



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

**“CONCORDANCIA DE LAS TÉCNICAS DE
COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA Y GIEMSA
PARA VISUALIZAR A LA BACTERIA
HELICOBACTER PYLORI EN LAS BIOPSIAS
ENDOSCÓPICAS DEL SERVICIO DE ANATOMÍA
PATOLÓGICA DEL HOSPITAL VICTOR LAZARTE
ECHEGARAY EN EL PERIODO DE ENERO A
MARZO - 2018”**

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

GONZALES RUIZ, DIGNA

**ASESOR:
MG. WILDER ADEMIR REYES ALFARO**

Trujillo, Perú

2018

HOJA DE APROBACIÓN

GONZALES RUIZ, DIGNA

**“CONCORDANCIA DE LAS TÉCNICAS DE
COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA Y GIEMSA
PARA VISUALIZAR A LA BACTERIA
HELICOBACTER PYLORI EN LAS BIOPSIAS
ENDOSCÓPICAS DEL SERVICIO DE ANATOMÍA
PATOLÓGICA DEL HOSPITAL VICTOR LAZARTE
ECHEGARAY EN EL PERIODO DE ENERO A
MARZO - 2018”**

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

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a:

Dios por haberme brindado salud, fortaleza y su infinito amor para superar obstáculos y dificultades que me ha tocado vivir en todo este camino.

A mis hijos porque fueron mi motor y motivo de inspiración para poder superarme cada día más y entender que durante todo este proceso fue necesario sacrificar momentos a su lado del cual ustedes eran los dueños.

A mi madre por ser el pilar fundamental y haberme apoyado en todo momento, por sus consejos y por la motivación constante que me ha permitido ser una mejor persona pero sobre todo por su consagrado amor.

A mis hermanos quienes con sus palabras de aliento me ayudaron a no decaer y ser siempre perseverante y poder cumplir con mis metas.

A mi padre al que la muerte lo sorprendió antes que le pueda cumplir su sueño de verme realizada profesionalmente.

A la Sra. María Soledad por ser la mujer y amiga que compartió conmigo alegrías y tristezas durante 5 años y me motivo para no decaer.

A mis amigos, compañeros y una persona en especial porque sus palabras de aliento y perseverancia ha sido fundamental para contribuir la carrera universitaria y por ende un sueño.

AGRADECIMIENTO

Agradecer infinitamente al Dr. Américo Carbajal Vásquez por su apoyo incondicional y sus consejos durante toda mi carrera y así poder culminar una meta trazada.

Agradecer a mi asesor Wilder Ademir Reyes Alfaro; por su apoyo para realizar mi tesis.

Agradecer también a la universidad “ALAS PERUANAS”, fuente de saber por todos estos años de formación académica; de igual manera a todos mis docentes, quienes me impartieron con dedicación sus conocimientos y su comprensión a lo largo de la carrera universitaria.

Agradezco al servicio de Anatomía Patológica, por permitir obtener los datos necesarios para este trabajo de tesis y así pueda ser de utilidad para la comunidad.

RESUMEN

Las distintas patologías como el cáncer gástrico, gastritis, enfermedad ácido péptica, son enfermedades que frecuentemente están asociadas a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*. Debido a su presencia en personas adultas, su diagnóstico y tratamiento preciso son cruciales para evitar sus complicaciones. Para ello se cuenta con numerosas pruebas para la identificación de *Helicobacter pylori*. El medio más usado actualmente es la identificación histológica, y se usan varios métodos de coloración, como Hematoxilina/Eosina (H&E), Giemsa y Warthin-Starry. A diferencia del resto la coloración H&E requiere de mucha experiencia para establecer un diagnóstico certero.

El tipo de estudio realizado es de tipo descriptivo, observacional, de corte transversal, de diseño no experimental. El objetivo fue determinar la concordancia de las técnicas de coloración hematoxilina-eosina y Giemsa para visualizar a la bacteria *Helicobacter pylori*, así como también determinar cuántos casos positivos se obtendrán solo con coloración Giemsa y cuántos casos positivos se obtendrá con la coloración H&E, en las biopsias endoscópicas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray entre los meses enero a marzo en el 2018. La población objeto de estudio fueron un total de 120 pacientes. El instrumento utilizado fue una ficha de recolección de datos.

Se llegó a la conclusión que existe una excelente concordancia entre el estudio con coloración de Hematoxilina-Eosina y el estudio con Coloración Giemsa con valor del índice de Kappa de 0.831, lo que refiere una excelente concordancia.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*; Hematoxilina-Eosina; Giemsa; Concordancia

ABSTRACT

Different pathologies like the Gastric cancer, gastritis, acid peptic disease, are entities that are frequently associated with the presence of the bacterium *Helicobacter pylori*. Due to its high presence in adults, its diagnosis and precise treatment are crucial to avoid complications. For this, there are numerous tests for the identification of *Helicobacter pylori*, The most commonly used means is histological identification, and several staining methods are used, such as Hematoxylin / Eosin (H & E), Giemsa and Warthin-Starry. Unlike the rest, H & E requires a lot of experience to establish an accurate diagnosis.

The type of study undertaken is descriptive, observational, cross-sectional, non-experimental design. The objective was to determine the concordance of the hematoxylin-eosin and Giemsa staining techniques to visualize the bacterium *Helicobacter pylori*, as well as to determine how many positive cases will be obtained only with Giemsa stain and how many positive cases will be obtained with the H & E stain, in the endoscopic biopsies of the Pathological Anatomy Service of the Victor Lazarte Echegaray Hospital between January and March in 2018. The population studied was a total of 120 patients. The instrument used was a data collection form.

It was concluded that there is an excellent concordance between the study with Hematoxylin-Eosin stain and the study with Giemsa stain with Kappa index value of 0.831, which indicates an excellent concordance.

Keywords: *Helicobacter pylori*; Hematoxilina-Eosina; Giemsa; concordance

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 01 : Edad de la Muestra.....	41
Figura N° 01: Coloración Hematoxilina-Eosina vs Coloración Giemsa.....	42

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Edad de la Muestra.....	40
Tabla N° 2: Concordancia según índice de Kappa de Cohen	42
Tabla N° 3: Índice de Kappa.....	43

ÍNDICE

CARATULA.....	I
HOJA DE APROBACIÓN.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTO.....	IV
RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABLAS.....	VII
INTRODUCCIÓN.....	X
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1. Planteamiento del Problema.....	11
1.2. Formulación del Problema.....	14
1.2.1. Problema General.....	14
1.2.2. Problemas Específicos.....	14
1.3. Objetivos.....	15
1.3.1. Objetivo General.....	15
1.3.2. Objetivos Específicos.....	15
1.4. Justificación.....	15
2. MARCO TEÓRICO	
2.1. Bases Teóricas.....	17
2.1.1. Helicobacter Pylori	
2.1.1.1. Etiología y Estructura.....	17
2.1.1.2. Modo de Transmisión.....	19
2.1.1.3. Fisiopatología.....	19
2.1.1.4. Patologías relacionadas a Helicobacter pylori.....	20
2.1.1.5. Diagnóstico.....	23
2.1.2. Técnicas Histopatológicas.....	26
2.1.2.1. Obtención de la Muestra.....	26
2.1.3. Técnicas Histoquímicas.....	30
2.1.3.1. Clasificación de las Coloraciones.....	30
2.1.3.2. Clasificación de Colorante.....	31
2.2. Antecedentes de la Investigación.....	33
3. METODOLOGÍA	
3.1. Tipo de investigación.....	37
3.2. Diseño de la investigación.....	37
3.3. Población y Muestra de la Investigación.....	37
3.3.1. Población.....	38
3.3.2. Muestra.....	38
3.4. Variables, Dimensiones e indicadores.....	38
3.5. Técnicas, Instrumentos de la recolección de datos.....	39
3.5.1. Técnicas.....	39
3.5.2. Instrumento.....	40
3.5.3. Procedimientos y Técnicas.....	40
3.6. Método de Análisis de Datos.....	40

4. RESULTADOS ESTADÍSTICOS	
4.1. Resultados.....	40
4.2. Discusiones de resultados.....	43
4.3. Conclusiones.....	43
4.4. Recomendaciones.....	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
ANEXOS.....	49

INTRODUCCIÓN

La bacteria *Helicobacter pylori* es un bacilo Gram negativo, móvil, que se encuentra colonizando la mucosa gástrica gracias a este último factor. Estudios mediante pruebas enzimáticas lo han definido como un productor de ureasa, catalasa y oxidasa. Está asociada a enfermedades gastroduodenales como gastritis, úlcera péptica, cáncer gástrico y linfoma tipo MALT. Se le encuentra con una frecuencia de 40% en países desarrollados y un 90% en países en vías de desarrollo.

Para la identificación de la bacteria, se han desarrollado varios métodos que han sido clasificados como directos o invasores, e indirectos o no invasores. Los métodos directos se basan más que todo en utilizar las mismas reacciones que produce la bacteria y no en el análisis de muestras de biopsias gástricas obtenidas por medio de endoscopia en el caso de los directos.

Para identificar a la bacteria *Helicobacter pylori* la prueba más usada es el estudio histopatológico de las muestras de biopsia gástrica, el cual luego del procesamiento de estas muestras, se prosigue con el uso de las técnicas histoquímicas por diversos métodos de coloración, entre los que tenemos: warthin Starry y Giemsa.

La coloración de Hematoxilina y Eosina, es la de rutina mayormente en los laboratorios y nos describe todas las estructuras histológicas. Sus componentes nos permiten observar desde ácidos nucleicos hasta proteínas citoplasmáticas que se adquirirán un color morado o rosado, según su carga (positiva o negativa).

La técnica de coloración Giemsa es el método utilizado mayormente para la tinción de frotis sanguíneo y cortes histopatológicos. Debido a su composición, nos permite diferenciar zonas con un alto contenido de DNA, por tanto, se puede distinguir perfectamente el núcleo celular, y también observar componentes del citoplasma en una gama amplia de colores. Como las bacterias tienen su DNA en el citoplasma, se tiñen de azul por completo.

Al observar que, en algunas ocasiones se producían inconvenientes debido a la débil tinción de la bacteria y otros resultados falso-negativos, motivó la realización del presente estudio ya que nos ofrecerá datos confiables y a su vez, los resultados podrán extenderse a otras áreas de salud, y así nos permitirá medir la correlación de dos pruebas diagnósticas, de manera científica, en la identificación y visualización del *Helicobacter pylori*.

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema:

El tipo de cáncer gástrico y las patologías gástricas no neoplásicas como gastritis, enfermedad ácido péptica son realidades frecuentes que se asocian a la presencia de la bacteria Gram negativa, espiralada, flagelar, microaerófila *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), especialmente en personas adultas, por lo que su estudio y búsqueda para el diagnóstico y tratamiento se vienen realizando en todo el mundo con el fin de conceder a los médicos, pacientes y todos los profesionales de la salud información que le permita un manejo apropiado de dichos casos. En la actualidad, existen numerosas pruebas para la identificación de *H. pylori*, clasificándolo en dos grupos: invasivas y no invasivas. Las pruebas no invasivas como: prueba del aliento, serología, detección de antígenos en heces fecales, son comúnmente utilizadas con una buena sensibilidad en cuanto a detección del *H. pylori*, pero pueden verse afectadas por multitudinarios aspectos como: las variaciones del punto de corte para su positividad, factores asociados como alimentación o atrofia gástrica, excreción de antígenos muy diluidos o degradados, asimismo algunos como la serología son incapaces de distinguir entre una infección activa de una previa, lo cual muchas veces implica su especificidad¹.

Las pruebas invasivas tenemos a la prueba rápida de ureasa, histología, el cultivo y la reacción en cadena de polimerasa, utilizan muestras de biopsias gástricas con lo cual permiten una identificación definitiva y directa del microorganismo, tienen como ventaja una mejor especificidad, valoran también la erradicación del microorganismo después del tratamiento y seguimiento de manera más fiable y puede determinar además, como en el caso de la prueba histológica, el daño histológico, ofreciendo una mayor información sobre la compromiso de la lesión gástrica, atrofia asociada y/o

metaplasia en la muestra analizada. Una de las principales desventajas del diagnóstico histológico en el caso de *H. pylori* es que el resultado está directamente relacionado por la experiencia del profesional médico y el tipo de tinción que se emplee. Tradicionalmente es muy usado la coloración Hematoxilina-Eosina (H&E), existen estudios, que señalan a la coloración Giemsa más eficaz en la identificación del *H. pylori* en muestras de biopsias gástricas, siendo más factible de realizar, en corto tiempo y de muy bajo costo. La OMS realizó un estudio descriptivo de corte transversal para conocer la incidencia de infección por *H. pylori* en América Latina en el cual indica que es alta con una media de 70-80% de la población. La infección causada por *H. pylori* es la principal causa de gastritis crónica, y es significativo en el origen de otras enfermedades gastroduodenales como la enfermedad ácido péptica, cáncer gástrico, así como el linfoma tipo MALT, enfermedad donde la erradicación del microorganismo demostró mejoría e incluso índices de curación. En vista de esta asociación patogénica, el diagnóstico exacto de infección es esencial para el tratamiento. La identificación histológica de *H. pylori* es actualmente el medio más usado para diagnóstico. Para poder lograr esto, varios métodos de coloración están en uso. Estos circunscriben el método modificado de Giemsa, Warthin-Starry y Hematoxilina Eosina².

De acuerdo a los expertos dicen que la coloración H&E tiene como desventaja que requiere de mucha experiencia de los médicos Anatómicos patólogos a diferencia de otras técnicas para establecer un diagnóstico certero de la presencia del *H. pylori*. Esta coloración también tiene otra desventaja la cual es que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo que queda teñido débilmente y puede confundirse con productos celulares y moco. A fin de encontrar pruebas diagnósticas confiables, válidas y económicas para la

identificación de *H. pylori* en biopsias gástricas, se pretende con esta coloración probar la supremacía del colorante Giemsa para la detección de *H. pylori*, al compararlo con la H&E y poder establecerla como una coloración de rutina conjuntamente con H&E en el estudio de biopsias gástricas. (Salas, 2004) ².

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

1.2.1. Problema General:

PG. ¿Cuál es el nivel de concordancia de las técnicas de coloración hematoxilina-eosina y Giemsa para visualizar a la bacteria *Helicobacter pylori* en las biopsias endoscópicas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray, enero – marzo 2018?

1.3. OBJETIVOS:

1.3.1. Objetivo General:

OG: Determinar la concordancia de las técnicas de coloración hematoxilina-eosina y Giemsa para visualizar a la bacteria *Helicobacter pylori*, en las biopsias endoscópicas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray, enero – marzo 2018.

1.3.2. Objetivos Específicos:

OE1: Determinar los casos positivos a la coloración Giemsa en la identificación de *Helicobacter pylori*, en las biopsias endoscópicas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray, enero – marzo 2018.

OE2: Determinar los casos positivos con la coloración H&E en la identificación del *Helicobacter pylori*, en las biopsias endoscópicas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray, enero – marzo 2018.

1.4. JUSTIFICACIÓN:

De manera rutinaria se utiliza la tinción de Hematoxilina y Eosina para la visualización de *Helicobacter Pylori* en las biopsias gástricas obtenidas por endoscopía porque además de la tinción de la bacteria permite la evaluación de los cambios histológicos que están asociados a ella, sin embargo, se presentan algunos inconvenientes por la débil tinción de la bacteria y los resultados falso-negativos.

El estudio muestra características de trascendencia porque ofrecerá datos confiables y los resultados pueden extenderse a otras áreas de salud. Existen alternativas de tinción que permiten una mejor visualización de *Helicobacter Pylori* tales como la de Warthin-Starry y Giemsa, sin embargo, estas coloraciones no permiten estudiar los cambios histológicos asociados a *Helicobacter pylori* como si lo permite la tinción de H/E y que son importantes en la evaluación de la evolución de las patologías asociadas a esta bacteria.

La investigación es de mucho interés porque nos permitirá medir la correlación de dos pruebas diagnósticas (coloraciones), de manera científica, en la identificación y visualización objetiva de *H. pylori*, la coloración H&E, a diferencia de la coloración Giemsa, buscando signos indirectos que sugieran la presencia de la bacteria, añadiendo tiempo, recursos y un alto grado de experiencia clínica del profesional médico. Se Busca evaluar, proponer y promover el uso de la coloración Giemsa como coloración específica para la identificación del *H. pylori*, adicional al uso rutinario de la coloración H&E, pues constituye un menor costo en cuanto a tiempo y dinero, así como una mejor identificación objetiva de la bacteria, abreviando su diagnóstico y tratamiento, mejorar la calidad de atención de los pacientes con la patología gástrica y su pronóstico de la enfermedad. La patología gástrica benigna como gastritis crónica, enfermedad ácido péptica, y la no benigna como el cáncer gástrico y el

linfoma gástrico de tipo linfoide asociado a mucosa (MALT), tienen como agente etiológico al *H. pylori*, a pesar de ello la importancia de su diagnóstico no es valorado en su totalidad, reportando con gran importancia que su tratamiento oportuno puede cambiar la historia natural de una patología gástrica no benigna, y en casos del linfoma gástrico tipo MALT favorecer en ciertos casos su curación.

El servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray (HVLE) puede brindar un aporte importante en el sustento técnico científico de la utilización de la tinción ya mencionada, y contribuir en el proceso de investigación, incrementando la información literaria existente hasta el momento. La perspectiva para realizar este estudio es lo que motiva y justifica la realización de esta investigación, como son: costo moderado de la coloración Giemsa, el apoyo del personal completo del laboratorio de anatomía patológica del servicio del HVLE, así como el uso de su espacio físico para la realización de las coloraciones de las láminas obtenidas de biopsias gástricas y el apoyo del médico patólogo del servicio, reconociendo el interés científico del tema, su importancia, impacto y repercusión social.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. BASES TEÓRICAS:

2.1.1 Helicobacter pylori

La infección por *H. pylori* está distribuida a nivel mundial. Según la OMS presenta una prevalencia de 40% en países desarrollados y 90% en países en subdesarrollo. Está asociada a enfermedades gastroduodenales como gastritis, úlcera gástrica, cáncer gástrico y linfoma tipo MALT ³.

Fue descrita por primera vez en 1892 por el patólogo italiano Guilio Bizzozero, que demostró la presencia de espiroquetas en estómagos humanos y de animales, este acontecimiento fue el inicio de innumerables investigaciones, hasta que en 1982 Robin Warren y Barry Marshall visualizan y reportan el aislamiento de la bacteria a partir de muestras de biopsias de antro pilórico, en pacientes con úlcera y gastritis, utilizando las condiciones de cultivo para *Campylobacter*. En 1983 se incluye la bacteria en el género *Campylobacter* como *Campylobacter pyloridis*, y en 1989 se separa definitivamente en un nuevo género y especie llamado *Helicobacter pylori* ⁴.

2.1.1.1 Etiología y estructura

Es un bacilo gram negativo, microaerófilo de forma espiral, móvil con 4 a 6 flagelos polares envainados, que protegen al microorganismo del ácido gástrico, no forma esporas y su resistencia es en forma cocoide. Presenta una longitud de 2.5 a 4 um y 0.5 a 1.0 um de ancho. Se encuentra colonizando la mucosa gástrica con un pH ácido, un recambio celular elevado y un movimiento peristáltico con una baja tensión de oxígeno. El estudio mediante pruebas enzimáticas lo ha definido como un productor de ureasa, catalasa y oxidasa. La motilidad es un factor importante para la colonización de la mucosa gástrica.⁵ Investigaciones acerca de la superficie externa

del microorganismo, han demostrado que presenta una estructura de glicocálix de 40 nm y un pili de 2 nm, que permite la adherencia a las microvellosidades del epitelio gástrico. Su material genético está formado por una doble cadena de ADN. Los principales genes que presentan son: gen *vacA* y el gen *cagA* que codifican la síntesis de citosina y de la proteína asociada a la citosina, que son las encargadas de producir citotoxicidad en las células de la mucosa gástrica, lo que favorece al desarrollo de gastritis y úlcera gástrica ⁶.

El diagnóstico de este microorganismo se realiza en muestras de biopsias gástricas mediante la aplicación de diferentes tinciones, cultivo, prueba de ureasa rápida y técnicas de biología molecular como Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) ^{7,8}.

2.1.1.2 Modo de Transmisión

Su vía de transmisión más frecuente es oro-fecal, en ocasiones por consumir agua de fuentes o alimentos contaminados con la bacteria, su capacidad de transmisión se debe a la capacidad de supervivencia temporal que presenta la bacteria en el medio ambiente. Su reservorio natural es en el estómago de la persona infectada, que por años puede permanecer asintomática. Se relaciona con los niveles socioeconómicos bajos y deficientes condiciones de higiene, especialmente en países en desarrollo ⁹.

2.1.1.3 Fisiopatología

El *H. pylori* coloniza la mucosa gástrica y habita en el tejido epitelial del antro gástrico. Anteriormente el estómago era considerado como un lugar libre de microorganismos, debido a la concentración ácida que este presenta, sin embargo

esta idea cambió después del descubrimiento que realizó Warren y Marshall en la que se aisló al microorganismo por primera vez. El *H. pylori* causa una progresiva inflamación de la mucosa gástrica caracterizada por la infiltración del epitelio gástrico por neutrófilos, linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, produciendo un daño tisular permanente de diversa magnitud ^{10, 11, 12}.

La permanencia del microorganismo en la mucosa gástrica se debe a ciertos mecanismos procedentes de los genes *vacA*, *cagA*, *babA* y *sabA* que codifican proteínas como: adhesina que evita que la bacteria sea arrastrada por los movimientos peristálticos, el recambio epitelial y la actividad ciliar; y enzimas como: ureasa que transforma urea en amonio generando un microclima alcalino que protege a la bacteria de la acidez gástrica, además de lipasa y proteasa que producen la desintegración de la mucosa gástrica y evita la secreción de moco ¹³.

La bacteria actúa como un agente patógeno cuando daña o desarrolla procesos de inflamación en el epitelio gástrico. La producción de ácido gástrico se ve alterada por el desequilibrio de la gastrina y somatostatina. En la primera etapa el daño estimula a los Polimorfos nucleares que desencadenan una reacción inflamatoria. Los procesos inflamatorios favorecen la infiltración de epitelio estomacal ocasionando la liberación de citosinas y cambio en el DNA de las células de la mucosa generando daños en la mucosa gástrica que pueden llegar a ser irreversibles¹⁴.

La infección por *Helicobacter pylori* se adquiere en edades tempranas, desarrolla una respuesta inmunológica, la cual lleva a inflamación y erosión de la mucosa gástrica, lo que conduce a la formación de úlcera, gastritis crónica, y eventual cáncer gástrico ¹⁵.

2.1.1.4 Patologías relacionadas con Helicobacter pylori

- Gastritis

Es una enfermedad inflamatoria aguda o crónica de la mucosa gástrica, que puede generar desde atrofia leve de la mucosa hasta el desarrollo de adenocarcinomas¹⁵. Es multifactorial, es decir etiológicamente puede generarse por diversos factores como el consumo recurrente de alcohol, tabaquismo y radiaciones, sin embargo el H. pylori es el principal agente exógeno asociado con esta patología. Existen varias formas de clasificar la gastritis basadas en ciertos criterios como: manifestaciones clínicas, factores etiológicos, endoscópicos y patológicos. Entre las clasificaciones actuales se encuentra: clasificación Anatomopatológica, basada en la etiología, presentación y prevalencia; y clasificación actualizada de Sydney, basada en hallazgos histopatológicos y topográficos de acuerdo al grado de daño gástrico ¹⁶.

La infección generalmente se adquiere en la infancia y persiste como gastritis crónica cuando la bacteria no ha sido erradicada. En sus manifestaciones clínicas se caracteriza por presentar náuseas, vómito, inapetencia, ardor y dolor a nivel de epigastrio, sin embargo existen pacientes asintomáticos ¹⁶.

El microorganismo se encuentra adherido al moco gástrico, junto al epitelio superficial originando una respuesta inflamatoria con células polimorfonucleares y mononucleares. La respuesta inflamatoria generada por esta bacteria favorece la liberación de citoxinas, enzimas y radicales libres que ocasiona alteraciones en el DNA de las células de la mucosa, provocando apoptosis celular que genera daños a nivel de la mucosa gástrica, que dependen de la permanencia del H. pylori, que de no ser debidamente erradicado, la respuesta inflamatoria aguda llega a ser severa, lesionando el epitelio hasta desencadenar un proceso crónico, que puede conllevar

al desarrollo de patologías relacionadas como atrofia glandular, metaplasia intestinal, displasia y finalmente adenocarcinoma ¹⁷.

- Úlcera Péptica

Es un término que se utiliza para referirse a un grupo de lesiones ulcerativas del tracto gastroduodenal superior, que puede ser en el estómago o en la porción superior del duodeno. Consiste en la pérdida continua del epitelio. Se define como una lesión que penetra la capa mucosa y en ciertas ocasiones hasta la capa muscular, formando una cavidad con inflamación, siendo la principal causa del sangrado digestivo alto¹⁸. Esta patología está asociada a diversos factores, pero la principal relación que guarda es con la infección por el bacilo *H. pylori* y por el uso desmedido de Antiinflamatorios No Esteroides (AINES).

El tipo de úlcera depende de su localización. Se denomina úlcera gástrica cuando se ubica en el estómago y úlcera duodenal cuando se ubica en la primera porción de intestino delgado. Actualmente no se presentan muchas diferencias entre los tipos de úlceras. La secreción de ácido de los pacientes que padecen esta enfermedad es variable, existe pérdida de las relaciones de equilibrio entre los mecanismos fisiológicos que controlan la función de la mucosa gástrica y su reparación.¹⁷ Las manifestaciones clínicas con las que se presenta son: molestias o dolor en el epigastrio, hemorragias, vómitos, vinagrera, náuseas. Independientemente de los síntomas que se pueden presentar, un paciente con úlcera gástrica tiene la posibilidad de que se complique como una hemorragia digestiva que es producida cuando la úlcera es profunda y erosiona un vaso sanguíneo que provoca pérdida de sangre hacia el tubo digestivo, perforación que ocurre cuando la lesión es bien profunda que rompe la pared intestinal y la estenosis que es una cicatriz que se

produce en úlceras antiguas y que puede provocar una estrechez del intestino que dificulta el paso del alimento¹⁹.

- Cáncer Gástrico

El cáncer de estómago o cáncer gástrico se origina por el crecimiento celular descontrolado, en los tejidos que revisten el estómago. A nivel mundial es considerado el segundo cáncer más común con 934000 nuevos casos por año según la Organización Mundial de la Salud (OMS) ¹⁷. En su etiopatogenia se ha relacionado con varios factores biológicos, demográficos y hereditarios, sin embargo durante años se atribuido un papel relevante al consumo de sal y otros factores dietéticos. Actualmente se sabe que la gastritis causada por H. pylori puede progresar en unos casos hacia la atrofia, con destrucción del epitelio glandular y sustitución por fibrosis, seguida de una metaplasia intestinal, displasia y finalmente carcinoma ²⁰. El cáncer de estómago se puede propagar de diferentes maneras. Éste puede crecer a través de la pared del estómago e invadir los órganos más cercanos, además se puede propagar a los vasos linfáticos y llegar al torrente sanguíneo para diseminarse a todo el organismo. Los síntomas son inespecíficos, razón por la cual el cáncer de estómago habitualmente no se detecta en su fase temprana, sin embargo se suele presentar con náuseas, vómito, diarrea, disfagia, sangrado gastrointestinal, dolor a nivel abdominal y pérdida de peso que puede o no estar asociado a dispepsia ^{21, 22}. Existen diferentes tipos histológicos de cáncer gástrico como: Adenocarcinoma que se origina en las células de la capa más interna del estómago llamada mucosa y el Linfoma gástrico tipo MALT que es una neoplasia que generalmente se encuentra constituido por células linfocíticas de tipo B, que infiltran las glándulas gástricas y forman lesiones linfoepiteliales ²³.

2.1.1.5 Diagnóstico

Los primeros informes emitidos por Warren y Marshall de la identificación de *Helicobacter pylori* en 1983, se realizó en base al análisis de biopsias gástricas, pero además se han desarrollado varios métodos útiles para su identificación, los cuales se han clasificado en directos o invasores e indirectos o no invasores ²⁴.

- Métodos Indirectos o No invasores

Se basan en la utilización de reacciones que produce la bacteria y no en el análisis de muestras de biopsias gástricas obtenidas por medio de endoscopia.

Prueba del aliento o urea en aire espirado esta prueba está basada en la actividad de la ureasa que presenta el *H. pylori*. Inicia con la ingestión en ayunas de una cápsula o un líquido que contiene pequeñas cantidades de urea marcada con carbono, que es metabolizada por la enzima ureasa que contiene la bacteria, desprendiéndose el carbono marcado junto el CO₂ de la respiración, el cual es medido.

Pruebas serológicas son utilizadas para el diagnóstico de *H. pylori* se basan en la detección de anticuerpos séricos de tipo IgG o IgA, que se activan frente a los antígenos de la bacteria. Las técnicas más utilizadas son ELISA o Inmunoensayo ligado una enzima, inmunofluorecencia, aglutinación en látex, etc.

Antígenos en heces La detección de este microorganismo en heces fecales es utilizada para el diagnóstico inicial de la bacteria y para confirmar la erradicación de la misma posterior al tratamiento. Esta prueba se basa en una mezcla de anticuerpos policlonales el reconocimiento de los antígenos de la bacteria. Su principal ventaja es que es útil para pacientes de cualquier edad.

- Métodos Directos o Invasores

Se basan en la identificación directa de la bacteria mediante el análisis de muestras de biopsia gástrica ²⁴.

Test rápido de Ureasa Técnica práctica cualitativa utilizada para determinar la actividad de la enzima ureasa en una pequeña muestra de mucosa gástrica. La ureasa producida por la bacteria *Helicobacter pylori* convierte la urea en amonio y en CO₂, lo que modifica el pH del medio y ocasiona un cambio de color que define la reacción como positiva. La desventaja es que se pueden presentar falsos positivos, cuando en el estómago se encuentran otras bacterias productoras de ureasa.

El cultivo microbiológico es importante para la definitiva identificación de *Helicobacter pylori* y para la determinación de la sensibilidad del microorganismo frente a los agentes antimicrobianos, sin embargo, por su costo y el tiempo que se necesita para realizarlo, no se ha establecido como un examen de rutina. El medio que se puede utilizar para su aislamiento es la base de agar Columbia suplementada con 7 % de sangre de carnero a una temperatura de 35- 37 °C y un tiempo de incubación de 5 a 10 días.

El estudio histopatológico de las muestras de biopsias gástricas es considerado como la Prueba Gold Standar para definir la presencia o la ausencia de *H. pylori*, además de determinar el grado de daño histológico que puede presentar la mucosa gástrica. Se observa de forma directa al microorganismo en cortes histológicos que son procesados en parafina y teñidos por varios métodos de coloración como H&E, Giemsa con nitrato de plata, tinción con azul de metileno y giemsa.¹⁸ Adicionalmente, esta prueba brinda información sobre la presencia de polimorfonucleares y de la gravedad ciertas patologías en el tejido analizado. Las

desventajas son que está influenciado por la experiencia del médico patólogo y del tipo de tinción que se emplee. Sin embargo, existen ciertos factores específicos que disminuyen la sensibilidad del microorganismo, como son: la baja densidad de microorganismos y la desigual distribución de la bacteria en el estómago; razón por la cual, se recomienda tomar varias biopsias para aumentar la sensibilidad de la técnica en cuestión que se esté empleando.

2.1.2 TÉCNICAS HISTOPATOLÓGICAS

Son un conjunto de procedimientos a seguir, útiles para la obtención de muestras histológicas aptas para su estudio, mediante microscopía óptica ^{25, 26, 27}.

2.1.2.1 Obtención de la muestra

1. Biopsia: consiste en adquirir un trozo de tejido de la mucosa gástrica.
2. Necropsia: es el procedimiento utilizado para extraer material de un cadáver.
3. Autopsia: consiste en el estudio macroscópico y microscópico de los órganos, aparatos y sistemas de un cadáver, para establecer causas de muerte.

1. Biopsia Gástrica:

Se realiza por medio de la técnica de endoscopia, que consiste en la introducción de un tubo flexible de fibra óptica conocido como endoscopio que va desde la boca hasta el estómago, posee una cámara pequeña en su extremo, con la que se puede observar de forma directa al órgano para poder tomar uno o varios fragmentos de tejido o material histológico para su posterior análisis.

- *Fijación de las muestras:*

Primer paso del procedimiento que se realiza una vez obtenido el material que se desea estudiar para evitar la destrucción o lisis celular. Sus objetivos son: mantener las estructuras en el estado más parecido al que poseían in vivo, evitar lisis celular y la proliferación bacteriana y dar cierta solidez o dureza al tejido o material²⁸.

- *Tipos de fijadores:*

Físicos: se puede realizar por congelación a temperaturas bajas de -190°C a -70°C (nitrógeno líquido, dióxido de carbono) para suspender las alteraciones celulares.

Químicos: se usan soluciones como etanol o metanol que pueden fijar células en extendidos y formol al 10%. El formol es una solución de aldehído que se puede disolver en buffer de fosfato en lugar de agua destilada para mantener el ph de 7.4²⁸.

* *Deshidratación:*

Las muestras histopatológicas contienen grandes cantidades de agua, que debe ser eliminada para la impregnación de parafina. Es importante retirar el agua existente en las muestras histopatológicas debido a que la parafina no es miscible con el agua²⁷. El agente utilizado para la deshidratación de las muestras fijadas son soluciones acuosas de concentraciones crecientes de alcohol etílico de 70%, 80%, 90%, 96% y 100%. El tiempo de duración en cada concentración de alcohol depende del tipo y tamaño del tejido a estudiar¹.

* Aclaración:

La aclaración permite que el alcohol que se encuentra en los tejidos sea reemplazado por un líquido solvente que disuelva la parafina, la cual se va impregnar en el tejido¹. La parafina tampoco es miscible en alcohol por lo que es necesario reemplazarlo por sustancias que sean capaces de mezclarse con alcohol y disolver la parafina. Las sustancias que se pueden utilizar para aclaramiento son: xilol, tolueno, benceno y cloroformo. El más utilizado es el xilol que presenta un alto grado de refracción y al interactuar con los tejidos deshidratados los vuelve transparentes¹.

* Inclusión en parafina:

La parafina es un hidrocarburo que a temperatura ambiente es sólido. Una temperatura aproximada de 60° puede llegar a disolverla. La penetración de la parafina en los tejidos se realiza cuando esta se encuentra es estado líquido. El proceso inicia con la introducción de la muestra histopatológica en una mezcla de parafina líquida, hasta que esta penetre en todos los espacios intracelulares y extracelulares de la muestra y proporcione consistencia y estabilidad necesaria para realizar cortes muy delgados sin ocasionar distorsión.²⁰ El tiempo de duración depende del tipo y tamaño de la muestra histopatológica. Este proceso de inclusión de parafina se puede realizar de forma manual dentro de una estufa o de forma automatizada mediante la programación adecuada de los procesadores de tejidos¹.

* Formación del bloque de parafina:

La formación del bloque sólido de parafina que contiene la muestra a estudiar, se realiza utilizando moldes de diferentes materiales, áreas y profundidades. Generalmente se utiliza moldes metálicos, en el que se coloca la muestra histológica

con la ayuda de una pinza templada, se rellena con parafina líquida y se deja enfriar completamente para la solidificación del bloque que contendrá en su interior el tejido a estudiar. Es importante colocar u orientar a la muestra de manera adecuada en el molde para observar lo que se desea estudiar del tejido¹.

* Corte:

Para la realización del corte se requiere de un equipo llamado Micrótopo, el tipo más utilizado es el de rotación o el de tipo Minot, que consta de las siguientes partes: un porta bloques que se desplaza verticalmente durante el corte, un sistema mecánico de avance que regula el espesor de cada corte histopatológico y un soporte para la cuchilla de acero. El micrótopo puede ser manual o automatizado. Se puede obtener cortes seriados de 4 – 7 μm de espesor¹.

* Flotación:

Los cortes se extienden por flotación de agua que se mantiene a una temperatura de 40° a 45° C. Las secciones de los cortes se extienden de forma aislada o formando cintas que se recogen y se adhieren al portaobjetos. Para garantizar una mejor adhesión de los cortes se puede incorporar sustancias adheridas al líquido extendedor como la albúmina de Mayer, que está formado por glicerina y clara de huevo¹.

*Coloración:

El procedimiento de coloración o tinción consiste en que una estructura celular o tisular adquiere específicamente un color bajo la acción de una sustancia colorante.

Se realiza utilizando mezclas de sustancias químicas denominadas colorantes a diferentes concentraciones y tiempo. Su finalidad es proporcionar color a las estructuras o tejidos para facilitar su observación. Se clasifican en colorantes ácidos como orange G, eosina y fucsina; básicos como azul de metileno y neutros¹.

* Montaje:

Terminada la tinción de los cortes histopatológicos se cubre con una laminilla la parte del porta objetos que contiene la muestra, incluyendo una gota de una sustancia adherente que proporcione condiciones de protección al tejido para poder utilizarlo continuamente sin que se deteriore, generalmente se utiliza resinas naturales como Bálsamo de Canadá o resinas sintéticas como la resina de Permout. Tras este procedimiento están listos para su observación microscópica¹.

2.1.3 TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS

Son un conjunto de métodos que se basan en la utilización de reacciones química para identificar ciertas sustancias o la actividad enzimática en muestras histopatológicas. Tiene su fundamento en la unión específica de un colorante y en el uso de anticuerpos marcados con un colorante fluorescente dirigidos a un componente celular en particular o a la actividad enzimática inherente de un elemento constitutivo de las células. Para la demostración de enzimas se utilizan ciertas sustancias denominadas cromógenas que tras la acción de la enzima, adquieren una coloración que es observable bajo el microscopio óptico. La coloración proporciona diferencias evidentes entre las estructuras histopatológicas. Se denomina colorante aquella sustancia que es capaz de transferir su color a otro cuerpo ^{11, 29}.

2.1.3.1 Clasificación de las coloraciones

- Coloración directa o sustantiva: Tipo de tinción que se ejerce sobre células y tejidos cuando están en contacto con el colorante, el resultado indica una verdadera afinidad entre el tejido y el colorante^{25, 26}.

- Coloración indirecta o adjetiva: Utiliza sustancias intermediarias que facilitan la adhesión del colorante en las estructuras tisulares. La sustancia intermediaria es conocida como “mordiente”, que se aplica antes que el colorante. La combinación que se efectúa entre el mordiente y el colorante se denomina “laca”.

- Coloración progresiva: Se refiere a la progresión de la coloración. Las muestras histopatológicas se ponen en contacto con el colorante y conforme transcurre el tiempo de coloración, el tejido alcanza la intensidad de la coloración que se desea y el residuo del colorante es eliminado.

- Coloración regresiva: Los tejidos se sobrecolorean para someterlos a un procedimiento denominado diferenciación, en el que se trata de extraer parte del colorante, observando con el microscopio hasta alcanzar la tinción deseada.

- Coloración simple: Tipo de coloración, en el que se utiliza un solo colorante para teñir algún componente celular o tisular.

- Coloración compuesta o combinada: Se basa en la aplicación de varios colorantes para destacar estructuras específicas que se desea identificar en la muestra histopatológica. Las estructuras se tiñen de diferente color.

- Coloración ortocromática: Es la acción que un colorante ejerce sobre una determinada estructura, en la que le otorga su propio color. La mayoría de los colorantes producen esta acción ortocromática.

- Coloración metacromática: Tinción en la que un colorante además de otorgar su propio color a una estructura, también tiñe de diferente color a otras estructuras.

- Coloración Pancromática: Se produce por la actividad de los colorantes neutros. Las partes básicas y ácidas de la tinción ejercen su actividad sobre ciertos componentes celulares, que además se tiñen de colores diferentes a los originales, de esta forma adquieren ciertas tonalidades que resultan de la mezcla de colorantes.

2.1.3.2 Clasificación de colorante

Se puede clasificar de acuerdo a los siguientes criterios:

- De acuerdo a su origen Naturales: Colorantes que pueden ser extraídos de forma animal o vegetal. Animal como el carmín que se extrae de la cochinilla y vegetal como la hematoxilina que se obtiene de la corteza de un árbol conocido como “palo de Campeche”.

- Sintéticos: Colorantes procesados que son derivados de la destilación de la hulla o carbón, generalmente se les conoce como colorantes derivados de la anilina. La anilina es un compuesto incoloro, pero las modificaciones químicas producidas en el anillo bencénico le conceden, a los nuevos compuestos un color determinado.

- De acuerdo a su carga eléctrica Ácidos: Presentan carga eléctrica negativa, se los conoce como colorantes citoplasmáticos debido a que tiñe al grupo químico que se encuentra localizado en un extremo de la cadena de aminoácidos que integran las proteínas citoplasmáticas como: la eosina, fucsina ácida, safranina, etc.

- Neutros: Este tipo de colorantes tienen la propiedad de colorear simultáneamente los componentes nucleares y citoplasmáticos, es decir son sales que tanto la parte ácida como básica proporciona color como Wright, giemsa, leischman, etc.

- Básicos: Presenta carga eléctrica positiva, se les conoce como colorantes nucleares debido a que tienen afinidad por los ácidos nucleicos (DNA y RNA), como hematoxilina, azul de metileno, azul de toluidina, etc. Se han desarrollado grandes

avances en las denominadas técnicas inmunohistoquímicas, que se basan en la utilización de antisueros o anticuerpos específicos contra los componentes tisulares que se quieren identificar. La tinción depende de las características físicas o químicas, o de la solubilidad diferencial entre la tinción y los tejidos. Existen numerosas técnicas de coloración histológica que permiten observar de manera selectiva ciertos componentes celulares o tisulares ²⁹.

- Coloración H&E

Esta tinción es la de rutina en la mayoría de laboratorios de anatomía patológica y es la tinción con la cual se describe todas las estructuras histológicas. La HE usa un colorante básico y otro ácido para teñir de diferente color a las estructuras ácidas y básicas. Es decir se compone de dos colorantes, la Hematoxilina y la Eosina:

- Hematoxilina: Es un colorante que tiene inclinación por las carga negativa en los tejidos como los ácidos nucleicos presentes en el núcleo y otras proteínas citoplasmáticas tiñéndolas de color morado.

- Eosina: como segundo colorante este en cambio tiene inclinación por las cargas positivas presentes en el tejido como la mayoría de las proteínas citoplasmáticas tiñéndolas de un color rojo o rosado muy fuerte.

- Coloración Giemsa

Este método de coloración es el más utilizado para la tinción de frotis sanguíneo y cortes histopatológicos. La tinción de Giemsa fue ideada por el alemán Gustav Giemsa en 1904. Publicó un libro, en el que detallaba los procedimientos para teñir eucariotas flagelados, células sanguíneas y bacterias. Permite la observación diferencial del núcleo y el citoplasma celular. Esta tinción se emplea en organismos sin pared celular y eucariotas (con núcleo) ². Esta coloración permite diferenciar zonas con un alto contenido de ADN, específicamente uniones de Adenina-Timina, por tal

motivo se puede distinguir perfectamente con el microscopio óptico el núcleo celular, los cromosomas durante la mitosis, y en algunos casos, el ADN mitocondrial. ²¹ Esta tinción es de tipo Romanowsky, porque utiliza azul de metileno y sus productos de oxidación (azur A, B y C) como colorante básico y se combina con eosina, como colorante ácido, lo que da una amplia gama de colores. Con este método de coloración se puede observar ciertos componentes del citoplasma celular, vacuolas, gránulos y componentes como mucina y colágeno. ^{20, 21}

Las bacterias al tener su ADN en el citoplasma se tiñen de azul por completo. Otras estructuras celulares, cuyo pH no sea tan extremo como el ADN pueden adquirir coloraciones entre el azul y el púrpura. El pH del tinte debe estar equilibrado entorno al 6,5 para que la tinción no esté descompensada¹.

2.2 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

- Escudero Salinas. Ecuador 2014; comenta que la tinción hematoxilina y eosina es la técnica más utilizada para el diagnóstico de las muestras incluidas en parafina, su principal ventaja consiste en que permite el diagnóstico y la evaluación de la lesión histológica asociada, además de ser una técnica fácil de realizar de forma rutinaria en los laboratorios de anatomía patológica, tiene como inconveniente requerir experiencia superior al de otras técnicas y tiene la desventaja que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo que queda teñido débilmente y que puede confundirse con productos celulares y moco, por esta razón los patólogos recomiendan realizar siempre una tinción especial, además de realizar hematoxilina y eosina ².

- Ramírez A. Vaciacion. Panamericana 2013; en su estudio se obtuvieron resultados positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante la

coloración de Giemsa un 31,6% que equivale a 36 pacientes y un resultado negativo para un 68,4% que corresponden a 78 pacientes. De ellos 78 fueron mujeres (68,4%) y 36 fueron varones (31,6%); su edad osciló entre 21 y 85 años (47,5 años en promedio), una media de 46,5 años y una moda de 47 años, de los cuales resultaron positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante Giemsa 20 hombres y 16 mujeres. La tinción de Hematoxilina Eosina para la identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas es una prueba aceptable en comparación a la realizada con Giemsa. La tinción de Hematoxilina Eosina es un buen procedimiento para la identificación de *Helicobacter*, pero no alcanza al Gold estándar (Giemsa) ³.

- Marcelo Joaquin Toro A. Quito 2010; su estudio se realizó en la ciudad de Riobamba en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de seguridad Social (IESS) en las áreas de Endoscopía Digestiva y de Anatomía Patológica en material de biopsias gástricas que se obtuvieron de 114 pacientes usuarios, entre los meses de Octubre y Diciembre del año 2009. Del total de personas se obtuvieron resultados positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante la coloración de Giemsa un 31,6% que equivale a 36 pacientes y un resultado negativo para un 68,4% que corresponden a 78 pacientes. De ellos 78 fueron mujeres (68,4%) y 36 fueron varones (31,6%); su edad osciló entre 21 y 85 años (47,5 años en promedio), una media de 46,5 años y una moda de 47 años, de los cuales resultaron positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante Giemsa 20 hombres y 16 mujeres. En cuanto a su estado civil, 64 pacientes se encontraban casados (56,1%); 26 solteros (22,8%); y entre viudas, en unión libre y divorciados sumaban el 21,1% restante. De acuerdo al nivel de instrucción el 52,6% (60 pacientes) estaban cursando o tenían instrucción superior; el 29,8% (34 pacientes) tenían instrucción secundaria; el 14% (16 pacientes) tenían

instrucción primaria y tan solo el 3,5% (4 pacientes) no tenían ningún tipo de instrucción ⁵.

- Torres F. España 2002; en su estudio concluyó una alta prevalencia de infección por *H. pylori* en los pacientes investigados, asociada, desde el punto de vista sociodemográfico, al bajo nivel educacional, hacinamiento, color de la piel mestizo y consumo de agua de pozo. Se asoció también con signos y síntomas digestivos variados, a la gastritis aguda o crónica, úlcera gastroduodenal y, en particular, a la gastritis hiperplasia rugosa, metaplasia intestinal y linfoma gástrico. Del total de pacientes estudiados en 49,6% fue positiva la prueba rápida de la ureasa (PRU), se aisló *H. pylori* en 39,2% de los casos y en 43,2% el diagnóstico se realizó por el examen histológico. La prueba rápida de la ureasa (PRU) en relación con el cultivo mostró una sensibilidad de 100%, una especificidad de 82,8% y un índice de Kappa de 0,7906. Con respecto a la histología, la sensibilidad encontrada para la PRU fue de 98,5% y la especificidad de 88,3% con un índice de Kappa de 0,8561¹⁰.

- Lozano Olivera r. Mexico; en su estudio que realizo concluyo que la tinción de Giemsa tuvo mayor sensibilidad y especificidad (100 %) para detectar la presencia de bacterias contrastada con la tinción de H y E, lo que le permitió establecer la comparación en el número de campos positivos y negativos. Aunado a esto, el costo de la tinción de Giemsa es más bajo que el de H y E y, aunque el tiempo necesario para el desarrollo de la tinción de Giemsa es mayor, se han desarrollado modificaciones que permiten terminar la tinción de Giemsa en menor tiempo y con resultados igual de efectivos. Los resultados obtenidos demuestran que es más recomendable el empleo de la tinción de Giemsa para confirmar o descartar la presencia de agentes bacterianos en cualquier fase de severidad, ya sea en casos donde las condiciones experimentales son controladas o bien en situaciones de

confirmación, donde las lesiones indiquen la posible presencia de bacterias, para evitar de esta manera los falsos negativos en los diagnósticos ³⁰.

- Cesar Eduardo Montalvo, México 2010; la histología permite la graduación histológica de la gastritis y puede demostrar la presencia del germen, constituyendo para muchos autores el método de referencia. Los mejores resultados se obtienen con las tinciones de Giemsa y de Warthin-Starry, pero la más utilizada es la de hematoxilina-eosina ³¹.

- Adriana Alejandra (Mexico-2012); analizó que de 440 pacientes de ellas 58.2% fueron mujeres, encontrando un 51.6% de prevalencia de *Helicobacter pylori* (HP) en la población y 46.6% en los pacientes con metaplasia intestinal Gástrica (MIG). En sus análisis concluyeron que los factores de riesgo asociados a la Metaplasia Intestinal Gástrica en pacientes sin lesiones gastroduodenales significativas fueron la edad igual o mayor a 50 años, presencia de reflujo biliar y el antecedente de consumo de alcohol. La infección por *Helicobacter Pylori* no se comportó como un factor de riesgo asociado a Metaplasia intestinal Gástrica ³².

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

La presente investigación según Hulley Stephen B. (2014), es un estudio observacional descriptivo relacional, de corte transversal, puesto que, el investigador realiza todas las mediciones en una única ocasión o en un período de tiempo corto. Los estudios observacionales tienen la finalidad de analizar las distribuciones y no se controla el factor de estudio.

3.2. Diseño de la investigación

El diseño de la presente investigación es No experimental.

3.3. Población y Muestra de la Investigación

3.3.1. Población

La población está constituida por todas las biopsias endoscópicas que ingresaron empleando los criterios de exclusión siendo 120, al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echegaray en el periodo enero – marzo 2018.

3.3.2. Muestra

Debido a que se trata de una población finita, el estudio se realizó en toda la población.

Criterios de Inclusión:

- Para el presente trabajo de investigación incluyó todas las muestras negativas para *Helicobacter pylori* con la coloración Giemsa.

Criterios de exclusión:

- Muestras positivas para *Helicobacter pylori* con coloración Hematoxilina-Eosina.

- Muestras de biopsias gástricas de pacientes con antecedentes de cáncer gástrico.

- Muestras de biopsias gástricas mal codificadas o con información incompleta.

- Muestras de biopsias gástricas de pacientes mayores de 65 años, debido que a esa edad el *Helicobacter pylori* usualmente migra hacia el fondo del estómago lugar a donde no llega la endoscopia digestiva para la obtención de la muestra.

3.4. VARIABLES, DIMENSIONES E INDICADORES

Variable	Dimensiones	Indicadores	Escala De Medición
Coloración Hematoxilina – Eosina	Presencia de la bacteria.	Positivo. + ++ +++	Nominal
	Ausencia de la bacteria	Negativo -	
Coloración Giemsa	Presencia de la bacteria.	Positivo. + ++	Nominal
	Ausencia de la bacteria	Negativo -	

3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.5.1. Técnicas

Las técnicas a utilizar en la presente investigación fueron:

- **Observación;** proceso sensorio-mental, con o sin ayuda de aparatos, hechos o fenómenos.

- **Escala de medición del tipo nominal;** no pueden realizarse operaciones aritméticas entre los posibles valores, ni tampoco puede establecerse un orden entre ellas.

- **Métodos estadísticos;** se emplearon para analizar los datos, así como la forma de presentación de los resultados.

3.5.2. Instrumentos:

Ficha de recolección de datos; donde están consignadas las variables seleccionadas para el estudio; fueron tomados los resultados de las muestras que cumplen los criterios de inclusión y exclusión.

3.5.3. Procedimientos y técnicas:

- Se solicitó permiso al director del Hospital Víctor Lazarte Echeagaray, para desarrollar el estudio de investigación, por medio de una solicitud, adjuntando los requisitos.

- Los datos se obtuvieron de la lectura realizada en las muestras del servicio de Anatomía Patológica del Hospital Víctor Lazarte Echeagaray Enero – Marzo – 2018.

3.6. MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizó la escala descriptiva a fin de resaltar las características más importantes. Todos los de datos de la ficha de recolección de datos fueron trasladados a una hoja de cálculo para ser analizados y tabulados con el programa de Microsoft

Office Excel 2016 y el software SPSS versión 22, para contrastar los respectivos objetivos.

4. RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. RESULTADOS

EDAD DE LA MUESTRA

Tabla N°01: Edad de la muestra.

	120
Media	61.80
Mediana	57.00
Moda	56.00
Desviación estándar	18.40
Varianza	320.2
Mínimo	23
Máximo	90

La muestra, formada por 120 pacientes, atendidos en el Servicio De Anatomía Patológica Del Hospital Víctor Lazarte Echegaray - Essalud, presentó una edad promedio de 61.8 años, mediana de 57.0 con una desviación estándar o típica de 18.4 años y un rango de edad que iba desde los 23 a 90 años.

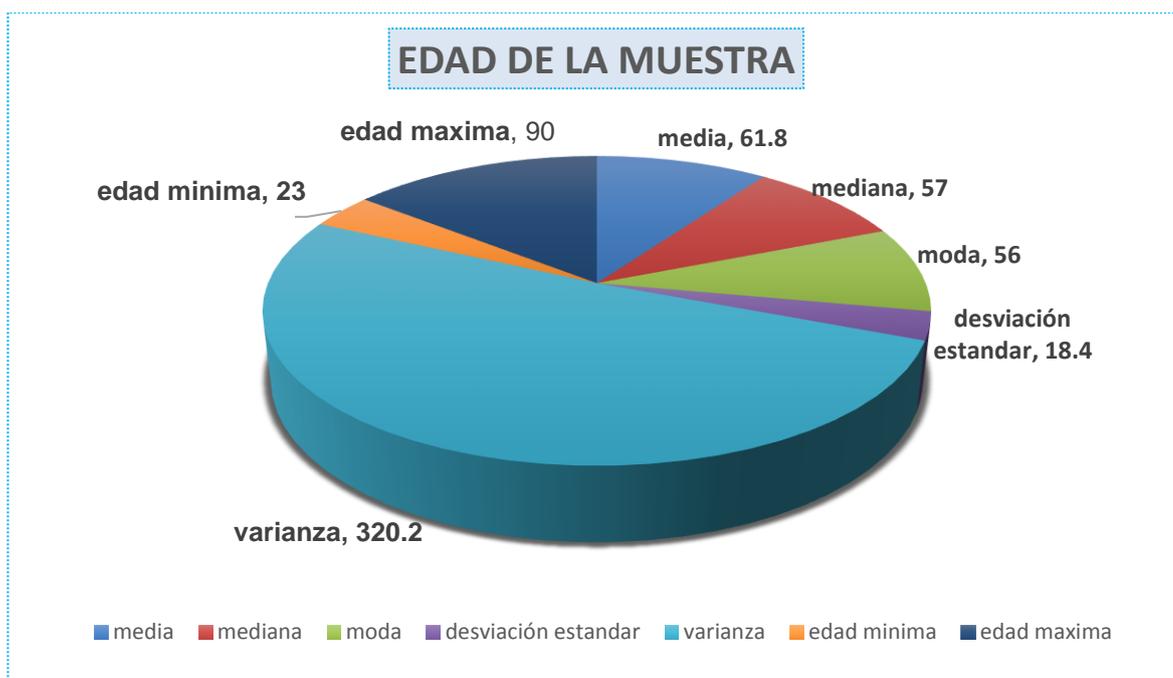


Figura 01: según edad de la Muestra

DIAGNOSTICO POR COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA VS DIAGNOSTICO POR COLORACIÓN GIEMSA EN PACIENTES CON HELICOBACTER PYLORI

Tabla N° 02: Coloración Hematoxilina-Eosina vs Coloración Giemsa								
HELICOBACTER PYLORI	COLORACIÓN H/E				COLORACIÓN GIEMSA			
	POSITIVO		NEGATIVO		POSITIVO		NEGATIVO	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
	112	93,33%	8	6,67%	120	100,00%	0	0.00%

En la tabla N° 02: Se puede apreciar los resultados según las dos pruebas estudiadas, como podemos apreciar de los 120 pacientes el 93,33% fue positivo en el estudio con coloración Hematoxilina-Eosina y en el estudio con coloración Giemsa resultaron 120 positivo con un 100.00%.

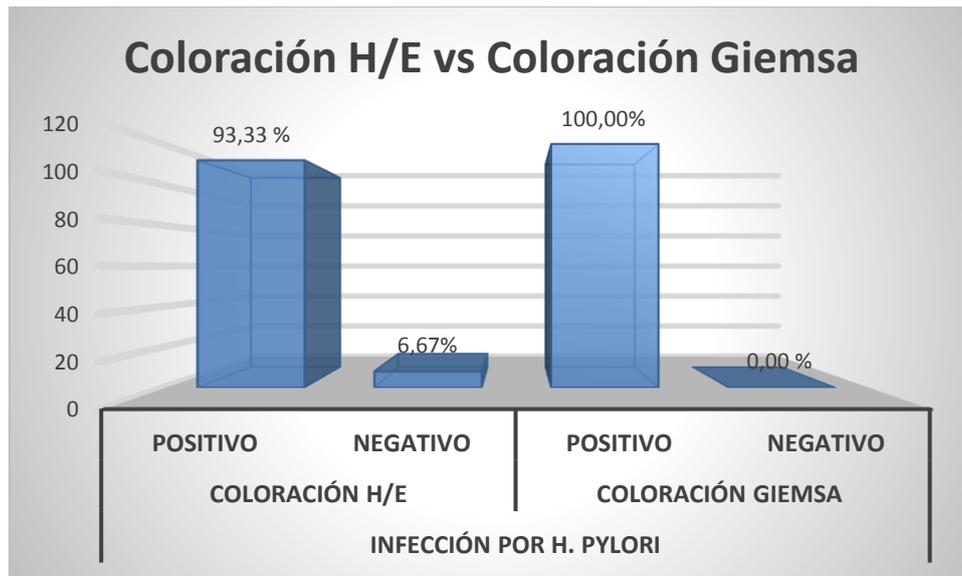


Figura N° 02: Coloración Hematoxilina-Eosina vs Coloración Giemsa

Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura N° 01.

CONCORDANCIA SEGÚN ÍNDICE DE KAPPA DE COHEN DE LA COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA VS COLORACIÓN GIEMSA

		Valor	Error estandarizado asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	,831	,060	12,296	,000
N de casos válidos		120			

La tabla N° 03: Nos muestra el valor del índice de Kappa de Cohen para medir concordancia entre ambas variables en estudio teniendo como resultado el valor de 0.831.

Tabla N° 04: Índice de Kappa

ESTADÍSTICA KAPPA	FUERZA DE CONCORDANCIA
< 0.00	Mala
0.00 – 0.20	Pobre
0.21-0.40	Débil
0.41-0.60	Aceptable
0.61-0.80	Bueno
0.81-1	Excelente

La tabla N° 04 nos muestra el valor del índice de Kappa para determinar el nivel de concordancia y asociación entre ambas variables, lo que en nuestros resultados podemos observar que tenemos una concordancia excelente.

4.2. DISCUSIONES DE RESULTADOS

Según los estudios de la presente investigación, podemos ver que la edad osciló entre 23 y 90 años, con una media de 61.8 años y una moda de 56 años, mientras que el estudio realizado en Lima por Ramirez A, donde la edad osciló entre 21 y 85 años, la media fue de 46,5 años y la moda de 47 años. Sus resultados con coloración Giemsa fueron positivos 31,6%, mientras que en nuestro estudio fue del 100%, esta diferencia se debe a que se tomó como Gold estándar teniendo como comparación al 100%.

En el estudio hecho por Torres F. en España, sobre la prevalencia de infección por *H. pylori* asociada a factores sociodemográficos, identificados con la prueba rápida de la ureasa (PRU), con respecto al cultivo y a la histología, mostró un índice de Kappa de 0,7906 y 0,8561¹⁰ con una concordancia buena y excelente. En nuestro estudio, la concordancia según el índice de Kappa de la coloración Hematoxilina-Eosina vs Coloración Giemsa fue de 0,831, dando una concordancia excelente.

En el estudio realizado por Lozano Olivera R. en México, concluyó que la tinción de Giemsa tuvo una capacidad de identificación del *H. pylori* del 100%, recomendando la prueba sobre la de Hematoxilina-Eosina, tanto que en nuestra investigación el 100% fue positivo para *H. pylori*, mientras que con Hematoxilina-Eosina el porcentaje fue menor.

4.3. CONCLUSIONES

- Del problema principal y objetivo general podemos concluir que existe una excelente concordancia entre el estudio con coloración de Hematoxilina-Eosina y el estudio con Coloración Giemsa con valor del índice de Kappa de 0.831, lo que refiere una excelente concordancia.
- La coloración Hematoxilina Eosina para la identificación de la bacteria *Helicobacter Pilory* es muy empleada para visualizarla pero la prueba Gold Estandar en la Tinción Giemsa.

4.4. RECOMENDACIONES

1. Incentivar a los profesionales de Tecnología Médica que trabajan en los servicios de Anatomía Patológica a continuar con este tipo de investigación de concordancias, porque permite no solo demostrar las concordancias entre distintas técnicas, sino también como indicador de calidad.
2. Ampliar la presente investigación a otros centros hospitalarios y de entidades privadas con la finalidad de tener resultados que reflejen nuestra realidad como región
3. Dar a conocer la presente investigación a los profesionales de la salud de la región para difundir y entender lo importante que es nuestra profesión.
4. Debemos realizar un estudio en el cual se considere la tinción Giemsa para el estudio de rutina en Anatomía Patológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arismendi G. Estimación de riesgo de cáncer gástrico en pacientes con gastritis crónica asociada a la infección por *Helicobacter pylori* en un escenario clínico. Segunda Edición ed. México D.F.: Elsevier; 2013.
2. Escudero Salinas, Nela - "aplicación de la tinción Giemsa más hematoxilina eosina para identificar *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas de laboratorio de patología del IESS de Ambato Provincia de Tungurahua."-Ecuador- 2014.
3. Ramírez Á. Vacuación de Prevalencia de *H. pylori*. Tercera ed. Lima-Perú: Editorial Médica Panamericana; 2013.
4. Rodríguez B. Métodos de Estudio en Histología. Tercera ed. Madrid-España: Editorial Elsevier; 2013.
5. Comparación de las tinciones Hematoxilina-Eosina y Giemsa para la identificación de *Helicobacter Pylori* ..Marcelo Joaquin Torres en 1994.
6. Torres L. Bvs.sld. [Online]. La Habana-Cuba: Editorial Ecured; 2013 [citado 2018 Mayo 05. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/med/vol48_1_09/med07109.html.
7. Guigni C, Graciani , Jiménez F, Roldán J. Revista FABICID. [Online]. 2010 [citado 2018 Mayo 05. Disponible en: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FABICIB/article/viewFile/611/763>.
8. Ortega J. Scielo. [Online].; 2015 [citado 2018 Mayo 05. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003498872010000500001.

9. Suárez J. *Helicobacter pylori: revisión de aspectos fisiológicos y patológicos*. Primera ed. Bucaramanga-Colombia: Editorial Médica Celsus; 2011.
10. Torres F. *Manual de Técnicas en Histología y Anatomía Patológica*. Primera ed. Barcelona-España: Editorial Ariel; 2002.
11. Salas, V. (2004). *Utilidad de técnicas histológicas para el diagnóstico de infección en piezas anatómicas*. Cuba.
12. Ramírez Á. *Vaciación de Prevalencia de H. pylori*. Tercera ed. Lima-Perú: Editorial Médica Panamericana; 2013.
13. Truyols J. *Úlcera Gástrica y Duodenal*. Tercera ed. Alicante-España: Elsevier; 2013.
14. Osorio Pagola. (2009). *Caracterización de la infección por Helicobacter pylori en pacientes con úlcera gástrica*.
15. Perea, J. (2003). *Tinción Giemsa*. . Colombia.
16. Alzola R. *Guías Histológicas*. Segunda ed. Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2011.
17. Rivas, F y otros. (2000). *Helicobacter pylori: factores de virulencia, patología y diagnóstico*. *Revista Biomédica de la Facultad de Microbiología de Costa Rica*, 11, 187-205.
18. Rotimi, O. y otros. (2000). *Identificación histológica de Helicobacter pylori: comparación de métodos de tinción*. *Journal of Clinical pathology*. UK
19. Sempértegui. (2007). *Low Concentrations of Zinc in Gastric Mucosa are Associated with Increased Severity of Helicobacter pylori-Induced Inflammation*. Sempértegui .

20. Valdivia, M. (2011). Helicobacter pylori: factores de virulencia, patología y diagnóstico. Revista Biomédica de la Facultad de Microbiología de Costa Rica, 11, 187-205.
21. Screeninglab Barcelona. Técnica histológica y microscopia. (2012). Editorial Médica Panamericana. España.
22. Vélez, H. (2004). Gastroenterología y Hepatología. 5ta Ed. Bogotá.
23. Weitz, J. y otros. (2002). Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedad Digestiva. Ed. Sociedad Chilena de Gastroenterología. Santiago de Chile. Pág. 79-91.
24. Zamora, J. y. (2008). Análisis de la calidad de los estudios de evaluación de pruebas diagnósticas. Madrid.
25. Sierra J, Carreño F. Scielo. [Online].; 2014 [citado 2018 Mayo 05. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n3/v28n3a17.pdf>.
26. Gumor L. Tinción Giemsa. Tercera ed. Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2015.
27. Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of Helicobacter pylori:
28. Comparison of Staining methods. Journal of Clinical Pathology 2000, 53:756-759.
29. Fallone Ca, Loo VG, Lough J, Barkun AN. Hematoxylin and eosin staining of gastric tissue for the detection of Helicobacter pylori. Helicobacter 1997; 2:32-5.
30. Lozano Olvera, R*. y Abad Rosales - Capacidad de la tinción de hematoxilina-eosina para detectar y diferenciar la morfología bacteriana a partir del diagnóstico histológico de camarón - Mazatlán, Sinaloa, México.
31. César Eduardo Montalvo Arenas- técnicas histológicas-Mexico – 2010.Disponible en: <http://histologiaunam.mx>

- 32.** Adriana Alejandra Azpeitia Bravo “Eficacia diagnóstica para helicobacter Pylori comparando prueba de ureasa contra biopsia histopatológica” –México D.F. 2011.

ANEXO 1

FICHA TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

**“CONCORDANCIA DE LAS TÉCNICAS DE COLORACIÓN
HEMATOXILINA-EOSINA Y GIEMSA PARA VISUALIZAR A LA BACTERIA
HELICOBACTER PYLORI EN LAS BIOPSIAS ENDOSCÓPICAS DEL
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HOSPITAL VICTOR
LAZARTE ECHEGARAY EN EL PERIODO DE ENERO A MARZO - 2018”**

EDAD:

SEXO:.....

PROCEDENCIA:

RESULTADOS:

- **COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA**

.....

- **COLORACIÓN GIEMSA**

.....

ANEXO 02

FICHA DE DIAGNOSTICOO PARA LA OBSERVACION DE LAMINAS

IDENTIFICACION	HEMATOXILINA Y EOSINA	GIEMSA
1	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>
2	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>
3	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>
4	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>
5120	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>	POSITIVO <input type="checkbox"/> NEGATIVO <input type="checkbox"/>

ANEXO 03

HOSPITAL VICTOR LAZARTE ECHEGARAY



C:\Users\Abigail\Downlo
6650773144371986432

ANEXO 04

REALIZANDO LOS CORTES HISTOLOGICOS EN EL AREA DE ANATOMIA PATOLOGICA



COLORACION DE LAMINAS HISTOLOGICAS

ANEXO 05

OBSERVACION DEL CONTRASTE DE COLORACION EN EL MICROSCOPIO



ANEXO 06

MEDICO ANATOMOPATOLOGO REALIZANDO LECTURA DE LÁMINAS DE LAS BIOPSIAS
GASTRICAS DEL HOSPITAL VICTOR LAZARTE ECHEGARAY

