



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN
GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE
HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN
EL HOSPITAL IESS AMBATO”.**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Autora: Vásconez Nuela, Diana Carolina

Tutora: Dra. Lozada Núñez, Pride Janet

Ambato – Ecuador

Julio 2017

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el tema:

“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL IESS AMBATO”, de Vásconez Nuela Diana Carolina, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Mayo del 2017

LA TUTORA

.....
Dra. Lozada Núñez, Pride Janet

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Criterios emitidos en el proyecto de investigación **“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL IESS AMBATO”**, contenidos ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora del trabajo.

Ambato, Mayo del 2017

LA AUTORA

.....

Vásconez Nuela, Diana Carolina

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Mayo del 2017

LA AUTORA

.....

Vásconez Nuela, Diana Carolina

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe del Proyecto de Investigación, sobre el tema **“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL IESS AMBATO”** de Vásquez Nuela Diana Carolina, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Julio del 2017

Para constancia firman

.....
PRESIDENTE/A

.....
1er VOCAL

.....
2do VOCAL

DEDICATORIA

Dedico este Proyecto de Investigación, fruto de todo mi esfuerzo a mis Padres por el apoyo incondicional que siempre me han brindado, confiando en mi capacidad y esmero de estudio, por haber inculcado en mi valores éticos y morales que han fortalecido mi personalidad. Y sobre todo por ser un ejemplo para salir adelante.

A mi hermano por su apoyo, compañía y confianza.

Diana

AGRADECIMIENTO

De manera especial quiero agradecer:

A Dios por brindarme sabiduría y fortaleza para tomar decisiones, alcanzar mis objetivos y poder ayudar al prójimo.

A mis Padres por su amor, por creer en mí, por su esfuerzo y sacrificio para que yo pueda estudiar y alcanzar mi meta.

A la Dra. Janet Lozada por orientarme y fortalecer en mí la investigación científica para culminar este trabajo de investigación, pero sobre todo por su paciencia y aprecio.

Al Hospital IESS Ambato por darme la oportunidad de realizar mi proyecto de investigación, al personal del Servicio de Patología y sobre todo a la Dra. Glenda García.

A los Docentes de la Universidad Técnica de Ambato que me impartieron sus conocimientos para poder crecer como persona y profesional de la Salud.

A Profesionales y Amigos que me brindaron su apoyo desinteresadamente para poder terminar este Proyecto Investigativo.

Diana

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN.....	xvii
SUMMARY	xix
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	
1.1 Tema:.....	3
1.2 Planteamiento del Problema:	3
1.2.1 Contextualización.....	3
1.2.2 Formulación del Problema	6
1.3 Justificación.....	7
1.4 Objetivos.....	7

CAPÍTULO II.....9

MARCO TEÓRICO

2.1	Estado del Arte	9
2.2	Fundamento Teórico.....	11
2.2.1	Descripción <i>Helicobacter pylori</i>	11
2.2.1.1	Etiología y Estructura	12
2.2.1.2	Modo de Transmisión.....	12
2.2.1.3	Fisiopatología	13
2.2.2	Patologías relacionadas con <i>Helicobacter pylori</i>	14
2.2.2.1	Gastritis.....	14
2.2.2.2	Úlcera Péptica.....	15
2.2.2.3	Cáncer Gástrico	16
2.2.3	Diagnóstico	17
2.2.3.1	Métodos Indirectos o No invasores	17
2.2.3.2	Métodos Directos o Invasores	18
2.2.4	Técnicas Histopatológicas.....	19
2.2.4.1	Obtención de la Muestra.....	19
2.2.4.2	Biopsia Gástrica.....	20
2.2.4.3	Fijación de las Muestras.....	20

2.2.4.4	Deshidratación.....	20
2.2.4.5	Aclaración.....	21
2.2.4.6	Inclusión en Parafina	21
2.2.4.7	Formación del Bloque de Parafina	22
2.2.4.8	Corte	22
2.2.4.9	Flotación.....	22
2.2.4.10	Coloración	22
2.2.4.11	Montaje.....	23
2.2.5	Técnicas Histoquímicas	23
2.2.5.1	Clasificación de las Coloraciones.....	23
2.2.5.2	Clasificación de Colorante	25
2.2.5.3	Coloración Warthin Starry	26
2.2.5.4	Coloración Giemsa	27
2.3	Hipótesis	28
2.4	Señalamiento de las Variables de la Hipótesis	28
CAPÍTULO III.....		29
MARCO METODOLÓGICO		
3.1	Nivel y Tipo de Investigación	29
3.1.1	Tipo de Investigación.....	29

3.1.2	Modalidad de la Investigación	29
3.2	Selección del Área o Ámbito de Estudio.....	30
3.3	Población	30
3.4	Operacionalización de Variables.....	32
3.4.1	Operacionalización de la variable independiente.....	32
3.4.2	Operacionalización de la variable dependiente.....	33
3.5	Descripción de la Intervención y Procedimientos para la Recolección de Información	34
3.5.1	Recolección de Información	34
3.5.2	Información de Campo.....	34
3.5.3	Descripción de Procedimientos, Métodos y Técnicas.....	35
3.5.3.1	Procesamiento de las Muestras.....	35
3.6	Aspectos Éticos	37
CAPÍTULO IV		38
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS		
4.1	Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Muestras de Biopsias Gástricas.	38
4.1.1	Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> por Género.....	39
4.1.2	Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> por Grupo de Edad	39
4.2	Identificación de <i>Helicobacter pylori</i> en Muestras de Biopsias Gástricas.....	40

4.2.1	Positividad y Negatividad de los Métodos de Coloración Giemsa y Warthin Starry.....	40
4.2.2	Positividad por cruces de los Métodos de Coloración Giemsa y Warthin Starry.....	41
4.2.3	Comparación de Métodos de Coloración.....	42
4.3	Verificación de la Hipótesis	43
4.3.1	Planteamiento de la Hipótesis	43
4.3.2	Estimador Estadístico.....	44
4.3.3	Valor Tabular Crítico de Chi Cuadrado	44
4.3.4	Regla de Decisión	45
CAPÍTULO V.....		48
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		
5.1	Conclusiones.....	48
5.2	Recomendaciones	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		50
BIBLIOGRAFÍA.....		50
LINKOGRAFÍA.....		53
CITAS BIBLIOGRÁFICAS-BASE DE DATOS UTA		58
ANEXOS		59
	ANEXO 1: Aprobación de Consejo Directivo	60

ANEXO 2: Aprobación del Hospital IESS Ambato.....	61
ANEXO 3: Técnicas de Coloración	62
ANEXO 4: Registro de Resultados	64
ANEXO 5: Fotografías.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Variable Independiente	32
TABLA 2: Variable Dependiente	37
TABLA 3: Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> por género en muestras de biopsias gástricas en el Hospital IESS Ambato.	39
TABLA 4: Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> por Grupo de Edad de acuerdo a los grupos etarios de la OMS.....	39
TABLA 5: Porcentajes de positividad y negatividad de los Métodos de Coloración... 40	
TABLA 6: Resultados Positivos por Cruces (+), de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry.....	41
TABLA 7: Comparación de Métodos de Coloración.	42
TABLA 8: Indicadores de los Métodos de Coloración.....	43
TABLA 9: Tabla de contingencia GIEMSA * WARTHIN STARRY	45
TABLA 10: Prueba de Chi Cuadrado	46

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1: Comprobación de Chi Cuadrado	46
ILUSTRACIÓN 2: Bloques de Parafina.....	66
ILUSTRACIÓN 3: Congelación de los bloques de parafina	66
ILUSTRACIÓN 4: Microtomía	67
ILUSTRACIÓN 5: Microtomía	67
ILUSTRACIÓN 6: Ubicación del Corte en Baño de Flotación.....	68
ILUSTRACIÓN 7: Pesca de la Muestra	68
ILUSTRACIÓN 8: Desparafinización.....	69
ILUSTRACIÓN 9: Paso de las Muestras por Alcohol	69
ILUSTRACIÓN 10: Reactivos de Warthin Starry.....	70
ILUSTRACIÓN 11: Mezcla de Reactivos.....	70
ILUSTRACIÓN 12: Coloración Warthin Starry	71
ILUSTRACIÓN 13: Reactivo Giemsa.....	71
ILUSTRACIÓN 14: Coloración Giemsa	72
ILUSTRACIÓN 15: Paso de las Muestras por Neoclear.....	72
ILUSTRACIÓN 16: Codificación de las Placas Histopatológicas	73
ILUSTRACIÓN 17: Organización de las Placas Histopatológicas	73
ILUSTRACIÓN 18: Lectura de Placas Histopatológicas	74

ILUSTRACIÓN 19: Comparación de Coloraciones.....	74
ILUSTRACIÓN 20: Coloración Warthin Starry	75
ILUSTRACIÓN 21: Coloración Giemsa	75

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN
GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE
HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN
EL HOSPITAL IESS AMBATO”.**

Autora: Vásconez Nuela, Diana Carolina

Tutora: Dra. Lozada Núñez, Pride Janet

Fecha: Mayo del 2017

RESUMEN

El presente Proyecto de Investigación se realizó con el objetivo de comparar los resultados obtenidos con el método de coloración Giemsa y Warthin Starry en la identificación de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas en el Hospital IESS Ambato, considerando que su identificación temprana puede prevenir el desarrollo de complicaciones a nivel gastrointestinal que pueden llegar a ser irreversibles. Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo con una modalidad transversal y de campo, con 50 muestras de biopsias gástricas de pacientes menores a 65 años que acudieron al área de gastroenterología para la realización de endoscopias altas en el período Enero-Junio del 2016, teniendo como resultados que del total de la muestra el 36% resultaron positivas a la identificación de *Helicobacter pylori*, mientras que el 64% resultaron negativas aplicando el método de coloración Giemsa, mientras que con el método de coloración Warthin Starry, el 60% resultaron positivas y el 40% resultaron negativas a la identificación del microorganismo. Donde de las 30 pruebas confirmadas con *Helicobacter pylori*, el 60% fueron identificadas por el

método de coloración Giemsa, mientras que el 100% se identificaron con el método de coloración Warthin Starry, estableciendo a este último como el más confiable y como el método de coloración de rutina para la identificación de este microorganismo que se encuentra relacionado con lesiones de la mucosa gástrica con riesgo de desarrollar lesiones y condiciones pre malignas.

PALABRAS CLAVES: HELICOBACTER_PYLORI, BIOPSIA_GÁSTRICA, ESTÓMAGO, COLORACIÓN_GIEMSA, COLORACIÓN_WARTHIN_STARRY.

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CLINICAL LABORATORY CAREER

"COMPARATIVE STUDY BETWEEN THE GIEMSA AND WARTHIN STARRY STAINING METHOD FOR THE IDENTIFICATION OF HELICOBACTER PYLORI IN GASTRIC BIOPSY SAMPLES AT HOSPITAL IESS AMBATO".

Author: Vásconez Nuela, Diana Carolina

Tutor: Dra. Lozada Núñez, Pride Janet

Date: May, 2017

SUMMARY

The present research project was carried out with the objective of comparing the results obtained with the Giemsa and Warthin Starry staining method in the identification of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples at IESS Ambato Hospital, considering that their early identification may prevent the development of gastrointestinal complications that may become irreversible. A retrospective, descriptive study with a cross-sectional and field study was carried out, with 50 gastric biopsy samples from patients younger than 65 years old who went to the gastroenterology area to perform high endoscopies in the period of January-June 2016, that of the total of the sample, the 36% were positive to the identification of *Helicobacter pylori*, while 64% were negative using the method of Giemsa staining method, whereas with Warthin Starry staining method, the 60% were positive and the 40% were negative to the identification of the microorganism. Where of the 30 tests confirmed with *Helicobacter pylori*, 60% were identified by the Giemsa staining method, while 100% were identified with the Warthin Starry staining method, establishing the last as the most reliable and as the routine staining method for the

identification of this microorganism that is related with lesions of the gastric mucosa with risk of developing lesions and pre-malignant conditions.

KEYWORDS: HELICOBACTER_PYLORI, GASTRIC_BIOPSY, STOMACH, GIEMSA _STAINING, WARTHIN_STARRY_STAINING.

INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* es una bacteria patógena gram negativa de forma espiral y móvil. Su estudio inició desde 1983 por Warren y Marshall en muestras de biopsias de antro en agar chocolate e incubado a condiciones microaerofílicas. Es importante reconocer que la presencia de *Helicobacter pylori* en el tracto gastrointestinal se encuentra relacionado con diferentes patologías gastrointestinales. Es el principal causante de daño gástrico y duodenal progresivo. (1)

Los métodos utilizados para la detección de *Helicobacter pylori* son invasivos y no invasivos. Dentro de los invasivos se encuentra el estudio Histopatológico en muestras de biopsias gástricas, existen numerosas coloraciones propuestas para el estudio de este microorganismo: Giemsa, Hematoxilina-Eosina, Alcian Blue, PAS y Warthin Starry. (6)

El Método de coloración Giemsa 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. (6)(9)

Warthin Starry es un método de coloración basado en nitrato de plata y utilizado para la identificación de Espiroquetas y microsporidias. Se puede observar al *Helicobacter pylori* como un bacilo curvo de color negro con un fondo amarillo que corresponde a las células del epitelio gástrico. (9)

La Organización Mundial de la Salud reportó que alrededor del 50% de la población mundial presenta una infección ocasionada por esta bacteria que se encuentra relacionada con diferentes patologías gastrointestinales como gastritis crónica, enfermedad ácido péptica, el cáncer gástrico y el linfoma gástrico tipo MALT.

En Ecuador, de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) la prevalencia de una infección ocasionada por esta bacteria es de más del 50% de la

población, Dentro de la provincia de Tungurahua no se han reportado estadísticas totales de los casos de infección por *Helicobacter pylori*, sin embargo de acuerdo con la Sociedad Oncológica de Lucha contra el Cáncer (SOLCA) Tungurahua, se encuentra en segundo lugar en cuanto al cáncer gástrico. (5)

La finalidad de este Proyecto de Investigación fue facilitar la visualización e identificación del microorganismo al médico patólogo, para disminuir el tiempo promedio de espera de los pacientes con respecto a la entrega de sus resultados, teniendo en cuenta que la identificación de *Helicobacter pylori* es la base fundamental para la búsqueda de alternativas terapéuticas para lograr su erradicación.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA:

“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI* EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS”.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN

1.2.1.1 MACRO

Estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), para determinar la incidencia de las infecciones por *Helicobacter pylori*, muestran que más del 70%-80% de la población latinoamericana presenta infecciones por esta bacteria, principal causante de daño gástrico y duodenal progresivo. El *Helicobacter pylori* es una bacteria patógena relacionada de forma directa con el desarrollo de la enfermedad gastroduodenal como gastritis crónica, enfermedad de úlcera péptica y el cáncer gástrico, que constituye la segunda causa de muerte por cáncer. (1) (2)

Se adquiere mayoritariamente en la infancia y se presenta con menor frecuencia en países desarrollados (20% - 40%) y con mayor frecuencia en países que se encuentran en desarrollo (hasta 90%). Existen varios métodos diagnósticos para determinar la presencia de *Helicobacter pylori*, los invasivos o directos y no invasivos o indirectos.

Dentro de los invasivos se encuentra el estudio Histopatológico en muestras de biopsias gástricas, considerado en la actualidad como el estándar de oro. (3)

Los métodos de referencia para su diagnóstico son el cultivo y la tinción histopatológica; existen numerosas coloraciones propuestas para el estudio de este microorganismo: Hematoxilina-Eosina, Giemsa, Gallyas, Alcian Blue, PAS, Naranja de acridina, Alcian-Yellow y Warthin Starry. Estudios realizados en diferentes países de Latinoamérica dieron como resultado, que el método de coloración más utilizado es Giemsa y Hematoxilina-Eosina. (3) (4)

Rodríguez, Boris en Cuba demostró la necesidad de implementar un método complementario para realizar el diagnóstico morfológico de *Helicobacter pylori* mediante biopsia gástrica. Las técnicas utilizadas fueron hematoxilina- eosina papanicolaou, gram, safranina, giemsa y warthin starry. (5)

Para evaluar los resultados de las diferentes técnicas de coloración se tuvo en cuenta: nitidez, contraste, monotonía, costo, tiempo y posibilidad de realizar el diagnóstico de malignidad en la misma lámina. Todas las técnicas de coloración utilizadas permitieron visualizar a la bacteria, sin embargo warthin starry fue la técnica de elección porque proporcionó mayor contraste, resaltó la morfología de *Helicobacter pylori*, a pesar de la cantidad de moco que se presente. (5) (6)

Investigaciones realizadas en México y Colombia para la identificación de esta bacteria concluyen que el método de coloración Giemsa es el más útil por su rapidez y bajo costo, sin embargo estudios comparativos realizados en Costa Rica demuestran que la tinción Warthin Starry es más específica y sensible, a pesar del tiempo y personal técnico especializado requerido. (7) (8) (9)

1.2.1.2 MESO

En Ecuador la infección por *Helicobacter pylori* constituye un problema de salud importante ya que puede estar relacionada con carcinogénesis gástrica, de acuerdo

con el INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2010) su prevalencia es de más del 50% de la población. En el Hospital Metropolitano de Quito se atienden anualmente 400 casos de pacientes ejecutivos con esta infección. (10)

Una investigación realizada para conocer la prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* y su asociación con patologías gástricas ha demostrado desde hace varios años la relación directa de la infección con la presencia de gastritis, tanto desde el punto de vista clínico como histopatológico. Este estudio confirmó investigaciones previas, debido a que el *Helicobacter pylori* se relaciona directamente con la presencia de gastritis, especialmente la de tipo crónica inactiva o leve, es decir que en su mayoría habita en la mucosa gástrica de manera latente. (11)

En un reporte de la Sociedad Oncológica de Lucha contra el Cáncer (SOLCA) Quito, indicó que la frecuencia de pacientes con cáncer gástrico es del 38% - 48%. En el 2011, Guzmán Nelly realizó un estudio en la ciudad de Cuenca, en el que determinó que la prevalencia de la infección por esta bacteria es del 75% de la población, en el que además se analizó las variables socio-económicas, las condiciones de salud y formas de transmisión. (12)

En el 2011, la Unidad de Gastroenterología del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo implementó un plan piloto para conocer la eficacia en la identificación de esta bacteria, debido al porcentaje de pacientes que lo presentaba, tomando en cuenta la densidad de los bacilos colonizando la mucosa gástrica, la experiencia del observador, el tamaño y número de biopsias y la calidad de la tinción. (13)

1.2.1.3 MICRO

Dentro de la Provincia de Tungurahua no cuenta con estadísticas totales sobre los casos de infección por *Helicobacter pylori*, sin embargo se encuentra en el segundo lugar en cuanto al cáncer gástrico. Las instituciones como el Hospital Provincial Ambato, el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Ambato y la Sociedad Oncológica de Lucha contra el Cáncer (SOLCA) Tungurahua muestran

que los métodos de identificación histopatológica son costosos, sin embargo dentro de su requisición la coloración Giemsa y Hematoxilina-Eosina son las más utilizadas, ya que con Giemsa se puede ver directamente al microorganismo y con HE el grado de lesión de la mucosa gástrica. En estas instituciones no existen estudios comparativos de las tinciones para identificar *Helicobacter pylori*, por lo que no cuentan con un método opcional de identificación. (14)

Una investigación realizada en el Hospital IESS Ambato estableció que las tinciones giemsa y hematoxilina-eosina tienen una sensibilidad de 78% y 70% respectivamente, estableciendo la presencia de *Helicobacter pylori* en los pacientes provoca lesiones a nivel de la mucosa gástrica con riesgo aumentado de presentar lesiones y condiciones pre malignas y malignas del estómago. (15)

En el Hospital IESS Ambato existe una prevalencia del 60% - 70% anual de pacientes con una infección por *Helicobacter pylori*, su estudio Histopatológico se realiza en base al método de coloración Giemsa y Hematoxilina-Eosina. Los hallazgos de esta investigación potencialmente proporcionaron a esta institución de un método alternativo de identificación de esta bacteria, ya que el fin es encontrar pruebas diagnósticas confiables para el posterior tratamiento o erradicación de esta bacteria e impedir su predisposición para el desarrollo de otras enfermedades.

1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿La aplicación de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry permiten identificar *Helicobacter pylori* en biopsias de muestras gástricas del Hospital IESS Ambato?

- **Variable Independiente:** Método de coloración Giemsa y Warthin Starry
- **Variable Dependiente:** Identificación de *Helicobacter pylori*

1.3 JUSTIFICACIÓN

La infección por *Helicobacter pylori* es un problema de salud importante. Estudios realizados por la OMS indican que más del 50% de la población mundial presenta una infección por este microorganismo. En Ecuador la infección por *Helicobacter pylori* es un problema de salud importante, ya que de acuerdo con el INEC su prevalencia es de más del 50% de la población. Dentro de la Provincia de Tungurahua no existen estadísticas totales sobre los casos de infección por *Helicobacter pylori*, sin embargo se encuentra en el segundo lugar en cuanto al cáncer gástrico de acuerdo a SOLCA Tungurahua.

Su identificación temprana previene este tipo de complicaciones que pueden llegar a ser irreversibles. La tinción Giemsa es útil para visualizar al microorganismo, presenta una buena sensibilidad pero carece de especificidad, razón por la que se remarca la necesidad de utilizar otras tinciones complementarias. La tinción Warthin Starry constituye un método alternativo, ya que se puede observar de forma directa al bacilo, de color negro con un fondo amarillo, además de presentar una buena sensibilidad y especificidad.

En consideración con lo anteriormente expuesto, se realizó esta investigación para comparar de manera científica dos métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry para la identificación de *Helicobacter pylori*, siendo este proyecto de investigación el primero en evidenciar la prevalencia de este microorganismo en el estudio de muestras de biopsias gástricas.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar los resultados obtenidos entre el método de coloración Giemsa y Warthin Starry en la identificación de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Ambato.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Ambato.
- Evaluar los procedimientos y resultados en la aplicación de las técnicas de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry.
- Proponer un método de coloración de rutina y complementario para la identificación de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas.
- Determinar los indicadores de desempeño de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry en muestras de biopsias gástricas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ESTADO DEL ARTE

El *Helicobacter pylori* es el agente etiológico de ciertas patologías, que pueden causar infecciones persistentes en el tracto gastrointestinal. Se han realizado varias investigaciones en relación a su diagnóstico histopatológico en las que se han empleado métodos de coloraciones diferentes. (16)

Gisbert Javier, (2014), describe que esta bacteria es la principal causante de la enfermedad ulcerosa gastroduodenal, además de ser un cofactor importante en el desarrollo de adenocarcinoma y linfoma gástrico, por lo que su identificación es necesaria para su posterior tratamiento, clasificando los métodos de detección en directos e indirectos.(17)

Marín Rita y col., (2010), señalan que los métodos utilizados para la detección de *H. pylori* se basan en la identificación de los microorganismos con apropiada morfología, localización y características de las tinciones en muestras de mucosa gástrica. Las biopsias gástricas teñidas con hematoxilina-eosina y gram, la bacteria se observa muy borrosa y puede ser enmascarada por la presencia de moco superficial. (9)

La tinción Giménez es un método que utiliza fucsina carbólica con verde de malaquita como tinción de contraste, las bacterias se tiñeron de color fucsia contra un fondo azul verdoso. Por el otro lado, con la tinción Warthin Starry se observan bacilos curvos de color negro contra un fondo amarillo. Los microorganismos

parecen más largos que con las otras tinciones y pueden ser vistos a baja magnificación, además de presentar una sensibilidad de 97% y una especificidad de 85%. (9) (18)

Los resultados de la investigación realizada por Giugni Cristina y col., (2010), demuestran que las tinciones Hematoxilina-Eosina, Alcian Blue, Gram, PAS y Brown-Hopps presentan una buena sensibilidad, sin embargo se observa a la bacteria coloreada débilmente, mientras que con la tinción Warthin Starry la bacteria se observa de una forma clara y bien definida, debido a que la plata, componente principal de la tinción, precipita sobre la membrana de la bacteria, dándole una apariencia más gruesa y más fácil de identificar. (6)

El informe expuesto de la investigación de Minaño Cesar, (2014), indica que la tinción Warthin Starry basada en nitrato de plata, es el patrón de oro para evidenciar el bacilo *Helicobacter pylori*, sin embargo también se puede visualizar al microorganismo con las otras tinciones habituales como Giemsa y Hematoxilina-Eosina, las cuales son menos sensibles. La sensibilidad y la especificidad que presenta la tinción Warthin Starry son del 98% independientemente del método de fijación de muestras de biopsias gástricas utilizado. (4) (6)

De acuerdo con Martínez Ludmila y col., (2015), la visualización del microorganismo en biopsias gástricas es un método sencillo de realizar para diagnosticar una infección por *Helicobacter pylori*, además de proporcionar la ventaja de observar directamente si existen o no cambios en la mucosa gástrica, comprando varias tinciones. (19) (20)

La coloración Hematoxilina-Eosina es fácil de realizar ahorrando costos y reactivo, sin embargo la principal desventaja es que debe existir una densidad de colonias considerable del microorganismo para poder observarlo y no confundirlo entre las células y la mucosa gástrica. La coloración Giemsa es útil para la identificación del microorganismo presentó una alta sensibilidad en la investigación pero careció de especificidad. La utilización de la tinción Warthin Starry fue complicada debido a la experiencia y tiempo que requiere su aplicación, sin embargo es un método de

coloración muy útil para la observación de espiroqueta por su alta sensibilidad y especificidad que presentó. (20) (21)

Los resultados del estudio histopatológico y el cultivo del microorganismo realizado a 50 muestras de biopsias gástricas de Vizcaíno A., (2014), demostraron la relación directa que existe entre estos dos métodos para identificar al microorganismo, 43 muestras dieron positivo a la presencia de *Helicobacter pylori* y 7 muestras fueron negativo a la presencia del microorganismo, relacionándose con los valores predictivos. El método de coloración utilizado en el estudio histopatológico fue Warthin Starry, que permitió observar con claridad al *Helicobacter pylori*, tiñéndole de color negro, lo que facilita su identificación. En cuanto al cultivo del microorganismo presentó una sensibilidad y especificidad de 100%, que puede realizarse en medios no selectivos enriquecidos (Agar nutritivo). (22) (23)

2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO

2.2.1 DESCRIPCIÓN DE *Helicobacter pylori*

La infección por *Helicobacter 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. (24)

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*. (25)

2.2.1.1 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. (26)

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. (27)

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 PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). (14) (23)

2.2.1.2 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. (28)

2.2.1.3 Fisiopatología

Helicobacter 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 *Helicobacter 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. (24) (29)

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. (30)

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 Polimorfosnucleares 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 irreversibles. (31)

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. (32)

2.2.2 PATOLOGÍAS RELACIONADAS CON *Helicobacter pylori*

2.2.2.1 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 adenocarcinomas (32). Es multifactorial, es decir etiológicamente puede generarse por diversos factores como el consumo recurrente de alcohol, tabaquismo y radiaciones, sin embargo el *Helicobacter 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 (33).

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. (2)

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 a 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 *Helicobacter 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. (34)

2.2.2.2 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 alto (35).

Esta patología está asociada a diversos factores, pero la principal relación que guarda es con la infección por el bacilo *Helicobacter 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. (36)

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 alimento. (37)

2.2.2.3 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). (34)

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 *Helicobacter 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. (38)

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. (39) (40)

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 o Linfoma de tejido linfoide asociado a Mucosa que es una neoplasia que generalmente se encuentra constituido por células linfocíticas de tipo B, que infiltran las glándulas gástricas y forman lesiones linfoepiteliales (41).

2.2.3 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. (42)

2.2.3.1 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. (16)

➤ Prueba del aliento o urea en aire espirado

Esta prueba está basada en la actividad de la ureasa que presenta el *Helicobacter 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

Las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico de *Helicobacter 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, inmunofluorescencia, 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.

2.2.3.2 Métodos Directos o Invasores

Se basan en la identificación directa de la bacteria mediante el análisis de muestras de biopsia gástrica. (43)

➤ **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.

➤ **Cultivo**

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.

➤ **Histopatología**

El estudio histopatológico de las muestras de biopsias gástricas es considerado como la Prueba Goldstandar para definir la presencia o la ausencia de *Helicobacter pylori*, además de determinar el grado de daño hístico 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 hematoxilina-eosina, Warthin-Starry con nitrato de plata, tinción con azul de metileno y giemsa (44). 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.

2.2.4 TÉCNICAS HISTOPATOLÓGICAS

Son un conjunto de procedimientos a seguir, útiles para la obtención de muestras histológicas aptas para su estudio, mediante microscopía óptica (45).

2.2.4.1 Obtención de la Muestra

- **Biopsia:** consiste en adquirir un trozo de tejido de un ser vivo.
- **Necropsia:** es el procedimiento utilizado para extraer material de un cadáver
- **Autopsia:** consiste en el estudio macroscópico y microscópico de los órganos, aparatos y sistemas de un cadáver, para establecer causas de muerte.

2.2.4.2 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 un fragmento de tejido o material histológico para su posterior análisis.

2.2.4.3 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 material. (31)

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 7.4. (31)

2.2.4.4 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 agua. (21)

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 estudiar. (46)

2.2.4.5 Aclaración

La aclaración o diafanización 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 tejido. (21)

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 transparentes. (47)

2.2.4.6 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. (48)

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 tejidos. (48)

2.2.4.7 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 tejido. (48).

2.2.4.8 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 portabloques 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 espesor. (49)

2.2.4.9 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 huevo. (50)

2.2.4.10 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 neutros. (47)

2.2.4.11 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 Permunt. Tras este procedimiento están listos para su observación microscópica. (50)

2.2.5 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. (51)

2.2.5.1 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.

- **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. La muestra histopatológica 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.

2.2.5.2 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 concede, 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, leishman, 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. (31)

2.2.5.3 Coloración Warthin Starry

La tinción de Warthin-Starry (WS) es un método de tinción que está basado en nitrato de plata (una tinción de plata) usado en histopatología. Fue introducido por primera vez en 1920 por los patólogos estadounidenses Aldred Scott Warthin (1866-1931) y Allen Chronister Starry (1890-1973), para la identificación de espiroquetas.

El nitrato de plata tiñe la Región organizadora Nucleolar (NOR por sus siglas en inglés) asociada a proteínas. Esto provoca una región oscura donde la plata se deposita, denotando la actividad de los genes de ARNr dentro de la NOR. Tiñe los

microorganismos de color marrón oscuro o negro con un fondo marrón dorado o amarillo dorado. (6)

Es considerado la mejor técnica de coloración para la detección de espiroquetas, *Helicobacter pylori*, *Lawsonia intracellularis* y *Microsporidia*, debido a que la plata precipita sobre la membrana de los microorganismos, haciéndola parecer más gruesa y más fácil de identificar, además existe un claro contraste entre el ennegrecimiento de los bacilos y el amarillo-dorado de la mucina y células epiteliales. (6)

La aplicación del método de coloración Warthin Starry puede variar de acuerdo a la casa comercial que indica la preparación del reactivo o a las normas internas del laboratorio de Histopatología. (53)

2.2.5.4 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). (34)

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. (48)

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. (24) (34)

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 descompensada. (55)

2.3 HIPÓTESIS

Los resultados obtenidos a través del método de coloración Giemsa difieren de los resultados obtenidos por el método de coloración Warthin Starry para la identificación de *Helicobacter pylori*.

2.4 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

Variable Dependiente: Identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias de muestras gástricas.

Variable Independiente: Métodos de coloración (Giemsa y Warthin Starry).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es una investigación retrospectiva, porque se realizó en muestras de biopsias gástricas que se encuentran archivadas en el Servicio de Patología del Hospital IESS Ambato, referentes al periodo Enero-Junio del 2016. Presentó un enfoque predominantemente cualitativo, debido a que durante el proceso riguroso y sistémico de investigación, se confirmó la infección por *Helicobacter pylori*.

3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación fue descriptiva porque se detallaron los datos y características de los dos métodos de coloración y explicativa porque mediante un estudio altamente estructurado se comprobó la hipótesis planteada al problema de investigación.

3.1.2 MODALIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

Presentó una modalidad transversal, porque las coloraciones se realizaron en muestras de biopsias gástricas, que formaron parte del período de tiempo seleccionado de acuerdo a las condiciones de conservación en la que se encuentran los bloques de parafina, que posteriormente fueron procesadas en el Laboratorio de Patología del Hospital IESS Ambato.

De campo, porque la información se obtuvo directamente de las Historias Clínicas y de los archivos del Laboratorio de Patología para obtener resultados que ayudaron a solucionar el problema de la investigación.

Documental-bibliográfica porque se utilizó información científica de libros, artículos, revistas y publicaciones con el propósito de ampliar y profundizar las diferentes teorías, enfoques y conceptualizaciones del tema de investigación.

3.2 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

Delimitación Espacial: La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Patología del Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Ambato, Provincia de Tungurahua. Se encuentra localizado en el Sector de Atocha en la Avenida Los Capulíes.

Área: Tinciones Histopatológicas.

3.3 POBLACIÓN

La población considerada fue de 50 muestras de biopsias gástricas de pacientes que acudieron al servicio de gastroenterología del Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social Ambato, para la realización de endoscopias altas, y que fueron enviadas al Laboratorio de Patología de la misma institución, en el periodo Enero-Junio del 2016.

Criterios de Inclusión:

- Muestras de biopsias gástricas de pacientes menores a 64 años, que resultaron positivas y negativas a la identificación de *Helicobacter pylori* con el método de coloración Giemsa.

- Muestras de biopsias gástricas de pacientes menores a 64 años, que resultaron positivas y negativas con el método de coloración Giemsa, y que se realizaron *Helicobacter pylori* en heces para confirmar.
- Muestras de biopsias gástricas, que fueron diagnosticadas con Gastritis atrófica activa folicular, Metaplasia Intestinal Completa e Incompleta.

Criterios de Exclusión:

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

DISEÑO MUESTRAL

El tipo de muestreo que se utilizó en el proyecto de investigación fue probabilístico por conglomerados, basados en características específicas. La muestra estudiada es finita de 50 pacientes objeto de estudio, a los cuales se los dividió en grupos etarios de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud:

(n: no proporcional)

- Adolescentes: 12-19 años de edad
- Adultos Jóvenes: 20-40 años de edad
- Adultos: 41-64 años de edad
- Adultos Mayores: > 65 años de edad.

3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.4.1 Operacionalización de la variable independiente: Métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry.

TABLA 1: Variable Independiente

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICA	INSTRUMENTO
<p>Giemsa: método de coloración formada por varios colorantes: azul de metileno, azul A, B, C y eosina, lo que da una amplia gama de colores.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Giemsa 	<ul style="list-style-type: none"> • El azul de metileno tiñe los componentes de la membrana celular. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilo incurvado de color azul 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica de coloración de la casa comercial MK 	<ul style="list-style-type: none"> • Cuaderno de notas. • Lista de cotejo
<p>Warthin Starry: método de coloración basado en nitrato de plata que reacciona con las proteínas de la membrana celular.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Warthin Starry 	<ul style="list-style-type: none"> • El nitrato de plata precipita sobre la membrana celular haciéndola parecer más gruesa 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilo incurvado de color negro en un fondo de color amarillo 	<ul style="list-style-type: none"> • Técnica de Coloración de la casa comercial SM 	

ELABORADO POR: Diana Vásconez

3.4.2 Operacionalización de la variable dependiente: Identificación de *Helicobacter pylori*.

TABLA 2: Variable Dependiente

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS	TÉCNICA	INSTRUMENTO
Es una bacteria patógena gram negativa de forma espiral y móvil que posee entre 3 a 6 flagelos que daña o desarrolla procesos de inflamación en el epitelio gástrico.	<ul style="list-style-type: none"> • Características de <i>Helicobacter pylori</i> • Características Histopatológicas 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilo Gram negativo de forma espiral • Alteraciones a nivel de mucosa gástrica 	<ul style="list-style-type: none"> • Positivo + ++ +++ • Negativo - • Ocasiona cambio de pH y daño al revestimiento mucoso lo que permite que los potentes ácidos lo atraviesen. 	<p>Observación</p> <p>Microscopia</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Cuaderno de notas. • Registros de resultados • Microscopio

ELABORADO POR: Diana Vásquez

3.5 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

3.5.1 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para cumplir con los objetivos del proyecto de investigación se procedió de la siguiente manera:

- Tramitar todos los permisos necesarios para el ingreso al Hospital IESS Ambato y la autorización para acceder a las historias clínicas y a la información pertinente de cada paciente.
- Obtener la información necesaria de los archivos del Laboratorio de Patología del Hospital IESS Ambato.
- Seleccionar la muestra de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.
- Revisar detalladamente la Historia Clínica de cada paciente para verificar sus antecedentes patológicos.
- Aplicar los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry de acuerdo a la casa comercial que proporcionó los reactivos.

3.5.2 INFORMACIÓN DE CAMPO

La identificación de *Helicobacter pylori* se realizó en muestras de biopsias gástricas de pacientes tanto de sexo masculino como de sexo femenino menores a 65 años de edad que acudieron al área de gastroenterología para la realización de endoscopias altas en el Hospital IESS Ambato del período Enero-Junio del 2016 y cumplieron con los criterios de inclusión, debido a las condiciones de almacenamiento de los bloques de parafina para obtener un corte adecuado.

3.5.3 DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS, MÉTODOS Y TÉCNICAS.

Para la identificación del microorganismo se utilizó el método de coloración Giemsa basado en la combinación de azul de metileno, azur A, B o C y eosina como colorante ácido de la casa comercial MERCK. Además se empleó el método de coloración Warthin Starry que se encuentra basado en nitrato de plata para la confirmación de la infección de la casa comercial SM.

3.5.3.1 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de biopsias gástricas cuando llegaron al Laboratorio de Patología fueron fijadas con formol diluido al 10%, incluida en parafina y cortadas a una medida de 4 micras para su posterior coloración y observación al microscopio.

Para el desarrollo de la investigación se buscó los bloques de parafina correspondientes a los códigos de los pedidos seleccionados en los archivos de bloques del Laboratorio de Patología.

- Colocar los bloques de parafina en la plancha fría durante dos horas.
- Realizar el corte de los bloques de parafina a una medida de 4 micras con la ayuda del micrótopo y la posterior pesca de la muestra en el baño de flotación.
- Desparafinizar las placas que contienen las muestras histopatológicas en la estufa para su posterior coloración.
- Es importante que las placas se encuentren bien secas antes de la desparafinización para que la muestra no se pierda durante los demás procedimientos.

Protocolo de aplicación de la Coloración Warthin Starry:

- 1) Precalentar los reactivos a 50°C
- 2) Mezclar en un tubo 2 mL de la solución 1 y 2 mL de la solución 2
- 3) Colocar las placas desparafinizadas en una canastilla.

- 4) Llevar la canastilla a Neoclear (1) por 5 minutos.
- 5) Llevar la canastilla a Neoclear (2) por 5 minutos.
- 6) Llevar la canastilla a Neoclear (3) por 5 minutos.
- 7) Poner en el Alcohol de 100° y sacudir 20 veces.
- 8) Poner en el Alcohol de 96° y sacudir 20 veces.
- 9) Poner en el Alcohol de 75° y sacudir 20 veces.
- 10) Hidratar los cortes con agua destilada
- 11) Colocar 2 mL de la mezcla de la solución preparada y colocar en una caja Petri durante 2 horas en la estufa a 60°C.
- 12) Eliminar un poco de la solución de las placas y colocar 2 mL de la solución 3 precalentada y esparcirla uniformemente por toda la placa para que se revele la coloración.
- 13) Lavar las placas en agua destilada.
- 14) Colocar las placas en la canastilla y poner en el alcohol de 90 grados por 5 minutos.
- 15) Llevar la canastilla a Neoclear por 5 minutos.
- 16) Dejar secar las placas.
- 17) Realizar el montaje de las placas, con precaución de que no quede burbujas.

Protocolo de aplicación de la Coloración Giemsa:

- 1) Colocar las placas desparafinizadas en una canastilla
- 2) Llevar la canastilla a Neoclear (1) por 5 minutos.
- 3) Llevar la canastilla a Neoclear (2) por 5 minutos.
- 4) Llevar la canastilla a Neoclear (3) por 5 minutos.
- 5) Poner en el Alcohol de 100° y sacudir 20 veces.
- 6) Poner en el Alcohol de 96° y sacudir 20 veces.
- 7) Poner en el Alcohol de 75° y sacudir 20 veces.
- 8) Lavar las placas en agua destilada

- 9) Colocar las placas en una bandeja y colocar el reactivo Giemsa (dos gotas en cada placa). Esperar 5 minutos.
- 10) Lavar con agua corriente hasta que el agua salga clara.
- 11) Colocar las placas en la canastilla y poner en el alcohol de 90 grados por 5 minutos.
- 12) Llevar la canastilla a Neoclear (4) por 5 minutos.
- 13) Llevar la canastilla a Neoclear (5) por 5 minutos.
- 14) Llevar la canastilla a Neoclear (6) por 5 minutos.
- 15) Dejar secar las placas.
- 16) Realizar el montaje de las placas, con precaución de que no quede burbujas.
(4)

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio presenta un carácter retrospectivo que se sustentó en el manual de Bioética del Ministerio de Salud Pública con la respectiva autorización del Hospital IESS Ambato. Las muestras fueron manejadas internamente en el Laboratorio de Patología de acuerdo a la normativa de Bioética que presenta el MSP (36).

Todos los datos obtenidos son confidenciales, no fueron compartidos y se utilizaron solo para el estudio.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 PREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS.

La prevalencia de *Helicobacter pylori* es alta en los países en vía de desarrollo. Dentro de un mismo país puede haber una variación amplia de la prevalencia entre las poblaciones urbanas de mayor nivel económico y las poblaciones rurales. Por tanto, en relación a lo anteriormente planteado, se realizó esta investigación en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Ambato, siendo este el primer estudio en comparar métodos de coloraciones histopatológicas para identificar *Helicobacter pylori* y además de establecer la prevalencia de esta bacteria en muestras de biopsias gástricas. (57) (45) (58)

Se estudiaron 50 pacientes con rango de edad entre 19 – 62 años de edad, divididos en grupos etarios de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, de los cuales el 60% presentan una infección ocasionada por *Helicobacter pylori*, mientras que el 40% restantes no presentan ninguna infección.

4.1.1 PREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* POR GÉNERO

TABLA 3: Prevalencia de *Helicobacter pylori* por género en muestras de biopsias gástricas en el Hospital IESS Ambato.

Género/Paciente	Número	Porcentaje
Masculino	20	67%
Femenino	10	33%
Total	30	100%

FUENTE: Base de Datos ELABORADO POR: Diana Vásquez

En la tabla 3 se muestra los porcentajes de la prevalencia de *Helicobacter pylori* por género. Hunt y col., (2013), reportaron que hay gran variabilidad de presentar esta bacteria de acuerdo al género, la raza y la condición geográfica. Fox James, (2014), afirma que existe una mayor prevalencia de presentar una infección ocasionada por esta bacteria en hombres que en mujeres, debido a la secreción de estrógenos que proporciona protección a la mucosa gástrica, en el presente estudio como se puede observar, el 67% de la población afectada es masculina con una diferencia estadísticamente significativa < 0.05 , dato corroborado con el estudio de Hunt y col., (2013), donde se reporta que varios países de América del Sur excluido Ecuador presentan una prevalencia de 61%. (57) (59)

4.1.2 PREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* POR GRUPO DE EDAD

TABLA 4: Prevalencia de *Helicobacter pylori* por Grupo de Edad de acuerdo a los grupos etarios de la OMS.

Grupo de Edad	Número	Porcentaje
Adolescentes	2	6%
Adultos Jóvenes	10	34%
Adultos Maduros	18	60%
Total	30	100%

FUENTE: Historias Clínicas ELABORADO POR: Diana Vásquez

Los grupos etarios se dividieron de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS). La Tabla 4 indica que en el grupo de pacientes estudiados existe un predominio de infección por *Helicobacter pylori* del 60% en adultos maduros que corresponden a la edad de 41-64 años con una significancia estadística < 0.05 , dato relacionado con los resultados del estudio de Correa Simón, (2016), en el que se concluye que de la población estudiada el 20.7% corresponde a la población adulto debido a los malos hábitos alimenticios, a la baja condición socioeconómica y al bajo nivel educativo. (60) (61)

4.2 IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori* EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS.

4.2.1 POSITIVIDAD Y NEGATIVIDAD DE LOS MÉTODOS DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY.

TABLA 5: Porcentajes de positividad y negatividad de los Métodos de Coloración

REPORTE	GIEMSA		WARTHIN STARRY	
	NUMERO	PORCENTAJE	NUMERO	PORCENTAJE
Positivo	18	36%	30	60%
Negativo	32	64%	20	40%
Total	50	100%	50	100%

FUENTE: Base de Datos

ELABORADO POR: Diana Vásconez

Los métodos de coloración histopatológicas en muestras de biopsias gástricas son útiles para la observación de *Helicobacter pylori* y cambios de las características de la mucosa gástrica. En el presente estudio el 60% de los pacientes tienen muestras positivas. Minaño, Cesar comparó varios métodos de coloración en el que determinó al método de coloración Warthin Starry como el más confiable para identificar a este

bacilo, información acorde a la tabla 5, donde el método de coloración Warthin Starry es aproximadamente un 20% más confiable sobre el método de coloración Giemsa con una significancia estadística < 0.05 , para identificar *Helicobacter pylori*, al obtener un mayor porcentaje de positivos confirmados. (4) (62) (63)

4.2.2 POSITIVIDAD POR CRUCES DE LOS MÉTODOS DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY.

TABLA 6: Resultados Positivos por Cruces (+), de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry.

Reporte	GIEMSA		WARTHIN STARRY	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
+	3	16.70%	10	33.30%
++	13	72.20%	14	46.70%
+++	2	11.10%	6	20%
Total	18	100%	30	100%

FUENTE: Base de Datos

ELABORADO POR: Diana Vásconez

Para el reporte de la identificación del microorganismo se valora el grado de infección de los pacientes estudiados realiza por cruces. De acuerdo a Vilela Carlos, (2012), el resultado de + representa de 1-20 *Helicobacter pylori* por campo (40x), si se observa ++, equivale a 21-100 *Helicobacter pylori* por campo. En caso de +++ representa a > 100 . Los resultados obtenidos en esta investigación indican que el mayor porcentaje corresponde a la identificación de ++ de *Helicobacter pylori*, aplicando los dos métodos de coloración. Sin embargo existe una diferencia de aproximadamente el 25% entre los dos métodos de coloración que hace referencia a la sensibilidad que presenta cada uno. (Tabla 6) (64) (65)

4.2.3 COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE COLORACIÓN

TABLA 7: Comparación de Métodos de Coloración.

Coloración	Nº	Porcentaje
Giemsa	18	60%
Warthin Starry	30	100%

FUENTE: Base de Datos ELABORADO POR: Diana Vásquez

El método de coloración Warthin starry permite observar al *Helicobacter pylori* de una manera clara y bien definida, como lo menciona Giugni Cristina, (2010), en los resultados de su investigación, donde en el 100% de las muestras fueron identificadas *Helicobacter pylori*, utilizando este método de coloración, al igual como lo indica la tabla 7, en la que se demuestra que en esta investigación, el método de coloración Warthin Starry es más confiable que el método de coloración Giemsa, llegando a identificar el 100% de los pacientes analizados con una significancia estadística <0.005 . Además de reportar una prevalencia del 60% en esta investigación. (6) Dato corroborado con la investigación de Hunt y col., (2013), donde mencionan que existe prevalencia de 68% en los países en desarrollo como en África, América Central, América del Sur, algunos países de Asia como Bulgaria, Bangladesh e India y países de Europa como Albania y Estonia, mientras que en países desarrollados como América del norte, Australia, Hong Kong en Asia y los países bajos de Europa muestran una prevalencia de 10%. (57) (66) (67)

TABLA 8: Indicadores de los Métodos de Coloración

Indicadores	Giemsa	Warthin Starry
Sensibilidad	48%	100%
Especificidad	52%	100%
Valor Predictivo Positivo	62%	100%
Valor Predictivo Negativo	38%	100%

ELABORADO POR: Diana Vásquez

Los datos de la tabla 9, nos permitieron calcular indicadores de la utilidad de la tinción Giemsa y Warthin Starry. Se obtuvieron los valores que se muestran en la tabla 10. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos son indicadores del desempeño de una prueba para no reportar falsos positivos o falsos negativos de acuerdo a Sierra Fernando, (2013). En un estudio comparativo de Guigni Cristina, (2010), el método de coloración Warthin Starry presentó una mayor sensibilidad y especificidad (98%) que las otras coloraciones, corroborando los resultados de esta investigación, donde este método de coloración presentó una sensibilidad, especificidad y valores predictivos de 100%. (6) (58)

4.3 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Para la verificación de la Hipótesis planteada se utilizó el programa estadístico SPSS, en el que se aplicó la prueba de Chi Cuadrado y un estudio de correlaciones que permitieron relacionar los dos métodos de coloración.

4.3.1 PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

HIPÓTESIS ALTERNA (H₁)

Los resultados obtenidos a través del método de coloración Giemsa difieren de los resultados obtenidos por el método de coloración Warthin Starry para la identificación de *Helicobacter pylori*.

HIPÓTESIS NULA (H₀)

Los resultados obtenidos a través del método de coloración Giemsa no difieren de los resultados obtenidos por el método de coloración Warthin Starry para la identificación de *Helicobacter pylori*.

4.3.2 ESTIMADOR ESTADÍSTICO

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Dónde:

X²: Estadístico Ji Cuadrado

O: Frecuencia observada

E: Frecuencia esperada

Σ: Sumatoria

4.3.3 VALOR TABULAR CRÍTICO DE CHI CUADRADO

Los grados de libertad referentes a la investigación, se obtienen considerando el número de filas y columnas de acuerdo al polígono de frecuencias observadas.

$$\text{GRADOS DE LIBERTAD} = (NC-1) (NF-1)$$

$$GL = (4-1) (4-1)$$

$$GL = 3 \times 3 = 9$$

Valor X² Tabular crítico para 9 GL y 95%(0.05). Nivel de confianza es: 16.919

4.3.4 REGLA DE DECISIÓN

Dentro del conjunto de posibilidades, se ha podido distinguir dos opciones sobre las cuales aceptar o rechazar las hipótesis planteadas, y estas son:

- ❖ Si el valor de $X_{2tab} > X_{2cal}$ se acepta hipótesis nula y se rechaza hipótesis alterna.
- ❖ Si el valor de $X_{2tab} < X_{2cal}$ se acepta hipótesis alterna y se rechaza hipótesis nula.

TABLA 9: Tabla de contingencia GIEMSA * WARTHIN STARRY

Recuento

		WSTARRY				Total
		AUSENTE	LEVE	MODERADO	ABUNDANTE	
GIEMSA	AUSENTE	20	10	2	0	32
	LEVE	0	0	3	0	3
	MODERADO	0	0	9	4	13
	ABUNDANTE	0	0	0	2	2
Total		20	10	14	6	50

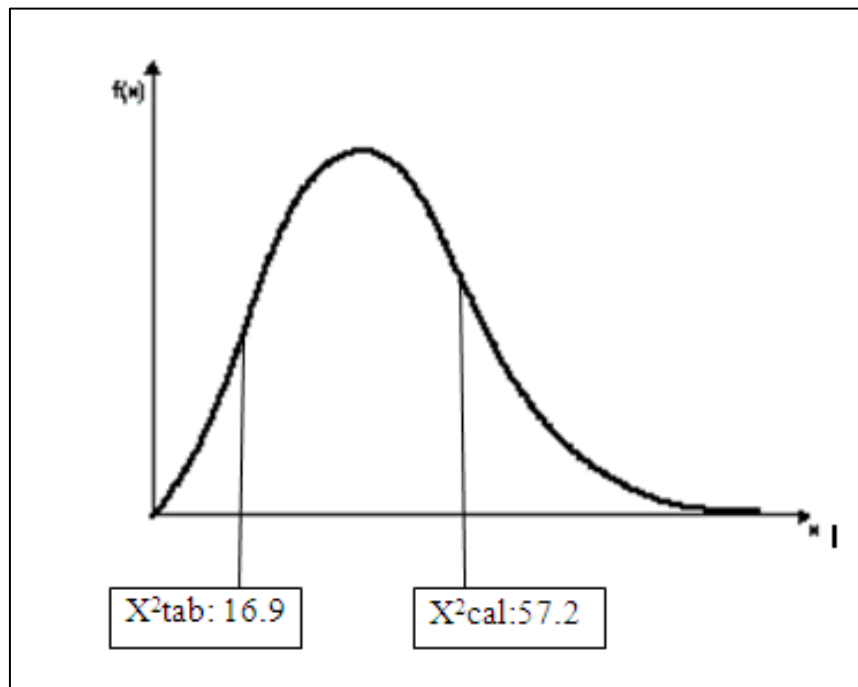
ELABORADO POR: Diana Vásquez

TABLA 10: Prueba de Chi Cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	57,212	9	,000
Razón de verosimilitud	60,725	9	,000
Asociación lineal por lineal	35,400	1	,000
N de casos válidos	50		

ELABORADO POR: Diana Vásquez

ILUSTRACIÓN 1: Comprobación de Chi Cuadrado



ELABORADO POR: Diana Vásquez

Con los datos obtenidos se determinó que la relación que existe entre los dos métodos de coloración (Giemsa y Warthin Starry) es significativa, ya que realizados los cálculos respectivos se obtuvo un Chi cuadrado tabular crítico de 16.9, p igual a 0.05 y un Chi Cuadrado calculado de 57.21, p igual a 0.01. Como el Chi cuadrado calculado es mayor que el valor crítico se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna que señala: Los resultados obtenidos a través del método de coloración Giemsa difieren de los resultados obtenidos por el método de coloración Warthin Starry para la identificación de *Helicobacter pylori*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se estableció la prevalencia de 60% de infección por *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Ambato, con una mayoría de 67% en el género masculino y con una significancia < 0.05 .
- Se comparó los resultados obtenidos en la identificación de *Helicobacter pylori* entre el método de coloración Giemsa y Warthin Starry, donde se estableció una relación estadísticamente significativa igual a 0.01, por lo que se propone como método de coloración de rutina para la identificación de *Helicobacter pylori* al método de coloración Warthin Starry, debido a que este método de coloración identificó el 100% de las muestras confirmadas, mientras que el método de coloración Giemsa identificó el 60%, sin embargo se propuso a este, como un método de coloración complementario porque además permite identificar características celulares de la mucosa gástrica.
- Se determinó los indicadores de desempeño de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry, reportando una sensibilidad de 48%, especificidad de 52%, valor predictivo positivo de 62% y un valor predictivo negativo de 38% del método de coloración Giemsa, mientras que el método de coloración Warthin Starry presentó 100% en los valores ya mencionados, siendo el más

confiable para la identificación de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda la introducción del método de coloración Warthin Starry como un método de coloración de rutina para la identificación de *Helicobacter pylori*, en muestras de biopsias gástricas.
- Se recomienda que a futuro se realicen investigaciones prospectivas del método de coloración Warthin Starry, en muestras de biopsias gástricas para la identificación de *Helicobacter pylori*, con una población más amplia, debido a la gran importancia que representa el microorganismo en la mucosa gástrica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFÍA

1. Abarca J. Identificación de *Helicobacter pylori*: Tratamiento. Reporte. Quito-Ecuador: Hospital Eugenio Espejo, Unidad de Gastroenterología; 2011. (13)
2. Alzola R. Guías Histológicas. Segunda ed. Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2011. (46)
3. Arana J. Cáncer Gástrico. Segunda ed. Madrid-España: Elsevier; 2010. (39)
4. 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. (34)
5. Balarezo J. Histopatología Diagnóstica. Reporte. Ambato: Ministerio de Salud Pública (MSP), Área de Patología; 2015. (14)
6. Bilbao P. Infección por *Helicobacter pylori*: Asociación a patologías gástricas y métodos de diagnóstico. XV ed. Habana-Cuba: Biofarbo; 2007. (24)
7. Boyano L. *Helicobacter pylori*. Quinta ed. Norfolk-UK: Caister Academic Press; 2011. (1)
8. Cárdenas L. Técnica Histológica. Tercera ed. Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009. (50)
9. Cervantes A. Oncología: Cáncer Gástrico. Segunda ed. Barcelona-España: Editorial Arán; 2007. (38)
10. De Argila M. Úlcera Péptica. Primera ed. Madrid-España: Arán Editorial; 2010. (37)

11. Fajardo M. Presencia de *Helicobacter pylori* en patología gastroduodenal. Primera ed. Salamanca-España: Universidad de Salamanca; 2003. (25)
12. Farreras R. Medicina Interna. Decimosexta Edición ed. Barcelona-España: Editorial SL; 2008. (28)
13. Gomez M. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. Quinta ed. México D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2009. (48)
14. González B. Nociones Preliminares para Prácticas de Histología. Quinta ed. Madrid-España: Editorial Complutense; 2006. (49)
15. Guillen P. Microbiología. Segunda ed. Madrid-España: Editorial Elsevier; 2005. (30)
16. Gumor L. Tinción Giemsa. Tercera ed. Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2015. (54)
17. Mancelle R. Prevalencia de la infección de *Helicobacter pylori*. Segunda ed. Santiago de Campostela: Editorial USC; 2007. (29)
18. Meran J. Tratamiento de Erradicación de *Helicobacter pylori*. Segunda ed. Santiago de Chile: Editorial AUGE; 2013. (43)
19. Milikowski C. Atlas de Histopatología. Segunda Edición ed. Madrid-España: Marbán Libros; 2001. (44)
20. Ministerio de Salud Pública. Comité de Bioética Asistencial para la Salud. Ministerio de Salud Pública. 2014 Julio;(15). (56)
21. Murray P. Microbiología Clínica. Cuarta Edición ed. Madrid-España: Editorial Elsevier; 2005. (26)
22. Montero C. Manual de Técnicas de Histoquímica Básica. Quinta Edición ed. San Luis Potosí - México: Editorial SLP; 2006. (51)

23. Pérez G. Manual de Técnicas Histoquímicas. Tercera ed. Rancagua-Chile: Editorial Médica Panamericana; 2015. (53)
24. Ramírez Á. Vacación de Prevalencia de H. pylori. Tercera ed. Lima-Perú: Editorial Médica Panamericana; 2013. (3)
25. Rodríguez B. Métodos de Estudio en Histología. Tercera ed. Madrid-España: Editorial Elsevier; 2013. (31)
26. Ross. Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. Quinta ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2006. (45)
27. Stewart G. Biología del Helicobacter pylori y práctica clínica. Segunda ed. Washinton D.C.-EE.UU.: IARC; 2005. (27)
28. Suárez J. Helicobacter pylori: revisión de aspectos fisiológicos y patológicos. Primera ed. Bucaramanga-Colombia: Editorial Médica Celsus; 2011. (32)
29. Torres F. Manual de Técnicas en Histología y Anatomía Patológica. Primera ed. Barcelona-España: Editorial Ariel; 2002. (52)
30. Truyols J. Úlcera Gástrica y Duodenal. Tercera ed. Alicante-España: Elsevier; 2013. (36)

LINKOGRAFÍA

1. Acuña M. Cáncer de Estómago. Oncología. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 28. Available from:

www.hgm.salud.gob.mx/area_medica/onco/guias/cancer_Estomago.pdf. (40)
2. Alba R. *Helicobacter pylori*: Clínica, Diagnóstico y Tratamiento. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 29. Available from: http://med.unne.edu.ar/revista/revista158/3_158.htm. (42)
3. Ávilla C, Basurto G, García E, Reyes Adriana. Scielo. [Online].; 2011 [cited 2016 Diciembre 23. Available from:

<http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v43n2/a07v43n2.pdf>. (7)
4. Bartel JS, Evereff D. Ncbi.nlm. [Online].; 2012 [cited 2017 Enero 22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2406850>. (18)
5. Cáncer Gástrico. Reporte. Quito-Ecuador: Sociedad Oncológica de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA), Departamento de Gastroenterología. [Online].; 2012 [cited 2017 Enero 16. Available from:
<http://www.solcaquito.org.ec/index.php/publicaciones/epidemiologia/cancer-en-quito-2006-2010>. (12)
6. Castro M, Vargas J. Scielo. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 27. Available from:http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S113001082009001100001&script=sci_arttext&tlng=es. (23)
7. Camacho J. Úlcera Péptica. Gastroenterología. Revista Medica de Costa Rica y Centroamerica. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 28. Available from:
<http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/609/art21.pdf>. (35)

8. Contreras R. Tinción Giemsa. [Online].; 2015 [cited 2017 Enero 29. Available from: <http://biologia.laguia2000.com/tecnicas-en-biologia/tincion-giemsa>.(55)
9. Correa S. Scielo. [Online].; 2016 [cited 2017 Junio 19. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v31n1/v31n1a02.pdf>. (60)
10. De Argilia C, Boixeda D. Elsevier. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 25. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-consideraciones-practicas-el-diagnostico-infeccion-13019298>. (19)
11. Escudero N. Aplicación de la Tinción Giemsa más Hemaoxilina Eosina para identificar *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas de Laboratorio de Patología del IESS Ambato. Tesis. Ambato-Ecuador. Repositorio Universidad Técnica de Ambato. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 18. Available from: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8706/1/Escudero%20Salinas.pdf>. (15)
12. Mancell R. Minerva. [Online].; 2015 [cited 2017 Junio 25. Available from: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2375/9788497509657_content.pdf;jsessionid=2407318F115DBB299123B66B8FF97FFD?sequence=1 (59)
13. Gisbert J. Aegastro. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 22. Available from: http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudaspracticas/19_Infeccion_por_Helicobacter_pylori.pdf. (17)
14. Guigni C, Graciani , Jiménez F, Roldán J. Revista FABICID. [Online]. 2010 [cited 2016 Diciembre 23. Available from: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FABICIB/article/viewFile/611/763>. (6)

15. Hernández F, Rivera P, Sigarán M. Diagnosis of Helicobacter pylori: Scielo. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 26. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003646651991000100015. (21)
16. Hunt R. Worldgastroenterology. [Online].; 2013 [cited 2017 Junio 19. Available from:

<http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/helicobacter-pylori-spanish-2010.pdf>. (57)
17. Mancelle R. Minerva. [Online].; 2015 [cited 2017 Junio 25. Available from: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2375/9788497509657_content.pdf;jsessionid=2407318F115DBB299123B66B8FF97FFD?sequence=1 (58)
18. Marín R, Salas F, Mena F. Binass. sa. [Online].; 2012 [cited 2017 Enero 15. Available from:

[http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/rmedica/\(537\)/art6.pdf](http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/rmedica/(537)/art6.pdf). (9)
19. Martinez L, González. Sld. [Online].; 2015 [cited 2017 Enero 25. Available from: <http://www.sld.cu/sitios/gastroenterologia/temas.php?idv=18247>. (20)
20. Miñano C. Elsevier. [Online].; 2014 [cited 2016 Diciembre 22. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-patologia-297-articulo-comparacion-entre-las-biopsias-gastricas-S1699885515001087>. (4)
21. Montalvo C. Facmed. Online].; 2013 [cited 2017 Enero 29. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/MANUALDEPRACTICAS2012-13Versionfinal.pdf>. (47)
22. Moreira v. Linfoma Gástrico Tipo MALT. Revista Española de Enfermedades Digestivas. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 29. Available from:

- http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113001082013000500011. (41)
23. Ortega J. Scielo. [Online].; 2015 [cited 2017 Diciembre 22. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003498872010000500001. (2)
24. Rodríguez B. Bvs.sld. [Online].; 2014 [cited 2016 Diciembre 22. Available from: http://www.bvs.sld.cu/revistas/med/vol48_1_09/med07109.htm. (5)
25. Sánchez F. Scielo. [Online].; 2011 [cited 2017 Junio 24. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S11301082007000900003. (66)
26. Sierra J, Carreño F. Scielo. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 11. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/muis/v28n3/v28n3a17.pdf>. (8)
27. Torres L. Bvs.sld. [Online]. La Habana-Cuba: Editorial Ecured; 2013 [cited 2017 Enero 21. Available from: http://www.bvs.sld.cu/revistas/med/vol48_1_09/med07109.htm. (16)
28. Valdivia M. Gastritis y Gastropatías. Revista Médica Gastroenterol. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 27. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rgp/v31n1/a08v31n1.pdf>. (33)
29. Vásquez P. Prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* y asociación con patologías gástricas en pacientes adultos de chequeo ejecutivo. Tesis Doctoral. Quito-Ecuador: Universidad San Francisco de Quito. [Online].; 2012 [cited 2017 Enero 15. Available from: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1503/1/104865.pdf>. (11)
30. Villareal D. Prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*. Quito-Ecuador: Hospital Metropolitano de Quito. Departamento de Gastroenterología. [Online].; 2015 [cited 2017 Enero 15. Available from:

<http://hospitalmetropolitano.org/es/base.php?ref=7%3A0%2C36%3A0%2C83%3A0> . (10)

31. Vilela C. Researchgate. [Online].; 2012 [cited 2017 Junio 19. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/242108883_DIAGNOSTICO_Y_TRTAMIENTO_DE_LA_INFECCION_POR_HELICOBACTER_PYLORI_SU_RELACION_CON_LA_ULCERA_GASTROINTESTINAL_Y_LA_RESISTENCIA_A_LOS_ANTIMICROBIANOS. (64)

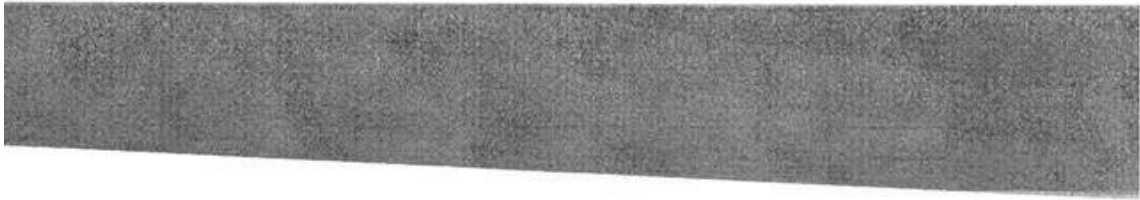
32. Vizcaíno A. Revista Médica UNNE. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 26. Available from: <http://med.unne.edu.ar/revista/revista138/helypylori.htm>. (22)

CITAS BIBLIOGRÁFICAS-BASE DE DATOS UTA

- SCIELO** Nevoa, Jéssica C.; Rodrigues, Roger Luiz; Menezes, Gabriela L.; Lopes, Andressa R.; Nascimento, Hemelly F.; Santiago, Silvana B.; Morelli, Marcos L.; Barbosa, Monica S. Base de Datos UTA. [Online]. ; 2017 [cited 2017 Enero 21. Available from:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442017000100013&lang=pt. (67)
- SCIELO** Pellicano, Rinaldo. Base de Datos UTA. [Online].; 2016 [cited 2017 Enero 22. Available from:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062016000600007&lang=pt (61)
- EBRARY** Velasco, Carlos Alberto. Base de Datos UTA. [Online].; 2015 [cited 2017 Enero 22. Available from:
<http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10109445&p00=HELICOBACTER+PILORY 90> (62)
- EBRARY** Agudo Sonia. Base de Datos UTA. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 21. Available from:
<http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10444934&p00=helicobacter%20pilory> (65)
- SPRINGER** Martín, Leonardo; Pérez, Francesco; Codon, Email; Lopéz, Daniela; Leyton, Mariana; Fittipaldi, Bárbara; Adrados, Jordi. Base de Datos UTA. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 22. Available from:
<http://link.springer.com/article/10.1631/jzus.B0900238> (63)

ANEXOS

ANEXO 1: Aprobación de Consejo Directivo



CONSEJO DIRECTIVO

FCS

Facultad DE Ciencias
De la Salud

Resolución: CD-P-3238
Ambato, 28 de noviembre de 2016

Señorita
Diana Carolina Vásconez Nuela
ESTUDIANTE
Carrera de Laboratorio Clínico
Facultad de Ciencias de la Salud
Presente


De mi consideración:

El H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud, en Sesión Ordinaria del 28 de noviembre de 2016, en conocimiento del oficio UT-456, suscrito por el Dr. Mg. Jorge Morales Solís, Presidente, Unidad de Titulación, sugiriendo se apruebe el tema de investigación de la señorita Diana Carolina Vásconez Nuela, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, al respecto.

CONSEJO DIRECTIVO. RESUELVE:

- **AUTORIZAR A LA SEÑORITA DIANA CAROLINA VÁSCONEZ NUELA, ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO, CICLO ACADÉMICO OCTUBRE 2016- MARZO 2017, OPTAR POR LA MODALIDAD DE GRADUACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.**
- **APROBAR EL PLAN DE TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN CON EL TEMA "ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL IESS AMBATO", PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO**
- **DESIGNAR COMO TUTOR DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN, A LA DOCTORA JANET LOZADA NÚÑEZ, QUIEN DEBERÁ PRESENTAR UN INFORME BIMENSUAL DE SU AVANCE Y UNO AL FINAL, DE CONFORMIDAD CON EL ART. 14 DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO TERMINAL DE TERCER NIVEL DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.**
- **AUTORIZAR AL ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN EN LOS PLAZOS ESTABLECIDOS EN LA DISPOSICIÓN GENERAL, INCISO TERCERO Y CUARTO DEL REGLAMENTO DE REGIMEN ACADÉMICO**

Atentamente,


Dr. Marcelo Ochoa Egas
Presidente



c/c *Dr. Janet Lozada Núñez, TUTORA (con Proyecto de Trabajo de Investigación),
Carpeta Estudiantil (con solicitud)*
AR/S/



UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE AMBATO

Cdla. Ingahurco Teléfono (03) 3 730 268 Ext. 5211

ANEXO 2: Aprobación del Hospital IESS Ambato



Memorando Nro. IESS-HG-AM-DM-2016-1334-M

Ambato, 23 de diciembre de 2016

PARA: Sr. Dr. Angel Geovanny Romo López
Responsable del Programa de Docencia, Hospital General - Ambato

ASUNTO: BQF. MG. MARTHA RAMOS RAMIREZ.- COORDINADORA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO AUTORIZACION DE
PROYECTO DE TESIS SRTA. DIANA CAROLINA VÁSCONEZ
NUELA

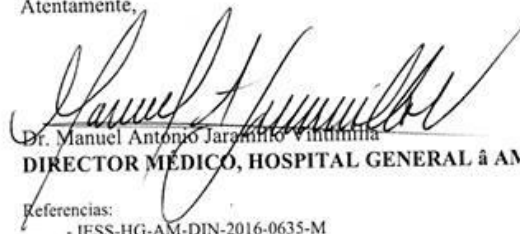
De mi consideración:

En atención a Oficio Nro CDS-CLC-933-2016, mediante el cual solicita que la Señorita Diana Carolina Vásconez Nuela, realice el proyecto de tesis con el tema: "ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS EN EL HOSPITAL IESS AMBATO", me permito informar que esta Dirección Médica, autoriza la ejecución y el desarrollo de la tesis en esta casa de salud debiendo la estudiante previo a la entrega del trabajo definido en su respectiva Universidad el mismo sea entregado en el Departamento de Docencia e Investigación para su análisis, revisión y autorización, así mismo se haga entrega al Departamento un ejemplar final.

De existir alguna inquietud, deberá coordinar directamente en el área de Docencia de este Hosdpital.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,



Dr. Manuel Antonio Jaramillo Vintimilla
DIRECTOR MÉDICO, HOSPITAL GENERAL ã AMBATO, ENCARGADO

Referencias:
- IESS-HG-AM-DIN-2016-0635-M

ANEXO 3: Técnicas de Coloración

Técnica:

COLORACION DE WARTHIN STARRY (WS)

PRECALENTAR LA SOLUCION 1 A 50° C

PRECALENTAR LA SOLUCION 2 A 50° C

PRECALENTAR LA SOLUCION 3 A 50° C

**MEZCLAR EN UN TUBO 2 ml DE LA SOLUCION 1 Y
2 ml DE LA SOLUCION 2**

1- DESPARAFINIZAR LOS CORTES.

2- HIDRATAR HASTA AGUA DESTILADA

**3- COLOCAR 2 ml DE LA MEZCLA DE LAS
SOLUCIONES 1 Y 2 Y COLOCARLAS EN UNA CAJA
PETRY DURANTE 2 HORAS EN LA ESTUFA A 60 °C**

**4- ELIMINAR UN POCO DE LA SOLUCION DE LAS
PLACAS Y COLOCAR 2 ml DE LA SOLUCION 3
PRECALENTADA Y ESPARCIRLA UNIFORMEMENTE
POR TODA LA PLACA PARA QUE SE REVELE LA
COLORACION**

5- LAVAR LAS PLACAS EN AGUA DESTILADA

**6- DESHIDRATAR, ACLARAR Y REALIZAR EL
MONTAJE DE LAS PLACAS.**

COLORACIÓN GIEMSA HISTOPATOLÓGICOS

- 1.- Poner las placas de la estufa inmediatamente al NEOCLEAR 1 sumergirlas varias veces o dejar por 10 min.
- 2.- Pasar al NEOCLEAR 2 las placas y sumergirlas varias veces o dejar por 10 min.
- 3.- Pasamos al NEOCLEAR 3 y realizamos varias inmersiones o dejar por diez minutos.
- 4.- Dejamos secar.
- 5.- Pasamos por ALCHOHOL (1) AL 70 % sumergiéndolas por veces 4 veces.
- 6.- Pasamos por ALCHOHOL (2) AL 80 % sumergiéndolas por veces 4 veces.
- 7.- Pasamos por ALCHOHOL (3) AL 100 % sumergiéndolas por veces 4 veces.
- 8.- Enjuagamos las placas varias veces hasta que estén limpias.
- 9.- Colocamos en GIEMSA previamente filtrado por 7 a 10 min.
- 10.- Enjuagamos hasta que salga clara el agua.
- 11.- Dejar secar.
- 12.- Sumergir por NEOCLEAR (3 veces).
- 13.- Dejar secar.
- 14.- Realizar el montaje.

ANEXO 4: Registro de Resultados

HOJA DE RESULTADOS					
CÓDIGO MUESTRA	EDAD	HISTORIA CLÍNICA	GÉNERO	RESULTADOS	
				Giemsa	Warthin Starry
TN027/2016	27 años	38670	Masculino	+	++
MT054/16	47 años	34638410	Femenino	-	-
AV068/16	25 años	99683975	Masculino	+++	+++
LIE069/16	19 años	99684616	Masculino	++	+++
ChM073/16	40 años	485428	Femenino	++	++
ML078/16	60 años	339889	Masculino	-	-
JO080/16	52 años	471518	Femenino	-	-
VW089/16	35 años	99555079	Masculino	++	+++
SC093/16	59 años	99497036	Femenino	++	++
IL115/16	46 años	99498411	Femenino	-	-
ChM117/16	46 años	99675880	Femenino	-	+
NF120/16	36 años	9951979	Masculino	-	-
QA143/16	61 años	99644665	Femenino	++	++
PE152/16	49 años	99550309	Masculino	++	++
OM166/16	39 años	99504833	Femenino	+	++
GJ170/16	58 años	99519997	Masculino	-	+
AJ199/16	39 años	99546633	Femenino	-	-
SW262/16	60 años	485085	Masculino	-	+
TM279/16	59 años	99681665	Masculino	-	-
SL289/16	50 años	50247	Masculino	-	+
JM319/16	51 años	470463	Femenino	-	-
CT343/16	30 años	99523883	Masculino	+++	+++
JC396/16	58 años	337772	Masculino	++	+++
EL408/16	61 años	3440613	Masculino	-	-
FP463/16	51 años	99588105	Femenino	-	-
MM932/16	50 años	99538206	Masculino	++	+++
VM935/16	62 años	339647	Masculino	++	++
PV961/16	31 años	99524494	Masculino	++	++

JN986/16	43 años	99540295	Femenino	-	+
PS1108/16	31 años	99491257	Masculino	-	-
BL1113/16	55 años	99591233	Femenino	-	+
SV1120/16	61 años	34637208	Masculino	-	-
CB1148/16	50 años	470235	Femenino	++	++
MR1190/16	38 años	65750	Masculino	-	-
RB1191/16	56 años	99684268	Masculino	+	++
MM1232/16	42 años	476134	Masculino	-	-
CM1235/16	27 años	474297	Femenino	-	-
VC1246/16	56 años	99491671	Masculino	-	+
RZ1277/16	54 años	99503845	Femenino	-	-
RL1292/16	27 años	99680278	Masculino	-	+
OL1293/16	49 años	477788	Masculino	-	-
JJ1303/16	29 años	99615749	Masculino	++	++
CL1332/16	46 años	88277	Masculino	-	++
PH1362/16	46 años	99559174	Masculino	-	-
VG1417/16	27 años	99693336	Masculino	-	+
MD1427/16	56 años	99675682	Masculino	-	-
MM1463/16	39 años	484527	Masculino	-	-
PM1493/16	59 años	99529871	Femenino	++	++
MN1496/16	35 años	9925558	Masculino	-	+
CS1499/16	52 años	9632151	Femenino	-	++

ELABORADO POR: Diana Vásquez

ANEXO 5: Fotografías

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



ILUSTRACIÓN 2: Bloques de Parafina



ILUSTRACIÓN 3: Congelación de los bloques de parafina



ILUSTRACIÓN 4: Microtomía



ILUSTRACIÓN 5: Microtomía



ILUSTRACIÓN 6: Ubicación del Corte en Baño de Flotación.



ILUSTRACIÓN 7: Pesca de la Muestra



ILUSTRACIÓN 8: Desparafinización

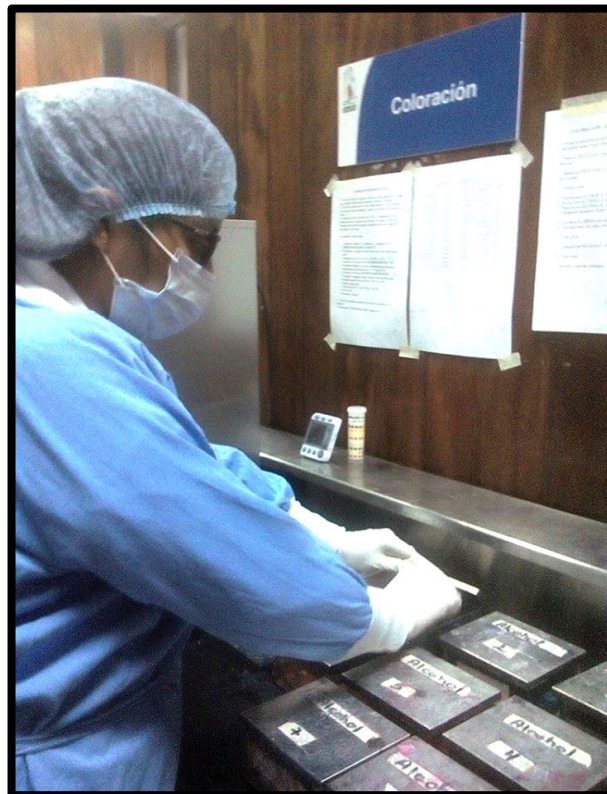


ILUSTRACIÓN 9: Paso de las Muestras por Alcohol



ILUSTRACIÓN 10: Reactivos de Warthin Starry



ILUSTRACIÓN 11: Mezcla de Reactivos.



ILUSTRACIÓN 12: Coloración Warthin Starry



ILUSTRACIÓN 13: Reactivo Giemsa

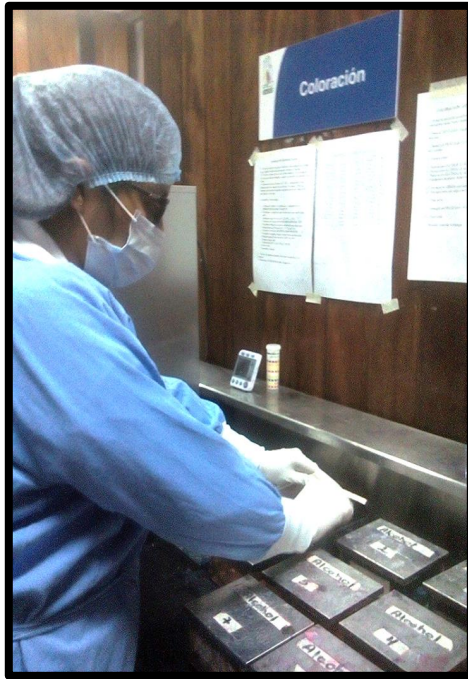


ILUSTRACIÓN 14: Coloración Giemsa

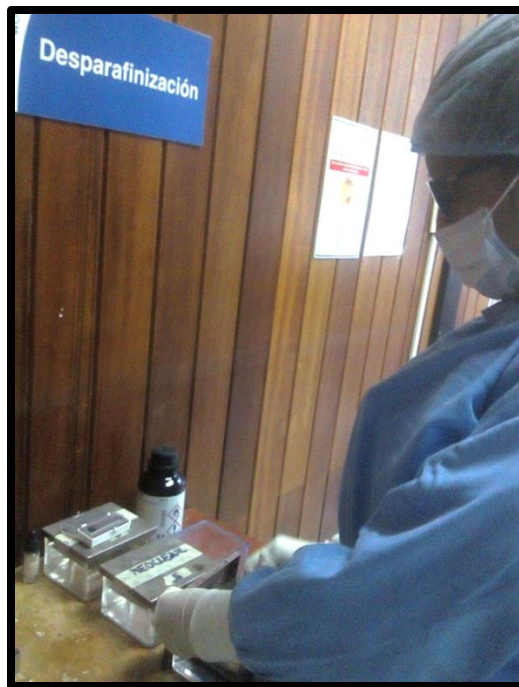


ILUSTRACIÓN 15: Paso de las Muestras por Neoclear.

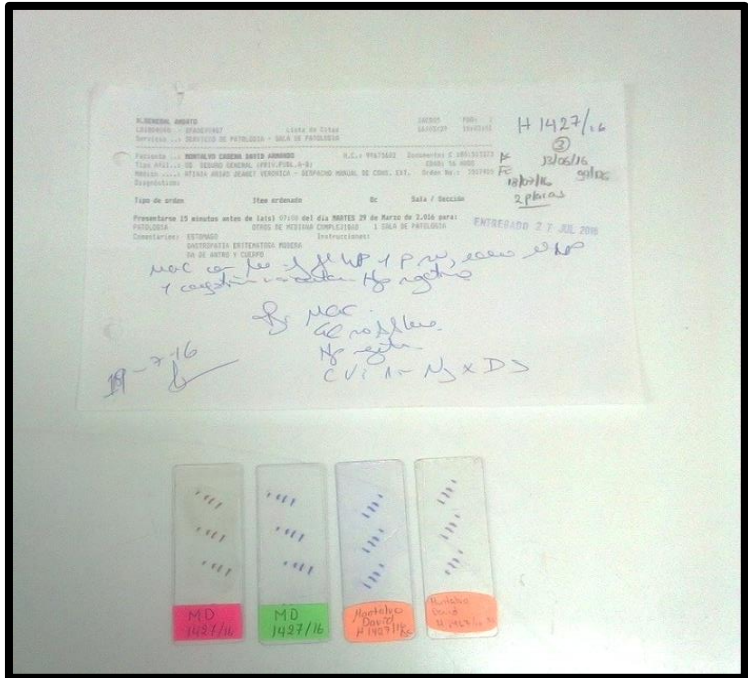


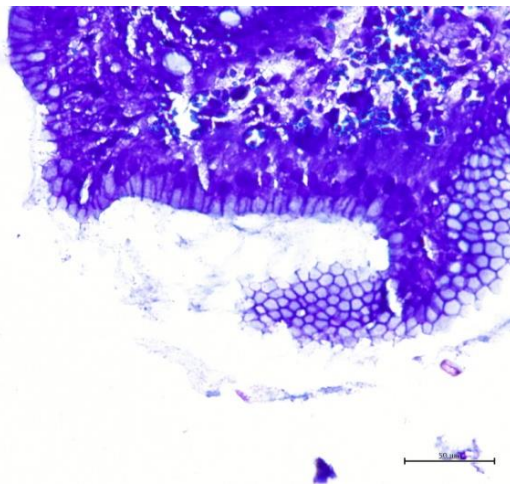
ILUSTRACIÓN 16: Codificación de las Placas Histopatológicas



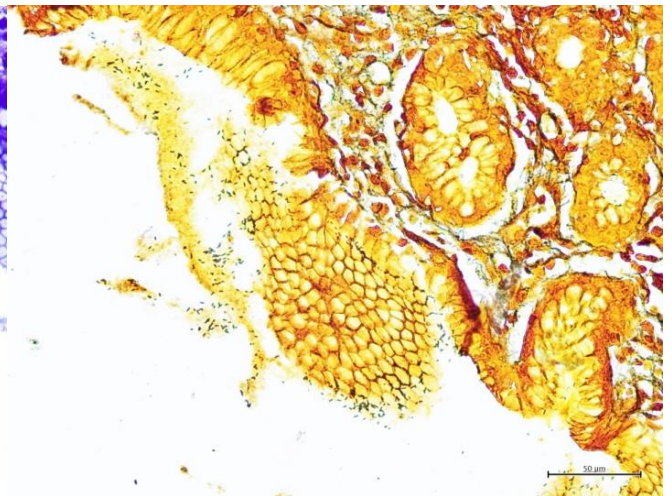
ILUSTRACIÓN 17: Organización de las Placas Histopatológicas



ILUSTRACIÓN 18: Lectura de Placas Histopatológicas



Giemsa



Warthin Starry

ILUSTRACIÓN 19: Comparación de Coloraciones.

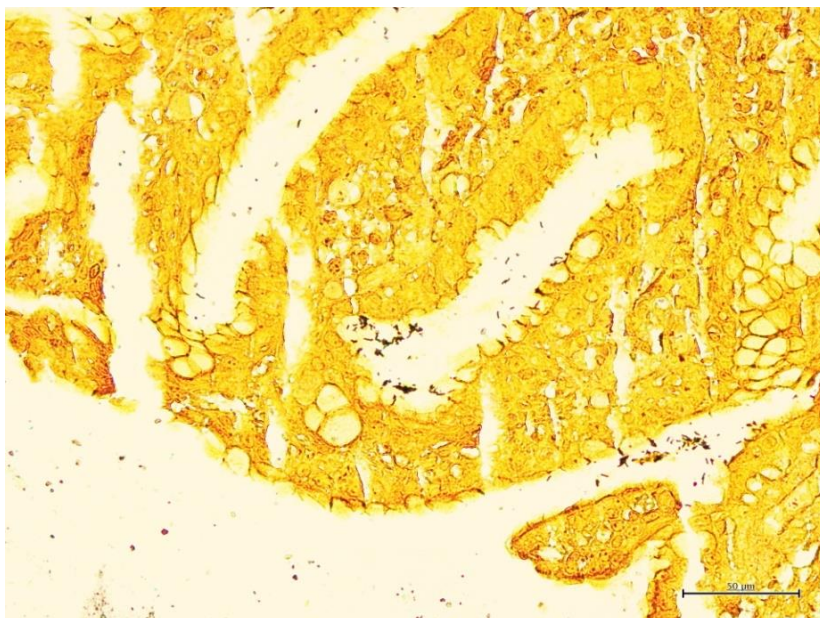


ILUSTRACIÓN 20: Coloración Warthin Starry

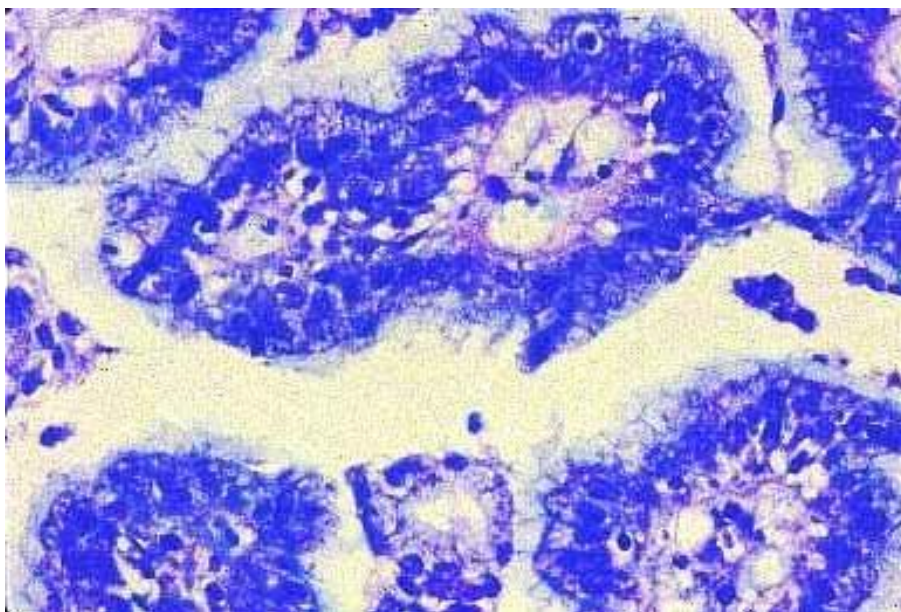


ILUSTRACIÓN 21: Coloración Giemsa