

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

**“APLICACIÓN DE LA COLORACIÓN GIEMSA
EN LA IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

SUSAN LILIANA GARAY ROSALES

ASESOR: DR. SAMILLAN SOTO VICTOR

**LIMA, PERÚ
2016**

HOJA DE APROBACIÓN

SUSAN LILIANA GARAY ROSALES

“APLICACIÓN DE LA COLORACIÓN GIEMSA EN LA IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*”

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

**LIMA, PERÚ
2016**

Se dedica este trabajo:

A Dios, por guiarme a seguir adelante en
mi trabajo de investigación.

A mis padres por su apoyo en mis estudios
universitarios y hermanos por ser mi
motivación.

Se agradece la participación y colaboración en este trabajo de investigación al personal del laboratorio Diagnósis S.A.C. Gracias a los docentes de la universidad Alas Peruanas.

EPIGRAFE: De todos los instrumentos del hombre, el más asombroso es, sin duda, el libro. Los demás son extensiones de su cuerpo. El microscopio, el telescopio, son extensiones de su vista; el teléfono es extensión de la voz; luego tenemos el arado y la espada, extensiones del brazo. Pero el libro es otra cosa: el libro es una extensión de la memoria y la imaginación.

Jorge Luis Borges.

RESUMEN

OBJETIVO: Aplicación de la coloración Giemsa en la identificación de *Helicobacter pylori*.

MATERIALES Y METODOS: Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal; se seleccionó la población muestral de las biopsias que acudieron al laboratorio Diagnosis S.A.C. según los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos, se recolectaron los datos en una ficha elaborada para dicho fin (Anexo 1). Se seleccionaron todas las biopsias gástricas y Hematoxilina-Eosina, los resultados se reportaron como positivo y negativo.

RESULTADO: En un 53% de los pacientes fueron diagnosticados con gastritis crónica atrófica y 47% de los pacientes fueron diagnosticados con gastritis crónica no atrófica. El 7% de los pacientes padecían de gastritis crónica no atrófica leve, 38% padecían de gastritis crónica no atrófica moderada. Mediante la tinción H-E respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* en 42% y con Giemsa el 63% de muestras encontró 27 negativos y 10 falsos negativos. Al comparar la tinción Giemsa con la tinción hematoxilina- eosina, se encontró una sensibilidad 76% y una especificidad 73%.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, coloración Hematoxilina-Eosina, Giemsa.

ABSTRACT

OBJECTIVE: Application of Giemsa staining in the identification of *Helicobacter pylori*.

MATERIALS AND METHODS: A cross-sectional descriptive study was carried out; We selected the sample population of the biopsies that came to the laboratory Diagnosis S.A.C. According to the inclusion and exclusion criteria previously established, data were collected in a file prepared for that purpose (Annex 1). All gastric biopsies and Hemotoxylin-Eosin were selected, the results were reported as positive and negative.

RESULTS: 53% of the patients were diagnosed with chronic atrophic gastritis and 47% of the patients were diagnosed with non-atrophic chronic gastritis. 7% of the patients had mild non-atrophic chronic gastritis, 38% had moderate chronic non-atrophic gastritis. By staining H-E for the presence of *Helicobacter pylori* bacteria in 42% and with Giemsa 63% of samples found 27 negative and 10 false negative. When comparing Giemsa staining with hematoxylin-eosin staining, we found 76% sensitivity and 73% specificity.

Key words: *Helicobacter pylori*, Hematoxylin-Eosin staining, Giemsa.

ÍNDICE

CARATULA.....	1
HOJA DE APROBACION.....	2
DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTO.....	4
RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
LISTA DE CONTENIDO (INDICE).....	8
INTRODUCCION.....	12
CAPITULO I: PLOBLEMA DE INVESTIGACION.....	13
1.1. Planteamiento de problema.....	13
1.2. Formulación del problema.....	15
1.2.1. Problema general.....	15
1.2.2. Problema específico.....	15
1.3. Objetivos.....	16
1.3.1. Objetivo general.....	16
1.3.2. Objetivo específico.....	16
1.4. Justificación.....	17
CAPITULO II: MARCO TEORICO.....	18
2.1. Bases Teóricas.....	18
2.1.1. Definición de cáncer.....	18
2.1.3. Helicobacter pylori.....	18
2.1.4. Patología gastroduodenal asociada al Helicobacter pylori.....	19
2.1.5. Diagnóstico de los síntomas de dispepsia.....	20
2.1.6. Sistema de Sydney.....	20
2.1.7. Diagnóstico de la infección por Helicobacter pylori.....	21
2.1.8. Histología.....	22
2.2 Antecedentes.....	25

2.2.1. Antecedentes Internacionales.....	25
CAPITULO III: METODOLOGIA.....	30
3.1. Diseño del estudio.....	30
3.2. Población y muestra.....	30
3.2.1 Criterios de Inclusión.....	31
3.2.2 Criterios de Exclusión.....	31
3.3. Operacionalización de variables.....	32
3.4. Procedimientos y Técnicas.....	32
3.5. Plan de Análisis de Datos.....	36
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	37
4.1. Resultados.....	37
4.2. Discusión.....	48
4.3. Conclusión.....	49
4.4. RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.....	51
ANEXO N°1.....	55
ANEXO N°2.....	56
ANEXO N°3.....	57
ANEXO N°4.....	59
MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	60

LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Edad de los pacientes.....	37
Tabla N° 2: Distribución de pacientes por sexo.....	38
Tabla N° 3: Diagnóstico clínico de los pacientes.....	39
Tabla N° 4: Tipo de gastritis crónica atrófica de los pacientes.....	40
Tabla N° 5: Tipo de gastritis crónica no atrófica de los pacientes.....	41
Tabla N° 6: Presencia de Helicobacter pylori con tinción Hematoxilina Eosina.....	42
Tabla N° 7: Presencia de Helicobacter pylori con tinción Giemsa.....	43
Tabla N° 8: Presencia de Helicobacter pylori con tinción H-E vs Giemsa.....	48
Tabla N° 9: Casos positivos y negativos de Helicobacter pylori de las muestras con tinción Hematoxilina Eosina.....	45
Tabla N°10: Casos positivos y negativos de Helicobacter pylori de las muestras con tinción Giemsa.....	46
Tabla N° 11: Capacidad de tinción Giemsa en la detección de Helicobacter pylori.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1: Sexo de los pacientes.....	38
Figura N° 2: Diagnóstico clínico de los pacientes.....	39
Figura N° 3: Tipo de gastritis crónica atrófica de los pacientes.....	40
Figura N° 4: Tipo de gastritis crónica no atrófica de los pacientes.....	41
Figura N° 5: Presencia de Helicobacter pylori con tinción Hematoxilina Eosina.....	42
Figura N° 6: Presencia de Helicobacter pylori con tinción Giemsa.....	43
Figura N° 7: Presencia de Helicobacter pylori con tinción H-E vs Giemsa.....	44
Figura N° 8: Casos positivos y negativos de Helicobacter pylori de las muestras con tinción Hematoxilina Eosina.....	45
Figura N° 9: Casos positivos y negativos de Helicobacter pylori de las muestras con tinción Giemsa.....	46

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori se estima para infectar a más de la mitad de la población humana y mundos representa un factor de riesgo importante para la gastritis crónica, úlcera péptica, linfoma MALT, y gástrico adenocarcinoma. *H. pylori* infección y consecuencias clínicas son controlados por las interacciones altamente complejas entre el anfitrión, bacterias colonizadoras, y parámetros ambientales. En un análisis de todo el genoma de las cepas bacterianas sugiere que su coexistencia con los seres humanos es más antigua que se pensaba. A diferencia de la prevalencia general a la disminución de *H. pylori* (incluyendo China y Japón), en Suecia, la prevalencia de gastritis atrófica en la población joven ha aumentado. La prevalencia de la infección sigue siendo alta en las poblaciones indígenas de las regiones árticas, y las tasas de reinfección son altos. Una alta prevalencia se encuentra permanentemente en las regiones siberianas de Rusia. El curso a largo plazo de *H. pylori* se considera la infección, se estima que el 89% de noncardia cáncer gástrico casos son atribuibles a la infección.

La detección precisa de *Helicobacter pylori*, una causa importante de gástrico cáncer, es esencial para la gestión de los pacientes infectados. Entre los diversos métodos de diagnóstico, histología juega un papel fundamental en la detección de *H. pylori* y también proporciona más información sobre el grado de inflamación y de la patología asociada, como, gastritis atrófica (AG), metaplasia intestinal (IM), y gástrico cáncer. El diagnóstico de *H. pylori* se podría realizar en tinción con Hematoxilina-Eosina, sin embargo, la especificidad se puede mejor con la coloración Giemsa. Por lo tanto, se recomienda por lo menos dos tipos de métodos de tinción para el diagnóstico

en la práctica; Hematoxilina-Eosina es rutinaria y Giemsa parece tener ventaja sobre otras debido a su simplicidad y coherencia.

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del Problema:

El cáncer gástrico es una de la causa de muerte a nivel mundial, el factor de riesgo principal para el cáncer de estómago es la infección crónica con *Helicobacter pylori*, siendo los países de menor desarrollo que tienen la infección por *Helicobacter pylori*, donde el 5% desarrolla la enfermedad de cáncer gástrico (1).

Según la OPS cada año se produce más 85.000 nuevos casos de cáncer de estómago y 65.000 muertes por este tipo de cáncer en las Américas (2).

En un estudio realizado por el seguro integral de salud en el año 2010, el segundo grupo de morbilidad más frecuente, constituido por “Infecciones del aparato gastrointestinal” con 25.40% (3).

El cáncer de estómago y la gastritis, causada por el *Helicobacter pylori*, se ve afectado a una gran población de personas adultas. Su investigación, búsqueda para su diagnóstico y tratamiento es de importancia para todo el personal de salud para la aplicación en cada caso. Hoy en día, existen diversas pruebas para detectar *Helicobacter pylori*, como invasivas y no invasivas. En las pruebas no invasivas son: prueba del aliento, serología, detección de antígenos en heces, estas pruebas tienen una buena sensibilidad, pero no una buena especificidad. Las pruebas invasivas son: la prueba rápida de ureasa, histología, cultivo y la reacción en cadena de

polimerasa, al utilizar biopsia de muestra gástrica no permite el control del tratamiento y seguimiento, por su especificidad (4).

Es importante la identificación de *Helicobacter pylori*, para el tratamiento, depende del observador y del método empleado para la identificación. En un estudio realizado para ver la reproducibilidad diagnóstica histopatológica, donde muestra que hay una discordancia en el diagnóstico entre patólogos donde se observó el principal problema en el diagnóstico de la gastritis crónica atrófica y la displasia. A pesar de ser fácil su identificación existen problemas de interpretación que generan falsos positivos y falsos negativos en algunos casos, debido a material mucoso y otros artificios de la biopsia más aun el problema cuando los bacilos son escasos (5,6).

En los laboratorios se realiza H-E como coloración de rutina al tener buen contraste; a pesar de ello para el diagnóstico dependerá de la lectura del patólogo; lo que se busca es brindar una herramienta más para mejorar la identificación del *Helicobacter pylori*; según identificación histológica de *Helicobacter pylori* con hematoxilina-eosina y Giemsa, siendo el Giemsa superior a H-E para la identificación (7).

Para brindar un buen diagnóstico; lo que se busca son pruebas confiables; este estudio valora la coloración Giemsa para la identificación de *Helicobacter pylori*.

1.2. Formulación del Problema:

1.2.1. Problema General:

¿Qué diferencias existen entre las coloraciones Giemsa y Hematoxilina-Eosina en la identificación de *Helicobacter pylori* del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015?

1.2.2. Problemas Específicos:

- ¿Cuánto es la frecuencia de casos positivos a *Helicobacter pylori* mediante la coloración Giemsa del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015?
- ¿Cuánto es la frecuencia de casos positivos a *Helicobacter pylori* mediante la coloración Hematoxilina-Eosina del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015?
- ¿Cuánto es la frecuencia de patologías gástricas asociadas a *Helicobacter pylori* del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015?

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo General:

Conocer las diferencias que existen entre las coloraciones Giemsa y Hematoxilina-Eosina en la identificación de *Helicobacter pylori* del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015.

1.3.2. Objetivos Específicos:

- Determinar la frecuencia de casos positivos a *Helicobacter pylori* mediante la coloración Giemsa del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015.
- Determinar la frecuencia de casos positivos a *Helicobacter pylori* mediante la coloración Hematoxilina-Eosina del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015.
- Determinar la frecuencia de patologías gástricas asociadas a *Helicobacter pylori* del laboratorio Diagnósis en el periodo de diciembre del 2015.

1.4. Justificación:

En la actualidad se ve el aumento de casos de cáncer de estómago, siendo uno de los principales factores *Helicobacter pylori*; por ello es importante su identificación para el tratamiento adecuado al paciente.

En la actualidad en el laboratorio como rutina se realiza diversos procedimientos, que va desde la macroscopía de las muestras gástricas, pasando todo el proceso histológico y a su diagnóstico por el medico patólogo.

Con lo mencionado anteriormente; en la investigación de este trabajo busca una mejor herramienta para el patólogo para una mejor identificación de *Helicobacter pylori* mediante Giemsa.

Al obtener los resultados de la tinción Giemsa y Hematoxilina Eosina que es una tinción de rutina; se comparara el reporte del patólogo y se verá si hay una diferencia en ello.

Lo cual se propone adicionar el Giemsa al ser una tinción simple y de bajo costo; y de ayuda al patólogo en su identificación.

Por ello este estudio de investigación valora la tinción de Giemsa para la identificación de *Helicobacter pylori*.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas:

CÁNCER

El cáncer es un proceso de diseminación incontrolado de células en cualquier lugar del cuerpo. Puede provocar metástasis en diferentes tejidos en puntos distantes del organismo. El cáncer es debido a factores de riesgo como el humo de tabaco. Es importante al ser detectado en una fase temprana para un tratamiento inmediato (8).

CÁNCER DE ESTOMAGO

El cáncer gástrico es la tercera causa más común de muerte en el mundo; la infección por *Helicobacter pylori* desarrolla adenocarcinoma gástrico; al formar células a partir de las glándulas gástricas. Por ello se clasifica como un carcinógeno de clase tipo I. Los diferentes tipos de cáncer de estómago incluyen, adenocarcinoma, linfoma, tumores de estómago gastrointestinal, tumores carcinoides entre otros tumores. Los factores que conllevan a desarrollar este cáncer son: factores genéticos, *Helicobacter pylori*, factores ambientales, lesiones precancerosas (9).

HELICOBACTER PYLORI

Warren & Marshall descubrieron que *Helicobacter pylori* es un agente causal de la gastritis. Este microorganismo habita en el estómago en el 50% de los seres humanos y es la causa más frecuente de gastritis crónica en todo el mundo (10). *Helicobacter pylori* son bacilos gramnegativos que colonizan el estómago, habitan en la capa de la

mucosa que cubre la superficie del epitelio gástrico. Al adquirir la infección afecta la mucosa llegando a la superficie luminal del estómago, donde ocurre una respuesta inflamatoria (11).

La mayoría de individuos al ser colonizados persistentemente por *Helicobacter pylori* desarrolla gastritis crónica, pero también por la infección puede desarrollar, úlceras pépticas y duodenales, neoplasia, displasia, linfoma de células B de la mucosa tejido linfoide asociado (linfoma MALT) y el adenocarcinoma gástrico invasivo (12).

PATOLOGÍA GASTRODUODENAL ASOCIADA AL *Helicobacter pylori*

La bacteria infecta la mucosa gástrica duodenal alterando su función y morfología anatómica; donde se eleva la secreción de gastrina, pepsinógeno, ácido clorhídrico, desarrollo de metaplasia intestinal afectando las células parietales, las endocrinas y las superficiales, en el duodeno se disminuye la secreción de bicarbonato, incrementa la generación de ácido, induciendo inflamación con metaplasia gástrica (13).

Todo el proceso de infección por la bacteria es debido que posee el factor de adherencia, que le permite ponerse en contacto con las células superficiales de la mucosa; la ureasa que es una enzima fundamental utilizada por la bacteria para alcalinizar su microambiente y así poder resistir al pH ácido. También tiene enzimas proteolíticas que le permiten alterar la estructura del moco gástrico e invadir el tejido; varias proteínas como la citotóxica y la vacuolizante, que al parecer son fundamentales en la generación de la úlcera péptica. También encontramos una respuesta inmunológica, la inmunidad humoral y celular, produciéndose la cascada inflamatoria; produciendo, gastritis, úlceras o cáncer y, también hay

expresión del antígeno mayor de histocompatibilidad del tipo II, formándose auto-anticuerpos que ayudan a mediar las alteraciones del epitelio (14).

DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNTOMAS DE DISPEPSIA

Para un diagnóstico adecuado debe tenerse en cuenta la diferenciación entre lo que corresponde a síntomas específicos y síntomas asociados son, ardor o dolor epigástrico, pesadez posprandial y saciedad precoz. También pueden aparecer otros síntomas como náuseas, vómitos, sensación de distensión; y en los síntomas excluyentes, no se ha encontrado ningún síntoma que constituya por sí mismo una razón para excluir el diagnóstico de dispepsia. Es esencial determinar su localización y establecer criterios clave sobre la frecuencia de los síntomas y el tiempo desde la aparición de los mismos y graduarlos según su intensidad; dado que los síntomas no son específicos, es necesario establecer en qué pacientes es necesario realizar pruebas que excluyan cualquier otro proceso y qué tipo de exploraciones se deben realizar (15).

SISTEMA DE SYDNEY

El Sistema de Sydney actualizado propuso el uso de escalas visuales como estándar de referencia para la clasificación: la densidad de la Infección por *Helicobacter pylori*; Inflamación aguda y crónica; IM y atrofia. Correlaciona el aspecto endoscópico topográfico del estómago, catalogado en gastritis del antro, pan-gastritis y gastritis del cuerpo, con una división histológica de tipo topológico que cataloga la gastritis en aguda, crónica y formas especiales, aumentando a esta la etiología y el

grado de daño morfológico basado en la presencia o ausencia de variables histológicas graduables en una escala de 0 a 4 cruces, dentro de las variables histológicas graduables; se encuentran: la densidad de *Helicobacter pylori*, la infiltración de neutrófilos, infiltración de células mononucleares, atrofia y la atrofia intestinal. En las variables histológicas no graduables, catalogados de presentes o ausentes, se encuentran: la presencia de folículos linfoides, daño epitelial de la superficie, hiperplasia foveolar, granulomas y otros. Este sistema requiere, para su correlación, tomar por lo menos 5 biopsias del estómago: de la curvatura mayor y menor del antro, de la curvatura mayor y menor del cuerpo y de la incisura. En este sistema, la clasificación de las gastritis crónicas reconoce: Gastritis antral no atrófica, que es asociada con *Helicobacter pylori*, suele ser una gastritis superficial, sin atrofia, conocida también como gastritis tipo B, Gastritis atrófica multifocal antral y corporal, Gastritis atrófica corporal difusa, denominada también como gastritis autoinmune o gastritis tipo A (11).

DIAGNOSTICO DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI

Para determinar la presencia de infección por *Helicobacter pylori*, los métodos se han clasificado como no invasivos son: Test del aliento con urea, detección del antígeno en heces, serología y los métodos invasivos son: Estudio histológico de la biopsia, cultivo, test rápido de la ureasa (14).

HISTOLOGÍA

La histología estudia la estructura del tejido de células y orgánulos celulares mediante la histoquímica, es un método de tinción de tejidos que proporciona información sobre la presencia y localización de macromoléculas intracelulares y extracelulares. Se produce una reacción química da lugar a una formación de un precipitado insoluble que toma cierto color (16).

La biopsia es un fragmento de tejido de una lesión, que se toma una parte representativa, la cual nos brindará información histológica para el diagnóstico; la mayoría realizados solo por personal médico especializado, entre las cuales tenemos endoscopías, broncoscopías, legrados uterinos, biopsias dirigidas por ultrasonografía o tomografía, etc. Las muestras deben remitirse en frascos con fijador (formol 10%) para evitar la destrucción de las células por sus propias enzimas (autolisis), o por bacterias. Este tratamiento denominados fijación tiene por finalidad endurecer los tejidos, volviéndolos más resistentes para las etapas subsiguientes de las técnicas microscópicas (17).

Los tejidos contienen grandes cantidades de agua, en intracelular y extracelular, que debe ser eliminada y reemplazada por parafina, este proceso se denomina deshidratación naturalmente, debe ser realizado mediante el uso de alguna substancia que se mezcle con el agua y tenga cierta afinidad con ella, de manera que pueda penetrar fácilmente entre células de los tejidos. El aclaramiento permite que en el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina con la cual el tejido va ser impregnado. Para la deshidratación se sumergen en

el disolvente el xilol, es un excelente y verdadero agente “aclaramiento”. En la inclusión, comprende la impregnación de los tejidos con un medio que llene todas las cavidades naturales, espacios e intersticios tisular y aun los espacios intracelulares, y que proporcione la consistencia firme necesaria para hacer cortes bastantes delgados sin provocar distorsión. Los cortes pasan al baño de flotación (18).

Coloración proceso mediante el cual un cuerpo es teñido por una sustancia colorante, sin perder el color cuando es lavado con el disolvente utilizado al preparar la solución colorante. Recibiendo la denominación de colorantes, las sustancias que pueden conferir color a otros cuerpos, estos poseen tres componentes importantes: un esqueleto incoloro, que normalmente es un anillo aromático de benceno, al cual se le unen dos tipos de radicales: uno que aporta el color, denominado cromóforo, y otro que posibilita la unión a elementos del tejido, mediante su ionización, denominado auxocromo. Al conjunto de estos tres elementos unidos en una molécula se denomina cromógeno. Colorantes según su origen en: colorantes naturales, Animales (carmín), Vegetales (hematoxilina, orceína, azafrán); colorantes artificiales Ácidos, sales cuya base es incolora y su ácido es coloreado (eosina o eosinato de sodio); colorantes citoplasmáticos básicos, sales cuya base es coloreada y el ácido es incoloro (azul de metileno o clorhidrato de azul de metileno) son colorantes nucleares; colorantes neutros, sales en las que tanto el ácido como la base son coloreados. Tiñen el núcleo de un color y el citoplasma de otro y colorantes indiferentes, tiñen aquellas sustancias que tienen un poder disolvente superior al del líquido que ha servido para preparar la

solución colorantes (sudan III, rojo escarlata). Por otro lado, las coloraciones pueden ser: Ortocromáticas, los tejidos adquieren un color igual a de la solución colorante empleada. Metacromáticas, una sustancia o un componente celular se tiñe con un color diferente al de colorante empleado. Métodos de Coloración: directa, existe una verdadera afinidad entre el colorante y el objeto; Coloración indirecta, requiere la intervención de intermediarios o mordientes para que la coloración tenga lugar; coloración regresiva, se realiza primero una sobrecoloración y luego se elimina el resto del colorante por medio de diferenciadores. A este proceso se lo denomina diferenciación; coloración simple, se colorean solamente algunos elementos del preparado (núcleo, fibras elásticas, etc.); coloración combinada se tiñen los elementos nucleares y citoplasmáticos recurriéndose, generalmente, al empleo sucesivo de colores básicos y ácidos que contrastan por sus colores; coloración panóptica, es una coloración combinada realizada sucesivamente por colorantes neutros Giemsa y coloración pancrómica, en un solo baño colorante actúan todos los colorantes neutros que se necesitan (19).

HEMATOXILINA, es una materia prima para elaborar un colorante, para ser utilizada debe ser oxidada previamente, los agentes oxidantes pueden ser, el aire (varios meses de exposición) u oxidantes artificiales (óxido de mercurio, etc.). Es un colorante básico, que tiñe estructuras ácidas al tener afinidad por las cargas negativas en el tejido como los ácidos nucleicos presentes en el núcleo y otras proteínas citoplasmáticas tiñéndolas de color morado. EOSINA, es un colorante artificial (se trata de derivados hidroxixanténicos halogenados con tres grupos arilo), presenta

autofluorescencia espontánea. Tiene afinidad por las cargas positivas en el tejido por presentar proteínas tiñéndolas de color rojo o rosado. GIEMSA, esta tinción se la utiliza para el examen de frotis sanguíneos. Al ser una tinción diferencial. Esta tinción consiste en una combinación de dos coloraciones sucesivas, ya que utilizan diferentes variantes de azul de metileno. Con esta tinción podemos resaltar los detalles del citoplasma, vacuolas, gránulos y ciertos componentes del fondo como son colágeno, mucina, etc (20).

2.2. Antecedentes:

2.2.1. Antecedentes Internacionales:

Marcela S. Boldt y colaboradores en el año 2015 en Brasil, se realizó un estudio retrospectivo para comparar la utilidad de Hematoxilina Eosina con el método de Giemsa para *Helicobacter pylori*. Se revisaron secciones histológicas de 390 pacientes. Los resultados muestran que Giemsa es superior a Hematoxilina Eosina. (7).

Parvez Mujawar y colaboradores en el año 2015 en Maharashtra, se realizó un estudio para conocer la asociación y la prevalencia de *Helicobacter pilory* para gastritis realizado con el método histopatológico. En 320 pacientes encontrando 144 para *Helicobacter pylori* positivo con Hematoxilina Eosina y Giemsa (21).

Azowska-Przeorek y colaboradores en el año 2015 en Egipto, se realizó un estudio para confirmar el papel de modularidad antral en

el diagnóstico de *Helicobacter pylori* infección en los niños. Se incluyó 107 niños; los cuales tienen al menos 2 de 4 resultados positivos de la prueba (test de aliento con urea, la ureasa prueba en la biopsia gástrica, histopatología y ELISA para heces). La sensibilidad de la presencia de modularidad como indicación de infección es de 91,6% (22).

Ju Yup Lee y colaboradores en Corea en el año 2014, se realizó una revisión sobre el método invasivo de la histología para *Helicobacter pylori*, al haber poca cantidad de esta bacteria, por cambio de la mucosa atrófica se combinan siendo difícil su observación. La tinción Giemsa es fácil de usar, bajo costo, proporciona resultados consistentes; es el método preferido en muchos laboratorios (6).

Lozano A. y colaboradores en el año 2014 en México, se realizó un estudio realizado en histología para buscar morfología bacteriana en camarón busca comparar la tinción de Hematoxilina Eosina y Giemsa. Se analizaron 390 campos de tejido de camarones y se determinó una sensibilidad de detección de bacterias del 71 % para Hematoxilina Eosina frente a la tinción de Giemsa (23).

Ming-Hui Lin y colaboradores en Taiwán en el año 2013, se realizó un estudio en 50 pacientes con úlceras gástricas se emplearon tres pruebas, la histología, test rápido de ureasa, y la prueba de aliento con urea. Los resultados por infección por *Helicobacter pylori* fueron de 54%, en la tinción Giemsa para 3 pacientes con resultados falsos negativos y falsos positivos del examen

histológico mediante tinción con Hematoxilina Eosina, y todos eran positivos. se requiere una tinción especial cuando el diagnóstico es cuestionable en la tinción de rutina (24).

Alam El-Din HM y colaboradores realizo en Egipto en el año 2013, evaluó 3 métodos no invasivos de diagnóstico. Las biopsias fueron coloreadas con Hematoxilina Eosina y Giemsa además con antígeno de *Helicobacter pylori* y PCR. Los resultados dieron que 94,7% fueron positivos con Giemsa y 84,2% para Hematoxilina Eosina (4).

Hung-Chieh Lan y Col en el año 2012 en Taiwán se realizó un estudio, donde buscaba mejorar la detección de *Helicobacter pylori* en muestras gástricas con atrofia, se adiciona una biopsia corpus en 164 muestras donde el resultado fue de 63.4% de infección de *Helicobacter pylori* (25).

Ahmad F y colaboradores en el año 2011 en Turquía, se realizó un estudio al encontrar que el *Helicobacter pylori* es una causa importante de gastritis crónica, ulcera gástrica, neoplasias gástricas como el carcinoma gástrico y linfoma MALT. Su objetivo es buscar una coloración buena y barata. En 50 biopsias se colorean con Hematoxilina Eosina, Giemsa y violeta de cresilo. Los resultados fueron 34% para Hematoxilina Eosina, el 68% fueron positivos en Giemsa y el 76% fueron positivas en violeta de cresilo (26).

Mohammad Khalifehgholi y colaboradores en el año 2012 en Irán, se realizó un estudio para revelar la relación entre los diferentes

métodos de diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*, donde se tomaron 91 pacientes, así como muestras de biopsias, sangre y heces. Teniendo la mejor sensibilidad 95,6% pertenencia a la histología (27).

Manxhuka-Kerliu Suzana y colaboradores en Kosovo en el año 2009, se realizó una investigación donde combina una investigación topográfica, morfológico e información etiológico de la evaluación diagnóstica en la clasificación de la gastritis en nuestro material según la clasificación Sydney actualizado, así como la frecuencia y la evaluación de *Helicobacter pylori* gastritis después de la erradicación con el fin de prevenir el desarrollo de cáncer gástrico. Se analizó 154 caso biopsias fueron cortadas y teñidas con Hematoxilina Eosina, Giemsa y tinción de plata. Los resultados son 36 casos positivos para *Helicobacter pylori* (28).

Carreño P. y colaboradores en Colombia en el año 2009, se realizó una revisión sistemática de la literatura para comparar la prueba de antígenos fecales y la prueba de antígenos y la prueba del aliento de la urea, frente a la histología en pre y pos tratamiento para la detección *Helicobacter pylori*. En este estudio muestra la histología sigue siendo la mejor alternativa para el diagnóstico de la infección antes del tratamiento; por el contrario la urea prueba de aliento y la prueba de antígenos fecales son las mejores opciones para verificar la erradicación de la infección (29).

Kasamatsu y colaboradores en el año 2009 en Colombia, México y Paraguay, evaluó la concordancia en el diagnóstico de lesiones precursoras del carcinoma gástrico de tipo intestinal entre observadores con diferente experiencia. Se estudiaron 1 056 casos de biopsias gástricas. Concluyen que hay una discordancia en el diagnóstico entre patólogos donde se observó el principal problema en el diagnóstico de la gastritis crónica atrófica y la displasia (5).

2.2.2. Antecedentes Nacionales:

Trujillo Cunyas en el año 2015 en Huancayo, se realizó una investigación para conocer el valor predictivo del test rápido de ureasa para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* comparado con la biopsia gástrica. La población fue de 83 pacientes; obteniendo cuatro resultados falsos negativos y falsos positivos los otros 78 test se correlacionaron con la biopsia gástrica (coloración de Hematoxilina-Eosina y Warthin Starry), de los cuales 53 pacientes fueron positivos y 25 negativos (30).

Ricardo Prochazka Zárate en el año 2010 en Lima en la clínica Ricardo Palma, se realizó un estudio para evaluar el porcentaje de *Helicobacter pylori* en la población igualmente la sensibilidad de las biopsias de distintas áreas del estómago. Obteniendo como resultado la prevalencia de *Helicobacter pylori* fue 38.5% y la sensibilidad para el test 84%, histología 89%, biopsia antral 64% (31).

De La Cruz Valle en el año 2009 en Lima en el servicio de gastroenterología del Hospital Central PNP, se evaluó la capacidad diagnóstica de la prueba de urea en muestras de placa dental respecto a la prueba de urea en biopsias gástricas para *Helicobacter pylori* en 50 pacientes. La relación de los resultados obtenidos mediante la prueba de urea para *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas y muestras de placa dental es de 68% (32).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño del Estudio:

Estudio descriptivo de tipo transversal

3.2. Población:

Todas las muestras de biopsia gástrica que llegaron al laboratorio Diagnósis S.A.C de Lima, Perú; durante el mes de diciembre del 2015. (N = 456).

3.2.1. Criterios de Inclusión:

- Muestras de biopsia gástrica bien rotulados.
- Muestras de biopsia gástrica suficiente para el examen.
- Muestras de biopsia gástrica con datos completos en la solicitud de anatomía patológica.

3.2.2. Criterios de Exclusión:

- Muestras de biopsia gástrica con datos incompletos en la solicitud de anatomía patológica.
- Muestras de biopsia gástrica mal rotuladas.
- Muestras de biopsia gástrica insuficientes para el examen.

3.3. Muestra:

Se pretende estudiar como mínimo 100 muestras de biopsia gástrica obtenidas por endoscopia, las cuales fueron enviadas por el médico para su estudio anatomopatológico en el laboratorio Diagnosis S.A.C. Se aplicará el muestreo no probabilístico por conveniencia.

3.4. Operacionalización de Variables:

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala de Medición	Forma de Registro
<u>Principal:</u> <i>Helicobacter pylori</i>	Identificación de <i>Helicobacter pylori</i> en muestras de biopsia gástrica.	Coloración HE y Giemsa Coloración HE	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> • Negativo • + • ++ • +++
Tipo de alteración en la mucosa gástrica	Daño de la mucosa gástrica	Ficha de reporte	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> • H. pylori, presente o ausente • Gastritis aguda y crónica • Gastritis antral no atrófica • Gastritis atrófica multifocal.

3.5. Procedimientos y Técnicas:

Recolección de datos se utilizó la solicitud de anatomía patológica, se tomaron aquellas que cumplen los criterios para el estudio como la recepción de muestras bien rotuladas con los datos del paciente; Identificación del tipo de muestra del aparato digestivo; concordancia en la solicitud y frasco; solicitud del paciente bien llenado; luego de verificar todo se coloca un código de identificación de la muestra.

El siguiente paso es la macroscopía, realizado por el medico patólogo; es la descripción de la biopsia gástrica, número de fragmento, medidas, consistencia. Luego se coloca al procesador automatizado de tejido Leica,

el procesador de tejidos Leica TP1020 está disponible en cuatro configuraciones: el instrumento básico, el instrumento básico con vacío, el instrumento básico con un sistema de control de humos y el instrumento básico con vacío y control de humos. El diseño robusto basado en la mecánica de precisión junto con una interfaz moderna del usuario es compatible con el procesamiento suave de muestras y un alto nivel de seguridad de las muestras en todas las fases de la ejecución del procesamiento (33).

En el procesamiento de las biopsias gástricas dura 24 horas, las soluciones se ubican en el orden siguiente por número de estación.

1. Alcohol al 70%
2. Alcohol al 80%
3. Alcohol al 96% -
4. Alcohol al 100%
5. Alcohol al 100%
6. Xileno
7. Xileno
8. Parafina
9. Parafina

Al día siguiente las biopsias pasan a ser incluidos, el sistema modular de inclusión de tejidos HistoCore Arcadia está formado por dos componentes separados: el módulo caliente de inclusión Arcadia H y la placa fría Arcadia C. El dispensador de parafina HistoCore Arcadia H permite un manejo simple y un control preciso, proporcionando una mayor calidad, un flujo de trabajo ágil, fiabilidad y velocidad en las tareas de inclusión (33).

Listos los bloques de las biopsia, pasan a los cortes histológicos por el robusto Leica RM2235 ofrece numerosas funciones que jamás antes habían estado disponibles en esta clase de micrótopo. Está diseñado para el corte manual de rutina en parafina pero también puede usarse para cortar materiales más duros. El micrótopo de rotación Leica RM2235 está perfectamente adaptado para aquellos que esperan un corte de precisión y aprecian el tacto y el control durante el corte manual (33).

Los cortes del tejido pasan al baño de flotación Leica HI1210 tiene una superficie de elevada tasa de conductividad térmica así como una notable resistencia a los rasguños debido a su especial revestimiento plástico. El rango de temperatura puede seleccionarse entre ambiente y 75°C (33).

Las láminas debidamente rotuladas son colocadas alas canastillas y llevadas a la estufa durante 30 minutos a 70°C, pasan a ser coloreados, por Hematoxilina Eosina y Giemsa finalmente montados en bálsamo de Canadá, dejar secar bien, luego pasan por la lectura por el medico patólogo por el microscopio óptico, es un elemento esencial para los estudios generales de histología puesto que es el que nos permite observar las diferentes características morfológicas de las células y los tejidos. Se basa en el uso de lentes para aumentar los rayos de luz que atraviesan una muestra de tejido (34).

Coloración Hematoxilina Eosina

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

5. Tratar los cortes en el alcohol corriente 1 durante 5 minutos.
6. Tratar los cortes en el alcohol corrientes 2 durante 5 minutos.
7. Si las secciones fueron fijadas con algún fijador mercurial, desenkerizar.
8. Lavar en agua corriente durante 5 minutos.
9. Colorear con la hematoxilina de Harris durante 5 minutos.
10. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
11. Sumergir los cortes, rápidamente, 3 veces en alcohol acido al 1%.
12. Lavar inmediatamente con agua corriente.
13. Sumergir los cortes, rápidamente 3 veces en solución de agua amoniacal al 1%.
14. Lavar inmediatamente con agua corriente y verificar si los núcleos están bien teñidos observando al microscopio.
15. Colorear con la solución de trabajo eosina, durante 4 minutos.
16. Lavar en agua corriente durante 2 minutos.
17. Tratar los cortes, rápidamente 5 veces en alcohol corriente 1.
18. Tratar los cortes, rápidamente 5 veces en alcohol corriente.
19. Tratar los cortes en alcohol absoluto 1 durante 5 minutos.
20. Tratar los cortes en alcohol absoluto 2 durante 5 minutos.
21. Tratar los cortes en xilol 1 durante 5 minutos.
22. Tratar los cortes en xilol 2 durante 5 minutos.
23. Montar en bálsamo de Canadá.

RESULTADOS: las estructuras basófilos se observan de color azul y las estructuras eosinofilas de color rosado (34).

Coloración GIEMSA, el preparado del colorante de la marca Merck

(ANEXO N°4)

1. Llevar la canastilla al Xilol (1) y dejar por 10 minutos.
2. Llevar la canastilla al Xilol (2) y dejar por 10 minutos.
3. Llevar la canastilla al Xilol (3) y dejar por 10 minutos.
4. Poner en el Alcohol de 100 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
5. Poner en el Alcohol de 96 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
6. Poner en el Alcohol de 75 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
7. Lavar las placas en agua destilada dos veces sacudiendo unas 10 veces.
8. Colocar las placas en una bandeja y procedemos a colocar el Giemsa (dos gotas en cada placa).
9. Lavamos con agua corriente hasta que el agua salga clara.
10. Colocar las placas en la canastilla y poner en el alcohol de 90 grados por 5 minutos.
11. Poner las placas en Xilol (3) por 5 minutos.
12. Realizar el montaje bálsamo de Canadá (34).

El medico patólogo hará su lectura con las diferentes coloraciones para identificación de *Helicobacter pylori* en diferentes tiempos.

3.6. Plan de Análisis de Datos:

Los datos serán analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 23.0. Se determinarán la media, desviación estándar, frecuencia y porcentajes los cuales se presentara en tablas de frecuencia y de contingencia.

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

Los resultados estadísticos que a continuación se detallan, corresponden al estudio de 100 muestras de biopsia gástrica, obtenidas por endoscopia de 100 pacientes con problemas gástricos, las cuales fueron enviadas por el médico para su estudio anatomopatológico al Laboratorio Diagnosis S.A. en el mes de Diciembre del 2015.

CARACTERISTICAS DE LOS PACIENTES

Tabla Nº 1: Edad de los pacientes

Características de la edad	
Media	44,25
Desviación estándar	±17,73
Edad mínima	15
Edad máxima	83

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: Los pacientes, de los cuales corresponde las 100 muestras de biopsia gástrica para su estudio anatomopatológico en el laboratorio Diagnosis S.A., presentaron una edad promedio de 44,25 años, con una desviación estándar o típica de $\pm 17,73$ años y un rango de edad que iba desde 15 a los 83 años.

Tabla Nº 2: Distribución de los pacientes por sexo

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Masculino	42	42,0	42,0
Femenino	58	58,0	100,0
Total	100	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla 2 presenta la distribución de los pacientes, a los cuales correspondía las 100 muestras de biopsia gástrica para su estudio anatomopatológico, por sexo. 42 pacientes eran del sexo masculino y 58 pacientes eran del sexo femenino. Se observa que la mayor parte de los pacientes eran del sexo femenino (Figura 1).

Figura Nº 1: Sexo de los pacientes

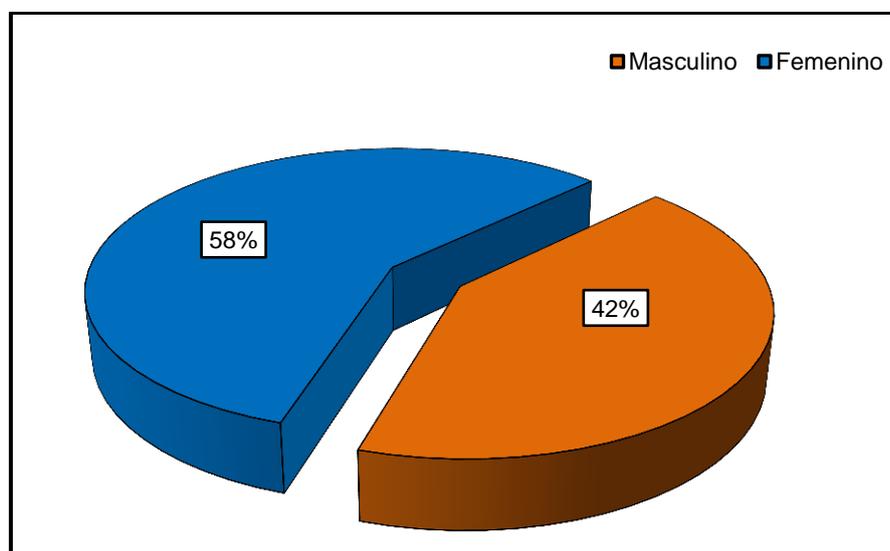


Tabla N° 3: Diagnóstico clínico de los pacientes

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Gastritis crónica atrófica	53	53,0	53,0
Gastritis crónica no atrófica	47	47,0	100,0
Total	100	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 3 presenta la distribución de los pacientes de acuerdo al diagnóstico clínico. 53 de los pacientes fueron diagnosticados con gastritis crónica atrófica y 47 de los pacientes fueron diagnosticados con gastritis crónica no atrófica. Se observa que la mayoría de los pacientes padecían de gastritis crónica atrófica. Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura N° 2.

Figura N° 2: Diagnóstico clínico de los pacientes

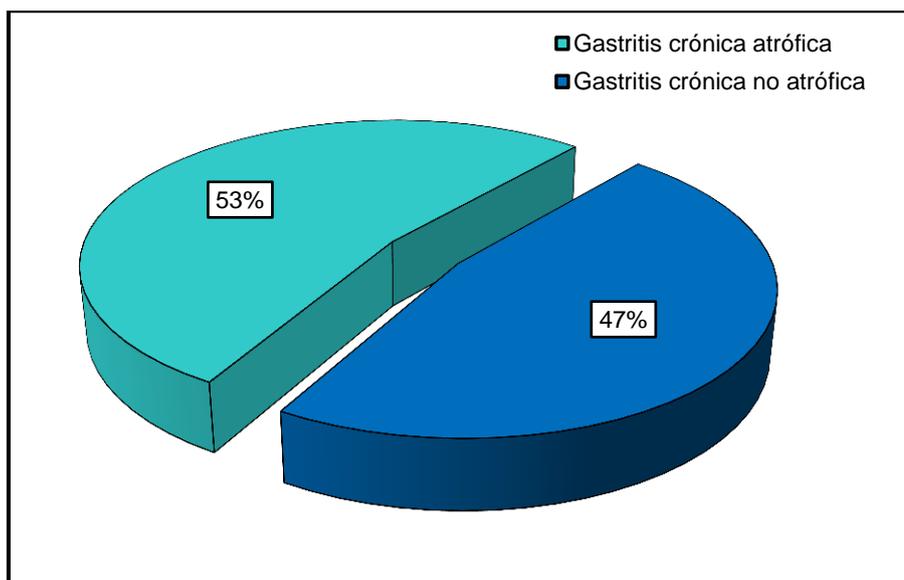


Tabla N° 4: Tipo de gastritis crónica atrófica de los pacientes

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Leve	32	60,4	60,4
Moderada	20	37,7	98,1
Severa	1	1,9	100,0
Total	53	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 4 presenta el tipo de gastritis crónica atrófica que presentaban los pacientes. 32 pacientes padecían de gastritis crónica atrófica leve, 20 padecían de gastritis crónica atrófica moderada y solo 1 padecía de gastritis crónica atrófica severa. La mayor parte de los pacientes padecían de gastritis crónica atrófica leve. Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura N° 3.

Figura N° 3: Tipo de gastritis crónica atrófica de los pacientes

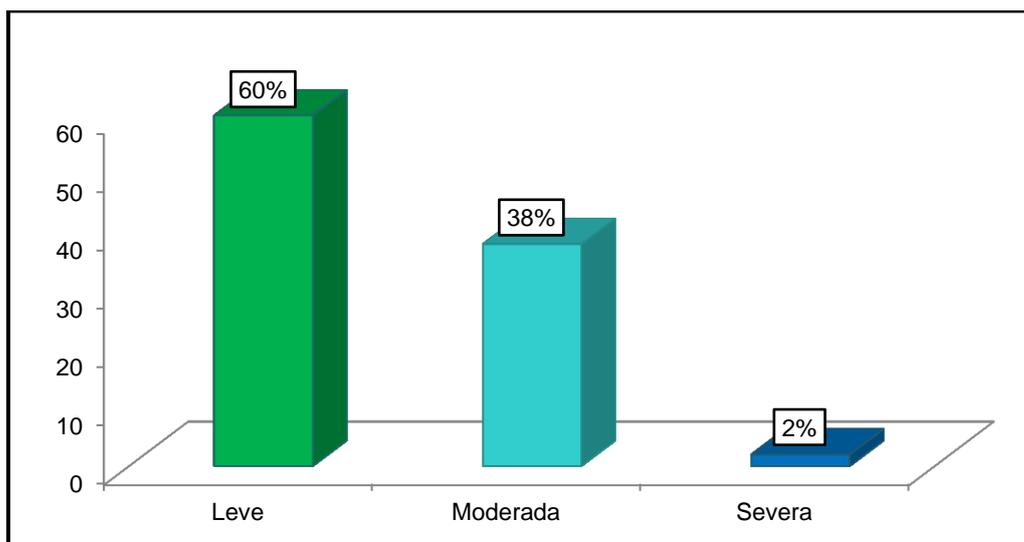


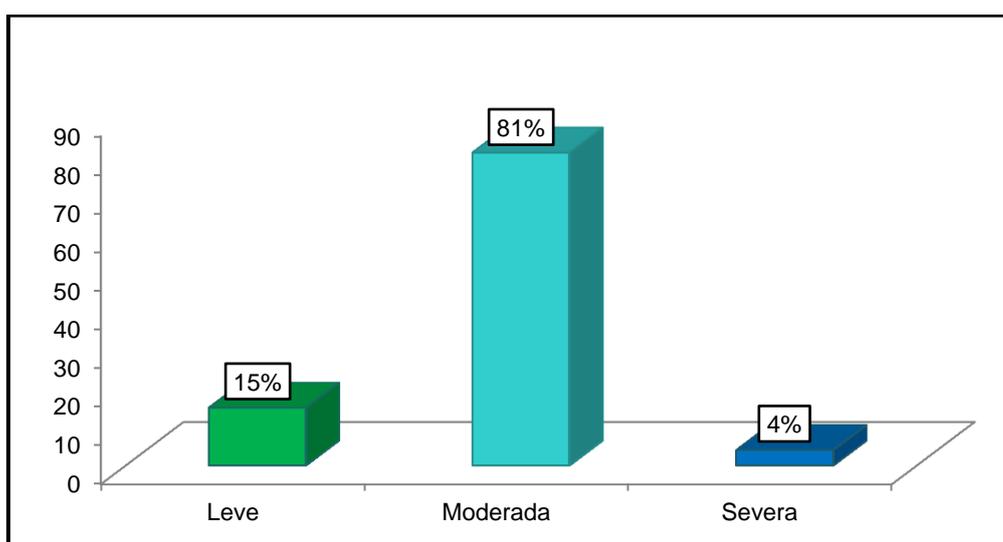
Tabla Nº 5: Tipo de gastritis crónica no atrófica de los pacientes

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Leve	7	14,9	60,4
Moderada	38	80,9	98,1
Severa	2	4,2	100,0
Total	5	100,0	
	47		

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla Nº 5 presenta el tipo de gastritis crónica no atrófica que presentaban los pacientes. 7 pacientes padecían de gastritis crónica no atrófica leve, 38 padecían de gastritis crónica no atrófica moderada y solo 2 padecían de gastritis crónica no atrófica severa. La mayor parte de los pacientes padecían de gastritis crónica no atrófica leve. Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura Nº 4.

Figura Nº 4: Tipo de gastritis crónica no atrófica de los pacientes



DIAGNÓSTICO DEL ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO DE LA MUESTRA

Tabla N° 6: Presencia de *Helicobacter pylori* con tinción Hematoxilina - Eosina

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Presenta	42	42,0	42,0
No presenta	58	58,0	100,0
Total	100	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 6 presenta los resultados de la muestra obtenidos mediante la tinción Hematoxilina - Eosina respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*. En 42 muestras se encontró la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* mientras que en 58 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori*. Los porcentajes correspondientes se presentan en la figura N° 5.

Figura N° 5: Presencia de *Helicobacter pylori* con tinción Hematoxilina - Eosina

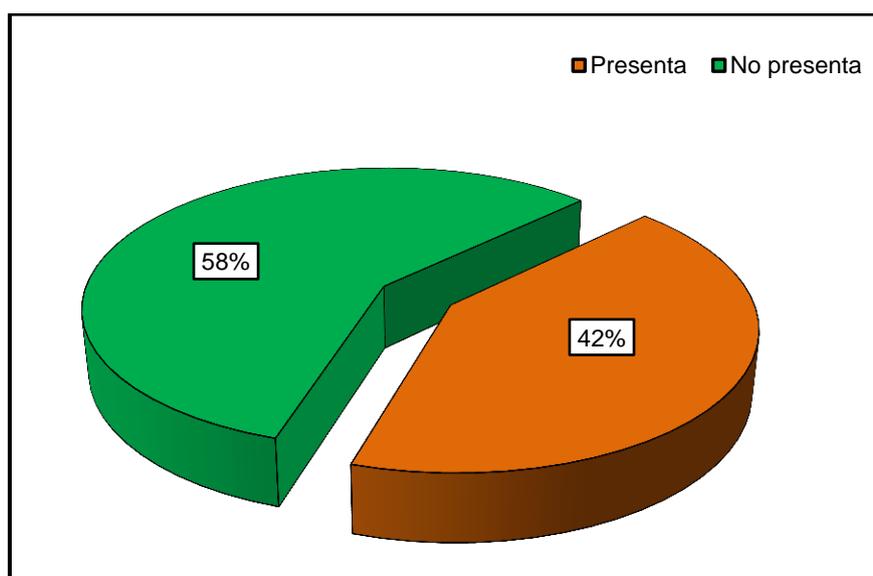


Tabla N° 7: Presencia de *Helicobacter pylori* con tinción Giemsa

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Presenta	63	63,0	63,0
No presenta	37	37,0	100,0
Total	100	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 7 presenta los resultados de la muestra obtenidos mediante la tinción Giemsa respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*. En 63 muestras se encontró la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* mientras que en 37 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori*. Los porcentajes correspondientes se presentan en la figura N° 6.

Figura N° 6: Presencia de *Helicobacter pylori* con tinción Giemsa

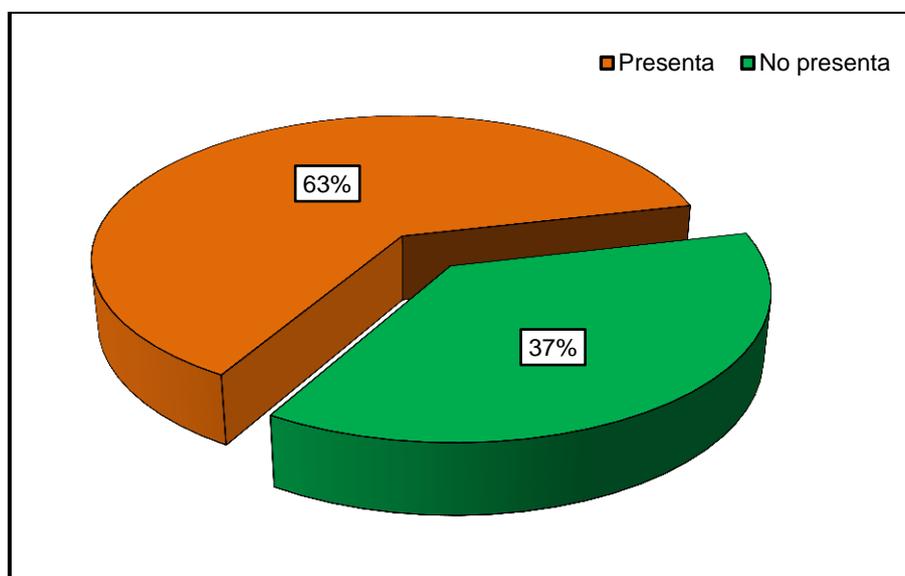


Tabla N° 8: Presencia de H. Pylori con tinción Hematoxilina – Eosina vs Giemsa

	Tinción Hematoxilina – Eosina		Tinción Giemsa	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Presenta	42	42,0	63	63,0
No presenta	58	58,0	37	27,0
Total	100	100,0	100	100,0

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 8 presenta la comparación de los resultados obtenidos mediante la tinción Hematoxilina – Eosina y la tinción Giemsa, respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*. Mediante la tinción Hematoxilina – Eosina, en 42 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mientras que mediante la tinción Giemsa en 63 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori*. Mediante la tinción Hematoxilina – Eosina, en 58 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mientras que mediante la tinción Giemsa en 37 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori*. Se observa que se encontró un menor número de casos negativos con la tinción Giemsa. Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura N° 7.

Figura N° 7: Presencia de *H. pylori* con tinción Hematoxilina – Eosina vs Giemsa

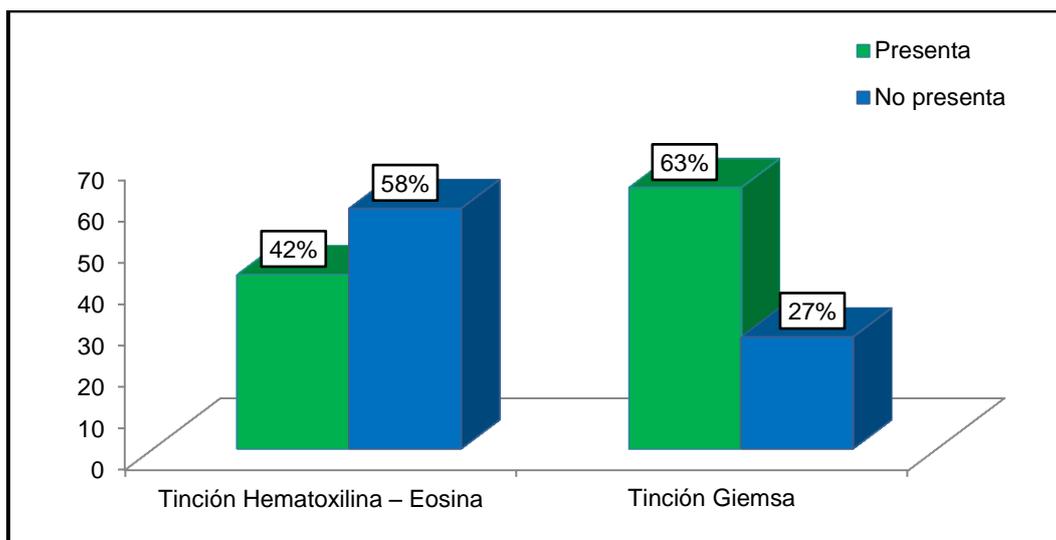


Tabla N° 9: Casos positivos y negativos de *H. pylori* con tinción Hematoxilina - Eosina

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
+	31	31,0	31,0
++	11	11,0	42,0
-	58	58,0	100,0
Total	100	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 9 presenta los resultados obtenidos mediante la tinción Hematoxilina – Eosina, respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*. Mediante la tinción Hematoxilina – Eosina, en 31 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (+); en 11 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (++) y en 58 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* (-). Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura N° 8.

Figura N° 8: Casos positivos y negativos de *H. pylori* con tinción Hematoxilina - Eosina

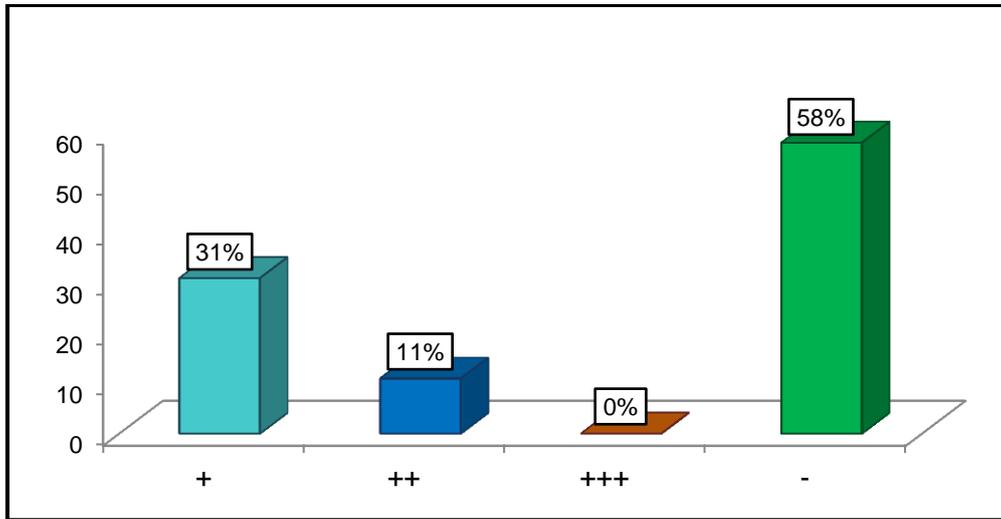


Tabla N° 10: Casos positivos y negativos de *H. pylori* con tinción Giemsa

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
+	45	45,0	45,0
++	16	16,0	61,0
+++	2	2,0	63,0
-	37	37,0	100,0
Total	100	100,0	

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 10 presenta los resultados obtenidos mediante la tinción Giemsa, respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*. Mediante la tinción Giemsa, en 45 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (+); en 16 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (++); en solo 2 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (+++); y en 37 muestras no se encontró la

bacteria *Helicobacter pylori* (-). Los porcentajes correspondientes se muestran en la figura N° 9.

Figura N° 9: Casos positivos y negativos de *H. pylori* con tinción Giemsa

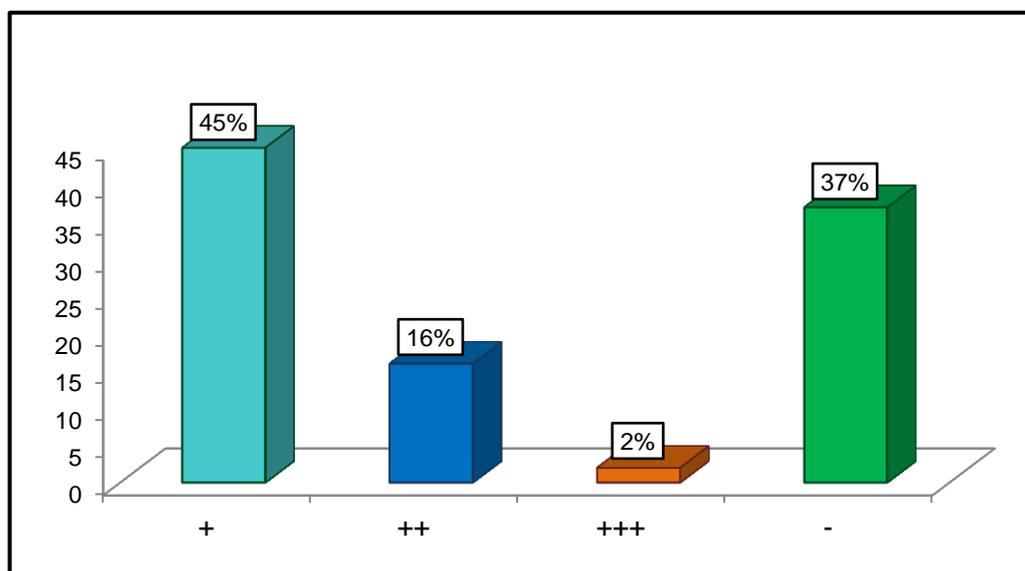


Tabla N° 11: Capacidad de tinción Giemsa en la detección de *Helicobacter pylori*

		Tinción Hematoxilina – Eosina		Total
		+	-	
Tinción Giemsa	+	32 (P)	31 (FN)	63 (TP)
	-	10 (FP)	27 (N)	37 (TN)
Total		42	58	100

Fuente: Elaboración propia

INTERPRETACION: La tabla N° 11 presenta la capacidad de tinción Giemsa, respecto a la presencia de la bacteria *Helicobacter Pylori*. Mediante la tinción Giemsa se encontró 27 negativos y 10 falsos negativos. Asimismo, se obtuvo 32 positivos y 31 falsos positivos.

Al comparar la tinción Giemsa con la tinción Hematoxilina – Eosina, se encontró una sensibilidad del 76% y una especificidad del 73%.

4.2 Discusión de resultados

En el estudio de 100 pacientes, (53%) fueron diagnosticados con gastritis crónica atrófica y (47%) de los pacientes fueron diagnosticados con gastritis crónica no atrófica. Se observa que la mayoría de los pacientes padecían de gastritis crónica atrófica. En un estudio por Hung-Chieh Lan y Col en el año 2012 en Taiwán se realizó un estudio, (63.4%) con gastritis atrófica es por infección de *Helicobacter pylori* (25).

Los resultados obtenidos de 100 biopsias gástricas con respecto a la coloración Hematoxilina-Eosina el (42%) se encontraron *Helicobacter pylori* y (58%) negativo, con Giemsa se encontró (63%) de *Helicobacter pylori* y el (37%) negativo, estos resultados se asemejan al estudio realizado por Ahmad F y colaboradores en el año 2011 en Turquía, los resultados fueron 34% para Hematoxilina Eosina, el 68% fueron positivos en Giemsa (26).

En un estudio de Ming-Hui Lin y colaboradores en Taiwán en el año 2013, obtuvieron los resultados de *Helicobacter pylori* fueron de 54%, en la tinción Giemsa para 3 pacientes con resultados falsos negativos y falsos positivos del examen histológico mediante tinción con Hematoxilina Eosina, y todos eran positivos. Se requiere una tinción especial cuando el diagnóstico es cuestionable en la tinción de rutina. En el presente trabajo se obtuvo mediante la tinción Giemsa se encontró 27 negativos y 10 falsos positivos. Asimismo, se obtuvo 32 positivos y 31 falsos negativos.

Al comparar la tinción Giemsa con la tinción Hematoxilina – Eosina, se encontró una sensibilidad del 76% y una especificidad del 73% (24).

4.3 Conclusiones

- Con la tinción Hematoxilina – Eosina en 100 biopsias gástricas, 42 muestras se encontró la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*, de las cuales en 31 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (+); en 11 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (++) y en 58 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* (-), los resultados obtenidos con la tinción Hematoxilina –Eosina se encontraron 10 falsos negativos en el total de 100 biopsias gástricas.
- Con la tinción Giemsa en 63 muestras de 100 biopsias, se encontró la presencia de la bacteria *Helicobacter pylori*, de las cuales en 45 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (+); en 16 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (++); en solo 2 muestras se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* mediante (+++); y en 37 muestras no se encontró la bacteria *Helicobacter pylori* (-), la mayoría de casos positivos se obtuvo con la tinción Giemsa disminuyendo los falsos negativos.
- Según la patología gástrica por *Helicobacter pylori* de un total de 100 biopsias estudiadas, se encontró mayor caso en sexo femenino con 52%, según los casos reportados de las patologías gástricas por *Helicobacter pylori* en el estudio se encontró gastritis crónica atrófica con 53% siendo el tipo leve y gastritis crónica no atrófica con 47% de tipo moderado más predominante.

4.4 Recomendaciones

- De acuerdo a los resultados obtenidos recomendados para hacer más estudio de estas dos coloraciones para las patologías gástricas por *Helicobacter pylori*, siendo la tinción Giemsa más sencillo y sensible.
- Se recomienda utilizar como tamizaje la coloración Hematoxilina-Eosina para *Helicobacter pylori* por encontrar falsos negativos significativos, además por estudios realizados en casos de atrofia total de la mucosa gástrica que dificulta su estudio, tomar como segunda opción la coloración Giemsa.
- Se recomienda implementar la coloración Giemsa para identificar *Helicobacter pylori*, debido que es más sensible y sencillo de realizar.
- A si mismo se recomienda hacer más estudios sobre Giemsa, con otras patologías gástricas, también realizar protocolos específicos para esta coloración y se debe someter a un control de calidad externo para su validación de esta tinción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Batalla contra el cáncer de estómago. 2013.
2. Organización Panamericana de la Salud. Cáncer avanzada en el mundo. 2013.
3. Seguro Social de Salud. Estudio epidemiológico de distribución y frecuencia de atenciones preventivas y de morbilidad-Perú. 2010.
4. Alam HM , Hashem AG, Ragab YM, Hussein IL, Mohamed DB, et al. Evaluation of noninvasive versus invasive techniques for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2013; 21(4): 326-33.
5. Kasamatsu E, Bravo LE, Bravo JC, Aguirre J, Flores L, et al. Reproducibilidad del diagnóstico histopatológico de lesiones precursoras del carcinoma gástrico en tres países latinoamericanos. Salud Pública de México. 2010; 52(5): 386-390.
6. Yup JL, Kim N. El diagnóstico de Helicobacter pylori por invasiva prueba: la histología. Ann Transl Med. 2015; 3 (1):10.
7. Boldt M, Pereira RD, Barbosa A. Identificación histológica de H. pylori manchado por hematoxilina-eosina y Giemsa: revisión de control de calidad. J Bras Patol Med Lab. 2015; 51(2): 108-112.
8. Organización Mundial de la Salud. Cáncer. 2014.
9. Cancer.org. American cancer society. Breast Cancer Facts & Figures. Cancer.org; 2014-[actualizada el 2014; acceso 19 de Marzo del 2015]. Disponible en <http://www.cancer.org>.

10. Sgouras DN, Trang TT, Yamaoka Y. Patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2015; 20(1): 8-16.
11. Manxhuka KS, Telaku S, Devolli DE, Ahmetaj HI, Sahatciu MV, et al. *Helicobacter pylori* gastritis updated Sydney classification applied in our material. *Biol Med Sci*. 2009; 30(1): 45-60.
12. Haley KP, Gaddy JA. Metalloregulation de *Helicobacter pylori* fisiología y patogénesis. *Microbiol frontal*. 2015; 6(911): 1-14.
13. Sgouras DN, Trang TT, Yamaoka Y. Patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2015; 20(1): 8-16.
14. Louis C. Diagnóstico. *Acta Gastroenterol Latinoam*. 2014; 44(2): 21-28.
15. Mohammad K, Shamsipour F, Hossein A, Naser N D, Mohammad RP, et al. Comparision of five diagnostic methods for *Helicobacter pylori*. *IJM*. 2013; 5(4): 396-401.
16. Acuña UA, Elguero J. Histoquímica. *An. Quím*. 2012; 108(2): 114–118.
17. Vivar N. Manual de procedimientos en anatomía patológica. Roche: Quito, Ecuador. 2010.
18. Shukla SK, Prasad KN, Tripathi A, Ghoshal UC, Krishnani N, Nuzhat H. La cuantificación de gen ureC *Helicobacter pylori* y su comparación con diferentes técnicas de diagnóstico y la histopatología gástrica. *J Microbiol Methods*. 2011; 86:231–237.
19. Ministerio de Salud de Chile. Anatomía patológica para tumores malignos. 2013.
20. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Histología. Texto y atlas color con biología celular y molecular. 2013.

21. Mujawar P, Nikumb DB, Suryawans KH, Pagare PS, Surana AH. Helicobacter pylori associated gastritis in northern Maharashtra, India: A histopathological examination of the gastric mucosa biopsies. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2015; 9(6): 04-06.
22. Lazowska I, Kotowska M, Banasiuk M, Karolewaska K, Baszkiewicz A, Gawronska A, et al. Antral nodularity value for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in children. Med Sci Monit. 2015; 21 (3): 1827-1830.
23. Lozano S, Rosales A. Capacidad de la tinción de hematoxilina-Eosina para detectar y diferenciar la morfología bacteriana a partir del diagnóstico histológico de camarón. REDVET. 2014; 15(2): 1-10.
24. Ming L, Hao C, Wen C, Li Y, Yung T, Mu L, et al. Histological examination of the ulcer margin for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in patients with gastric ulcers. 2013; 17(1): 63-66.
25. Lan HC, Chen TS, Li AF, Chang L, Lin HC Additional corpus biopsy improves the detection of Helicobacter pylori infection on a background of gastritis with atrophy. BMC Gastroenterol. 2012; 12(182): 1-10.
26. Ahmad F, Jaffar R, Khan I. Helicobacter pylori detection in chronic gastritis: a comparison of staining methods. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2011; 23 (2): 112-4.
27. Mohammad K, Shamsipour F, Hossein A, Naser N D, Mohammad RP, et al. Comparison of five diagnostic methods for Helicobacter pylori. IJM. 2013; 5(4): 396-401.

28. Manxhuka KS, Telaku S, Devolli DE, Ahmetaj HI, Sahatciu MV, et al. Helicobacter pylori gastritis updated Sydney classification applied in our material. Biol Med Sci. 2009; 30(1): 45-60.
29. Carreño Y, Mercado M, Trespalacios AA, Otero W. Comparison of the enzyme immunoassay antigen test (Elisa) and urea breath test with histological methods for diagnosis of Helicobacter pylori infection: systematic literature review. Rev Col Gastroenterol. 2009; 24 (4):371-378.
30. Trujillo Cuyas J. Test de ureasa y biopsia gástrica para identificación de Helicobacter pylori. Huancayo: Universidad San Martín de Porres; 2015.
31. Prochazka R, Salazar FA, Barriga E, Salazar Cabrera F. Prevalencia de Helicobacter pylori en una Clínica Privada de Lima. Sensibilidad de las Biopsias del Antro y el Cuerpo, y la Prueba Rápida de la Ureasa. Rev. Gastroenterol. Perú. 2010; 30(1): 33-39.
32. Cruz Valle D. Aplicación de la prueba de urea para el diagnóstico de Helicobacter pylori en muestras de placa dental y biopsia gástrica de pacientes del Hospital Central de la Policía Nacional. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2009.
33. Leica. Instrucciones para el usuario. 2013.
34. Instituto Nacional de Salud. Procedimiento en el laboratorio de anatomía patológica. 2010.

ANEXO 1

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

Fecha: ____/____/2016

Código: _____

DATOS CLÍNICOS:

Edad: _____ Sexo: _____

LECTURA DE LÁMINA DE BIOPSIAS GASTRICA:

Coloración H-E para *Helicobacter pylori*: _____

Coloración Giemsa para *Helicobacter pylori*: _____

Diagnóstico patológico: _____

ANEXO Nº 2

CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

Donde:

N	:	Total de la población
Z_{α}^2	:	Nivel de Confianza (escala de 1 DE para un IC de 95% ($1,96^2$))
p	:	Proporción esperada. $p = 0,92$ (92% ¹¹)
q	:	Complemento de la proporción ($1 - p = 0,08$)
d	:	Margen de error (5% = 0,05)

Entonces Tenemos:

$$n = \frac{456 \times 1,96^2 \times 0,92 \times 0,08}{0,05^2 \times (456 - 1) + 1,96^2 \times 0,92 \times 0,08}$$

$$n = 87,8$$

$$n = 88$$

Agregando el 10% de la muestra para casos de pérdidas y/o deserciones:

$$n = 88 + 10\%(88)$$

$$n = 88 + 8,8$$

$$n = 96,8$$

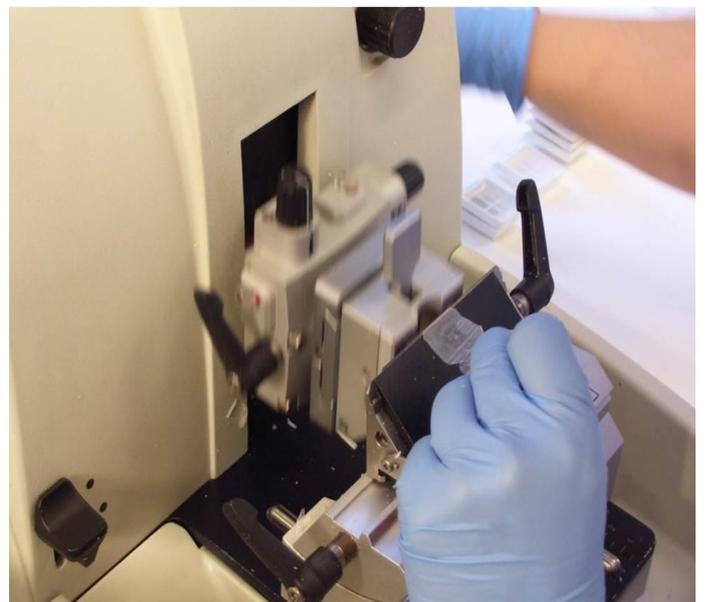
$$n = 97 \text{ sujetos de estudio}$$

ANEXO Nº 3

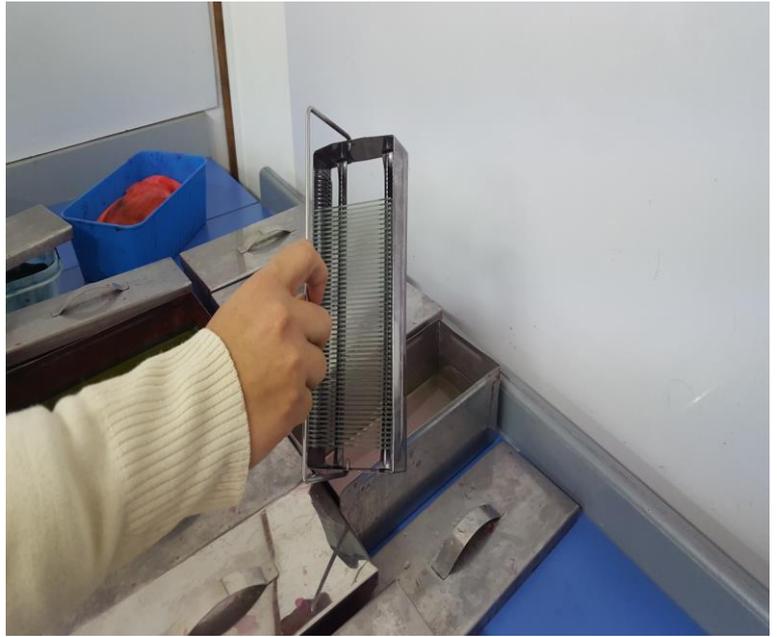
Procesador de tejidos Leica TP 1020



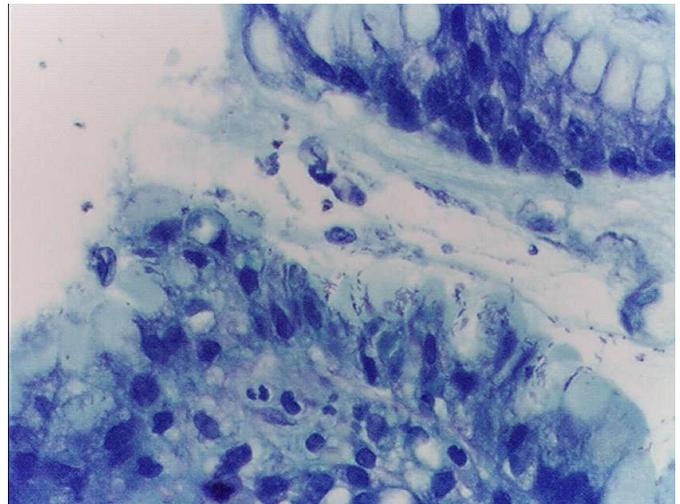
Microtomo para cortes de biopsias



**Coloracion de tejidos
Hematoxilina-Eosina
y Giemsa**



Coloración Giemsa



ANEXO N°4

Preparación de la coloración Giemsa

Eosinato azur A 0.5 gr

Eosinato azur B 2.5 gr

Eosinato azul de metileno 2.0 gr

Cloruro azul de metileno 1.0 ml

Glicerina 375.0 ml

Alcohol metílico 375.0 ml

El preparado será la solución madre, que luego se podrá completar con alcohol absoluto para un litro.



PROBLEMA DE INVESTIGACION	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION	VARIABLES DE ESTUDIO	DIMENSIONES E INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDICION	METODOLOGIA
<p>Problema General</p> <p>¿Qué diferencias existen entre las coloraciones Giemsa y Hematoxilina-Eosina en la identificación de <i>Helicobacter pylori</i> del laboratorio Diagnósis en el periodo del 2015?</p> <p>Problemas Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuánto es la frecuencia de casos positivos a <i>Helicobacter pylori</i> mediante la coloración Giemsa del laboratorio Diagnósis en el periodo del 2015? • ¿Cuánto es la frecuencia de casos positivos a <i>Helicobacter pylori</i> mediante la coloración Hematoxilina-Eosina del laboratorio Diagnósis del periodo 2015? • ¿Cuánto es la frecuencia de patologías gástricas asociadas a <i>Helicobacter pylori</i> del laboratorio Diagnósis del periodo 2015? 	<p>Objetivo General</p> <p>Conocer las diferencias que existen entre las coloraciones Giemsa y Hematoxilina-Eosina en la identificación de <i>Helicobacter pylori</i> del laboratorio Diagnósis del periodo de diciembre del 2015.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <p>Determinar la frecuencia de casos positivos a <i>Helicobacter pylori</i> mediante la coloración Giemsa del laboratorio Diagnósis del periodo de diciembre del 2015.</p> <ul style="list-style-type: none"> •Determinar la frecuencia de casos positivos a <i>Helicobacter pylori</i> mediante la coloración Hematoxilina-Eosina del laboratorio Diagnósis del periodo de diciembre del 2015. •Determinar la frecuencia de patologías gástricas asociadas a <i>Helicobacter pylori</i> del laboratorio Diagnósis del periodo de diciembre del 2015. 	<p>V.PRINCIPAL</p> <p><i>Helicobacter pylori</i></p> <p>V.SECUNDARIAS</p> <p>Casos positivos a <i>Helicobacter pylori</i> mediante coloración Giemsa.</p> <p>Casos positivos a <i>Helicobacter pylori</i> mediante la coloración Hematoxilina-Eosina.</p> <p>Patologías gástricas</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Negativo •+ •++ •+++ <ul style="list-style-type: none"> • + • ++ • +++ <ul style="list-style-type: none"> • + • ++ • +++ <ul style="list-style-type: none"> • <i>Helicobacter pylori</i>, presente o ausente • Gastritis aguda y crónica • Gastritis antral no atrófica • Gastritis atrófica multifocal 	<p>Coloración Giemsa y Hematoxilina Eosina</p> <p>Coloración Giemsa</p> <p>Coloración Hematoxilina Eosina</p> <p>Reporte de anatomía patológica.</p>	<p>Diseño del Estudio</p> <p>Se realizó un estudio de tipo descriptivo, de diseño transversal</p> <p>Población:</p> <p>Todas las muestras (456) de biopsia gástrica que llegaron al laboratorio Diagnósis S.A.C de Lima, Perú; durante el mes de diciembre del 2015.</p> <p>Muestra:</p> <p>Se pretende estudiar a un mínimo de 100 biopsia gástrica y donde se empleará la técnica de muestreo no probabilístico, por conveniencia.</p>

