categorías; los métodos directos o invasivos (prueba de la ureasa, cultivo e histología de muestras tomadas de la mucosa gástrica o duodenal) y los métodos indirectos o no invasivos, a través de los cuales se realiza la identificación de productos metabólicos de la bacteria o la detección de anticuerpos dirigidos contra proteínas específicas de su envoltura. Entre estas pruebas se encuentran las serológicas (aglutinación bacteriana, fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta, inmunoblot o Western Blot, ELISA) y la prueba de aliento o determinación de urea marcada con C¹³.⁴

En los últimos años se han realizado diferentes reuniones de consenso sobre la infección por *Helicobacter pylori*. Entre ellas destacan la del Instituto Nacional de Salud de EE. UU. por ser el primero que recomendó el tratamiento erradicador en pacientes infectados por *Helicobacter pylori* y úlcera duodenal, pero también las que se realizaron en Canadá en 1997 y 1999, el Consenso Asiático (Asia Pacific Consensus Conference 1999), el Consenso Latinoamericano (2000), el Consenso Europeo (Europeo: Maastrich Consensus, 1997 y 2000), y el Consenso Español (1999).⁵

Entre los antimicrobianos que han mostrado buena utilidad clínica se encuentran: amoxicilina, tetraciclina, metronidazol y claritromicina. La furazolidona, rifabutina o las fluoroquinolonas son otras opciones terapéuticas.

La duración de la terapia habitual ha sido de 7 a 10 días, aunque algunos autores han probado pautas cortas, de 3 a 5 días que incluyen 3 antibióticos y otros recomiendan pautas largas, de más de 10 días.⁵

A la hora de elegir uno u otro método se debe tener en cuenta el objetivo del diagnóstico (epidemiológico, diagnóstico o de seguimiento). La endoscopia con toma de biopsia para estudio

histológico permite además diagnosticar el tipo de enfermedad y el daño causado en la mucosa.⁵

En niños la infección por *Helicobacter pylori* ha sido asociado a la anemia por deficiencia de hierro, enfermedad diarreica y problemas de crecimiento, peso y funciones cognitivas.⁶

Cada año hay aproximadamente 0.9 millones de nuevos casos de adenocarcinoma gástrico, al menos el 75% de estos casos son atribuibles a *Helicobacter pylori*.⁹

La prevalencia de *Helicobacter pylori* es mayor en zonas indigentes de condiciones sanitarias y en países en desarrollo, y ha ido en disminución en diversas partes del mundo a medida que los países se industrializan.¹⁰

La prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población con ulcera gastroduodenal es muy elevada. En las úlceras gástricas y duodenales se han comunicado prevalencias del 60 – 100% respectivamente.¹²

Se estima que el 60% de la población mundial está infectada por el *Helicobacter pylori*. La prevalencia llega al 90% en los países en vías de desarrollo y al 50% en los países desarrollados, regiones en las que se ha observado una marcada disminución de las enfermedades asociadas a esta infección, debido a múltiples cambios en el estilo de vida.¹³

En trabajos realizados en Bolivia se han demostrado prevalencias de infección por *Helicobacter pylori* que oscilan entre el 50 y 73%.¹³

2.1.2. Técnica histológica

El estudio histológico de una biopsia permite conocer lesiones de la mucosa además de detectar la infección por *Helicobacter pylori*. La técnica de tinción a partir de biopsia gástrica es una técnica fácil y de alta utilidad es en estudio de la infección por el microorganismo. Una de las tinciones que destaca es hematoxilina-eosina.⁵

Las muestras se fijan en formaldehído 10% entre 12 a 24 horas, posteriormente se incluyen en parafina, para luego realizar cortes de 4 a 5 micras en el micrótopo y posterior tinción con hematoxilina-eosina. (Anexo 1)

2.1.3. Test de Ureasa

Propósito

Helicobacter pylori posee una ureasa que le capacita para la colonización y persistencia en la cavidad gástrica. Se localiza tanto en la membrana externa como en el espacio periplasmático y está compuesta por complejos de una estructura hexamérica. Se ha comprobado que mutantes isogénicos carentes de la enzima son incapaces de colonizar animales de experimentación. La potencia de la ureasa es muy superior a la de otras bacterias, incluida *Proteus spp.* La enzima cumple tres funciones principales: protección frente al ácido de la mucosa gástrica, provisión de nitrógeno en forma de amonio y factor de virulencia en la patogenia de la úlcera gástrica.

El fundamento de la prueba rápida de la ureasa consiste en detectar la presencia de la enzima de la siguiente forma: *Helicobacter pylori* descompone la urea en anhídrido carbónico y amoniaco, lo cual genera un pH básico que va a ponerse en evidencia mediante el cambio de color del medio de naranja-amarillo a rosa fuerte debido a la acción del indicador de pH.⁵

2.1.4. Cultivo en agar Christensen

Agar Christensen

En el medio de cultivo, la tripteína y la glucosa, aportan los nutrientes para el desarrollo de los microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el rojo de fenol es el indicador de pH. El agar es el agente solidificante.

Las bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberan amoniaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan

el medio de cultivo haciendo virar el indicador rojo de fenol del color amarillo a rojo.

Es recomendado especialmente para la detección de la actividad ureásica en bacterias que hidrolizan lentamente la urea ya que la fermentación de la glucosa presente activa la enzima ureasa microbiana.¹⁵

La muestra para el cultivo se puede realizar directamente de la biopsia gástrica, obtenida mediante endoscopia digestiva. Se recomiendan dos biopsias, una de cuerpo y otra de antro para el diagnóstico. Las muestras pueden ser inoculadas en la misma sala de endoscopias por lo que no necesitan ningún medio de transporte.

El aislamiento mediante cultivo de *Helicobacter pylori* es sin duda el método más específico en el diagnóstico del microorganismo.⁵

La siembra se realiza mediante la inoculación de las muestras de antro y cuerpo en un tubo con urea de Christensen en la superficie del medio.¹⁵

2.2. Antecedentes de la investigación

Calle & Galindo el 2012, realizaron la validación del test de ureasa hecha en su laboratorio para diagnóstico de *Helicobacter pylori*, en comparación con el CLOtest y en referencia a la histología, en muestras de pacientes provenientes del Centro de Enfermedades Digestivas de la clínica España. Se incluyeron 105 pacientes con sintomatología digestiva e indicación endoscópica, en los cuales se compararon parámetros de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, valor global y categorización errónea. Los resultados proporcionaron datos similares entre el test de laboratorio y el CLOtest, ambas en referencia a la histología.¹⁶

Parejo y col en 1998, compararon cinco métodos de diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en el niño. En biopsias endoscópicas

tomadas de antro gástrico se realizó la prueba rápida de la ureasa, examen histológico y cultivo microbiológico. Para detectar IgG específica anti-*Helicobacter pylori* se usó un ELISA. En 58 pacientes se realizó la prueba del aliento con urea C¹³. Se concluyó que la prueba de aliento con urea es un método no agresivo que en la muestra estudiada ha demostrado una elevada sensibilidad y especificidad en el diagnóstico inicial de la infección por *Helicobacter pylori*; estas características la convierten en el método ideal para seleccionar los candidatos a endoscopia oral y en el estudio post tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*.¹⁷

Gonzales-Carbajal & Martínez en el 2008, en el Instituto cubano de Gastroenterología, realizaron un estudio para diagnosticar infección por *Helicobacter pylori* mediante histología y el test de ureasa y determinar la localización gástrica más frecuente de la infección. La infección por *Helicobacter pylori* pudo diagnosticarse utilizando el método histológico con una frecuencia similar desde el punto de vista estadístico en los siguientes sitios: cara posterior del fundus (67.14%), cara anterior del cuerpo gástrico (74.29%), curvatura menor del antro (77.14%), cara anterior del antro (68.57%) y cara posterior del antro (70.0%). La prevalencia general de la infección en el grupo estudiado fue de 95.7%. Entre los métodos invasivos de diagnóstico del *Helicobacter pylori* figuran en un lugar destacado el método histológico y el test de ureasa. Se ha asumido que la zona donde con más frecuencia suelen colonizar las bacterias es el antro gástrico, de manera específica en la zona anatómica correspondiente a curvatura menor del antro. Así como que existe similitud en los resultados entre la histología y el test de ureasa.¹⁴

Moncayo & Santacruz en el 2006, compararon el índice del desempeño de los métodos de diagnóstico de rutina y la Reacción en cadena de la polimerasa para establecer la prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en Quindío, Colombia. La identificación por histología demostró tener diferencias significativas frente a los otros métodos, sin embargo, todos los métodos de diagnóstico tienen desempeño bastante similar. Por ello, no se

descalifica ningún método, pero si se recomienda el histológico, por un estrecho margen.¹⁹

Bravo & Guzmán en el 2011, en Lima-Perú, publicaron un estudio en el que se busca la utilidad del test rápido de ureasa en la detección de *Helicobacter pylori* en la hemorragia digestiva alta por úlcera péptica, en la que se incluyeron 93 pacientes siendo la principal etiología la úlcera gástrica. Se diagnosticó *Helicobacter pylori* en 48 pacientes según la histología y 55 pacientes tuvieron resultado positivo según el test rápido de ureasa la sensibilidad y especificidad calculada para el test rápido de ureasa fueron de 89.6% (IC 77.3-96.5) y 73.3% (IC 58.0-85.4) respectivamente. Consensando que el test rápido de ureasa tiene una alta sensibilidad para la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes con hemorragia digestiva alta por enfermedad ulcerosa péptica.²⁰

Trujillo el 2015, estudió el valor predictivo del test rápido de ureasa para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* comparado con la biopsia gástrica. En su estudio el valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, la sensibilidad y especificidad, fueron altos comparadas con el patrón de oro, el estudio histopatológico. Los resultados falsos negativos son más frecuentes que los falsos positivos y por lo tanto un resultado negativo no debe utilizarse para excluir la existencia de *Helicobacter pylori*.²¹

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio

Estudio de tipo observacional, descriptivo, cuantitativo de corte transversal.

3.2. Población

Las biopsias recolectadas en el servicio de Gastroenterología del Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta en el periodo que dura el estudio Agosto – Diciembre, 2016.

3.3. Muestra

Se obtuvo una muestra de 50 biopsias entre muestras de antro y cuerpo mediante un muestreo No probabilístico o dirigido, que cumplieron los criterios de inclusión, y provienen de pacientes del servicio de Gastroenterología del Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta.

3.3.1. Criterios de Inclusión

- Biopsias tomadas en el servicio de Gastroenterología debidamente solicitadas y llenada la ficha del paciente, que no tengan más de dos horas de haberse tomado.
- Biopsias que se obtengan de una muestra formalinizada para histología y una sin formol para el test de ureasa.
- Biopsias de las zonas de cuerpo y antro del estómago.

3.3.2. Criterios de Exclusión

- Biopsias que solo se obtenga muestra con formol, sin poder obtener resultados del test de ureasa.
- Biopsias de pacientes que estén recibiendo tratamiento previo contra *Helicobacter pylori*.
- Biopsias gástricas de zonas diferentes al cuerpo y antro.

3.4. Operacionalización de Variables

	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Hallazgo histológico compatible con <i>Helicobacter pylori</i>	El diagnóstico histológico confirmatorio del grado de lesión de la mucosa y permite con alta precisión el diagnóstico de la bacteria, constituyendo una prueba de referencia.	La presencia de la bacteria con la tinción habitual de Hematoxilina Eosina a la Demostración de la presencia del microorganismo mediante los cambios morfológicos de la mucosa gástrica.	Positivo Negativo	Hallazgo microscópico de la bacteria <i>Helicobacter pylori</i> . No hallazgo microscópico de la bacteria <i>Helicobacter pylori</i>	Nominal

<p>Resultado Test de Ureasa con agar Urea de Christensen.</p>	<p><i>Helicobacter pylori</i> posee una ureasa que la faculta para la colonización y persistencia en la cavidad gástrica. El resultado consiste en el cambio de color del medio a causa del indicador. La potente actividad de la ureasa de la bacteria que hidroliza a la úrea agar para formar bicarbonato y amoníaco, elevando el pH, lo cual es detectado por el indicador rojo fenol.</p>	<p>Detectar la presencia de la enzima por una formación de anhídrido carbónico y amoniaco, lo cual genera un pH básico que se pone en evidencia por el viraje de color del medio naranja-amarillo a rosa</p>	<p>Positivo Negativo</p>	<p>Cambio del color del medio a rosa. Color del medio se mantiene.</p>	<p>Nominal</p>
---	--	--	-----------------------------------	---	----------------

3.5. Procedimientos y Técnicas

- Se solicitó permiso al jefe de laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Virgen de la Puerta de Trujillo, para la realización del estudio de investigación.
- Del examen endoscópico se obtuvieron 2 a 3 muestras de las cuales de 1 a 2 fueron del antro y de 1 a 2 del cuerpo, de una a dos biopsias se colocaron en el tubo de agar Christensen y luego se mantuvo a temperatura ambiente dentro de un recipiente, para ser leído a las 24 horas; La otra muestra fue derivada en formol al servicio de anatomía patológica para su procesamiento, que al finalizar fue leído por la patóloga responsable.

A continuación se mencionarán las técnicas a correlacionar:

- **Técnicas**

Se mencionan las dos técnicas a correlacionar:

Examen Histológico de Biopsias Gástricas con Hematoxilina Eosina

En el Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta se hace uso de un equipo de procesamiento de tejidos en el cual está programado la primera inclusión pasando por pasos como: ***deshidratación*** del tejido sumergiéndolo en alcoholes de menor a mayor grado; ***Impregnación por un disolvente*** de la parafina (aclaramiento): las piezas ya deshidratadas se sumergen en disolvente, Xilol. Este es un agente intermediario que permite eliminar el agente deshidratante y a la vez el ingreso de la parafina. ***Penetración de la parafina***: se sumergen las piezas en parafina (56°-58° de punto de fusión), mantenida líquida en la estufa a no más de 62°C.

Todo este proceso está programado para 12 horas luego de las cuales se procede a los siguientes pasos.

- Inclusión definitiva o formación del bloque: Utilizando el equipo de inclusión haciendo uso de moldes de acero para soporte del cassette en la que se vierte la parafina fundida. Colocando las piezas orientadas de manera tal en que se puedan observar

todas las capas del tejido en estudio. A los pocos minutos la parafina solidifica completamente, y podremos retirar los bloques de parafina de dichos moldes.

- **Microtomía:** Permiten obtener cortes delgados, parejos y de espesor graduable, las muestras gástricas se cortan a 3 μm colocándolas en el flotador a una temperatura entre 48°C y 52°C para su extendido completo del tejido y posteriormente fijarlos en la lámina.
- **Coloración:** todos los componentes tisulares tienen el mismo índice de refracción por lo tanto si los observamos al microscopio no podemos definir sus componentes. Como los colorantes habitualmente se usan en soluciones acuosas, y los tejidos están deshidratados requiere colocarlos en pasajes sucesivos de alcohol de mayor a menor concentración (100°, 96°, 80° y 70°) hasta rehidratar los tejidos.
- **Tinción hematoxilina-eosina:**
El método supone la aplicación de la tinción de hematoxilina, que, por ser catiónica o básica, tiñe estructuras ácidas (acidófilas) en tonos azul y púrpura, como por ejemplo los núcleos celulares; y el uso de eosina que tiñe componentes básicos (basófilos) en tonos de color rosa, gracias a su naturaleza aniónica o ácida, como el citoplasma.
- La lectura e interpretación de las láminas histológicas es realizada por la patóloga de la institución en un periodo de 20 días hábiles.

Test de Ureasa con Agar Urea de Christensen

Las muestras de cuerpo y/o antro se colocarán a temperatura ambiente en un tubo con urea de Christensen al 2% y el indicador rojo de fenol. Si la muestra contiene ureasa y por tanto *Helicobacter pylori*, se hidroliza la urea produciendo amonio que aumenta el pH de la solución y el color se modifica. La lectura se debería realizar a los 30, 60 minutos y 24 horas de su extracción. En nuestro caso la lectura se realizó a las 24 horas.

- Los resultados del diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* mediante histología fueron analizados junto a los resultados reportados por el test de ureasa usando agar urea de Christensen.
- Se obtuvieron los datos con los resultados obtenidos de las técnicas para el examen histológico de la biopsia gástrica con coloración de Hematoxilina eosina y el test de ureasa con agar urea de Christensen.

3.6. Plan de Análisis de Datos

Los datos fueron analizados mediante hoja de cálculo Excel 2016. Se determinó frecuencia de detección, correlación de las pruebas, sensibilidad y especificidad.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Resultados

Durante el periodo de tiempo comprendido entre agosto y diciembre del 2016, se realizaron endoscopías en pacientes que cumplían los criterios de inclusión. De los cuales se seleccionaron 50 pacientes, obteniendo entre dos a tres muestras por cada uno, en las cuales se realizaron test de ureasa en agar Christensen y tinción con hematoxilina eosina, obteniéndose los siguientes resultados.

TABLA N°1

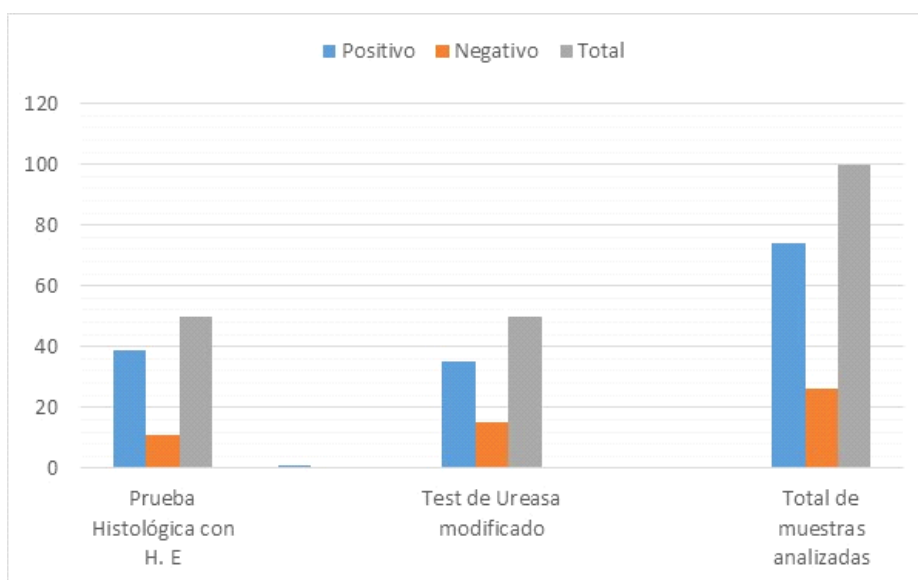
FRECUENCIA DE DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN LAS BIOPSIAS GÁSTRICAS MEDIANTE EL TEST DE UREASA CON AGAR CHRISTENSEN Y LA TINCIÓN HISTOLÓGICA

	Prueba Histológica con H. E		Test de Ureasa		Total de muestras analizadas
	n	%	N	%	
Detección <i>Helicobacter pylori</i>					
Positivo	39	78%	35	70%	37
Negativo	11	22%	15	30%	13
Total	50		50		50

Fuente: Datos del autor

GRÁFICO N°1

FRECUENCIA DE DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN LAS BIOPSIAS GÁSTRICAS MEDIANTE EL TEST DE UREASA CON AGAR CHRISTENSEN Y LA TINCIÓN HISTOLÓGICA



Fuente: Tabla N°1

Elaboración: El autor

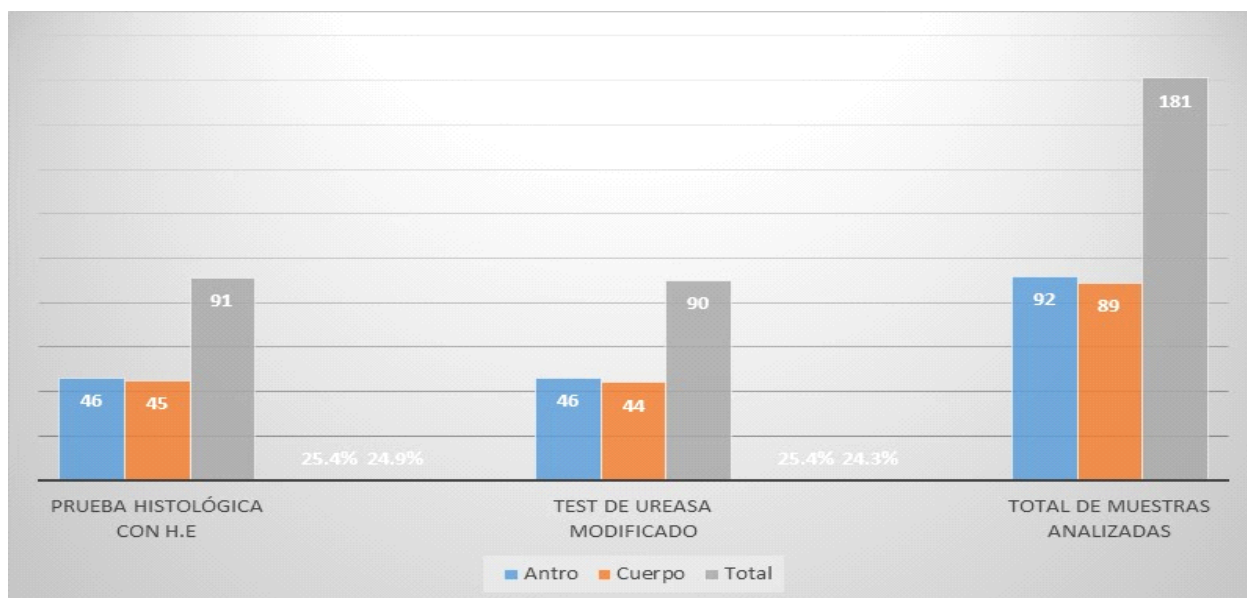
En la tabla N°1 se presenta la frecuencia de detección de *Helicobacter pylori* en las biopsias gástricas mediante Test de Ureasa con Agar Urea de Christensen, así como mediante la tinción histológica. Se muestra que de un total de 50 pacientes el 78% resultó positivo y el 22% negativo para la prueba histológica y con respecto al test de ureasa usando agar Christensen mostro positividad para el 70% de muestras y la diferencia de 30% fueron negativos. Evidenciando que la detección de *Helicobacter pylori* tiene mayor positividad cuando se hace por la metodología del estudio histológico que con el método del test de ureasa con agar urea Christensen en un promedio de 8%.

TABLA N°2
FRECUENCIA DE DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN LAS BIOPSIAS
GÁSTRICAS ZONA ANALIZADA HOSPITAL DE ALTA COMPLEJIDAD
VIRGEN DE LA PUERTA - 2016

Zona del estómago	Prueba Histológica con H.E		Test de Ureasa modificado		Total de muestras analizadas
	n	%	n	%	
Antro	46	25.4%	46	25.4%	92
Cuerpo	45	24.9%	44	24.3%	89
Total	91		90		181

Fuente: Datos del autor

GRÁFICO N°2
FRECUENCIA DE DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN LAS BIOPSIAS
GÁSTRICAS SEGÚN ZONA ANALIZADA HOSPITAL DE ALTA
COMPLEJIDAD VIRGEN DE LA PUERTA - 2016



Fuente: Tabla N°2

Elaboración: El autor

TABLA N°3

CORRELACION ENTRE EL TEST DE UREASA CON AGAR UREA DE CHRISTENSEN Y EL EXAMEN HISTOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN BIOPSIAS GÁTRICAS

Tinción Hematoxilina - Eosina/Test de ureasa con agar urea de Christensen					
			Test de ureasa		Total
			Positivo	Negativo	
Tinción H/E	Positivo	Recuento	35	4	39
		% dentro de tinción H/E	70%	8%	78%
	Negativo	Recuento	0	11	11
			0%	22%	22%
Total		Recuento	35	15	50
		% dentro de tinción H/E	70%	30%	100%

Fuente: Resultados del autor

De los 50 test de ureasa con agar Christensen, se encontraron cero resultados falsos negativos y cuatro resultados falso positivo los otros 46 test se correlacionaron adecuadamente con la coloración de Hematoxilina-Eosina, de los cuales 35 pacientes fueron positivos y 11 negativos. Utilizando el estudio de anatomía patológica con tinción hematoxilina – eosina se determinó una sensibilidad del 89.7% y una especificidad del 100% para el test rápido de ureasa en la detección de la infección por *Helicobacter pylori*.

TABLA N°4

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL TEST DE UREASA CON AGAR UREA DE CHRISTENSEN

	EXAMEN HISTOLÓGICO		
TEST DE UREASA CON AGAR UREA DE CHRISTENSEN	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
	POSITIVO	35 70%	0 0%
NEGATIVO	4 8%	11 22%	15 30%
TOTAL	39 78%	11 22%	50 100%

Sensibilidad (S): La sensibilidad se obtendrá de la siguiente ecuación.

$$S = \frac{A}{A + C} \times 100$$

Especificidad (E): La especificidad se obtendrá de la siguiente ecuación:

$$E = \frac{D}{B + D} \times 100$$

Se procedió a realizar una tabla de contingencia de 2 x 2 para determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba rápida en mención. Tomando como prueba de referencia el examen histológico, hallándose una sensibilidad de 89.7% y una especificidad de 100%, de esta manera se puede demostrar que la correlación entre estas dos pruebas está bien fundamentada y se corrobora con los resultados de estudios realizados a nivel nacional e internacional.

4.2. Discusión de resultados

Tanto el test de ureasa con agar urea de Christensen como el estudio histológico han demostrado un 100% de sensibilidad, lo que nos indica un alto valor predictivo de ambos métodos, con ello podemos, recomendar se autorice el comienzo de un tratamiento erradicador.

Se dispone de una serie de métodos para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* distinguiéndose entre invasivos y no invasivos, con altas tasas de precisión diagnóstica; sin embargo no existe uno que pueda ser considerado como ideal y que se adapte a las diferentes situaciones clínicas. También juega un papel importante la accesibilidad a dichos métodos y los resultados dependen mucho del momento en el que se soliciten estas pruebas. Éstas razones nos limitan al momento de elegir sobre que método utilizar y en consideración de diferentes estudios la recomendación sería el uso de dos métodos diagnósticos como lo sugiere Moncayo & Santa Cruz en el 2006 en su estudio donde recomienda la prueba de ureasa sin embargo se considera para diagnóstico definitivo el estudio histológico.¹⁹

Existen varios estudios que han demostrado la alta especificidad del test de ureasa y en base a ello el presente trabajo pretende demostrar que los resultados no difieren de los estudios que se han realizado no solo en nuestro país sino en el mundo.

Parejo & Olivares en 1998¹⁷ estudiaron cinco métodos de diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* en el niño, concluyendo que la prueba de aliento con urea es un método no agresivo que en la muestra estudiada ha demostrado una elevada sensibilidad y especificidad en el diagnóstico inicial de la infección por *Helicobacter pylori*.

Gonzales-Carbajal & Martínez en el 2008¹⁴, en el Instituto cubano de Gastroenterología, realizaron un estudio para diagnosticar infección por *Helicobacter pylori* mediante histología y el test de ureasa y determinar la

localización gástrica más frecuente de la infección. Encontrándose que el método histológico tuvo una frecuencia similar al test de ureasa. Se supone que la zona donde con más frecuencia suelen colonizar las bacterias es el antro gástrico, de manera específica en la zona anatómica correspondiente a curvatura menor del antro.¹⁴

En este estudio se recibieron muestras gástricas tanto de las zonas de cuerpo y antro, estudios analizados han demostrado que la zona que ha mostrado más resultados positivos es el antro, esto no ha sido diferente en nuestro estudio y por lo tanto se ha ratificado que la zona idónea con la cual se debe realizar el análisis es el antro.

Calle & Galindo en el 2012¹⁶ en su estudio acerca de la validación de un test de ureasa de laboratorio y uno comercial da cuenta de la gran diferencia de costos entre estos dos test, además dan cuenta de resultados similares entre el CLOtest y el test de su laboratorio frente a la histología.

Este estudio, determinó la correlación del test de ureasa con agar Christensen y la histología, obteniéndose resultados similares, es posible que con la histología se logren resultados más específicos, sin embargo el tiempo de espera de resultados es muy extenso en comparación del proceso que compete el test de ureasa con agar Christensen, se debería buscar un mecanismo en el que se tome en cuenta el valor diagnóstico del test de ureasa y considerar una confirmación con la histología.

Los resultados de nuestro estudio demuestran que la correlación encontrada es elevada, lo que nos lleva a aseverar que el valor diagnóstico del test de ureasa usando agar urea Christensen es de gran utilidad y podría tomarse como alternativa en la práctica médica. Sin embargo, así como todo procedimiento, dependerá en gran medida de la pericia del analista. Respecto a la histología ésta es considerada como método "Gold estándar" y ofrece mejoras porque además del diagnóstico de *Helicobacter pylori* nos proporciona información del estado de la mucosa gástrica que podría ser útiles para el diagnóstico o seguimiento de otras patologías.

4.3. Conclusiones

- La correlación entre el test rápido de ureasa con agar Christensen y la histología es adecuada de acuerdo a los resultados que se obtuvieron.
- El diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* mediante test de ureasa es significativo (70%).
- El Test rápido de ureasa es de fácil accesibilidad, con un resultado rápido lo que permite la emisión de un resultado oportuno.
- Los hallazgos histológicos en infecciones por *Helicobacter pylori* son semejantes en antro y cuerpo.
- El test rápido de ureasa con agar Christensen es altamente sensible (89.7%) y específico (100%).

4.4. Recomendaciones

- El test de ureasa con agar urea de Christensen es una prueba rápida, barata y sencilla que debería ser utilizada con frecuencia en la práctica clínica.
- En este estudio, los resultados han coincidido con otros, por lo cual el test de ureasa con agar urea de Christensen usado, podría ser aplicado en instituciones como parte del protocolo durante la realización de una endoscopia.
- Se recomienda la socialización de la realización del test rápido de ureasa con agar Christensen a los establecimientos de salud en los que no se haya implementado el laboratorio de anatomía patológica de manera eficiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alba R., Toledo R., Viana M. *Helicobacter pylori*: Clínica, Diagnóstico y Tratamiento. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina 2006; 9-12.
2. Gisbert J. Infección por *Helicobacter pylori*. Servicio del Aparato Digestivo. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid; 19: 281- 290.
3. Boixeda de Miguel D., Martín de Argila C. Tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud 2000; 24: 141 – 146.
4. Gamboa J. Infección por *Helicobacter pylori* y enfermedad ulcerosa péptica. Universidad Diagnóstica 2003; 3(1): 20 – 4.
5. Alarcón T., Baquero M., Domingo D. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2004; 17.
6. Magalhaes D., Saito M., Aguilar G. *Helicobacter pylori* Infection in Infants and Toddlers in South America: Concordance between [¹³C] Urea Breath Test and Monoclonal *Helicobacter pylori* Stool Antigen Test. Journal of Clinical Microbiology 2013; 51 (11): 3735 – 3740.
7. Bezmin A., Yeong Ye L. *Helicobacter pylori vacA* as marker for gastric cancer and gastroduodenal diseases: one but not the only factor. Journal of Clinical Microbiology 2014; 52 (12): 4451.
8. Memon A., Hussein N., Miendje V. Vacuolating cytotoxin genotypes are strong markers of gastric cancer and duodenal ulcer-associated *Helicobacter pylori* strains: a matched case-control study. Journal of Clinical Microbiology 2014; 52 (8): 2984 – 2989.
9. Prochazka R., Salazar F., Barriga E. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en una clínica privada de Lima. Sensibilidad de las biopsias del antro y el cuerpo, y la prueba rápida de ureasa. Revista de Gastroenterología del Perú 2010; 30: 1 -10.
10. Ramírez A., Mendoza D., Leey J. Estudio del *Helicobacter pylori* en el Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 2002; 19 (4): 209 – 214.
11. Castro-Fernández M., Sánchez-Muñoz E., García-Díaz E. Diagnóstico mediante endoscopia de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes

- con úlcera gastroduodenal y hemorragia digestiva: test rápido de ureasa e histología. Revista española de Enfermedades Digestivas. 2004; 96 (6): 1 – 5.
12. Ruiz R., Huanca A. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudio de factores de riesgo asociados. Revista Médica La Paz 2013; 19 (1): 1 – 6.
 13. Añez M., Romero G., Lizarzabal M. Sensibilidad y especificidad de las pruebas de ureasa (CLOTTEST), Histología de mucosa gástrica, serología, cultivo y PCR en la identificación del *Helicobacter pylori*. Revista de la Sociedad Venezolana de gastroenterología 2006; 60 (2): 96 – 104.
 14. Gonzales-Carbajal M., Martínez L. Diagnóstico mediante histología y test de ureasa de la infección por *Helicobacter pylori* en el Instituto Cubano de Gastroenterología. Revista Panamericana de Infectología 2009; 11(1):7-10.
 15. Manual de Procedimientos de Anatomía Patológica del Hospital de Alta Complejidad “Virgen de la Puerta” – 2015.
 16. Calle G., Galindo T. Validación de un test de Ureasa para diagnóstico de *Helicobacter Pylori* (H.P), en comparación con el Clotest y en referencia a la Histología. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas, España 2012. 8(2): 15-26.
 17. Parejo R., Olivares F. Análisis comparativo de los métodos diagnósticos de la infección por *Helicobacter pylori* en el niño. Revista de la Universidad de Alcalá de Henares, Madrid 1998. 49(3).
 18. Gonzáles-Carbajal M., Martínez L. *Helicobacter pylori* en la patología gastroduodenal: una puesta al día. Revista Panamericana de Infectología 2008; 15(1):19-26.
 19. Moncayo J., Santacruz J., Álvarez A. Comparación de métodos diagnósticos en la infección por *Helicobacter pylori* en Quindío, Colombia. Corporación Editora Médica del Valle Colombia 2006. 37(3).
 20. Bravo E., Guzmán P., Gallegos R. Utilidad del Test Rápido de Ureasa para la detección de *Helicobacter pylori* en la hemorragia digestiva alta por úlcera péptica. Revista de Gastroenterología del Perú 2011. 31(1): 1022-5129.

21. Trujillo J. Test de ureasa y biopsia para identificación de *Helicobacter pylori* Clínica Ortega Huancayo 2015 (Tesis para optar el título de especialista en Gastroenterología). Lima (Perú): Universidad de San Martín de Porres; 2015. 83p.

ANEXOS

Anexo N°1: Técnica histológica

1. Deshidratación, aclaramiento e inclusión

a. Manejo automático de los tejidos

En la actualidad el proceso de deshidratación, aclaramiento, y la preparación para la inclusión de los tejidos se llevan a cabo con alguno de los aparatos automáticos de que se dispone en el mercado. Se trata en general de un huso central giratorio que lleva en el extremo del brazo horizontal una canastilla. Un sistema de relojería eléctrica hace girar una tarjeta circular con muescas, en cuya circunferencia se desliza un "diente" equilibrado por un resorte. El número de muescas o perforaciones es de acuerdo con el esquema de tiempo deseado: Cuando el diente cae dentro de una muesca echa a andar un motor que eleva el huso central, el cual por efecto de un tomillo fijo gira automáticamente y la canastilla baja en la solución.

Un pequeño movimiento vertical repetido del brazo lateral que eleva la canastilla agita continuamente que ésta dentro de la solución. Finalmente, dos recipientes o vasos metálicos contienen la parafina que se mantiene a una temperatura constante, de aproximadamente 56° C, por efecto de termostatos que es controlado digitalmente.



b. Esquemas de tiempo para la deshidratación, aclaramiento e inclusión en parafina

El tejido (biopsia o pieza quirúrgica) a ser procesado es descrito en sus características macroscópicas por el médico patólogo, luego de lo cual procede a tomar cortes representativos de la lesión y lo introduce en cápsulas o canastillas metálicas para que a continuación sea sometido al proceso de deshidratación, aclaramiento e inclusión.

Podemos dar el siguiente ejemplo de un esquema de 13 horas automatizado:

Alcohol etílico 96° durante 1 hora 4 veces

Alcohol etílico absoluto durante 1 hora 3 veces

Xilol o Neo-Clear durante 1 hora 3 veces

Parafina 1 hora

Parafina 2 horas

Este procesamiento de tejidos también se puede realizar en forma manual. Un esquema acortado que nos da resultados aceptables en el método manual es:

Alcohol etílico 96° durante 45 a 60 minutos 3 veces

Alcohol etílico absoluto durante 45 a 60 minutos 3 veces

Xilol o Neo-Clear durante 45 a 60 minutos 2 veces

Parafina durante 45 a 60 minutos 2 veces

En el tercer alcohol absoluto se puede interrumpir el procedimiento y dejar los tejidos en él hasta el día siguiente. Los resultados con el método manual no son tan óptimos como con el equipo automatizado, sobre todo por la falta del movimiento vertical que agita continuamente las sustancias químicas y los tejidos. Pero realizando secciones finas de los tejidos, y procesando pocos tejidos por vez (ejemplo 4 secciones de 2x 1 cm en un frasco con 100 mL de alcohol), se puede parcialmente subsanar la falta de un equipo automatizado.

c. Deshidratación

- Los tejidos contienen grandes cantidades de agua que debe ser eliminada y reemplazada por parafina. Este proceso se denomina deshidratación siendo el mejor agente para ello el alcohol etílico.
- La deshidratación se logra mejor utilizando alcoholes de menor a mayor concentración. No es aconsejable el paso directo del tejido del formol al alcohol concentrado ya que provoca distorsión del tejido.

- Los alcoholes deben ser renovados dependiendo de la frecuencia de uso y de la cantidad de tejidos introducidos en ellos; se descarta el primer recipiente de alcohol y el segundo queda como primero; en el último se coloca de nuevo alcohol absoluto.
- El volumen de alcohol debe ser aproximadamente 10 veces el volumen del tejido a deshidratar.

d. Aclaramiento (desalcoholización)

Permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina con la cual el tejido va a ser impregnado. Además, muchas de estas sustancias tienen la propiedad de volver transparentes a los tejidos. También se utiliza para la desalcoholización de los cortes teñidos, antes de montarlos en Mercoglass o Bálsamo de Canadá u otro.

- El solvente de parafina más usado es el Xilol.
- El volumen mínimo debe ser 10 veces el volumen del tejido.
- Nunca debe dejarse los tejidos en Xilol más de 3 horas; si no es difícil hacer los cortes.
- Cuando la deshidratación no es completa, el xilol toma un aspecto lechoso cuando se le añade el tejido.
- Otros agentes aclarantes son: Tolueno, Cloroformo, Aceite de cedro, entre otros.

e. Inclusión

Comprende la impregnación de los tejidos con un medio que llene todas las cavidades naturales, y que proporcione la consistencia firme necesaria para hacer cortes bien delgados sin provocar distorsión.

- La inclusión en parafina es la más usada y más simple.
- Un sustituto de la parafina es el Paraplast® (combinación de parafina con polímeros plásticos).
- El volumen del medio de impregnación debe ser aproximadamente 25 veces mayor que el volumen del tejido.

e.1. Moldes para Bloques

Son de varios tipos:

- "L" de inclusión: Consiste en dos piezas en forma de L de material pesado tipo bronce, que descansan sobre una base metálica plana.
- Moldes plásticos para inclusión: Consiste en una base de plástico o de acero inoxidable dentro de la cual se incluye la pieza tisular. Luego se pone encima un molde de plástico que se llena de parafina, dándole mayor soporte al bloque.
- Centro de Inclusión: Son unidades multifuncionales usualmente equipadas con dispensador de parafina, porta especímenes, platillo caliente para orientar el espécimen en la parafina derretida y platillo frío para transformar la parafina en un bloque sólido después que el espécimen ha sido orientado.

e.2 Técnica

- Se recomienda un punto de fusión para la parafina entre 54 y 58° C.
- Mantener la parafina líquida en el recipiente final de parafina del procesador automático, el cual se pasa a la mesa de trabajo.
- Se coge una cápsula metálica que contiene el tejido procesado. Se extrae el tejido de la

cápsula y se coloca en el molde para hacer bloques llenos con parafina derretida. La cara del tejido donde se quieren hacer los cortes se coloca hacia abajo, y los tejidos deben orientarse cuidadosamente para que el plano de corte sea el deseado.

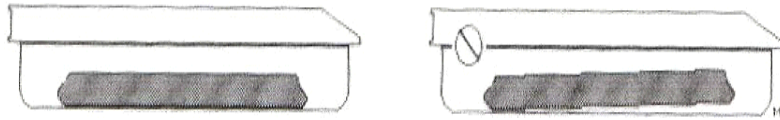
- Una vez que los tejidos han sido incluidos así, y en cuanto la parafina se solidificó en parte, los moldes se colocan en un recipiente con hielo por 30 minutos, lo cual reduce la tendencia de algunas parafinas a cristalizarse y permite obtener bloques de consistencia firme y uniforme.
- Retirar el molde, quedando el bloque de tejido parafinado listo para cortar.

e.3. Orientación del Espécimen

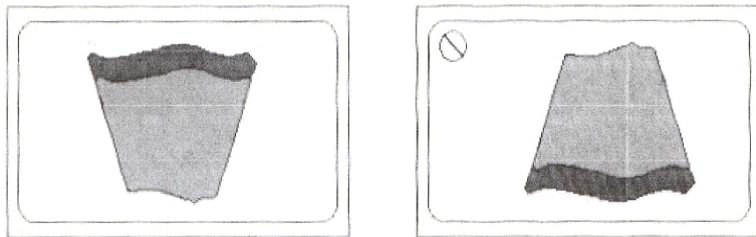
El técnico debe revisar minuciosamente cada uno de los fragmentos de tejido, analizar su estructura y decidir cómo colocar el tejido en el bloque. Es, por tanto, necesario tener un conocimiento básico de la estructura tisular macroscópica y anatomía, se recomienda siempre la comunicación con el patólogo.

- **Consideraciones generales**

Las secciones de tejido son incluidas perfectamente planas para asegurarse de que se obtenga una sección completa. Se debe usar la presión justa para mantener la sección plana contra la superficie del molde. Debe tenerse mucho cuidado para que después no aparezcan artefactos causados por un manejo inadecuado de las muestras de tejido.

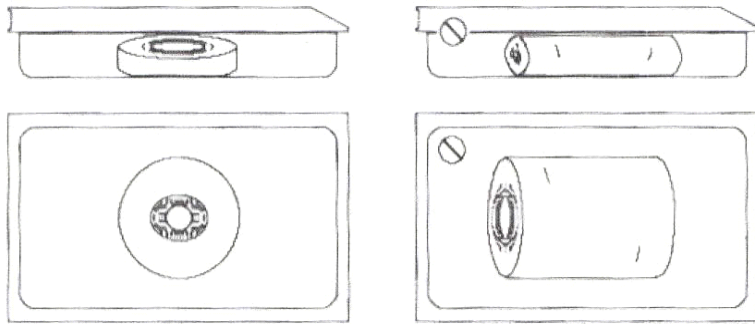


La orientación debe ser tal que la resistencia que el tejido ofrece a la cuchilla vaya de un grado menor a uno mayor a medida que se vaya cortando el bloque. Esto hace que los tejidos más duros no compriman los tejidos más blandos evitando por lo tanto secciones irregulares. Debe tener un margen adecuado (2 mm mínimo) de medio de inclusión rodeando el tejido por todos lados para que el apoyo al cortar sea el máximo posible.



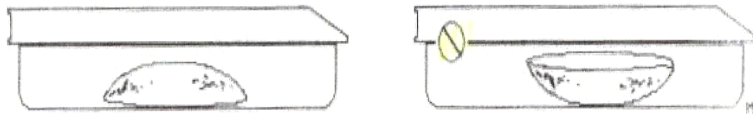
- **Estructuras tubulares.**

Estructuras tubulares tales como vaso deferente, venas, arterias y oviducto deben ser incluidas en una forma tal que la cuchilla corte a través de la luz tubular. La orientación debería ser tan vertical como sea posible. La cuchilla, entonces, deberá hacer los cortes en una forma que sea perpendicular al eje longitudinal del tubo.



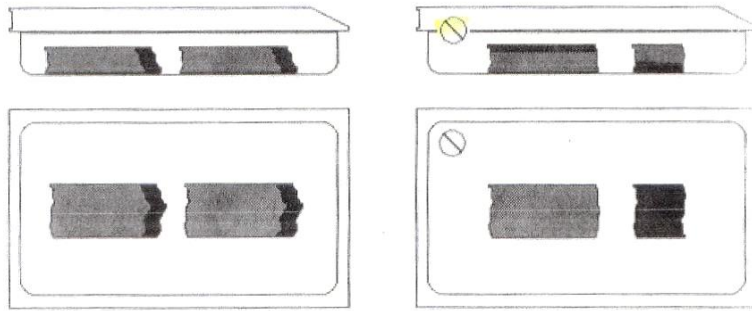
- **Estructuras quísticas.**

Después de la disección, los quistes pequeños adoptan una forma de cúpula. Por lo tanto, los quistes deben ser incluidos con la superficie de corte hacia abajo para que así la cuchilla corte a través de todas las capas de la pared del quiste. Hay que asegurarse de que la cúpula no atrape burbujas de aire.

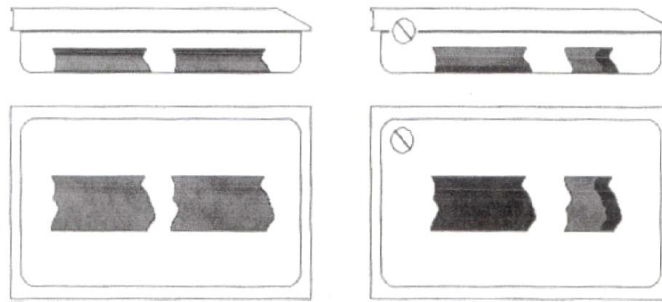


- **Identificación de márgenes y superficies.**

Los tejidos que tienen los márgenes marcados con tinta china o con colorante deben ser colocados en una forma tal que la tinta se pueda ver en el borde de la sección. Si hay secciones múltiples, estas deben ser incluidas con la tinta siempre mirando hacia el mismo lado del bloque para que las láminas queden mejor organizadas y para facilitar su estudio bajo el microscopio.

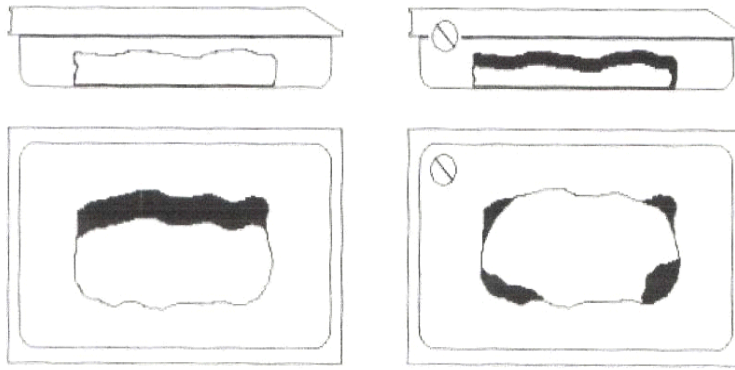


La superficie que haya sido marcada con tinta china es la que debe ser incluida en forma opuesta a la superficie que se va a cortar con la cuchilla. La tinta, entonces, no se va a ver en las secciones.

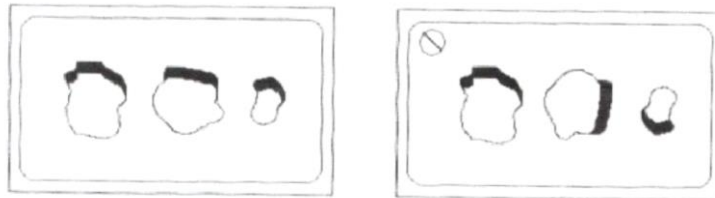


- **Superficies epiteliales.**

Aquellos tejidos que tienen una superficie epitelial, como la piel, el intestino, la vesícula biliar, la vejiga urinaria y el útero, deben ser colocados en forma tal que el plano de sección pase a través de todas las capas del tejido. La superficie epitelial debe colocarse en la parte más alta del bloque para que así sea la última en ser cortada. El acto de llegar al epitelio al final de la moción de corte va a minimizar la presión que es causa de distorsión de la capa epitelial. El cortar de último la capa de queratina reduce la compresión, los rasguños y las cortadas de las capas subcutáneas.



Los especímenes, cuando son múltiples, deben ser incluidos uno junto al otro con sus superficies epiteliales orientadas en la misma dirección.

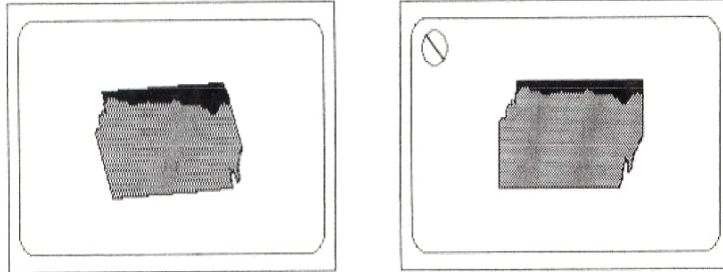


Puede ser difícil el identificar la superficie epitelial cuando las biopsias de tejido son muy pequeñas. Nosotros añadimos 5 ml de solución matriz de eosina alcohólica a la segunda de tres soluciones de alcohol al 100 % en nuestro procesador de tejidos para teñir las capas tisulares de un modo tal que las superficies epiteliales sean más fáciles de identificar. La eosina se lava de las secciones de tejido durante la fase de rehidratación sin que esto interfiera con el resto del proceso de tinción.

- **Especímenes grandes y sólidos.**

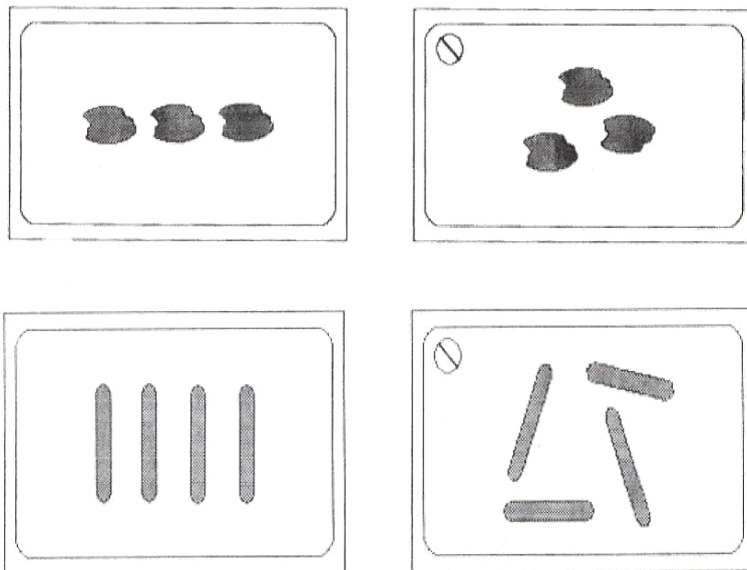
Los especímenes rectangulares grandes o sólidos como el útero, la próstata, la glándula tiroides, y el tejido óseo deben ser incluidos con un ligero ángulo en relación con el borde de la cuchilla. Esta comienza

el corte con menos resistencia, reduciendo así la posibilidad de desplazar el tejido fuera del bloque. La vibración e inestabilidad del borde de la cuchilla o del bloque también se minimizan notablemente.



- **Múltiples especímenes.**

Múltiples fragmentos de tejidos blandos y ganglios linfáticos deben ser colocados uno junto al otro con suficiente espacio entre ellos. Si los tejidos se colocan uno encima del otro, existe la posibilidad de que el tejido de abajo distorsione el tejido que está encima. La organización metódica de los tejidos hace que la lámina sea más fácil de estudiar y que se vea más profesional que si los fragmentos se incluyen en desorden.



Los tejidos rectangulares pequeños deben ser orientados con su eje longitudinal y la distorsión causados por presión.

e.4. Inclusión rápida.

El proceso de inclusión en parafina de una forma rápida debe ser realizado intentando recortar o reducir la duración de las distintas fases del proceso de inclusión.

Las piezas para este fin tienen 3 mm de espesor, con este procedimiento se obtienen preparaciones de calidad suficientemente buena para una buena orientación.

e.5. Incidentes más comunes en el proceso de inclusión.

La pieza tiende a agrietarse y desengastarse del bloque.

Ocurre como consecuencia de:

- La pieza ha sido mal deshidratada o deshidratada muy rápidamente.
- La parafina estaba demasiado fría en el momento de la inclusión.
- La parafina del bloque se ha enfriado demasiado lentamente.

Solución:

- Rectificar los tiempos de deshidratación y aclaramiento.
- Comprobar temperatura de la parafina durante la inclusión.
- Proceder a un enfriamiento de la parafina más rápido.

Los bloques son friables, granulados y sembrados de manchas blancuzcas.

Ocurre como consecuencia de:

- Parafina es de mala calidad.
- La parafina ha sido utilizada muchas veces antes.
- Mezcla no homogénea de varias parafinas.
- Presencia de vapores de formol en el dispensador.

Solución:

- Rechazar esta parafina y realizar la inclusión en otra nueva.

Pasadas algunas semanas los bloques se incurvan y se agrietan.

Ocurre como consecuencia de:

- El Alcohol y/o el Xilol utilizados en la deshidratación y aclaración eran de mala calidad, estaban contaminados o quizás estropeados.

Solución:

- En estos casos la pieza está generalmente perdida, no obstante intentar realizar una nueva inclusión.

2. Cortes de tejidos

- **Cuchillas de micrótomos**

La selección de la cuchilla de micrótopo (de acero inoxidable, diamante, vidrio, o cuchilla descartable) depende de la estructura del espécimen a ser seccionado y el medio usado para la inclusión.

Cuchillas de acero inoxidable: Para cortar parafina. La longitud de las cuchillas varía de 110 mm a 250 mm

Descartables: Excelentes para cortes en parafina. Existen disponibles en diversos tamaños y grosores. El porta cuchillas descartables debe mantenerse limpio y bien lubricado, para que la cuchilla esté segura.

Diamante o vidrio: Para especímenes incluidos en resinas, pues tienen filos más gruesos.

- **Micrótomos**

- **Tipos de micrótomos**

- Rotatorio: El más usado, donde el bloque se mueve. La cuchilla se ubica con el filo hacia arriba.

- De deslizamiento: La cuchilla es la que se mueve, es particularmente útil cuando se seccionan grandes bloques (ejemplo: cortes de pulmón entero).

- **Grosor del corte**

- El grosor ideal es de 3 a 4 micras. Esto reduce la superposición de núcleos.

- **Orientación del bloque**

- Debe ser correctamente ubicado en el micrótomo, para obtener preparaciones de la superficie entera, libre de líneas, pliegues, o distorsión celular.

- **Sección del bloque**

- Antes de seccionar el bloque, examinarlo y establecer cómo debe ser colocado en el sujetador de bloque del micrótomo. Una vez que el bloque está seguro en el sujetador, iniciar el corte grueso, avanzando repetidamente el bloque manualmente obteniendo cortes, detenerse cuando la superficie del bloque entera es expuesta. Enfriar la cuchilla y el bloque brevemente con un cubo de hielo.

- Luego se procede a hacer cortes finos sucesivos que forman una "cinta" de tejido, para lo cual la manija debe ponerse a velocidad lenta. Colocar el corte fino en la superficie del baño de flotación.

- **Flotación**

- El baño de flotación debe ser calentado a pocos grados bajo el punto de fusión de la parafina. El uso de agua destilada en el baño ayuda a eliminar burbujas (puede usarse agua de caño).

- La cinta de tejido es puesta gradualmente en el baño de flotación para eliminar arrugas y aire atrapado. Los cortes

son luego puestos en láminas limpias ya rotuladas con el código del tejido.

Son secadas verticalmente en el secador de láminas a temperatura de 37 a 40° C de un día para otro o a 58°C en estufa por 20 a 30 minutos.

-Adhesivos para tejidos

El adhesivo más usado es la gelatina. También se utiliza albúmina bovina. Se coloca una capa de albúmina sobre la lámina en que se recoge el tejido del baño de flotación.

-Preparación de agua de caño para el baño de flotación:

Ácido clorhídrico al 1%..... 20,0 mL
Agua de caño..... 4000,0 mL

Agregar lentamente ácido al agua. Llevar la solución a ebullición. Enfriar y agregar al baño de flotación conforme se necesite. El hervido remueve el CO₂ del agua, reduciendo la formación de burbujas de aire. El ácido clorhídrico al 1% previene la precipitación de sales minerales que ocurre luego que el CO₂ ha hervido.





- **Dificultades en la realización de los cortes**

- **-Dificultades que provienen de mala fijación**

Bloques blandos que al cortarse pueden quebrarse, por fijación incompleta.

Bloques duros, que pueden hacer vibrar la cuchilla, produciendo en el corte líneas paralelas al filo de la cuchilla, o dando cortes alternativamente gruesos y finos. Esto por fijación prolongada en fijadores como Zenker o Boquín.

- **-Dificultades que provienen de defectuosa deshidratación, aclaramiento o inclusión**

Si el tejido ha sido insuficientemente deshidratado, el aclarador se vuelve lechoso. El aclaramiento y la impregnación con parafina no pueden completarse, resultando un bloque blando. Si esto ocurre se puede remediar volviendo a tratar el tejido con alcohol absoluto.

El aclaramiento insuficiente hace que el tejido aparezca opaco o nebuloso, haciendo muy difícil el corte. Si el tejido ya ha sido incluido en bloques, estos deben ser regresados al baño de parafina hasta que se fundan completamente y pueda regresarse al aclarador para continuar el proceso.

La impregnación insuficiente puede producir un bloque "húmedo" que tiende a desmoronarse. La impregnación prolongada endurece demasiado el tejido y lo encoge más.

-Dificultades que provienen del tejido

Para tejidos grasos es mejor hacer cortes más delgados con el bisturí (2 mm).

Hay ciertos tejidos que suelen endurecerse mucho como el cérvix. Se obtienen mejores resultados si se reemplaza los agentes deshidratantes y aclaradores por tetrahidrofurano.

-Dificultades que provienen de la cuchilla

- Si la cuchilla no se fija bien al micrótomo, puede saltar, especialmente al cortar tejidos duros.
- Si la cuchilla se ladea demasiado, se raspa más de lo que se corta y puede ser imposible obtener un corte.
- Se producen cortes de grosor irregular por mal ajuste del sujetador del bloque.
- Una cuchilla roma no puede producir buenos cortes. Las dentaciones o pequeñas melladuras en el filo de la cuchilla rayan o raspan los cortes en la dirección del movimiento. Si la cuchilla no está bien afilada puede ser difícil obtener "cintas" de tejido.
- Un borde romo produce distorsión y compresión del corte y aumenta cualquier tendencia a formación de pliegues.

3. Desparafinación

La desparafinación se realiza de dos maneras:

- Pasando la pieza cortada del bloque por la estufa, y por medio del calor eliminamos una cantidad importante de la parafina que contienen el corte.
- Realizando una serie de baños, normalmente cuatro de varios minutos de duración cada uno con Xilol o Neo Clear, eliminando de esta manera la parafina que pueda quedar en los cortes antes de proceder a su

rehidratación y coloración. Entre baño y baño se recomienda el secado de la muestra para contaminar lo menos posible el baño siguiente.

4. Tinción.

La tinción de los cortes histológicos permite estudiar y conocer las características físicas de los tejidos y las relaciones entre las células que los constituyen.

Se efectúa generalmente usando mezclas de sustancias químicas denominadas colorantes. Los colorantes utilizados se pueden clasificar como ácidos, básicos o neutros. Los componentes de los tejidos que se tiñen fácilmente con colorantes básicos se denominan basófilos; reciben el nombre de acidófilos aquellos que se unen a colorantes ácidos. El azul de toluidina y el azul de metileno son ejemplos de colorantes básicos, así como la hematoxilina. Los componentes más importantes de los tejidos que reaccionan con los colorantes básicos son las nucleoproteínas y los glucosaminoglicanos ácidos, debido a los grupos ácidos ionizables que contienen colorantes ácidos tales como el Orange G, la Eosina y la Fucsina ácida tiñen principalmente los componentes básicos de las proteínas citoplasmáticas.

- **Tinción con Hematoxilina y Eosina (H-E)**

Existen dos procedimientos de Hematoxilina que son los más usados:

Método de Harris:

Es un método regresivo, pues tiñe todas las estructuras (núcleo, citoplasma, tejido conectivo, etc.) y es seguido por una decoloración controlada y "azuleamiento" para llegar al óptimo resultado de tinción nuclear.

Procedimiento:

- Xilol 1 minuto.
- Alcohol absoluto durante 1 minuto 3 veces.

- Alcohol 96 ° durante 1 minuto 3 veces.
- Agua de caño.
- Hematoxilina 3 minutos.
- Agua de caño.
- Alcohol acido 1% 1 o 2 segundos
- Agua amoniacal 30 segundos.
- Agua de caño.
- Eosina 2 minutos.
- Alcohol 96 ° durante 30 segundos 3 veces.
- Alcohol absoluto durante 30 segundos 3 veces.
- Xilol durante 5 minutos 2 veces.
- Montaje.

Resultados:

Núcleo.....Azul
 Citoplasma.....Rosado-Rojo
 Otras estructuras tisulares.....Rosado-Rojo

5. Montaje

El paso final en la preparación de una lámina es cubrir la porción que contiene el tejido con una laminilla. Esto hace a la lámina permanente y permite el examen microscópico. Para fijar la laminilla se pueden usar medios de 3 tipos:

- Resinas naturales: Bálsamo de Canadá: Fue el estándar en el pasado, pero toma mucho tiempo en secar.
- Resinas sintéticas: Actualmente las más usadas. Entre ellas tenemos el Permout, Cytoseal, Mercoglass, etc.
- Medios acuosos: Se usa cuando los colorantes o estructuras son destruidas o alteradas por deshidratación o aclaramiento. Entre éstos tenemos gelatina de glicerina y medio de montaje de alcohol polivinil.¹⁵

Anexo N°2: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADOR
<p>General</p> <p>¿Existe correlación entre el test rápido de ureasa usando agar Christensen y la histología, en el diagnóstico de infecciones por <i>Helicobacter pylori</i>?</p>	<p>General</p> <p>Determinar la correlación entre el test rápido de ureasa usando agar Christensen y los hallazgos histológicos para el diagnóstico de infección por <i>Helicobacter pylori</i>.</p>	<p>Hallazgo histológico compatible con <i>Helicobacter pylori</i></p>	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>	<p>Valor absoluto (método manual)</p> <p>Valor absoluto (método automatizado)</p>
	<p>Específicos</p> <p>-Determinar el diagnóstico de infección por <i>Helicobacter pylori</i> mediante test de ureasa.</p> <p>-Identificar los principales hallazgos histológicos en infecciones por <i>Helicobacter pylori</i>.</p> <p>-Determinar la sensibilidad y especificidad del test rápido de ureasa comparado con hallazgos histológicos para el diagnóstico de infecciones por <i>Helicobacter pylori</i>.</p>	<p>Resultado Test de Ureasa con agar Urea de Christensen.</p>	<p>Positivo</p> <p>Negativo</p>	<p>>0,99 Casi perfecta</p> <p>0.95 – 0.99 Sustancial</p> <p>0.90 – 0.95 Moderada</p> <p>< 0,90 Pobre</p>