



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

“APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS DE LABORATORIO DE PATOLOGÍA DEL IESS DE AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA.”

Requisito para optar por del Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Autora: Escudero Salinas, Nela Beatriz

Tutora: Dra. Aguilar Salazar, Aída Fabiola

Ambato-Ecuador

Diciembre - 2014

APROBACIÓN DEL TUTOR:

En mi calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el tema

“APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS DE LABORATORIO DE PATOLOGÍA DEL IESS DE AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA.” de Nela Beatriz Escudero Salinas, 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 la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Septiembre del 2014

LA TUTORA

.....

Dra. Aida Fabiola Aguilar Salazar

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Informe de Investigación **“APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS DE LABORATORIO DE PATOLOGÍA DEL IESS DE AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA.”** como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, Septiembre del 2014

LA AUTORA

.....

Nela Beatriz Escudero Salinas

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi tesis, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de esta tesis, 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, Septiembre del 2014

LA AUTORA

.....

Nela Beatriz Escudero Salinas

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema:
“APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS DE LABORATORIO DE PATOLOGÍA DEL IESS DE AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA.”, de Nela Beatriz Escudero Salinas, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Diciembre del 2014

Para constancia firman

.....

PRESIDENTE/A

.....

1er VOCAL

.....

2do VOCAL

DEDICATORIA

A Dios por haberme regalado a Toñita y Pepe quienes a más de ser mis padres son mis amigos, mentores y son mi refugio aunque estemos separados siempre los llevo en mi mente y corazón, a mis hermanas Mercy y China las cuales me demuestran que la vida es apoyo, comprensión y perseverancia, a mi amado Gabriel mi compañero y esposo que a pesar de la adversidades y el tiempo no deja de ser el hombre detallista, cómplice de mis penas y alegrías, a mis dos grandes amores Sofía y Xavier cuya emoción es mi fortaleza y son la inspiración más grande de mi vida.

N.E.S.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato.

A las personas que me apoyaron e incentivaron a continuar con mi trabajo.

A todos y cada uno de mis profesores y Doctores que han contribuido para la formación de mis actitudes y conocimientos.

Al IESS Ambato y en especial a la Dra. Glenda García quien me abrió las puertas para poder realizar mi estudio.

A los Profesores de la prestigiosa Universidad quienes han sido una guía importante en el transcurso de mi aprendizaje y profesionalización.

Al Personal de los diferentes Laboratorios que me ayudaron e impartieron sus conocimientos para poder crecer como persona y como profesional de la salud.

A mi tutora de tesis Dra. Aída Aguilar que con su paciencia y enseñanza me permitió alcanzar mi meta.

N.E.S.

ÍNDICE

ÍNDICE DEL CONTENIDO

PÁGINAS PRELIMINARES

Aprobación del Tutor	ii
Autoría de Trabajo de Grado	iii
Derechos del Autor	iv
Aprobación del Tribunal Examinador	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Índice	viii
Resumen	xii
Summary	xiv

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO I 3

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Tema	3
1.2. Análisis crítico	9
1.3. Justificación	12

CAPÍTULO II 14

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes Investigativos	14
2.3. Fundamentación Legal	17
2.4. Categorías Fundamentales	18
2.4.2. Tinción Hematoxilina eosina (HE)	286
2.4.3. Tinción Giemsa	27
2.4.4. Histopatología	29
2.4.5. Biopsia	39
2.4.6. Helicobacter pylori	42

2.5. Hipótesis _____	50
2.6. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES _____	50

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA _____	51
3.2. Modalidad básica de la investigación _____	51
3.3. Nivel o tipo de investigación _____	55
3.4. Población y muestra _____	55
3.7 Plan de recolección de la información _____	55
3.8. Técnicas e instrumentos _____	56
3.9. Plan de procesamiento y análisis de la información _____	57

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS _____	58
--	-----------

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES _____	69
5.1. Conclusiones _____	69
5.2. Recomendaciones _____	70

CAPÍTULO VI

PROPUESTA _____	71
6.1. Datos Informativos _____	71

ANEXOS _____	80
---------------------	-----------

BIBLIOGRAFÍA _____	85
---------------------------	-----------

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N.- 1. Identificación histológica de <i>Helicobacter pylori</i> : comparación de los costes y tiempos de técnicas de los métodos de tinción. _____	6
Cuadro N.- 2. Usos actuales de tinción Giemsa _____	29
Cuadro N.- 3. Procesamiento automático de tejidos. _____	33

ÍNDICE DE DIAGRAMAS

Diagrama N.-1. Procedimiento Histopatológico realizado en el laboratorio de patología del hospital IESS Ambato _____	30
Diagrama N.-2. Marco Administrativo _____	79

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen N.- 1. Composición química de un colorante _____	23
Imagen N.- 2. Clasificación de los colorantes según su carga: básico superior y ácido inferior. _____	23
Imagen N.- 3. Clasificación de los colorantes _____	24
Imagen N.- 4. Atlas de Video Endoscopia Gastrointestinal _____	28
Imagen N.- 5. Procesador automatizado de tejidos (fijación, deshidratación aclaramiento e, infiltración) _____	33
Imagen N.- 6. Centro de inclusión y cámara refrigerada (confección de bloques de parafina). _____	34

Imagen N.- 7. Micrótopo (Corte micrométrico de los tejidos incluidos en parafina).	36
Imagen N.- 8. Baño de flotación (extendido del corte para su montaje y secado).	36
Imagen N.- 9. Tinciones. Hospital	37
Imagen N.- 10. Procedimiento de montaje manual.	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N.- 1 Grupo de pacientes por género	59
Tabla N.- 2 Pacientes de Acuerdo a Grupo de Edad	60
Tabla N.- 3 Grupo de pacientes por diagnóstico	62
Tabla N.- 4 Tiempo de identificación para <i>H. pylori</i> .	63
Tabla N.- 5 Resultados obtenidos	64
Tabla N.- 6 Tabla de utilidad del Giemsa	65
Tabla N.- 7 Indicadores de Tinción Giemsa.	65

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N.- 1 Grupo de pacientes por género	59
Gráfico N.- 2 Pacientes de Acuerdo a Grupo de Edad	60
Gráfico N.- 3 Grupo de pacientes por diagnóstico	62
Gráfico N.- 4 Tiempo de identificación para <i>H. pylori</i> .	63
Gráfico N.- 5 Resultados obtenidos	64

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

**“APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA
PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE
BIOPSIAS GÁSTRICAS DE LABORATORIO DE PATOLOGÍA DEL IESS
DE AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA.”**

Autora: Escudero Salinas, Nela Beatriz.

Tutora: Dra. Aguilar Salazar, Aída Fabiola.

Fecha: Septiembre, 2014.

RESUMEN

La infección por *Helicobacter pylori* es probablemente la infección crónica más extensamente difundida en la especie humana. Se estima que más del 50% de la población mundial tiene este patógeno. La prevalencia de la infección en los países en vías en desarrollo supera el 70% y llega al 90% en los países latinoamericanos, constituyendo un verdadero problema para la salud pública.

En este estudio dedicado a la histopatología nos ocuparemos de la aplicación de pruebas diagnósticas. La lectura u observación crítica de un microorganismo en este caso *Helicobacter pylori* es fundamental para la toma de decisiones respecto de la solicitud de estudios diagnósticos y la interpretación de sus resultados.

El propósito de este proyecto fue facilitar y agilizar al médico patólogo la visualización e identificación con precisión del microorganismo *Helicobacter pylori* en las biopsias gástricas, para ello, se analizó la confiabilidad, interpretación y aplicación de los resultados de una prueba diagnóstica.

El objetivo principal del estudio es que se realice la tinción Giemsa más la tinción Hematoxilina Eosina para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica de pacientes del hospital IESS Ambato.

PALABRAS CLAVES:

TINCIÓN, HEMATOXILINA, EOSINA, TINCIÓN GIEMSA,
HELICOBACTER_PYLORI, BIOPSIAS.

TECHNICAL UNIVERSITY AMBATO
FACULTY OF HEALTH SCIENCES
CLINICAL OF LABORATORY CAREER

“STAIN APPLICATION OF MORE HEMATOXYLIN GIEMSA EOSIN TO IDENTIFY HELICOBACTER PYLORI SAMPLES OF GASTRIC BIOPSY PATHOLOGY LABORATORY IESS AMBATO TUNGURAHUA.”

Author: Escudero Salinas, Nela Beatriz.

Tutor: Dra. Aguilar Salazar, Aída Fabiola

Date: September, 2014.

SUMMARY

Infection with *Helicobacter pylori* is probably the most widely disseminated chronic infection in humans. It is estimated that over 50% of the world population has this pathogen. The prevalence of infection in developing countries exceeds 70% and reaches 90% in Latin American countries, constituting a public health problem.

In this study on the histopathology we will deal with the application of diagnostic tests. Reading or critical observation of a microorganism in this case *Helicobacter pylori* is essential for decision-making regarding the application of diagnostic tests and interpreting their results.

The purpose of this project was to facilitate and streamline the pathologist viewing and accurate identification of the microorganism *Helicobacter pylori* in gastric biopsies for this purpose, reliability, interpretation and application of the results of a diagnostic test was analyzed.

The main objective of the study is that most Giemsa staining was performed hematoxylin eosin staining for histological identification of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples from hospital patients IESS Ambato.

KEYWORDS:

HEMATOXYLIN, EOSIN, STAIN, GIEMSA, HELICOBACTER_PYLORI,
BIOPSIES.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el *Helicobacter pylori* no solamente se ha relacionado con el desarrollo de gastritis y enfermedad ácido péptica sino además es un factor que contribuye con el desarrollo de cáncer gástrico y el linfoma tipo MALT, a pesar de ello hay cierta falta de preocupación por el hecho que esta bacteria es común en individuos sanos. (Viñán, 2010)

Se reporta que en Ecuador las infecciones con *Helicobacter pylori* son altamente prevalentes, un estimado alcanza los 29 casos por cada 100.000 habitantes cada año, siendo su tasa de infección del 93.2% (Sempértegui, 2007) y su seroprevalencia en la población infantil del 63.03% (Gómez, 2004). Por lo tanto se requieren de métodos seguros, fiables y extensibles para la identificación y posterior terapia de sujetos *Helicobacter pylori* positivos.

Razones sobran para indagar y profundizar en el estudio de esta bacteria en especial en Ecuador por ser un país con tan alta prevalencia y específicamente en la provincia del Tungurahua donde se cuenta con escasa información y datos estadísticos con respecto al *Helicobacter pylori*.

En la ciudad de Ambato la autora encontró una prevalencia del 63,5%, la misma que aumenta con la edad siendo aproximadamente el 65% entre los 45 y 60 años. Esta bacteria posee en su membrana una alta actividad de ureasa, que es una enzima que cataliza la conversión de urea a dióxido de carbono y amoníaco, favoreciendo la neutralización del ácido presente en ciertos ambientes como barrera de protección ante agentes patógenos. La elevación del potencial hidrogenión (pH), es decir la disminución o neutralización de un medio ácido, crea un microambiente favorable para el desarrollo y colonización de la bacteria por lo que se puede observar aproximadamente en un 90% de los cortes histológicos de las biopsias gástricas con sospecha de colonización.

El presente proyecto además de facilitar, agilizar y aumentar la precisión del trabajo del médico patólogo, quiere también disminuir el tiempo promedio de

espera de los pacientes respecto de la recepción de sus resultados. Recomienda además que la tinción Giemsa sea utilizada en las instituciones y centros de diagnóstico de manera rutinaria en la identificación del microorganismo *Helicobacter pylori*, de muestras de biopsias gástricas junto con la tinción Hematoxilina Eosina.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. TEMA

“APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS DE LABORATORIO DE PATOLOGÍA DEL IESS DE AMBATO PROVINCIA DE TUNGURAHUA.”

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1. CONTEXTUALIZACIÓN

El cáncer de estómago y la patología gástrica no neoplásica como gastritis, enfermedad ácido péptica son entidades frecuentes asociadas a la presencia de la bacteria Gram negativa, espiralada, flagelar, microaerófila *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), especialmente en sujetos adultos, por lo que su investigación y exploración para el diagnóstico y tratamiento se realizan en todo el mundo con el fin de dotar a los médicos, pacientes y todos los profesionales de la salud información que permita un manejo apropiado de los casos.

Actualmente, existen numerosas pruebas para detección de *H. pylori*, las podemos clasificar en dos grupos: invasivas y no invasivas. Las pruebas no invasivas como: prueba del aliento, serología, detección de antígenos en heces fecales, son usualmente utilizadas con una buena sensibilidad en cuanto a detección del microorganismo, pero pueden ser afectadas por numerosos aspectos como: las variaciones del punto de corte para su positividad, factores asociados como alimentación o atrofia gástrica, excreción de antígenos muy diluidos o degradados, además algunos como la serología son incapaces de distinguir entre una infección activa de una previa, lo cual muchas veces compromete su especificidad.

Las pruebas invasivas como: la prueba rápida de ureasa, histología, el cultivo y la reacción en cadena de polimerasa, utilizan muestras de biopsias gástricas con lo cual permiten una identificación definitiva y directa del microorganismo, tienen como ventaja una mejor especificidad, valoran también la erradicación del microorganismo posterior al tratamiento y seguimiento de manera más fiable y puede determinar además, como en el caso de la prueba histológica, el daño hístico, brindando mayor información sobre la gravedad de la gastritis, atrofia asociada y/o metaplasia en el tejido analizado.

La principal desventaja del diagnóstico histológico en el caso de *H. pylori* es que el resultado está muy influenciado por la experiencia del médico patólogo y el tipo de tinción que se emplee. Si bien tradicionalmente se usa Hematoxilina Eosina, existen estudios como (Fuenmayor, 2006), (Osorio Pagola, 2009), (Martínez Leyva) (Bermúdez Díaz, 2014), (Cheng, 2002) que señalan la tinción Giemsa superior en la identificación del *H. pylori* en muestras de biopsias gástricas, siendo fácil de realizar, rápida y de bajo costo.

La OMS realizó un estudio descriptivo de corte transversal para conocer la incidencia de infección por *H. pylori* en América Latina en el cual indica que es alta con una media de 70-80% de la población.

La infección por *H. pylori* es la principal causa de gastritis crónica, y es importante en el origen de otras enfermedades gastroduodenales como la enfermedad ácido péptica, cáncer gástrico, así como el linfoma tipo MALT, enfermedad donde la erradicación del microorganismo demostró mejoría e incluso índices de curación. (Weitz, 2002).

En vista de esta asociación patogénica, el diagnóstico preciso de infección es esencial para el tratamiento. La identificación histológica de *H. pylori* es ahora el medio más usado para diagnóstico. Para lograr esto, varios métodos de tinción están en uso. Estos incluyen el método modificado Giemsa, Warthin-Starry y Hematoxilina Eosina (HE).

Carreño, A. (2009) en un estudio realizado en Bogotá-Colombia, comparó la tinción Giemsa con otros métodos de laboratorio (Warthin-Starry, HE) para la identificación del microorganismo, concluyó que la tinción de Giemsa, a diferencia de los mencionados anteriormente, permite una fácil identificación del *H. pylori*, por su simplicidad, rapidez y bajo costo es muy útil en el diagnóstico de la infección. (Carreño, 2009) (Perea, 2003)

Adicionalmente (Rotimi, O., 2000) publicó en su artículo admitido por la revista científica Journal Clinical Pathology (JCP), comparaciones con algunas tinciones histológicas y llegando a la siguiente conclusión: *“la tinción Giemsa es más sencilla, barata, toma alrededor de 5 minutos realizarla y rara vez necesita repetirse gracias a la coloración azulada que proporciona al H. pylori, esto permite una mejor identificación del germen”*. (Rotimi, Cairns, Gray, Moayyedi, & Dixon, 2000)

La tinción HE es también fácil de realizar, aunque de un costo relativamente alto y tenemos que agregarle 5 minutos más a su elaboración, en comparación a la anterior, si bien proporciona buen contraste, es beneficioso siempre y cuando se controle con exactitud los tiempos de cada paso según su procedimiento, ya que si falla alguno, conducirá irremediablemente a que se repita la placa coloreada, por lo tanto implicaría más tiempo y costo de producción. (Moayyedi, 2013)

La tinción a base de plata (HPSS) da un buen resultado porque los organismos se revisten con la tinción de plata y por lo tanto se ven más grandes, haciendo su fácil identificación, sin embargo su técnica es bastante exigente, toma tiempo para prepararse y su costo es elevado. (Rotimi, Cairns, Gray, Moayyedi, & Dixon, 2000)

La tinción de a base de anticuerpos posee buen resultado y es de método altamente fiable pero contrasta el tiempo técnico de su elaboración, aproximadamente una hora, su costo bastante elevado, y adicionalmente se requiere elaborar un control negativo con cada muestra. (Cheng, 2002) (Yerushalmy, 2000) (Elguer, Acuña, 2011) (Screeninglab Barcelona, 2012) (Rotimi, Cairns, Gray, Moayyedi, & Dixon, 2000)

Cuadro N.- 1. Identificación histológica de *Helicobacter pylori*: comparación de los costes y tiempos de técnicas de los métodos de tinción.

Tinción	Costo Relativo	Tiempo Medio	Reproductibilidad técnica
Modificado Giemsa	Barato	5 minutos	Bueno
Hematoxilina Eosina	Relativamente Caro	10 minutos	Relativamente buena
HPSS	Caro	1 hora	Malo
Anticuerpo	Caro	1 hora	Relativamente Buena
HPSS: Helicobacter pylori, tinción de plata			

Tomado de: Rotimi, O. Revista Journal of Clinical Pathology. 2000.

Actualmente, en el laboratorio se dispone de una amplia variedad de métodos para diagnosticar la infección por *H. pylori*, pero no existe un método que pueda calificarse de ideal y que reúna todas las cualidades necesarias para afrontar las diferentes situaciones clínicas que se presentan durante la evolución de la infección.

La tinción HE es la más habitual para observar muestras histopatológicas; pero esta coloración tiene una menor sensibilidad y especificidad para la detección de *H. pylori*, su principal inconveniente es que requiere una experiencia superior a la de otras técnicas para establecer un correcto diagnóstico de la presencia de *H. pylori*, así pues el médico patólogo puede confundirse con productos celulares y moco, además, su costo es relativamente elevado. Sin embargo esta tinción resulta útil para observar el grado de compromiso inflamatorio y la evolución de procesos atróficos, premalignos o malignos, permitiendo identificar *H. pylori* siempre y cuando la densidad de la colonización bacteriana sea elevada. (Corti, 2012) (Grajales, Téllez, & Barreto, 2013)

La coloración HE es la combinación del colorante básico (hematoxilina) y un ácido (eosina). La hematoxilina colorea los núcleos y el retículo endoplasmático rugoso y la eosina colorea los citoplasmas y la mayoría de los elementos fibrilares del espacio intercelular de todas las células de la mucosa estomacal, es por eso que esta tinción no colorea específicamente bacterias, de allí su limitación para identificar bacterias tipo *H. pylori*. (Salas, 2005).

Este método es el que se utiliza actualmente en diferentes instituciones que se dedican al estudio histológico en el Ecuador, con el objetivo de valorar los cambios tisulares atribuibles a la presencia de *H. pylori*, sin demostrar directamente su presencia, lo cual evidentemente puede dar lugar a subdiagnóstico y posiblemente a falta de tratamiento sin eliminar al microorganismo de la mucosa gástrica y así favorecer al desarrollo de condiciones precursoras del cáncer gástrico, aspecto que debe preocupar mucho al médico patólogo al encontrarse frente a una muestra directa (biopsia gástrica), obtenida por medio de un procedimiento invasivo que puede ser aprovechada en su totalidad, a pesar de ello, datos estadísticos sobre el subdiagnóstico de *H. pylori* no se han logrado documentar fehacientemente. (Cruz, 2008) (Salas, 2004) (Moayyedi, 2013)

Por el contrario, la tinción Giemsa permite una fácil identificación del *H. pylori*, ya que emplea una mezcla de colorantes como: tinte ácido de eosina, tinte básico de azul de metileno y los productos de oxidación de este último: el azur A, azur B, violeta de metilo y azul de metilo. El azul de metileno es un colorante metacromático, de ahí que muchas estructuras se tiñan de púrpura y no de azul, por lo tanto, colorea al *H. pylori* de un púrpura azulado al ingresar a su membrana celular, debido a su gran actividad enzimática productora de ureasa que favorece la penetración y mejor coloración del *H. pylori*, proporcionando un excelente contraste para su identificación así como una mayor sensibilidad y especificidad en su diagnóstico (Carreño, 2009) (Fuenmayor, 2006) (Nieto, 2010) (Salas, 2004)

El estudio de tejidos actualmente se lo realiza gracias a la histotecnología, esta ciencia se encarga de las técnicas y procedimientos mediante los cuales se realizan cortes transparentes que deben ser analizados y diagnosticados por el médico patólogo a través del microscopio. El trabajo de preparación de las placas es responsabilidad de profesionales del área de laboratorio cuyo perfil académico y de competencias básicas incluye la aplicación de técnicas de histopatología, convirtiéndose así, en un apoyo fundamental para el trabajo del médico patólogo, quien debe diagnosticar los cambios histológicos y la presencia de *H. pylori* facilitando el diagnóstico y tratamiento concreto, mejorando así el pronóstico del paciente.

En el Ecuador la infección por *H. pylori* desempeña un papel relevante en un importante grupo de enfermedades gastroduodenales y es posible que tenga participación en otros procesos patológicos a otros niveles del organismo.

H. pylori se puede reconocer con tinción HE, sin embargo, si la densidad de este microorganismo es baja, no se lo podrá identificar rápidamente, lo cual comprometerá el tiempo de respuesta del médico patólogo y puede ocasionar falsos positivos o falsos negativos.

Se sabe a nivel local e internacional que la tinción Giemsa es más fácil de realizar, los microorganismos en Giemsa muestran un color suave (púrpura azulado) y uniforme, mientras que la de Hematoxilina eosina da al microorganismo una apariencia granular con escaso contraste, que muchas veces se confunde con el entorno de la biopsia. El uso rutinario de Giemsa y HE para la identificación de *H. pylori* en biopsias gástricas se recomienda, porque con HE se va a observar el grado de lesión de la mucosa gástrica y con Giemsa lo que se observa es directamente al microorganismo, así diferenciamos si las lesiones son provocadas por el *H. pylori* o por algún otro factor como por ejemplo uso prolongado de

antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como: aspirina, ibuprofeno, diclofenaco, o la ingesta o consumo de ciertas sustancias como: alcohol, cocaína, incluso la exposición a radiación ionizante que también son factores que pueden desencadenar gastritis. (Perea, 2003) (Salas, 2004)

En el hospital IESS Ambato, no existen estudios donde se haga una comparación de las diversas tinciones que existen para identificar *H. pylori*, habitualmente se ha usado HE, que es la técnica más utilizada para el diagnóstico de las muestras incluidas en parafina, su principal ventaja consiste en permitir el diagnóstico y la evaluación de la lesión histológica asociada.

Según los expertos esta HE tiene como limitación o desventaja que requiere una experiencia superior a la de otras técnicas para establecer un correcto diagnóstico de la presencia del *H. pylori*. Esta tinción tiene también otra desventaja la cual es que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo que queda teñido débilmente y puede confundirse con productos celulares y moco. (Cheng, 2002) (Carreño, 2009) (Corti, 2012) (Grajales, Téllez, & Barreto, 2013)

Con el fin de encontrar pruebas diagnósticas confiables, válidas y económicas para identificar *H. pylori* en biopsias gástricas, se pretende con esta tinción probar la superioridad del colorante Giemsa para la detección de *H. pylori*, al comparado con la HE y poder establecerla como una coloración de rutina junto con HE en el estudio de biopsias gástricas. (Salas, 2004).

1.2.2. ANÁLISIS CRÍTICO

Comúnmente, para poder observar *H. pylori* se utilizan cortes histológicos obtenidos a partir de biopsias de tejido gástrico, siendo el método diagnóstico más confiable

para evaluar la infección por el microorganismo, ya que tiene la ventaja de proporcionar, simultáneamente, información precisa de los cambios morfológicos de la mucosa gástrica.

La biopsia gástrica representa un instrumento útil y certero para el diagnóstico de la patología gástrica y determina el grado de infección, el tipo de inflamación, así como la presencia de lesiones pre-malignas (displasia, metaplasia, cambios morfológicos) o malignas, es por eso que un examen cuidadoso y rutinario a través de métodos de coloración HE y Giemsa que faciliten su valoración y diagnóstico son necesarios. Así como es necesaria la demostración de la superioridad de los métodos de tinción entre sí, para la detección de *H. pylori*, microorganismo mundialmente reconocido como agente etiológico responsable de gran parte de la patología gástrica así como de los cambios morfológicos que conducen, por su cronicidad, hacia malignidad.

Por esta razón se comparará la tinción de rutina habitualmente usada HE, con la tinción Giemsa, por su buena disponibilidad, rapidez, sensibilidad, mejor especificidad, bajo costo y alto beneficio, permitiendo el ahorro de tiempo y dinero a los pacientes y establecimientos de salud, brindando además agilidad, confianza y certeza al médico patólogo en su desempeño profesional.

1.2.3. PROGNOSIS

En el Ecuador y localmente la ciudad de Ambato, existe escaso o nulo material estadístico relacionado con la investigación del *H. pylori*. Sabemos que existe alta prevalencia de su infección, conocemos además que este microorganismo es un factor etiológico reconocido que contribuye al desarrollo de neoplasia gástrica y que existe un subdiagnóstico, poco establecido.

Sin la realización del presente trabajo no se podría contribuir con datos estadísticos locales y responder interrogantes específicas sobre el diagnóstico de *H. pylori*, enfatizando la utilización rutinaria de la tinción Giemsa más tinción HE para su identificación, tampoco se podría aclarar cuál de las tinciones permite un trabajo más ágil, rápido, sensible, costo-efectivo y práctico, que permita facilitar el trabajo del médico patólogo, así como aumentar la confianza y certeza diagnóstica, evitando caer en el subdiagnóstico, de esta manera mejorar la calidad de atención social promoviendo un tratamiento temprano y oportuno, contribuyendo también con la disminución del desarrollo de la patología gástrica benigna y neoplásica, que actualmente ocupa el décimo segundo lugar como causa de muerte general en nuestro país. (INEC, 2010)

El valor de este estudio repercutirá también en la adopción en futuras investigaciones del proceso aplicado para la validación, que le otorga el carácter científico necesario para la posible publicación de los resultados obtenidos en revistas médicas científicas.

1.2.4. FORMULACIÓN DE PROBLEMA

¿La aplicación de Tinción Giemsa más Hematoxilina Eosina permite identificar *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas del Laboratorio de Patología del IESS de Ambato provincia de Tungurahua?

1.2.5. PREGUNTAS DIRECTRICES

- ¿Cuántos casos positivos se obtendrá con tinción Giemsa en la identificación del *H. pylori*?
- ¿Cuántos casos positivos se obtendrá con tinción HE en la identificación del *H. pylori*?
- ¿Cuál será el tiempo promedio empleado en la identificación de *H. pylori* con las tinciones HE y Giemsa?
- ¿Cuáles serán los diagnósticos patológicos ante la presencia de *H. pylori*?

1.2.6. DELIMITACIÓN DEL OBJETO DE INVESTIGACIÓN

1.2.6.1. DELIMITACIÓN DE CONTENIDO

Campo:	Diagnóstico de Histopatología.
Área:	Microbiología.
Aspecto:	Técnicas de tinción.
Objeto de estudio:	Muestras de biopsias gástricas del Laboratorio de Patología del IESS.
Delimitación espacial:	El Laboratorio de Patología del IESS de Ambato provincia del Tungurahua.

1.3.JUSTIFICACIÓN

La investigación es de interés porque permitió medir la eficacia de dos pruebas diagnósticas (tinciones), de manera científica, en la identificación y visualización objetiva de *H. pylori*., la tinción HE, a diferencia de Giemsa, busca signos indirectos que sugieran la presencia del microorganismo, añadiendo tiempo, recursos y un alto grado de experiencia clínica del médico patólogo.

Buscamos evaluar, proponer y promover el uso de tinción Giemsa como coloración específica para identificar *H. pylori*, adicional al uso rutinario de HE, pues representa un menor costo en tiempo y dinero, así como una mejor identificación objetiva del microorganismo, agilizando su diagnóstico y tratamiento, mejorando la calidad de atención de los pacientes con patología gástrica y su pronóstico.

La patología gástrica benigna como gastritis crónica, enfermedad ácido péptica, y la no benigna como el cáncer gástrico y el linfoma gástrico tipo MALT (linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa), tienen como agente etiológico al *H. pylori*, a pesar de ello la importancia de su diagnóstico no es valorado en su totalidad, reportando con gran importancia que su tratamiento oportuno puede cambiar la

historia natural de una patología gástrica no benigna, y en casos del linfoma gástrico tipo MALT favorecer en ciertos casos su curación. (Viella, 2003)

La Universidad Técnica de Ambato da un aporte importante en el sustento técnico científico de la utilización de la tinción ya mencionada, y contribuye con el proceso de investigación científica, incrementando el banco de información literaria existente hasta el momento.

La factibilidad para realizar este tema es lo que nos motiva y justifica también su realización, como son: costo moderado de la tinción Giemsa, posibilidad de adquisición de la misma mediante un distribuidor farmacéutico, el apoyo del personal completo del laboratorio de anatomía patológica del IESS de Ambato, así como el uso de su espacio físico para la realización de coloraciones de placas obtenidas de biopsias gástricas y el apoyo de la médica patóloga del laboratorio, reconociendo el interés científico del tema, su importancia, impacto y repercusión social

1.4.OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Aplicar la tinción Giemsa más Hematoxilina eosina para identificar *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas del Laboratorio de Patología del IESS Ambato provincia de Tungurahua.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los casos positivos a Giemsa para *H. pylori*.

- Identificar las muestras positivas a HE para *H. pylori* y comparar con Giemsa.
- Conocer el tiempo promedio de identificación de *H. pylori* con HE y Giemsa.
- Valorar la presencia de *H. pylori* según tipo de diagnóstico patológico.
- Diseñar una propuesta de la aplicación de tinción Giemsa en estudio histopatológico de biopsias gástricas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La búsqueda de métodos de tinción en el laboratorio ha sido una preocupación constante entre los profesionales quienes a través de la investigación muestran sus aportes así:

En un estudio realizado en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto" entre enero a julio de 2002, para la introducción y el montaje de técnicas histológicas de coloraciones especiales más empleadas en los centros especializados del país. Se evaluó técnicas de coloración histológicas más usadas entre estas Hematoxilina Eosina vs otras coloraciones como PAS, Wayson, Warthin Starry y los resultados fueron que la técnica Warthin Starry y Wayson son utilizadas con frecuencia en biopsias gástricas para detectar *Helicobacter pylori*, demostrando tener mayor sensibilidad que el método convencional, la técnica de Wayson es más rápida y fácil de realizar e interpretar aunque relativamente costosa.

Martínez, L., al estudiar la influencia del *H. pylori* en la patología gastroduodenal desde el año 2000, expresa que la tinción con HE es la técnica más utilizada para el diagnóstico de muestras incluidas en parafina. Su principal ventaja consiste en permitir el diagnóstico y la evaluación de la lesión histológica asociada, además de ser una técnica fácil de realizar de forma rutinaria en los laboratorios de anatomía patológica. Tiene como inconveniente que requiere una experiencia superior a la de otras técnicas para establecer un correcto diagnóstico de la presencia del *H. pylori* y que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo que queda teñido débilmente pudiendo ser confundido con productos celulares y moco.

La tinción de Giemsa, a diferencia de la anterior, permite una fácil identificación el *Helicobacter pylori*. Por su simplicidad, objetividad, rapidez y bajo costo, esta tinción es muy útil en el diagnóstico de la infección.

Gisbert, J. en su investigación titulada: “*Tratamiento erradicador de Helicobacter pylori*”, citado por el grupo de conferencia española de consenso sobre *Helicobacter pylori* y aceptado por la revista de medicina clínica de Barcelona desde el 2005, indica que la infección por *H. pylori* desempeña un papel fundamental en el desarrollo de diversas enfermedades digestivas, por lo que los métodos diagnósticos de la infección por *H. pylori* tanto directos e indirectos, son necesarios. Los primeros se basan en la demostración «directa u objetiva» del microorganismo mediante el estudio de muestras obtenidas por biopsia gástrica, mientras que los métodos indirectos se basan en el estudio y la detección de ciertas características producidas por la bacteria.

Adicionalmente, *Rivas y Hernández, M.*, en su artículo “*Helicobacter pylori: factores de virulencia, patología y diagnóstico*”, señalan que el *H. pylori* fue inicialmente observado en pacientes con gastritis, pero desde su descubrimiento se ha asociado, no solo con esta afección, sino también con aparición de úlcera péptica, linfomas y adenocarcinomas gástricos. Además *Hernández M.*, quien realiza su investigación en el instituto de nutrición e higiene de la ciudad de la Habana-Cuba, asocia la infección de *H. pylori* con el desarrollo de anemia en niños de edad escolar y señala que en los países en desarrollo se estiman cifras de contaminación que resultan alarmantes, siendo probablemente la vía de contaminación oral atribuible a las aguas de consumo.

Castillo, A., doctor en medicina y cirugía, con experiencia básica en técnicas de investigación histológica, en su proyecto que descansa en el repositorio digital de la Universidad San Francisco de Quito titulado: “*El envejecimiento y la infección con Helicobacter pylori en el desarrollo de Gastritis Crónica Atrófica: una lesión premaligna*”, utilizó las dos tinciones HE y Giemsa, observando con facilidad al *H. pylori* con tinción Giemsa.

Evidencia científica que detalla la utilización técnicas genotípicas y moleculares por medio de PCR (reacción en cadena de polimerasa), facilitadas por Cruz, C. para la investigación de cepas genotípicas específicas de *H. pylori*, relacionadas con el desarrollo de alteraciones histopatológicas particulares, mencionan la importancia de la utilización en el diagnóstico inicial, tinciones histológicas de rutina como HE y Giemsa, con el objetivo de aumentar el porcentaje de detección del microorganismo, particular facilitado a través de la tinción Giemsa en las muestras biopsiadas de mucosa gástrica.

Sin restar una ventaja significativa de la histología sobre otros métodos diagnósticos como HE que tiene la habilidad para evaluar los cambios patológicos asociados con la infección de *H. pylori* como inflamación, atrofia, displasia, metaplasia y el conjunto de cambios morfológicos sugerentes de malignidad (Logan & Walker, 2001), por lo que se lo podría considerar como “Gold estándar”, pero imperfecto, porque su sensibilidad y especificidad varía en relación al nivel de experiencia del médico patólogo.

Lera, I., ratifica HE como la técnica de tinción más utilizada en su libro: “*Métodos Diagnósticos de la Infección por Helicobacter pylori*” atribuyendo la observación de lesión histológica como principal beneficio y mencionando también la tinción Giemsa, que permite la identificación fácil y nítida de *H. pylori*, ya que tiñe de azul intenso al microorganismo, sobre un fondo azul luminoso, por lo tanto, recomienda su uso.

2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

La presente investigación se conforma del fundamento Epistemológico fundamento Filosófico y el fundamento Axiológico.

Desde el punto de vista epistemológico en la investigación se utiliza información científica realizada por los investigadores después de sus respectivas observaciones acerca del método común para la identificación de *Helicobacter pylori*.

Desde el punto de vista filosófico, interesa mostrar que los profesionales de laboratorio clínico aportan al mejoramiento de la atención sanitaria a través de la investigación científica, basada en el método y rigor científico que ha permitido el desarrollo de nuevas técnicas y el empleo de las mismas para facilitar el diagnóstico como mejorar la calidad de atención y su eficacia.

Así mismo, esta investigación es de carácter axiológico ya que se podría poner en práctica los valores adquiridos en el transcurso de la vida universitaria al fortalecer la ética profesional realizando la adecuada coloración de las muestras histopatológicas para así emitir resultados en el menor tiempo posible, con datos reales y con alto grado de confiabilidad.

2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL

Ley Orgánica de Salud expide lo siguiente:

LIBRO IV

CAPÍTULO III

De los servicios y profesiones de salud

De las profesiones de salud, afines y su ejercicio

Art. 193.- Son profesiones de la salud aquellas cuya formación universitaria de tercer o cuarto nivel está dirigida específica y fundamentalmente a dotar a los profesionales de conocimientos, técnicas y prácticas, relacionadas con la salud individual y colectiva y al control de sus factores condicionantes.

Art. 194.- Para ejercer como profesional de salud, se requiere haber obtenido título universitario de tercer nivel, conferido por una de las universidades establecidas y reconocidas legalmente en el país, o por una del exterior, revalidado y refrendado. En uno y otro caso debe estar registrado ante el CONESUP y por la autoridad sanitaria nacional.

Art. 196.- La autoridad sanitaria nacional analizará los distintos aspectos relacionados con la formación de recursos humanos en salud, teniendo en cuenta las necesidades nacionales y locales, con la finalidad de promover entre las instituciones formadoras de recursos humanos en salud, reformas en los planes y programas de formación y capacitación.

Art. 198. - Los profesionales y técnicos de nivel superior que ejerzan actividades relacionadas con la salud, están obligados a limitar sus acciones al área que el título les asigne.

Art. 201.- Es responsabilidad de los profesionales de salud, brindar atención de calidad, con calidez y eficacia, en el ámbito de sus competencias, buscando el mayor beneficio para la salud de sus pacientes y de la población, respetando los derechos humanos y los principios bioéticos. Es su deber exigir condiciones básicas para el cumplimiento de lo señalado en el inciso precedente.

CAPÍTULO IV

De la capacitación sanitaria

Art. 205.- Créase la carrera sanitaria para los recursos humanos del Sistema Nacional de Salud, basada en el criterio de clasificación por niveles de formación y estructura ocupacional, con el propósito de establecer sus obligaciones y derechos, así como los incentivos que permitan garantizar la equidad, calidad en la atención y el servicio, la asignación adecuada y suficiente de recursos humanos en las distintas zonas del país. La autoridad sanitaria nacional promoverá y desarrollará, dentro de la carrera sanitaria, un plan nacional de educación permanente con enfoque de género y pluricultural, para mejorar la productividad, calidad del desempeño laboral y promoción de sus recursos humanos.

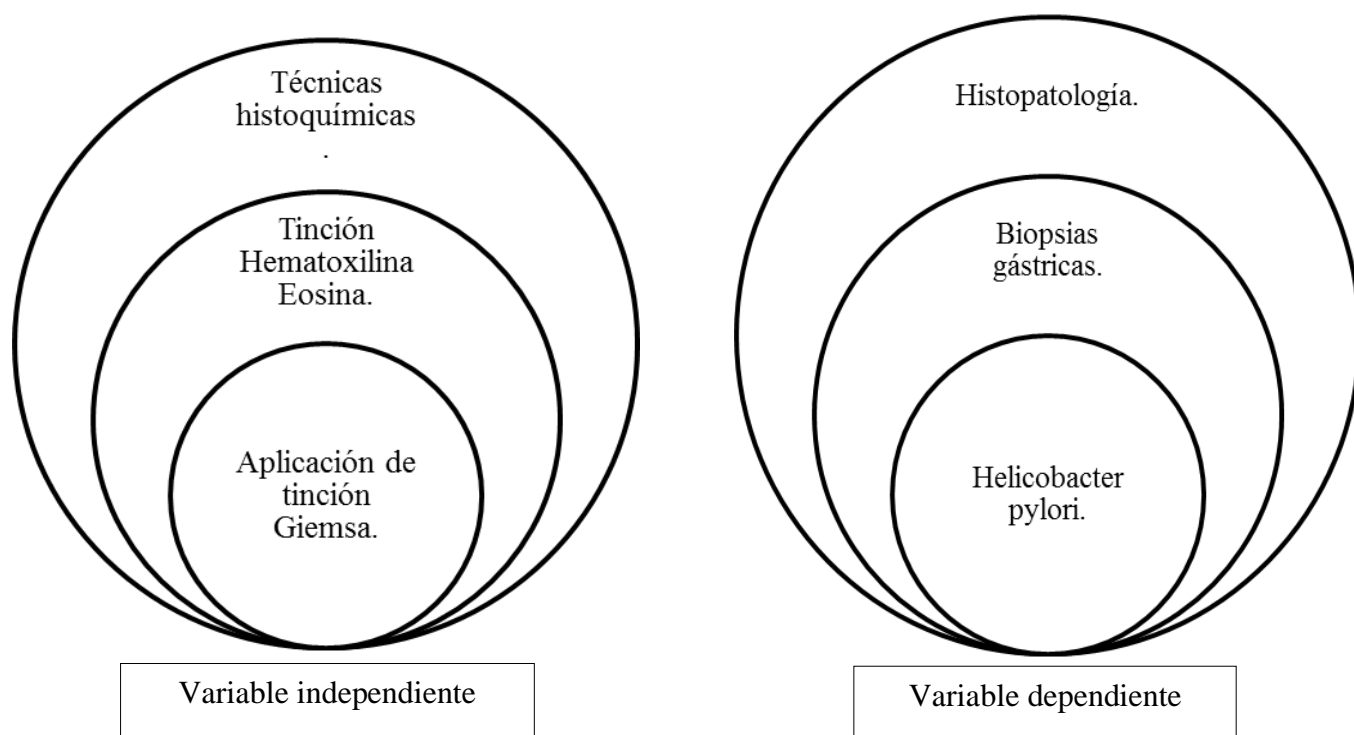
CAPÍTULO V

Investigación científica en salud, genética y sistema de información en salud

Art. 207.- La investigación científica en salud así como el uso y desarrollo de la biotecnología, se realizará orientada a las prioridades y necesidades nacionales, con sujeción a principios bioéticos, con enfoques pluri-cultural, de derechos y de género, incorporando las medicinas tradicionales y alternativas.

Art. 208.- La investigación científica tecnológica en salud será regulada y controlada por la autoridad sanitaria nacional, en coordinación con los organismos competentes, con sujeción a principios bioéticos y de derechos, previo consentimiento informado y por escrito, respetando la confidencialidad. (Ecuador. Ministerio de Salud. 2006.)

2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES



2.4.1. TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS

Las técnicas histoquímicas son el conjunto de métodos empleados para la demostración de la naturaleza química de los componentes tisulares y celulares. Se recurre al empleo de estas tinciones histoquímicas cuando la pretensión es visualizar (teñir) específicamente una sustancia determinada. La histoquímica se basa, en hacer reaccionar químicamente determinados reactivos con los componentes celulares o tisulares que queremos demostrar para obtener un producto final que es coloreado y puede verse con el microscopio.

La mayoría de profesionales conocen la importancia que tuvieron los colorantes en el desarrollo de su disciplina, aunque también saben que actualmente es un área de la química poco frecuentada.

Sin embargo, una parte de la ciencia de los colorantes ha jugado un papel histórico en otra especialidad: la histología. El histólogo estudia la estructura giroscópica de tejidos de células y orgánulos celulares para describir su morfología y posible función. Además, lo único que le interesa es llevar esa descripción a nivel molecular y llegar a conocer con resolución espacial la composición y reactividad química (histoquímica) del sistema biológico.

Paul Ehrlich en su investigación sobre la teoría y práctica de la tinción histológica, pudo demostrar la existencia de la barrera hematoencefálica al colorear con anilina la sangre de un ratón observar que el cerebro del animal no se teñía. Una de sus mayores innovaciones consistió en el uso de diferentes colorantes (azules de metileno y de indofenol) para la tinción selectiva de diferentes tipos de células.

Ehrlich, médico bacteriólogo alemán y ganador del premio Nobel de medicina en 1908, clasificaba como basófilas, acidófilas y neutrófilas aquellas células que se coloreaban específicamente con colorantes básicos, ácidos o neutros, respectivamente, explicando dicha especificidad mediante la presencia de los

correspondientes grupos ionizables. (Elguer, Acuña, 2011) (Enciclopedia Libre Mundial Electrónica, 2014)

Por lo tanto, la histoquímica es un método de tinción de tejidos que proporciona información sobre la presencia y localización de macromoléculas intracelulares y extracelulares. Es posible localizar los constituyentes químicos específicos de tejidos y células por los métodos de histoquímica y citoquímica. Estos métodos aprovechan la actividad enzimática, reactividad química y otros fenómenos físicos, químicos relacionados con el elemento en cuestión. Las reacciones de interés se tornan evidentes mediante la formación de un precipitado insoluble que toma cierto color. Con frecuencia la histoquímica se efectúa en tejidos congelados y puede aplicarse tanto en la microscopía de luz como en la electrónica.

En una reacción histoquímica se utiliza el reactivo ácido periódico de Schiff (PAS), que forma un precipitado de color magenta con moléculas ricas en glucógeno y otros carbohidratos complejos. Para asegurar, por ejemplo, que la reacción sea específica del glucógeno, los cortes consecutivos se tratan con amilasa (enzima que digiere el glucógeno), así los cortes no tratados con amilasa muestran un depósito magenta, en tanto que los cortes tratados con la enzima mostraran una débil, escasa o nula tinción en la misma región. (Screeninglab Barcelona, 2012)

Aunque es posible localizar enzimas mediante procedimientos histoquímicos, se observa el producto de la reacción enzimática y no la enzima en sí misma. El reactivo está diseñado de tal manera que el producto se precipite en el sitio de la reacción y sea reconocido como un depósito metálico o de color.

En lo referente a la composición química de un tejido procesado, listo para una coloración de rutina, conocemos que existen diferencias notables y significativas con respecto al tejido vivo. Los componentes que perduran luego de la fijación son principalmente moléculas grandes que no se disuelven con facilidad, en especial después de aplicar el medio fijador, estas moléculas grandes, en particular las que

reaccionan con otras moléculas semejantes para formar complejos macromoleculares, son las que suelen conservarse en un corte histológico.

Los siguientes son ejemplos de estos complejos macromoleculares grandes:

- Nucleoproteínas, formadas por ácidos nucleicos unidos a proteínas.
- Proteínas intracelulares del citoesqueleto unidas en complejos con otras proteínas.
- Proteínas extracelulares en grandes aglomeraciones insolubles, en las que moléculas vecinas semejantes, se unen a través de enlaces cruzados como ocurre en la formación de las fibras colágenas. En su mayor parte, estas moléculas constituyen la estructura de las células y los tejidos, dado que son los elementos morfogénicos hísticos, por lo tanto, la base de la organización de los tejidos visible con el microscopio.

Aquellos cortes histológicos, preparados frescos u obtenidos postmortem, poseen moléculas complejas que observadas en el microscopio óptico diferencian elementos que poseen distinto índice de refracción (n), aquellos componentes con un n semejante, aparecerán iguales al observador, por lo tanto serán confundidos en uno solo, esta es la razón de utilizar soluciones coloreadas, que se unan selectivamente a ciertas estructuras tiñéndolas para hacer visibles determinados detalles estructurales, a manera de ejemplo: orceína a las fibras elásticas, carmín de Best al glucógeno. (Harry, 2012).

La luz del sol está compuesta por un espectro continuo de radiaciones electromagnéticas, cada una con una determinada longitud de onda es capaz de diferenciar rayos ultravioleta, de la luz visible y radiación infrarroja. La luz en relación a los cuerpos que la reciben, puede comportarse de tres maneras: reflejada, transmitida o absorbida a través del cuerpo sobre el que incide. Los cuerpos que aparecen coloreados, son los que tienen la capacidad de absorber de manera selectiva

los rayos luminosos de una determinada longitud de onda y reflejan la luz del color complementario. Cuando una sustancia es incolora (no tiene absorción en el espectro visible), agregando algunos grupos no saturados (con doble ligadura) denominados cromóforos, se pueden desplazar esas bandas hacia el espectro visible, entonces la sustancia presenta color. (Harry, 2012).

Llamamos coloración al proceso mediante el cual un cuerpo es teñido por una sustancia colorante, sin perder el color cuando es lavado con el disolvente utilizado al preparar la solución colorante. (Elguer, Acuña, 2011). Recibiendo la denominación de colorantes, las sustancias que pueden conferir color a otros cuerpos, estos poseen tres componentes importantes: un esqueleto incoloro, que normalmente es un anillo aromático de benceno, al cual se le unen dos tipos de radicales: uno que aporta el color, denominado cromóforo, y otro que posibilita la unión a elementos del tejido, mediante su ionización, denominado auxocromo. Al conjunto de estos tres elementos unidos en una molécula se denomina cromógeno.

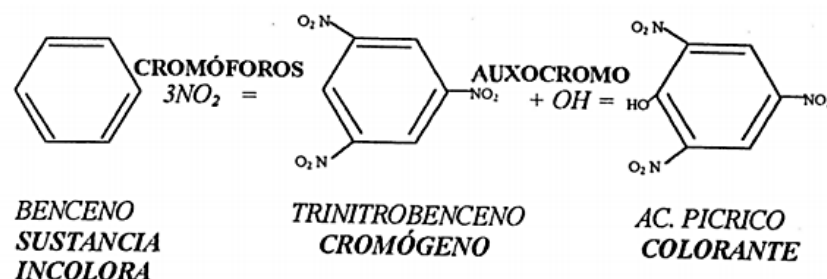


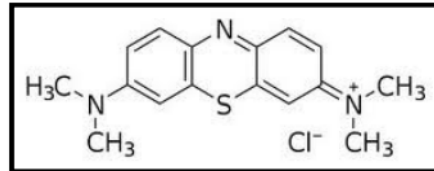
Imagen N.- 1 Composición química de un colorante

Tomada de Harri J. Grier. Histología. 2012

Los colorantes según su carga pueden ser:

- Básicos: aquellos que poseen un grupo catiónico (R^+ =cromógeno), que se une a grupos ácidos de los tejidos
- Ácidos: aquellos que poseen un grupo aniónico (R^-), que se une a grupos básicos de los tejidos
- Neutros: que resultan de la mezcla de un colorante ácido con uno básico

Imagen N.- 2 Clasificación de los colorantes según su carga: básico superior y ácido inferior.

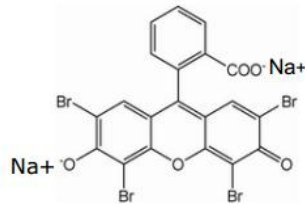


Azul de metileno

Hematoxilina

Fucsina básica

Azul de toluidina



Eosina (Eosianato de Na)

Orange G

Azul de anilina

Tomada de Harri J. Grier. Histología. 2012

Teniendo en cuenta la afinidad de un colorante por determinados grupos químicos presentes en el tejido, diremos que: un colorante básico, con carga catiónica (+), formará uniones con componentes cargados (-), formando un componente tisular basófilo, de grupos tisulares ácidos: heterocromatina y nucléolos (grupos fosfato ionizados de los ácidos nucleicos), retículo endoplásmico rugoso (grupo fosfato ionizados del ARN), matriz extracelular del cartílago (hidratos de carbono con grupos sulfatos). De la misma forma un colorante ácido, al poseer una carga aniónica (-), formará uniones con componentes cargados (+), dando lugar a un componente tisular acidófilo, tiñendo grupos tisulares básicos: filamentos citoplasmáticos (actina, miosina), componentes membranosos intracelulares, citoplasma en general, fibras extracelulares (grupos aminos ionizados). Por lo tanto la intensidad de la coloración dependerá del grado de acidez o alcalinidad del medio.

Clasificación de colorantes:

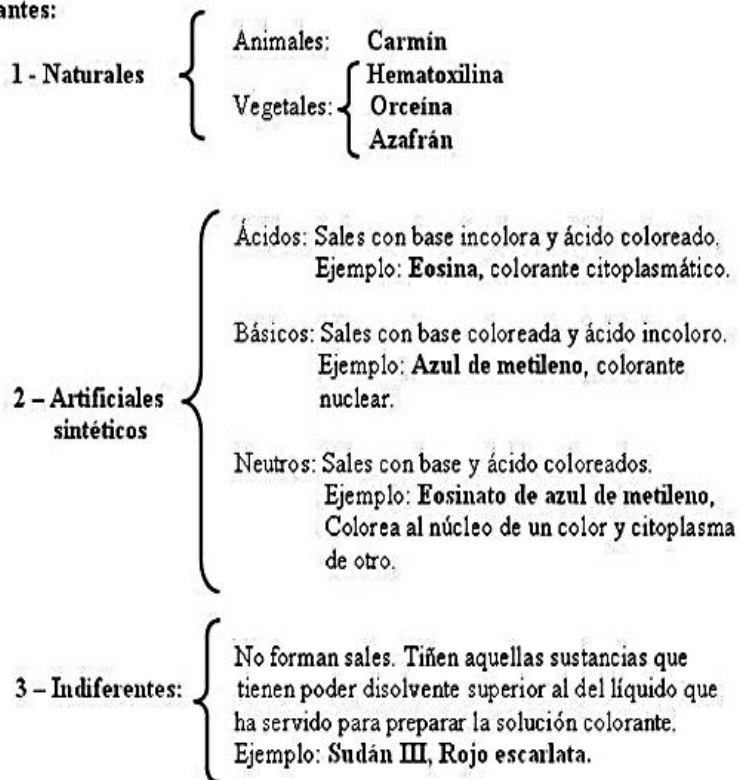


Imagen N.- 3 Clasificación de los colorantes

Tomada de Molina, G. Histoquímica. El Salvador. 2012

MECANISMOS DE COLORACIÓN: entre estas tenemos:

- Coloración física: por disolución del colorante en distintas sustancias o componentes tisulares (Sudán III), o por impregnación y precipitación de sales metálicas sobre estructuras de diferente densidad (Técnica Río de Ortega)
- Coloración química: detecta una sustancia determinada a través de una unión química específica (técnicas histoquímicas como: la reacción del ácido periódico-reactivo de Schiff (PAS), o la técnica con Carmín de Best para detección de glucógeno).

- Coloración fisicoquímica: el colorante se une a la sustancia coloreable específica combinándose íntimamente con ella debido a la presencia de agrupaciones moleculares básicas y ácidas en los tejidos que se unirán con los grupos ácidos y básicos de los colorantes.
- Coloración simple: se utiliza un solo colorante y por ende se colorea solamente algunos elementos del preparado. (azul de metileno)
- Coloración combinada: se utilizan dos o más colorantes, se recurre al empleo de colorantes básicos y ácidos. (Hematoxilina Eosina)
- Coloración panóptica: coloración combinada, realizada sucesivamente por colorantes neutros. (Coloración de May Grünwald-Giemsa)
- Coloración progresiva: se hace actuar el colorante hasta que llegue a su punto óptimo, como la coloración de orceína, para fibras elásticas.
- Coloración regresiva: se realiza primero una sobre-coloración y luego se elimina el resto del colorante por medio de diferenciadores, como la coloración de Mallory-Heidenhain (AZAN):
- Coloración directa: existe verdadera afinidad entre el colorante y el objeto, como el colorante ácido eosina y su gran afinidad tisular catiónica formando componentes acidófilos
- Coloración indirecta: requiere intervención de intermediarios, mordientes o adherentes como la tinción de hematoxilina de Carazzi, que al oxidarse forma un derivado llamado alumbre (de potasio o hierro), que actúa como mordiente, para formar finalmente laca o hemalumbre.
- Coloración ortocromática: los tejidos adquieren un color igual al de la solución del colorante empleado (fucsina, hematoxilina).
- Coloración metacromática: una sustancia o un componente celular se tiñe con un color diferente al del colorante empleado, que es el caso del azul de metileno y el azul de toluidina (Molina, 2012) (Harry, 2012).

2.4.2. TINCIÓN HEMATOXILINA EOSINA (HE)

Esta tinción es la de rutina en la mayoría de laboratorios de anatomía patológica y es la tinción con la cual se describe todas las estructuras histológicas.

La HE usa un colorante básico y otro ácido para teñir de diferente color a las estructuras ácidas y básicas. Es decir se compone de dos colorantes, la Hematoxilina y la Eosina:

- Hematoxilina: Es un colorante que tiene inclinación por las carga negativa en los tejidos como los ácidos nucleicos presentes en el núcleo y otras proteínas citoplasmáticas tiñéndolas de color morado.
- Eosina: como segundo colorante este en cambio tiene inclinación por las cargas positivas presentes en el tejido como la mayoría de las proteínas citoplasmáticas tiñéndolas de un color rojo o rosado muy fuerte.

A continuación un protocolo básico de cómo se realiza una tinción con Hematoxilina Eosina o HE. (Ministerio de Salud Pública, 2007)

1. Después de realizar los respectivos cortes histológicos, colocar las placas en una canastilla y poner en la estufa a 80°C por 20 minutos.
2. Llevar la canastilla al Xilol (1) y dejar por 10 minutos.
3. Llevar la canastilla al Xilol (2) y dejar por 10 minutos.
4. Llevar la canastilla al Xilol (3) y dejar por 10 minutos.
5. Poner en el Alcohol de 100 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
6. Poner en el Alcohol de 96 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
7. Poner en el Alcohol de 75 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
8. Lavar las placas en agua corriente sacudiendo hasta que el agua salga clara.
9. Colocar las placas en HE por 10 minutos.
10. Lavar las placas en agua corriente sacudiendo hasta que el agua salga clara.
11. Colocar las placas en alcohol ácido (sumergirlo por dos veces rápidamente).

12. Lavar las placas en agua corriente sacudiendo hasta que el agua salga clara.
13. Colocar las placas en agua amoniacal sacudiendo unas 40 veces.
14. Colocar las placas en eosina por 3 minutos.
15. Poner en el Alcohol de 75 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
16. Poner en el Alcohol de 96 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
17. Poner en el Alcohol de 100 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
18. Poner las placas en Xilol (2) dejamos por 2 minutos.
19. Poner las placas en Xilol (3) dejamos por 2 minutos.
20. Realizar el montaje cuidando que no queden burbujas.
21. Entregar las placas al médico patólogo para su lectura. (Citología, 2009).

2.4.3. APLICACIÓN DE LA TINCIÓN GIEMSA MÁS HEMATOXILINA EOSINA

Esta tinción habitualmente se la utiliza para el examen de frotis sanguíneos. Al ser una tinción diferencial es capaz de distinguir distintas estructuras celulares.

Esta tinción consiste en una combinación de dos coloraciones sucesivas, ya que utilizan diferentes variantes de azul de metileno. Con esta tinción podemos resaltar los detalles del citoplasma, vacuolas, gránulos y ciertos componentes del fondo como son colágeno, mucina, etc. (Tinción de Giemsa, 2010).



Imagen N.- 4. Atlas de Video Endoscopia Gastrointestinal. Dr. Julio Murra Saca.

A continuación un protocolo básico de cómo se realiza una tinción con Giemsa

1. Después de realizar los respectivos cortes histológicos, colocar las placas en una canastilla y poner en la estufa a 80°C por 20 minutos.

2. Llevar la canastilla al Xilol (1) y dejar por 10 minutos.
3. Llevar la canastilla al Xilol (2) y dejar por 10 minutos.
4. Llevar la canastilla al Xilol (3) y dejar por 10 minutos.
5. Poner en el Alcohol de 100 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
6. Poner en el Alcohol de 96 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
7. Poner en el Alcohol de 75 grados y sacudimos alrededor de 40 veces.
8. Lavar las placas en agua destilada dos veces sacudiendo unas 10 veces.
9. Colocar las placas en una bandeja y procedemos a colocar el Giemsa (dos gotas en cada placa).
10. Lavamos 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. Poner las placas en Xilol (3) por 5 minutos.
13. Realizar el montaje cuidando que no queden burbujas.
14. Entregar las placas al médico patólogo para su lectura. (Perea, 2003)

En el momento actual, la coloración de Giemsa se utiliza para teñir biopsias del más variado origen y entre estas, las de la mucosa gástrica para detectar la presencia de *H. pylori*. No solo permite la visualización de la bacteria, sino la apreciación de los cambios histopatológicos.

Actualmente la que más se utiliza es Hematoxilina-eosina y en ciertos países se utiliza Giemsa, esta última con una excelente sensibilidad y especificidad. En cambio Hematoxilina-eosina lo que nos reporta en si es la bacteria y simultáneamente, da información sobre el grado del compromiso inflamatorio y la evolución de procesos atróficos o malignos, es la de menos sensibilidad y especificidad. (Moayyedi, 2013) (Elguer, Acuña, 2011).

Cuadro N.- 2. Usos actuales de tinción Giemsa

Área de estudio	Temas específicos
Citología	Células madres Células sanguíneas Leucocitos Medula ósea, células Hemocitoblasto Megacariocito Citodiagnóstico
Genética	Cromosomas Bandas cromosomas id con Giemsa-11*
Patología	Biopsias Leucemia
Microbiología	Virus <i>Chlamydia</i> Bacteria <i>Pneumocystis carinii</i> <i>Helicobacter pylori</i> <i>Borrelia</i> <i>Legionella</i> <i>Treponema sp.</i>
Parasitología	<i>Toxoplasma gondii</i> <i>Leishmania sp.</i> <i>Plasmodium sp.</i>
Micología	

Tomado de Perea J. 2003

2.4.4. HISTOPATOLOGÍA

La técnica para el diagnóstico histopatológico comprende la preparación de los tejidos para su estudio microscópico, sometiéndolos a una serie de procesos: fijación, deshidratación, aclaramiento, inclusión, corte y tinción. En el laboratorio de patología del IESS se siguen los siguientes pasos:

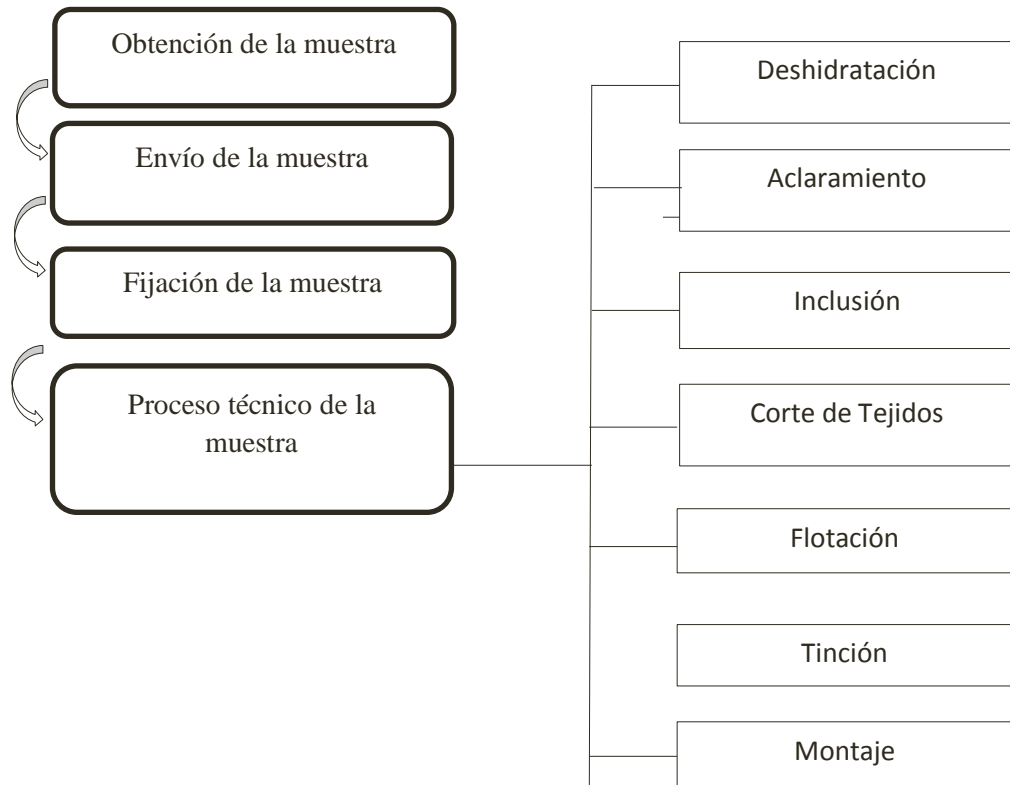


Diagrama N.-1 Procedimiento Histopatológico realizado en el laboratorio de patología del hospital IESS Ambato

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

El estudio anatómico-patológico se lleva a cabo con muestras obtenidas por biopsia de especímenes quirúrgicos o especímenes de necropsias (post mortem). La biopsia consiste en un fragmento de tejido que se extrae de un área representativa de una lesión, la cual nos brindará información histológica para el diagnóstico. Puede ser obtenida de cualquier órgano mediante diversos procedimientos, la mayoría realizados solo por personal médico especializado, entre las cuales tenemos endoscopías, broncoscopías, legrados uterinos, biopsias dirigidas por ultrasonografía o tomografía, entre otras.

ENVÍO DE MUESTRAS

El paciente debe llegar con una orden del médico, en la cual refiere detalladamente el cuadro clínico del paciente caracterizado por sus diferentes signos y síntomas, así como el diagnóstico presuntivo, habitualmente estipulando, gastritis crónica. Desde

ese momento todos los especímenes para examen histopatológico deben ser remitidos con su ficha de envío de muestra correctamente llenada. El recipiente conteniendo la biopsia debe ser rotulado claramente con el nombre del paciente, la naturaleza del espécimen, (por ejemplo hígado, pulmón). El recipiente se tapa herméticamente, se sella con esparadrapo y se coloca en una caja de cartón, protegiendo el frasco para evitar roturas, en el caso de ser de vidrio, rellenando la caja con papel o espuma plástica, no es necesario mantener una cadena de frío o refrigeración. Las muestras deben remitirse en frascos con fijador (formol bufferado)

Son criterios para rechazar una muestra para estudio anátomo-patológico:

- Recipiente del espécimen sin rotular.
- Discrepancia entre la ficha de envío de muestra y el rótulo del recipiente.
- Inadecuada o insuficiente información en la ficha de envío de muestra.
- Inadecuado envío.

FIJACIÓN DE MUESTRAS

Este proceso consiste en el mantenimiento de los elementos constitutivos del tejido, es decir su estado físico y también su estado químico, de manera que puedan resistir el tratamiento sucesivo con varios reactivos sin distorsión importante de sus estructuras o descomposición. En condiciones ideales un fijador debe penetrar rápidamente al tejido, su acción debe ser inmediata y debe causar una pérdida química y física mínima de los componentes celulares.

Deben colocarse en frascos preferentemente de plástico, de boca lo suficientemente ancha para que el tejido pueda ser extraído sin dificultad. Una vez que el tejido está fijado se endurece, pudiendo ocasionar dificultades al intentar extraerlo si el frasco es muy pequeño, en relación al volumen de la muestra.

El fijador empleado rutinariamente en patología es el formol al 10% en solución acuosa o en solución acuosa tamponada (formol neutro amortiguado al 10%).

PROCESO TÉCNICO DE LAS MUESTRAS

Después que el patólogo ha realizado la descripción macroscópica, es decir una identificación de cuantas muestras fueron enviadas de cada paciente, (preferentemente de 3 a 5 biopsias de estómago tomadas de la curvatura mayor y menor del antro, de la curvatura mayor y menor del cuerpo y de la incisura), se realizan los cortes histológicos para que sean analizados en el microscopio óptico e interpretados, proceso que se llama “TÉCNICA HISTOLÓGICA”.

El tejido (biopsia o pieza quirúrgica) a ser procesado es descrito, con sus características macroscópicas por el médico patólogo, luego de lo cual se procede a tomar cortes representativos de la lesión e introducirlos en cápsulas o canastillas metálicas para ser analizado en el procesador automático de tejidos, el cual realiza mecánicamente los sucesivos cambios de líquidos e inicia con la fijación luego la deshidratación, aclaramiento, inclusión y finalmente la impregnación de los tejidos en parafina.

DESHIDRATACIÓN

Todo tejido tiene grandes cantidades de agua la cual debe ser eliminada y reemplazada por parafina, este proceso se denomina deshidratación y el mejor agente para ello es el alcohol etílico.

La deshidratación se logra mejor utilizando, gradualmente, alcoholes de menor a mayor concentración. No es aconsejable exponer directamente el tejido preparado con formol al alcohol concentrado, ya que provoca distorsión tisular.

Los alcoholes deben ser renovados dependiendo de la frecuencia de uso y de la cantidad de tejidos introducidos en ellos, descartando, en lo posible el primer recipiente de alcohol, incorporando el segundo como inicial y colocando en el último, nuevo alcohol absoluto. El volumen de alcohol debe ser aproximadamente 10 veces el volumen del tejido a deshidratar.

ACLARAMIENTO (DESALCOHOLIZACIÓN)

Permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelve la parafina, con la cual el tejido va a ser impregnado, muchas de estas sustancias tienen la propiedad de volver transparentes los tejidos.

El solvente de parafina más usado es el Xilol. El volumen mínimo debe ser 10 veces el volumen del tejido. Nunca debe dejarse los tejidos en Xilol más de 3 horas; si no es difícil hacer los cortes.

Cuando la deshidratación no es completa, el Xilol toma un aspecto lechoso cuando se le añade el tejido, otros agentes aclarantes son: tolueno, cloroformo, aceite de cedro, entre otros.



Imagen N.-5. Procesador automatizado de tejidos (fijación, deshidratación aclaramiento e, infiltración). Hospital IEES Ambato.

N° de recipiente	Cronometría del proceso
1. Formol neutro amortiguado al 10%	2 horas
2. Formol neutro amortiguado al 10%	2 horas
3. Alcohol etílico al 50%	1 hora
4. Alcohol etílico al 70%	1 hora
5. Alcohol etílico al 80%	1 hora
6. Alcohol etílico al 95%	1 hora
7. Alcohol etílico al 100%	1 hora
8. Alcohol etílico al 100%	1 hora
9. Xilol	1 hora
10. Xilol	1 hora
11. Parafina N°1	2 horas
12. Parafina N°2	2 horas

INCLUSIÓN

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

La inclusión en parafina es la más usada y simple. El volumen del medio de impregnación debe ser aproximadamente 25 veces mayor que el volumen del tejido.

MOLDES PARA BLOQUES

Son de varios tipos:

"L" de inclusión: Consiste en dos piezas en forma de L de material pesado tipo bronce, que descansan sobre una base metálica plana.

Molde para inclusión: Consiste en una base de plástico o de acero inoxidable dentro de la cual se incluye la pieza tisular. Luego se pone encima un molde de plástico que se llena de parafina, dándole mayor soporte al bloque.

Centro de Inclusión: Son unidades multifuncionales usualmente equipadas con dispensador de parafina, porta especímenes, platillo caliente para orientar el espécimen en la parafina derretida y platillo frío para transformar la parafina en un bloque sólido después que el espécimen ha sido orientado.



**Imagen N- 6. Centro de inclusión y cámara refrigerada (confección de bloques de parafina).
Hospital IEES Ambato.**

TÉCNICA

- 1 Se recomienda un punto de fusión para la parafina entre 54° y 58° C.
- 2 Mantener la parafina líquida en el recipiente final de parafina del procesador automático, el cual se pasa a la mesa de trabajo.
- 3 Se coge una cápsula metálica que contiene el tejido procesado. Se extrae el tejido de la cápsula y se coloca en el molde para hacer bloques llenos con parafina derretida. La cara del tejido donde se quieren hacer los cortes se coloca hacia abajo, y los tejidos deben orientarse cuidadosamente para que el plano de corte sea el deseado.
- 4 Una vez que los tejidos han sido incluidos y cuando la parafina se ha solidificado, los moldes se colocan en un recipiente con hielo por 30 minutos o toda la noche, lo cual reduce la tendencia de algunas parafinas a cristalizarse, permitiendo obtener bloques de consistencia firme y uniforme.
- 5 Retirar el molde, quedando el bloque de tejido parafinado listo para cortar.

CORTE DE LOS TEJIDOS

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

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



Imagen N.- 7. Micrótopo (Corte micrométrico de los tejidos incluidos en parafina). Hospital IEES Ambato.

FLOTACIÓN

El baño de flotación debe ser calentado a 30-40 grados centígrados, bajo el punto de fusión de la parafina (54-58°C). El uso de agua destilada en el baño ayuda a eliminar burbujas (puede usarse agua de caño).

La cinta de tejido es puesta gradualmente en el baño de flotación para eliminar arrugas y aire atrapado. Los cortes son luego puestos en láminas limpias ya rotuladas con el código del tejido. Son secadas verticalmente en el secador de láminas a temperatura de 37° a 40°C, de un día para otro, o a 58°C en estufa por 20 a 30 minutos.



Imagen N.- 8. Baño de flotación (extendido del corte para su montaje y secado). Hospital IEES Ambato.

TINCIÓN

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

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



Imagen N.- 9. Tinciones. Hospital IEES Ambato.

MONTAJE

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

- a) Resinas naturales: Bálsamo de Canadá (obtenido del árbol de abeto balsámico), que fue el estándar en el pasado, pero toma mucho tiempo en secar, en la actualidad existen resinas de origen vegetal con marcas reconocidas, entre ellas están: Martex, Merckoglass.
- b) Resinas sintéticas: Actualmente las más usadas, entre ellas tenemos diversas marcas como la resina de Permout o Cytoseal.



Imagen N.- 10. Procedimiento de montaje manual. Hospital IEES Ambato.

2.4.5. BIOPSIA GÁSTRICA

La biopsia es adquirir un tejido o células de un ser vivo para proceder a examinar y observar con el microscopio.

Para poder obtener este tejido existen varias formas, dependiendo del tipo de muestra que queremos extraer.

TIPOS DE BIOPSIAS

BIOPSIA ENDOSCÓPICA

Se realiza por medio de un endoscopio, que utiliza tubos flexibles de fibra óptica con lentes en su interior, conectados a un monitor que procesa imágenes obtenidas del órgano en estudio, dichos tubos pueden ser insertados a través de un orificio natural (como por ejemplo, la boca, el recto, las vías urinarias) o una incisión pequeña (como en la artroscopia, para alcanzar el espacio interno de una articulación). Con el endoscopio se puede observar directamente el órgano en cuestión, en el cual se buscan áreas anormales o sospechosas para poder obtener una pequeña cantidad de tejido de estudio.

Los procedimientos endoscópicos reciben el nombre del órgano o parte del cuerpo que se va a visualizar, así como: gastroscopía (estómago), colonoscopia (colon), broncoscopia (tejido bronquial).

En cuanto al sitio más común de biopsia tenemos:

- Médula ósea.
- Glándula mamaria.
- Tracto gastrointestinal (esófago, estómago, duodeno, colon, recto, ano)
- Riñón.
- Hígado.
- Pulmón.
- Nódulos linfáticos.
- Piel.
- Tiroides.
- Cerebro.

Después de una biopsia, la muestra de tejido, es procesada y enviada a una de las siguientes áreas de la anatomía patológica para que la examinen y la analicen:

- Patología Quirúrgica.
- Citología.
- Histología.
- Medicina Forense

PROCEDIMIENTO PARA TOMA DE BIOPSIA GÁSTRICA

La toma e interpretación de las biopsias gástricas debe llevar una secuencia adecuada. La interpretación histopatológica inicial consiste en obtener un número suficiente de cortes histológicos (mínimo 6) de cada biopsia para su estudio. Idealmente, para realizar un estudio histopatológico se necesita:

- Información suficiente y necesaria de hallazgos clínicos y endoscópicos.
- Conocimiento y experiencia del patólogo en el área.
- Descripción precisa de los hallazgos.
- Que el paciente alcance un beneficio con el estudio.

No siempre se obtiene una buena correlación endoscópica-patológica. (Khakhoo & Fung, 2009), demostraron que no existe una correlación clínica-endoscópica al encontrar que el diagnóstico endoscópico de gastritis y erosión puede corresponder a una mucosa normal y que áreas aparentemente normales corresponden a una gastritis con metaplasia y atrofia.

RAZONES POR LAS QUE SE REALIZA EL EXAMEN

Este examen se hace cuando el médico especialista, en su evaluación clínica, requiere diagnosticar patología gástrica causante de síntomas estomacales, habiendo descartado otras causas de dolor abdominal. Entre ellas:

CLASIFICACIÓN DE SYDNEY

Correlaciona el aspecto endoscópico topográfico del estómago, catalogado en gastritis del antro, pan-gastritis y gastritis del cuerpo, con una división histológica de tipo topológico que cataloga la gastritis en aguda, crónica y formas especiales, aunando a esta la etiología y el grado de daño morfológico basado en la presencia o ausencia de variables histológicas graduables en una escala de 0 a 4 cruces. Dentro de las variables histológicas graduables, se encuentran: la densidad de *Helicobacter pylori*, la infiltración de neutrófilos, infiltración de células mononucleares, atrofia y la atrofia intestinal.

En las variables histológicas no graduables, catalogados de presentes o ausentes, se encuentran: la presencia de folículos linfoides, daño epitelial de la superficie, hiperplasia foveolar, granulomas y otros.

Este sistema requiere, para su correlación, tomar por lo menos 5 biopsias del estómago: de la curvatura mayor y menor del antro, de la curvatura mayor y menor del cuerpo y de la incisura. (Vélez, 2004)

Aunque el sistema Sydney es útil para propósitos de investigación, su aplicabilidad en la práctica clínica es limitada por la cantidad de biopsias requeridas de varias regiones del estómago y por la complejidad de su escala de graduación del daño histológico. En este sistema, la clasificación de las gastritis crónicas reconoce:

- Gastritis antral no atrófica, que es asociada con *H. pylori*, suele ser una gastritis superficial, sin atrofia, conocida también como gastritis tipo B.

- Gastritis atrófica multifocal antral y corporal, asociada principalmente a factores externos, dentro de los cuales el más importante en su iniciación, es el *H. pylori*, postulándose que las células foveolares tienen receptores para estas bacterias, las cuales tienen una proteasa que destruye las glicoproteínas del moco, exponiendo de esta manera a las células a la acción destructiva del jugo gástrico.
- Gastritis atrófica corporal difusa, denominada también como gastritis autoinmune o gastritis tipo A; se asocia con anemia perniciosa, asociada a anticuerpos anti-células parietales u oxínticas, factor intrínseco y la bomba productora de protones con aclorhidria o hipoclorhidria de acuerdo al grado de atrofia, deficiencia de vitamina B12, y en casos avanzados aparición de anemia perniciosa, incrementándose el riesgo de cáncer gástrico y de tumores carcinoides.

2.4.6. *Helicobacter pylori*

El descubrimiento en 1983 del *H. pylori* ha sido indudablemente el avance más importante en el campo de la gastroenterología. Después del trabajo amplio en los últimos años se ha demostrado que la infección por esta bacteria es la principal causa de gastritis crónica, el responsable fundamental de que la úlcera péptica sea recidivante y crónica, y es un factor que contribuye en forma importante a la aparición del carcinoma gástrico.

La erradicación de la bacteria ha demostrado que cambia completamente la historia natural de la úlcera péptica, mejora casi completamente la gastritis y contribuye a la disminución de la patología neoplásica, demostrando índices favorables de remisión tumoral y curación en el linfoma gástrico tipo MALT. (Moreira & Garrido, 2013)

CARACTERÍSTICAS Y EPIDEMIOLOGÍA

Desde el punto de vista microbiológico *H. pylori* es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerófilo que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano, tiene una morfología espiral en forma de sacacorchos cuando se encuentra en la mucosa gástrica, presenta un tamaño de 0,5 a 1,0 micras de ancho y de 3 micras de largo. Tiene de 2 a 6 flagelos monopolares, fundamentales para su movilidad, y que están recubiertos por una vaina de estructura lipídica, igual que la membrana externa, que parece tener la misión de proteger a los flagelos de su degradación del medio ácido. Su temperatura óptima de crecimiento se produce a 37°C, aunque puede desarrollarse en un rango de 35 a 39°C.

Helicobacter pylori es un microorganismo capaz de crecer en distintos medios de cultivo, los más frecuentes son Agar Mueller-Hinton y Agar Columbia y los suplementos más comúnmente empleados para su crecimiento, son la sangre o derivados de ella. Requieren además una atmósfera con las siguientes características: 5-10% de O², 5-10% de CO² y una incubación de hasta 10 días. La infección por *H. pylori* puede diagnosticarse mediante métodos invasivos (como la endoscopia) o no invasivos (como el cultivo, prueba de aliento), sin embargo su identificación objetiva aumenta de manera significativa su sensibilidad y especificidad, aportando además datos históricos morfológicos característicos de su presencia. (Cruz, 2008)

Desde el punto de vista epidemiológico la infección por el *H. pylori* es la de mayor prevalencia en el mundo, prácticamente no hay población donde no se haya encontrado la bacteria. (Carreño, 2009)

Los estudios epidemiológicos han mostrado que la infección por *H. pylori* ocurre entre el 50 y el 75% de la población mundial, siendo la infección más prevalente en el mundo. De cada 10 personas infectadas por la bacteria, sólo una sufre una enfermedad y nueve nunca la desarrollan. (Gómez, 2004) (Rotimi, Cairns, Gray, Moayyedi, & Dixon, 2000) (Sempértegui, 2007)

Además de la edad, el factor de riesgo más importante es el socio-económico. Se han investigado muchos factores, pero todos tienen como denominador común el bajo nivel económico. El hacinamiento, la vivienda insalubre, el agua contaminada, la promiscuidad y la consanguinidad están involucradas, así como el residir en comunidades cerradas tales como hogares para pacientes con retardo mental, hospitales de estancia prolongada para enfermos crónicos y orfanatos; en estas circunstancias, el contacto entre individuos es más cercano que el normal y las normas de higiene pueden ser menores. (Gisbert, 2005) (Gómez, 2004) (Martínez, 2000)

La infección por el *Helicobacter pylori* se asocia etiológicamente, sin duda, con el desarrollo de úlcera péptica, ya sea gástrica o duodenal. Tiene además un papel protagónico en el desarrollo del cáncer gástrico; de hecho se estima que en la cadena multi-causal del cáncer gástrico contribuye como agente etiológico aproximadamente en un 50%. En otras palabras, ni es suficiente, ni es necesario para el establecimiento del cáncer gástrico, pero sí es muy importante. El *Helicobacter pylori* ha sido categorizado como carcinógeno tipo I por la Organización Mundial de la Salud, demostrando además que su erradicación causa remisión tumoral y curación del linfoma gástrico tipo MALT. (Moreira & Garrido, 2013) (Grajales, Téllez, & Barreto, 2013).

En los países desarrollados, la infección por este agente patógeno es poco frecuente en niños y aumenta gradualmente en función de la edad, llegando a alcanzar niveles del 30% de infestación a los 30 años de edad, valor que se mantiene constante a edades mayores. En los países en desarrollo, la mayor parte de sus habitantes se encuentran infectados independientemente de la edad, llegando esta infestación a valores cercanos al 70%. En el Ecuador un estudio realizado por Gómez en el 2004, en población pediátrica estableció la prevalencia de *H. pylori* en un 60.63%

Los seres humanos son los reservorios primarios y únicos, por lo tanto, los modelos animales no son adecuados para reproducir la enfermedad, hecho que ha dificultado la investigación. El modo de transmisión más aceptado es por contacto persona a persona de la ruta oro-fecal; algunas observaciones favorecen esta hipótesis: el *H. pylori* es encontrado en el jugo gástrico del 80% de los portadores de la bacteria en la mucosa. La infección es mayor en gastroenterólogos dedicados a procedimientos endoscópicos y, además, se ha aislado de la placa dental. La prevalencia de la infección varía con la raza (mayores en negros), con la nacionalidad (hispanicos), con el estado socioeconómico (mayor en los países subdesarrollados y en las poblaciones más pobres donde la infección se adquiere en la niñez) y con la fuente de obtención del agua (mayor en aguas no tratadas y en estancos), y ni depende del sexo, grupo sanguíneo, tabaquismo, consumo de antiinflamatorios no esteroideos o exposición a animales. (Gisbert, 2005) (Gómez, 2004) (González, Velarde, 2012)

FISIOPATOLOGÍA

Cuando la bacteria infecta la mucosa gástrica-duodenal altera tanto su función como su anatomía. En el estómago altera la función, ya que eleva la secreción de gastrina, pepsinógeno, ácido clorhídrico, y la anatomía induciendo la aparición de metaplasia intestinal y destruyendo las células parietales, las endocrinas y las superficiales. En el duodeno altera la función, ya que disminuye la secreción de bicarbonato, incrementa la generación de ácido y altera la actividad motora, también modifica la anatomía induciendo inflamación, y favoreciendo la aparición de metaplasia gástrica.

Para efectuar las anteriores alteraciones del medio ambiente gastroduodenal, la bacteria posee factores agresivos como el factor de adherencia, que le permite ponerse en contacto con las células superficiales de la mucosa.

La ureasa que es una enzima fundamental utilizada por la bacteria para alcalinizar su microambiente y así poder resistir el efecto antibacteriano ejercido por el potencial hidrogenión (pH) ácido de la cavidad gástrica; además es una enzima que le permite nutrirse. Desarrolla también enzimas proteolíticas que le permiten alterar la estructura del moco gástrico e invadir el tejido, varias proteínas como la citotóxica y la vacuolizante, que al parecer son fundamentales en la generación de la úlcera péptica y finalmente posee proteínas de estrés celular que le permiten sobrevivir en situaciones adversas.

Además, su presencia genera una respuesta inmunológica donde participa no sólo la inmunidad humoral, sino la celular, induciendo una cascada inflamatoria rica en citoquinas y células inflamatorias que finalmente son las mediadoras de las diferentes expresiones clínicas de la infección (gastritis, úlceras o cáncer) y, además, favorecen la expresión del antígeno mayor de histocompatibilidad del tipo II, lo cual induce la formación de auto-anticuerpos que contribuyen a mediar las alteraciones anatómicas y funcionales que la bacteria induce en la unidad gastroduodenal. (Cheng, 2002) (Cruz, 2008)

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La repercusión clínica de la infección por el *H. pylori* es amplia y variable, extendiéndose desde la sola infestación que genera muy leve inflamación, hasta la inducción de lesiones más lesivas como el cáncer gástrico. Esta variabilidad en la expresión clínica de la infección por el *H. pylori* se explica en muchas enfermedades (ej. Hepatitis B) por varias razones:

1. Heterogeneidad de la cepa (existen varios tipos de *H. pylori*, unos poseen factores más agresivos que otros).

2. Heterogeneidad de la respuesta inmune (esta es dependiente de la genética del huésped).
3. Edad de adquisición de la infección (cuando se adquiere en la niñez hay más tiempo de vida para desarrollar lesiones de mayor complejidad y que demoran años para presentarse como el cáncer) y finalmente depende de los cofactores del medio ambiente (disminución de antioxidantes del tipo de la vitamina C en la dieta).

***H. pylori* y GASTRITIS AGUDA Y CRÓNICA**

Varios estudios han informado los síntomas y hallazgos histológicos después de la ingestión de la bacteria por voluntarios; en el período agudo existe una gastritis aguda severa pudiendo ser incluso hemorrágica y cursa con secreción normal o baja de ácido. En algunas personas este proceso se auto-controla y la infección desaparece sin dejar secuelas, en otras el huésped es incapaz de eliminar la bacteria y se instaura un cuadro de infección lenta y duradera (años y décadas) induciéndose el cuadro histológico de gastritis crónica que al comienzo se ubica en la región antral, lo que se denomina **gastritis antral difusa** que, con el pasar de los años, va ascendiendo dentro del estómago para comprometer el cuerpo y finalmente el fondo gástrico generando a su vez atrofia gástrica, lo que se denomina **gastritis crónica multifocal**, que posteriormente y, por la presencia de atrofia se convierte en la condición necesaria pero no suficiente para el desarrollo de úlcera gástrica o cáncer gástrico. (Carreño, 2009) (Enciclopedia Libre Mundial Electrónica, 2014) (Avalos, 2009) (Grajales, Téllez, & Barreto, 2013)

Las manifestaciones clínicas de la gastritis aguda y crónica son muy similares y se caracterizan por dolor epigástrico, náuseas, llenura post-prandial desproporcionada y no son características y tampoco sirven para establecer el diagnóstico diferencial con las otras patologías inducidas por el *H. pylori*.

Las cepas de *H. pylori* se han dividido en dos grandes grupos. Las cepas de Tipo I productoras de citotoxina y de la proteína asociada a la misma, son predominantes en pacientes con úlcera y con cáncer. Las cepas Tipo II no son productoras de citotoxina y son capaces de producir lesión inflamatoria persistente.

***H. pylori* y ULCERA PÉPTICA**

La infección por el *H. pylori* está íntimamente relacionada con la aparición tanto de úlcera duodenal como de úlcera gástrica; esta es una condición no necesaria (existen otros factores como la ingesta de AINES), pero si suficiente para que se establezca una úlcera péptica y la erradicación de la bacteria indudablemente cambia la historia natural de la enfermedad, ya que si la bacteria es erradicada, la recidiva de la úlcera a un año es menor del 5% y si no se erradica, es mayor al 70%.

Las manifestaciones clínicas de la úlcera péptica varían entre los pacientes, consisten en dolor en epigastrio tipo ardor que usualmente mejora con la ingesta de alimentos en el caso de la úlcera duodenal y empeora en caso de úlcera gástrica, además puede presentar vómito, hematemesis o melenas en caso de sangrado digestivo asociado.

***H. pylori* y CÁNCER GÁSTRICO**

En esta época la gastritis crónica tiene como principal causa la infección por *H. pylori*, destacando que la infección de *H. pylori* ha sido calificada como un carcinógeno tipo I, por lo tanto, esta se encuentra epidemiológicamente y biológicamente unida al desarrollo del cáncer gástrico. (Grajales, Téllez, & Barreto, 2013)

La gastritis representa el paso inicial de un proceso que puede concluir en cáncer gástrico (CG); el riesgo relativo de CG es enorme en sujetos con atrofia de antro o cuerpo.

Es decir que la gastritis se desencadena en primer lugar por la unión de *H. pylori* a las células epiteliales, una vez unida la bacteria invade la lámina propia mediante un sistema de secreción tipo IV e interacción con las integrinas, que se relacionan con procesos inflamatorios y cáncer.

El cáncer gástrico tipo intestinal surge a través de una secuencia de eventos; inflamación persistente, gastritis-hipocloridia, atrofia-metaplasia intestinal y por último, adenocarcinoma tipo intestinal. La metaplasia intestinal como consecuencia de gastritis provocada por *H. pylori* aparece usualmente después de muchos años de gastritis persistente. (Valdivia, 2011)

El linfoma MALT es un tipo de linfoma que puede afectar a diversos órganos del cuerpo humano, entre otros al estómago (linfoma MALT gástrico). El término "MALT" es el acrónimo de "tejido linfoide asociado a mucosas". Los linfomas pueden estar constituidos por dos tipos de células (linfocitos): de tipo B (entre los que se encuentra el linfoma MALT) y de tipo T. En general, los linfomas de tipo B son más benignos que los de tipo T; de hecho, los linfomas MALT generalmente son de bajo grado (poco malignos), aunque, excepcionalmente, pueden progresar a linfomas de más alto grado.

El tumor de estómago más frecuente es el adenocarcinoma (95 % de los casos), siendo el linfoma el segundo en frecuencia (representa aproximadamente el 5 % de los tumores gástricos). Dentro de los linfomas gástricos, el de tipo MALT es, a su vez, el más frecuente.

La mayoría (aproximadamente el 90 %) de los linfomas MALT aparecen en personas infectadas por *H. pylori*. Esta bacteria es la responsable de que aparezca una gastritis de un tipo especial, con abundantes folículos linfoides; y estas lesiones son un requisito necesario para el posterior desarrollo del linfoma MALT, en el que las células malignas (los linfocitos) terminan infiltrando las glándulas del estómago.

La clasificación más empleada es la de Ann Arbor (modificada por Musshoff), que subdivide el linfoma MALT en los siguientes estadios: I (solo afecta al estómago, respetando los ganglios linfáticos, y a su vez se subdivide en I1 -limitado a mucosa y submucosa, que son las capas más superficiales del estómago- e I2 -cuando invade las capas más profundas del estómago-); II (si afecta a los ganglios linfáticos del mismo lado del diafragma en que se encuentra el estómago); III (si afecta a los ganglios linfáticos a ambos lados del diafragma); y IV (cuando el linfoma está diseminado por el organismo).

La confirmación del diagnóstico se realizará mediante el estudio histológico (la valoración a través del microscopio por parte del patólogo) de las biopsias que se obtienen durante la gastroscopia. Es frecuente que las células tumorales adopten una distribución parcheada en la cavidad gástrica. Por otra parte, es aconsejable emplear además técnicas especiales (inmunohistoquímicas o moleculares), con la intención de diferenciar con seguridad entre un verdadero linfoma MALT y una proliferación (crecimiento) de tipo meramente inflamatorio.

La curación de la infección por *H. pylori* es actualmente el tratamiento de elección de la mayoría de los linfomas MALT gástricos. Para ello se administra un antisecretor (omeprazol o similar) junto con dos o tres antibióticos durante 10-14 días. La curación de esta infección se sigue de la remisión del tumor (esto es, la desaparición de este) en la mayoría (aproximadamente el 80 %) de los casos, aunque este efecto beneficioso puede tardar en aparecer un año o incluso más tiempo. Afortunadamente, la remisión tumoral tras la erradicación de *H. pylori*, permanece estable a lo largo del tiempo en la mayoría de los casos. Por tanto, el pronóstico es, en general, bastante bueno.

El tratamiento antibiótico frente a *H. pylori* es suficiente en los linfomas MALT de bajo grado y estadios iniciales, que son la mayoría, mientras que en el resto de los

linfomas MALT gástricos (de alto grado o en estadios más avanzados) la erradicación de esta infección constituye solo una parte del tratamiento, debiendo recurrirse a otras terapias complementarias (como la quimioterapia, la radioterapia o, más raramente, la cirugía). (Gisbert, 2005) (Moreira & Garrido, 2013)

DIAGNÓSTICO

Las pruebas diagnósticas para establecer la presencia de *H. pylori* se pueden dividir en dos grupos: las invasivas (requieren endoscopias), cultivo, citología, histología y pruebas ureasa rápidas. Y las no invasivas como las pruebas respiratorias con úrea marcada, determinación de anticuerpos Ig G e Ig A, anticuerpos salivares Ig G, anticuerpos en orina Ig G y detección del DNA por métodos de PCR. (FCM. Laboratorio Clínico, 2011)

En nuestro medio, utilizamos fundamentalmente la realización de endoscopia con toma de biopsia y luego, el análisis histológico, en el cual se realiza la respectiva coloración de rutina para observar a la bacteria.

2.5. HIPÓTESIS

2.5.1. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN (HI):

La aplicación de la Tinción Giemsa más Hematoxilina eosina facilita la identificación de *H. pylori* en muestras de biopsias gástricas.

2.6. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

2.6.1. VARIABLE INDEPENDIENTE: Aplicación de la Tinción Giemsa más Hematoxilina eosina.

2.6.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Identificación *Helicobacter pylori*.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

Este trabajo se realizó con la modalidad de investigación de LABORATORIO, debido a que se trabajó con muestras procedentes de biopsias gástricas, en las cuales se realizaron exámenes de laboratorio para cuantificar y determinar la presencia o ausencia de *H. pylori* y se aplicaron técnicas y procedimientos para colorear los tejidos e identificar dicho microorganismo. Dicha investigación se desarrolló en el Laboratorio de Patología del IEES Ambato. Se realizó dos coloraciones por cada muestra de biopsia gástrica (HE y Giemsa).

3.3. NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este estudio fue de carácter DESCRIPTIVO, puesto que se comparó dos tinciones para llegar a un diagnóstico: positivo o negativo, pero además con control del tiempo de observación de la bacteria en cada tinción.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población.- la población considerada para el presente proyecto estuvo conformada por 103 pacientes sometidos a endoscopias digestivas altas en el servicio de Gastroenterología del hospital del IEES de Ambato en el periodo de estudio. En cada paciente el médico endoscopista tomó tres muestras que fueron enviadas al Laboratorio de Patología debidamente rotulada.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Confirmación diagnóstica en cada paciente de padecer GASTRITIS realizada por un Médico.
- Aceptación por parte del personal médico de la inclusión del paciente para formar parte de la investigación.
- Aceptación por parte del paciente a formar parte de la investigación, previa información acerca de los riesgos de la misma, el método y tiempo requeridos para el tratamiento
- Completar por parte del paciente el ciclo de tratamiento requerido según prescripción médica y su asistencia a consultas y exámenes programados para dicho fin.
- Se incluyeron muestras de biopsias gástricas obtenidas en pacientes de ambos sexos, sin limitación de edad y con antecedentes clínicos de gastritis, atendidos en el hospital durante el período de estudio.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Limitaciones mentales que impidan correcto seguimiento del plan de evaluación y tratamiento requerido.
- Negativa del paciente a la realización de exámenes y seguimiento por parte del personal médico de la institución.
- Se excluyeron las muestras de biopsias gástricas de pacientes con antecedentes de cáncer gástrico, mal identificadas o con datos incompletos.

Los criterios expuestos fueron establecidos mediante cuatro componentes (“PICO”): cuyas siglas significa: el paciente (muestra), la intervención (la prueba diagnóstica T.G.), el comparador (el test de referencia H.E.) y el resultado (el evento o enfermedad que se quiere diagnosticar). (Navarro, 2000).

3.6 Operacionalización de variables

3.6.1. Operacionalización de la variable independiente:

Aplicación de la Tinción Giemsa más Hematoxilina eosina

Conceptualización de variables	Dimensión	Indicadores	Ítems	Técnicas	Instrumentos
Uso de la tinción Giemsa y HE en biopsias gástricas.	<ul style="list-style-type: none"> Características de la muestra. Identificación de <i>H. pylori</i> por Tinción Giemsa. Identificación de <i>H. pylori</i> por Tinción HE. 	<p>Satisfactoria para ser evaluada.</p> <p>Satisfactoria pero limitada.</p> <p>Insatisfactoria para evaluar.</p> <p>Positivo. + ++ +++</p> <p>Negativo -</p> <p>Positivo. + ++</p> <p>Negativo -</p>	<p>¿Qué características tiene las muestras?</p> <p>¿Cuáles son los resultados para tinción Giemsa?</p> <p>¿Cuáles son los resultados para tinción HE?</p>	<p>Coloración</p> <p>Registro de control de tiempo al momento de observar la placa.</p>	Observación de las placas histopatológicas

Elaborado por: Escudero Salinas Nela.

Fuente: Investigación de campo

3.6.2. Operacionalización de la variable dependiente. Variable Dependiente: Identificar *H. pylori*.

Concepto	Dimensión	Indicadores	Ítems	Técnicas e instrumentos
<p>Es un bacilo Gram negativo en forma de S, de aproximadamente 0.5 x 3 micrómetros de tamaño y que posee usualmente entre 3 y 6 flagelos en uno de sus extremos que le permiten moverse.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Características del <i>H. pylori</i>. • Resultados histopatológicos . • Resultados de la biopsia. 	<p>Bacilo Gram-negativo Espirilo.</p> <p>Daño de mucosa gástrica.</p> <p>Criterios de la clasificación Sydney.</p>	<p>¿Cómo se identifica el <i>H. pylori</i> en las muestras analizadas?</p> <p>¿Qué cambios en la mucosa gástrica se observa?</p> <p>¿Cuáles son los resultados?</p>	<p>Identificación de <i>H. pylori</i>.</p> <p>Registros diarios de las personas que llegaran con sus muestras.</p>

Elaborado por: Escudero Salinas Nela

Fuente: Investigación de campo

3.7 PLAN DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

3.7.1 INFORMACIÓN DE CAMPO

El plan de la recolección de información se realizara de acuerdo al enfoque escogido.

Tabla N° Matriz de recolección de la información.

Preguntas básicas	Explicación
¿Sobre qué?	Aplicación de la Tinción Giemsa más Hematoxilina Eosina para identificar <i>Helicobacter pylori</i>
¿A quiénes?	A los Pacientes que acuden al Laboratorio de Patología IESS AMBATO
¿Cómo?	Realizando coloraciones de placas histopatológicas
¿Cuándo?	En el periodo Marzo – Agosto 2013
¿Dónde?	En el Laboratorio de Patología IESS AMBATO.
¿Quién?	Escudero Salinas Nela
¿Qué técnica de recolección?	Observación de placas histopatológicas.
¿Con que?	Materiales de laboratorio, técnicas, y registros

Elaborado por: Escudero Salinas Nela.

Fuente: Investigación directa.

3.7.2 INFORMACIÓN DE LABORATORIO

En la técnica utilizada para la recopilación de datos se empleó un formulario creada por la investigadora (Anexo N°1), en el que se incluyeron datos de identificación de cada paciente así como su información clínica y los resultados de las dos coloraciones.

El procedimiento macroscópico estuvo a cargo de la médica patóloga, mientras que el procedimiento de fijación, inclusión y coloración la realizó la investigadora, bajo la supervisión de la médica patóloga y licenciadas del servicio.

El estudio microscópico de las placas coloreadas lo realizó la médica patóloga quien estableció el diagnóstico histológico e identificó al microorganismo en estudio aplicando técnicas y nomenclaturas estandarizadas y validadas internacionalmente.

Para la elaboración de las placas se procedió de la siguiente forma: con la coloración HE, que abarca 20 pasos y tiene una duración de 80 minutos y la coloración de Giemsa que abarca 14 pasos y tiene una duración de 50 minutos. Cada uno obtenidos de la misma muestra. (Ministerio de Salud Pública, 2007)

La lectura y diagnóstico fue cronometrado e implicó análisis independiente de las placas coloreadas: el primer día valoró la tinción HE y al día siguiente la tinción Giemsa, este procedimiento se cumplió para las muestras de cada una de los pacientes.

En las técnicas y procedimientos descritos se utilizaron equipos de inclusión, corte, tinción de tejidos marca LEYCA. La lectura y diagnóstico microscópico se realizó con un microscopio marca OLYMPUS. Los reactivos para tinción Hematoxilina eosina y Giemsa fueron marca PANREAC.

En primera instancia para realizar las placas histopatológicas se necesitó muestras de biopsias gástricas con presencia de *H. pylori*.

3.8. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

3.8.1. Materiales y equipos

- ❖ Frascos con formol.
- ❖ Muestra gástrica.
- ❖ Casetas.
- ❖ Papel.
- ❖ Canastilla.
- ❖ Guantes.
- ❖ Formol.
- ❖ Alcohol.
- ❖ Parafina.
- ❖ Cuchillas.
- ❖ Placas porta biseladas.
- ❖ Agua caliente.
- ❖ Placas cubreobjetos.
- ❖ Procesador de tejidos.
- ❖ Equipo de congelación de tejido.
- ❖ Baño de flotación.
- ❖ Micrótopo.
- ❖ Estufa.
- ❖ Microscopio.
- ❖ Reactivo de Hematoxilina eosina.
- ❖ Reactivo de Giemsa.
- ❖ Bálsamo de Canadá o Permunt o medio de montaje
- ❖ Timer.

3.8.2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS GÁSTRICAS

Se corroboró los datos e información del paciente y se codificó las placas respectivas posteriormente se realizó el proceso de corte, coloración, recolección y comparación de datos, e la siguiente forma:

1. Recibir la muestra gástrica con su respectivo pedido firmado por el médico gastroenterólogo.
2. Registrar en el sistema y roturarla correctamente.
3. Realizar la macroscopía de la muestra gástrica.
4. Colocar en la caseta con respectiva identificación del paciente.
5. Llevar al procesador de tejido y programarlo (24h).
6. Realizar la inclusión del tejido.
7. Congelar el tejido para que sea más fácil el corte.

8. Realizar el corte de tejido pero extremadamente delgado (3-6micras).
9. Colocar en la placa porta y rotularlo correctamente.
10. Llevar a la estufa por 20 minutos para eliminar gérmenes contaminantes.
11. Realizar la tinción (HE y GIEMSA).
12. Realizar el montaje con mucho cuidado evitando que se forme burbujas.
13. Dejar secar al aire (24h).
14. Observar en el microscopio.
15. Observar el tiempo que demora la Patóloga en cada tinción.

3.9. Plan de procesamiento y análisis de la información

Todos los datos fueron ingresados a una base de datos y se procesa en el programa estadístico Excel, obteniendo unas medidas descriptivas y pruebas de significación para la validación de la hipótesis.

La información se muestra mediante tablas y gráficos elaborados por la investigadora. También se utilizó Adobe Graphic versión 11, Excel 2010, que permitió el análisis estadístico. Estos fueron instalados en Microsoft Word 2010, Zotero para la bibliografía, Prezi para la presentación audiovisual un PC de escritorio marca SONY con WINDOWS 7 ULTIMATE.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Sobre la base de datos recogidos y procesados, se realiza el análisis e interpretación de resultados, de acuerdo con los objetivos y el marco teórico. Se concluye el capítulo con la verificación de hipótesis.

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

4.1.1. GÉNERO

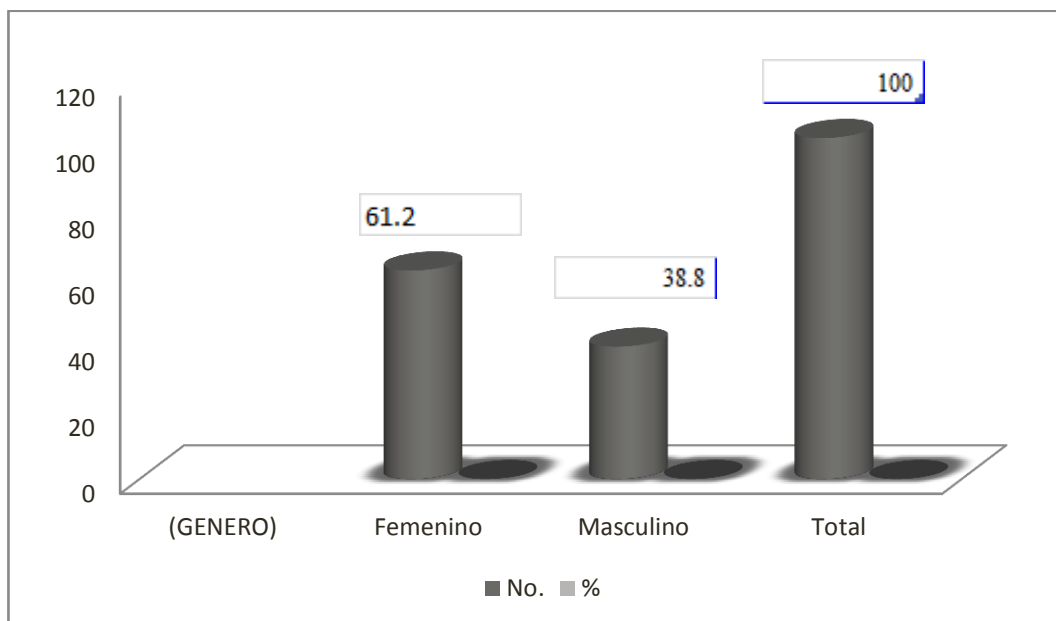
Durante el periodo del 18 de diciembre del 2012 al 25 de enero del 2013 se obtuvo en total 103 pacientes que reunían los criterios de inclusión, es decir: que sean biopsias gástricas obtenidas de pacientes de ambos sexos que hayan presentado cuadros de dispepsia o gastropatía ulcerosa o que sufran de pirosis o reflujos gastroesofágicos. Así, los pacientes incluidos en el estudio fueron 103, de los cuales el 63% fueron mujeres.

Tabla N.- 1 Grupo de pacientes por género

Pacientes (GENERO)	No.	%
Femenino	63	61.2
Masculino	40	38.8
Total	103	100

Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Gráfico N.- 1 Grupo de pacientes por género



Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

4.1.2. EDAD

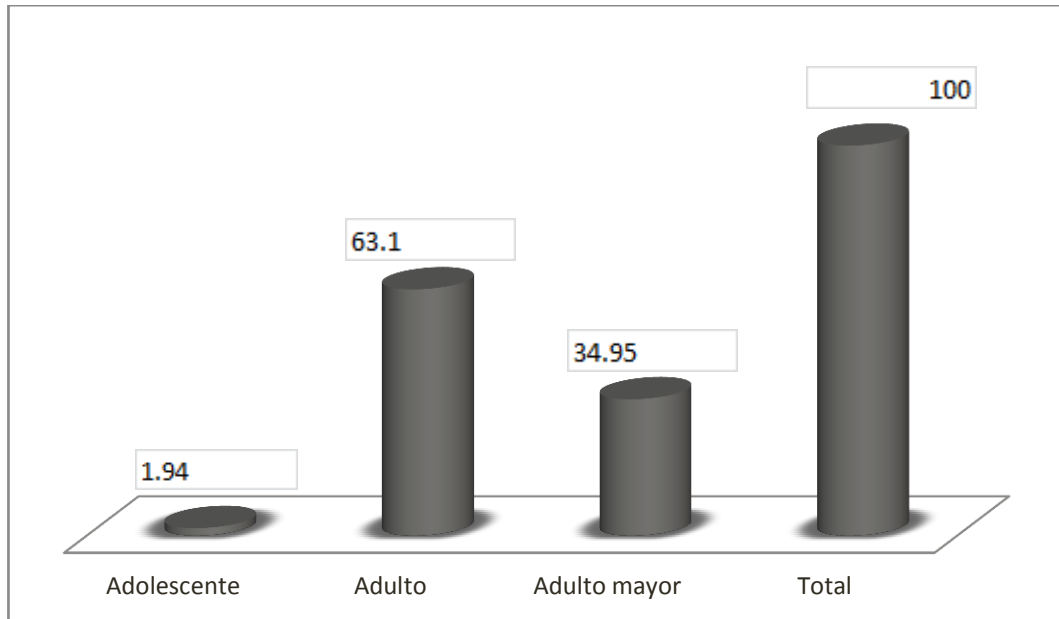
Las muestras analizadas procedían de pacientes entre los 14 y 96 años de edad, con una media de 49,7 años y una desviación estándar de 16.35. Un 65% eran personas adultas.

Tabla N.- 2 Pacientes de Acuerdo a Grupo de Edad.

Grupo de edad	No.	%
Adolescente	2	1.94
Adulto	65	63.11
Adulto mayor	36	34.95
Total	103	100

Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Gráfico N.-2 Pacientes de Acuerdo a Grupo de Edad.



Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Si bien en el grupo de pacientes estudiados se observa un predominio de adultos, se encontró muestras de biopsias en adolescentes, que corresponden a 1.94%, lo cual tiene implicaciones importantes en salud pública, pues este valor estaría indicando la sospecha clínica de *H. pylori* desde temprana edad, en la ciudad de Ambato, aumentando el riesgo de desarrollar trastornos crónicos asociados a este germen, entre ellos neoplasia. El control y seguimiento endoscópico periódico del paciente adulto y del adulto mayor, resulta importante, pone énfasis en la identificación de *H. pylori* en esta población a nivel local.

4.1.3. DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y ENDOSCÓPICO

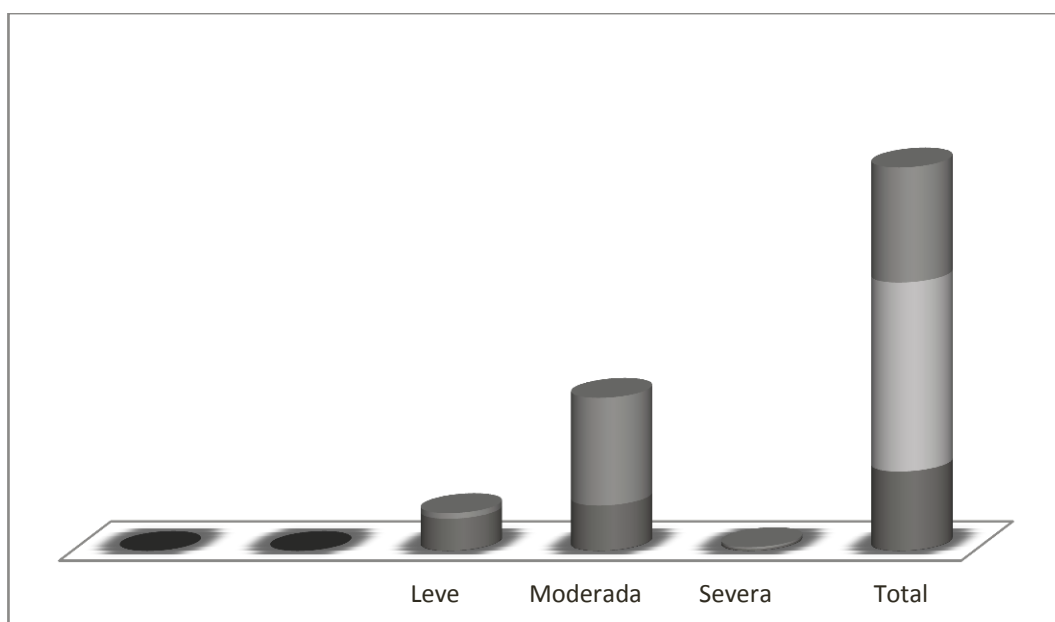
Todos los pacientes fueron diagnosticados de gastritis crónica, misma que se evidenció en dos condiciones preneoplásicas: atrófica y no atrófica, siendo la gastritis crónica atrófica menos frecuente que la no atrófica. Destacando la gastritis crónica no atrófica moderada como diagnóstico más sobresaliente.

Tabla N.- 3 Grupo de pacientes por diagnóstico.

	GASTRITIS CRÓNICA ATRÓFICA		GASTRITIS CRÓNICA NO ATRÓFICA	
	N.-	%	N.-	%
Leve	17	40.47	3	4.91
Moderada	24	57.14	57	93.44
Severa	1	2.38	1	1.63
Total	42	100,00	61	100,00

Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Gráfico N.- 3 Grupo de pacientes por diagnóstico



Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Con esta tabla podemos observar que la gastritis crónica no atrófica moderada es el diagnóstico preneoplásico, más habitual, superando en 2 a 1 a la gastritis crónica atrófica moderada, que ocupa el segundo lugar, y en un 3 a 1 a la gastritis crónica atrófica leve en tercer lugar.

4.1.4. TIEMPO DE IDENTIFICACIÓN Y LECTURA

Se elaboró una tabla que relacionó tiempo de identificación de *H. pylori* para HE y Giemsa. En la cual notamos la diferencia de tiempo empleado en cada

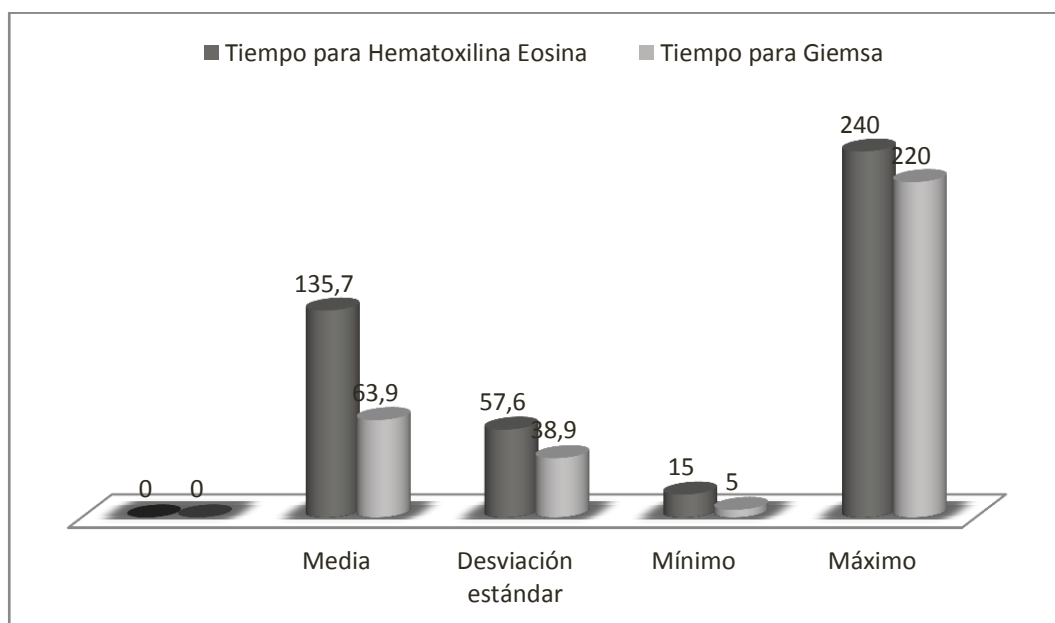
una de las tinciones, y se puede constatar que con la tinción Hematoxilina eosina se empleó más tiempo en la identificación del microorganismo.

Tabla N.- 4 Tiempo de identificación para *H. pylori*.

Mediciones	Tiempo para Hematoxilina Eosina	Tiempo para Giemsa
	Segundos	Segundos
Media	135,7	63,9
Desviación estándar	57,6	38,9
Mínimo	15,0	5,0
Máximo	240,0	220,0

Fuente: base de datos **Elaborado por N. Escudero.**

Gráfico N.- 4 Tiempo de identificación para *H. pylori*.



Fuente: base de datos **Elaborado por N. Escudero.**

Como se puede observar existe una diferencia de tiempo entre las dos tinciones; la placa teñida con HE tarda un promedio de 2 minutos con 15 segundos en ser evaluada por la médica Patóloga, mientras que con Giemsa la demora se reduce a 1 minuto. Podemos deducir, entonces, que el tiempo de demora en la identificación objetiva de *H. pylori* con tinción Giemsa, se reduce a la mitad.

4.1.5. DIAGNÓSTICO

Además del diagnóstico histopatológico, en cada placa se analizó la presencia del *Helicobacter pylori*, objeto de este estudio, habiendo encontrado un menor número de casos negativos (7.76% menos), con tinción Giemsa.

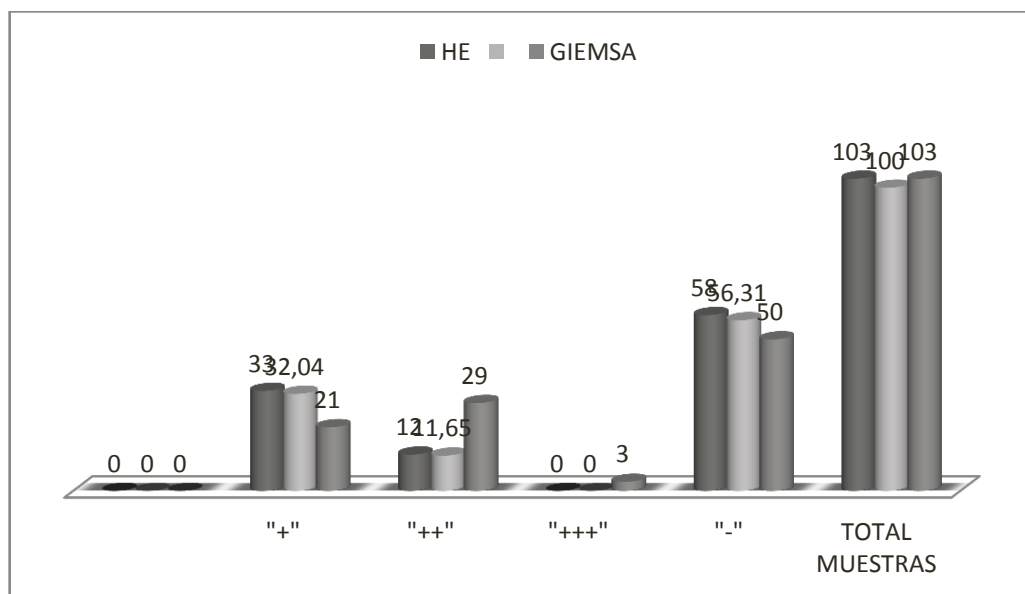
La siguiente tabla corresponde a los resultados obtenidos con respecto a la presencia de *H. pylori*, tanto para HE como para Giemsa:

Tabla N.- 5 Resultados obtenidos.

REPORTE	HE		GIEMSA	
	No.	%	No.	%
"+"	33	32,04	21	20,35
"++"	12	11,65	29	28,18
"+++"	0	0	3	2,92
"_"	58	56,31	50	48,55
TOTAL MUESTRAS	103	100,00	103	100,00

Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Gráfico N.-5 Resultados obtenidos.



Fuente: base de datos Elaborado por N. Escudero.

Como una actividad adicional en la investigación se comparó la capacidad de la tinción Giemsa para permitir la identificación de *H. pylori*, tomando como estándar a la tinción de HE que está validada a nivel mundial para el estudio de muestras histopatológicas. Se construyó la tabla de contingencia siguiente:

Tabla N.- 6 Tabla de utilidad del Giemsa.

		Hematoxilina Eosina		
		(+)	(-)	
Giemsa	(+)	35	18	53
	(-)	10	40	50
		45	58	103

Fuente: base de datos **Elaborado por N. Escudero.**

Los datos de la tabla 6, permitieron calcular indicadores de utilidad de la tinción Giemsa como una actividad adicional dentro de la investigación. Se obtuvieron los valores que se muestran en la tabla N.- 7.

Tabla N.- 7 Indicadores de Tinción Giemsa.

Indicadores	Valor (%)
Sensibilidad (S)	78
Especificidad (E)	70
Valor predictivo (+) VPP	66
Valor Predictivo (-) VPN	80

Fuente: Base de datos **Elaborado por N. Escudero.**

Al comparar la tinción de Giemsa con HE para este estudio encontramos una sensibilidad y especificidad baja 78% y 70% respectivamente con un valor predictivo positivo de 66% y un valor predictivo negativo del 80%. Lo cual indica que Giemsa presenta mayor eficacia para detectar a pacientes realmente sanos con un test negativo.

4.2. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

La verificación de la hipótesis planteada de que “La aplicación de la tinción de Giemsa más hematoxilina no facilita la identificación de *H. pylori* en muestras histopatológicas de biopsias gástricas”, se realizó por medio de la prueba de Chi Cuadrado (Ji cuadrado: X^2).

4.2.1. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA (H_0)

La aplicación de la tinción de Giemsa más Hematoxilina eosina no facilita la identificación de *H. pylori* en muestras histopatológicas de biopsias gástricas.

$H_0: FO = FE$

4.2.1.2. NIVEL DE CONFIANZA: 95%

4.2.1.3. GRADOS DE LIBERTAD: 1

4.2.1.4. NIVEL CRÍTICO: CHI CUADRADO: 3.84

HIPÓTESIS ALTERNA (H_1)

La aplicación de la tinción de Giemsa más Hematoxilina eosina facilita la identificación de *H. pylori* en muestras histopatológicas de biopsias gástricas.

$H_1: FO \neq FE$

VALOR TABULAR CRÍTICO DE CHI CUADRADO

Los grados de libertad correspondientes al ensayo, se obtienen considerando el número de filas y columnas del polígono de frecuencias observadas, siendo el resultado el siguiente

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

$$GL = (2-1) (2-1)$$

$$GL = 1 \times 1 = 1$$

Valor X^2 tabular crítico para 1 GL y 95% (0.05) Nivel de Confianza: 3.84

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 $X^2_{\text{tab}} > X^2_{\text{cal}} \therefore$ se acepta hipótesis nula y se rechaza hipótesis alterna
- Si el valor de $X^2_{\text{tab}} < X^2_{\text{cal}} \therefore$ se acepta hipótesis alterna y se rechaza hipótesis nula

		Hematoxilina Eosina		
		(+)	(-)	
Giemsa	(+)	35	18	53
	(-)	10	40	50
		45	58	103

Fuente: Base de datos

Elaborado por N. Escudero.

4.2.1.5. Decisión

Comparando los resultados de tinción HE con tinción Giemsa y realizados los cálculos respectivos se obtiene Chi cuadrado igual 22.17, p igual 0.0000025, por lo tanto existen diferencias estadísticamente significativa en los resultados de las dos tinciones y dado que el Chi cuadrado calculados es mayor que el valor crítico se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa que dice.

H1: La aplicación de la tinción Giemsa más Hematoxilina eosina facilita la identificación de *H. pylori* en muestras histopatológicas de biopsias gástricas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Con la presente investigación se puede considerar las siguientes conclusiones:

- Se determinó los casos positivos a Giemsa más Hematoxilina eosina para *H. pylori* (51.45%), encontrando que la aplicación de ésta tinción mejora la identificación de la bacteria, ya que según las investigaciones científicas se ha establecido que su presencia 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.
- Adicionalmente, se estableció que la coloración Giemsa tiene una sensibilidad y especificidad de 78% y 70% respectivamente. La cantidad de muestras que fueron evaluadas es de 103 muestras, cada una comparada con la tinción HE.
- Se identificó muestras positivas a HE para *H. pylori*, un total de 45 muestras, de 103 examinadas, que representan el 43.69%
- Se estableció el tiempo promedio de identificación de *H. pylori* con Giemsa y HE, observando que el médico patólogo tarda aproximadamente el doble de tiempo en la lectura de una placa histológica teñida con HE, en comparación con una teñida con Giemsa (promedio de 2min, 15seg vs 1min, 3seg; respectivamente).

- Se comparó los resultados de Giemsa y HE para identificación de *H. pylori*, estableciendo diferencias estadísticamente significativas, basándonos en los cálculos respectivos los cuales indican que Chi cuadrado da un valor de 22.17, $p= 0.0000025$. En los casos negativos, la tinción Giemsa detecta una menor cantidad de muestras negativas (7.76% menos), al contrario que la tinción HE.
- Los hallazgos de esta investigación permiten desarrollar la propuesta que se muestra en el capítulo siguiente.

5.2. RECOMENDACIONES

- Vistos los resultados de esta investigación, se recomienda a los médicos patólogos aplicar sistemáticamente la tinción Giemsa más Hematoxilina eosina para la detección de *H. pylori* por su eficacia en cuanto a la disminución del tiempo de procesamiento de la muestra, sin perder capacidad en la detección del microorganismo.
- Se requiere a futuro realizar nuevas investigaciones que permitan valorar la utilidad de la tinción Giemsa para la identificación de *H. pylori*, pues es importante tanto desde el punto de vista clínico, como de salud pública, el manejo de los casos así como el tratamiento temprano de las lesiones y condiciones pre-malignas desarrolladas por la presencia del microorganismo, lo cual junto a cambios estructurales y sociales contribuirá a disminución de la mortalidad por cáncer gástrico, que es la neoplasia que actualmente ocupa el décimo segundo lugar de mortalidad general en nuestro país.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. Datos Informativos

6.1.1. TÍTULO

“Implementar la Tinción Giemsa más Hematoxilina Eosina para identificar *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas del Laboratorio de Patología del hospital IESS de Ambato provincia de Tungurahua.”

6.1.2. INSTITUCIÓN EJECUTORA

Laboratorio de Patología del hospital IESS de Ambato provincia de Tungurahua.

6.1.3. BENEFICIARIOS

Pacientes que después de realizarse una biopsia gástrica, acuden al área de Patología del hospital IESS de Ambato para esperar un resultado con respecto a la observación de *H. pylori*.

6.1.4. UBICACIÓN

Hospital IESS Ambato provincia de Tungurahua.

6.1.5. TIEMPO ESTIMADO PARA LA EJECUCIÓN

- **Inicio:** 18-5-2015

- **Final:** 18-12-2015

6.1.6. EQUIPO TÉCNICO RESPONSABLE

Licenciadas de laboratorio, Médica Patóloga e Investigadora.

6.1.7. COSTO

El costo estimado para la realización de la propuesta es de 500 dólares, sin incluir todos los equipos que tiene la institución, la cual facilitará como son equipos de oficina, entre ellos: computadora, impresora e infocus, así como materiales y equipos de laboratorio como: microscopio, procesador de tejidos, micrótomo, reactivos, entre otros varios.

6.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

En cada placa se analizó la presencia del *Helicobacter pylori*, objeto de este estudio, habiendo encontrado un menor número de casos negativos con tinción Giemsa, pues algunos casos que la tinción HE indicó como negativo, fueron falsos negativos. La siguiente tabla corresponde a los resultados obtenidos tanto para HE como para Giemsa:

Tabla N.- Resultados obtenidos

REPORTE	HE		GIEMSA	
	No.	%	No.	%
"+"	33	32,04	21	20,35
"++"	12	11,65	29	28,18
"+++"	0	0	3	2,92
"-"	58	56,31	50	48,55
TOTAL MUESTRAS	103	100,00	103	100,00

Fuente: base de datos **Elaborado por** Escudero Salinas Nela.

Como una actividad adicional en la investigación se comparó la capacidad de la tinción Giemsa para permitir la identificación de *H. pylori*, tomando como estándar a la tinción de HE que está validada a nivel mundial para el estudio de muestras histopatológicas. Se construyó la tabla de contingencia siguiente:

		Hematoxilina Eosina		
		(+)	(-)	
Giemsa	(+)	35	18	53
	(-)	10	40	50
		45	58	103

Fuente: base de datos Elaborado por Escudero Salinas Nela..

6.3. JUSTIFICACIÓN

Aplicar la tinción Giemsa más Hematoxilina eosina para identificar *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas del Laboratorio de Patología del IESS Ambato provincia de Tungurahua.

La tinción de Giemsa, actualmente, es más adecuada para la rápida y fácil identificación de *H. pylori* en la mucosa gástrica, sin restar la importancia que tiene hematoxilina-eosina en la valoración morfológica detallada de los cambios hísticos producidos por la presencia del microorganismo, observada fácilmente por la experticia de patólogos expertos; es por eso que se desea que estas dos tinciones se las realice al mismo tiempo y para la misma finalidad en nuestro caso, la identificación de *H. pylori* así como los cambios morfológicos causados por la misma en muestras de biopsias gástricas.

Por lo que con este estudio se pretende beneficiar y facilitar el trabajo del médico patólogo, demostrando que la tinción Giemsa al utilizarla de una manera

complementaria con la tinción HE va a mejorar la identificación del *H. pylori*, ya que al usar las dos tinciones cada una con su respectiva función es decir la HE para hacer una valoración del daño de la mucosa a nivel de estómago más la tinción Giemsa el cual ayuda a identificar al Hp y así no habrá necesidad de aumentar de manera exorbitante gastos adicionales, ni requerir mucho tiempo adicional de trabajo tanto para los licenciados de laboratorio como para el patólogo.

6.4. OBJETIVOS

- Incorporar el Giemsa como método de screening de *H. pylori*.
- Capacitar al personal de laboratorio de histopatología para la preparación, procesamiento de las muestras basadas en las dos tinciones.
- Promover nuevas investigaciones de carácter clínico epidemiológico para mejorar la calidad diagnóstica, comparando las lesiones pre-malignas y malignas del estómago.

6.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Económica: Porque basándonos en el cuadro N.- 1 estamos indicando que la tinción Giemsa tiene un costo factible en comparación con otras tinciones.

Práctica: Basándonos en la bibliografía manejada en el capítulo de marco teórico, la tinción Giemsa es fácil de realizar y además no necesita mucha experticia por parte del médico patólogo ya que esta tinción va a colorear enseguida al *H. pylori*, detallando de manera objetiva, ágil y rápida su identificación.

Ambiental: La aplicación de la tinción Giemsa como la de otros colorantes, genera residuos, por lo tanto el personal del laboratorio deberá establecer y aplicar normas nacionales e internacionales para la eliminación de este residuo, evitando el deterioro del ecosistema y contaminación ambiental. El hospital del IESS tiene convenio con el gestor ambiental para la eliminación de residuos de colorantes y otros productos de desecho del laboratorio de patología, lo cual mejora la eficacia de procesos y brinda mayor confianza y seguridad a la

institución en lo que se refiere a normas de acreditación, bioseguridad y ecosistema.

6.6. FUNDAMENTACIÓN

El *H. pylori* tiene un papel importante en la patogenia de la úlcera duodenal y al parecer también en el cáncer gástrico. La ingestión de *H. pylori* produce gastritis e hipoclorhidria; la administración de antimicrobianos mejora la gastritis al eliminar la bacteria. Para el diagnóstico de *H. pylori* se dispone de un grupo de pruebas, entre ellas está un procedimiento diagnóstico de gran utilidad, la biopsia gástrica, que se obtiene por vía endoscópica. En la biopsia se puede hacer una prueba rápida de ureasa, la cual permite el diagnóstico de *H. pylori* en dos o tres horas, por supuesto, el diagnóstico también se puede hacer histológicamente utilizando diferentes métodos histoquímicos entre ellos HE, Giemsa y Warthin Starry las dos últimas son más sensibles que la HE.

La solución de Giemsa es una mezcla de azul de metileno, eosina, y productos resultantes de la oxidación del azul de metileno como azul A y B. La tinción se prepara generalmente a partir de polvo de Giemsa, disponibles comercialmente. Una película delgada de la muestra sobre un portaobjetos de microscopio se fija en metanol puro durante 30 segundos, el portaobjetos se sumerge en una solución de tinción de Giemsa al 5% recién preparada durante 20-30 minutos.

La tinción Giemsa, permite una fácil identificación del *Helicobacter pylori*, por su simplicidad, rapidez y bajo costo, esta tinción es muy útil en el diagnóstico de la infección lo que representa una ventaja en relación con otros procedimientos.

La Histopatología es la rama de la Patología, que trata el diagnóstico de enfermedades a través del estudio de los tejidos, es la técnica Gold Standard para el diagnóstico de tumores y lesiones tisulares, es el principal método de diagnóstico en cáncer.

La técnica para el diagnóstico histopatológico comprende la preparación de los tejidos para su estudio microscópico, sometiéndolos a una serie de procesos: fijación, deshidratación, aclaramiento, inclusión, corte y tinción.

La elevada incidencia de lesiones precursoras, gastritis atrófica crónica, metaplasia intestinal y displasia, observadas como estadios secuenciales en el proceso precanceroso están muy relacionadas con cambios químicos gástricos y su incidencia aumentan en relación lineal con los niveles de potencial hidrogenion (pH), nitratos y nitritos en el jugo gástrico.

La clasificación histológica precisa de los carcinomas gástricos basada exclusivamente en la morfología es difícil debido a la heterogeneidad de estas lesiones derivada sin duda de un origen policlonal y multifocal de los tumores. *Lauren* propuso un sistema de clasificación histológica que lo caracteriza en: intestinal y difuso, que corresponden a las categorías diferenciado y no diferenciado respectivamente. Los carcinomas intestinales o diferenciados tienen patrón de crecimiento expansivo y se observa con frecuencia infiltración linfocítica del estroma en la periferia del tumor y alrededor de ella, también se observa metaplasia intestinal en la mucosa vecina; los carcinomas difusos o no diferenciados tienen un patrón de crecimiento infiltrativo, no hay infiltración linfocitaria. Las vías de diseminación del carcinoma gástrico son similares a las de otras lesiones gastrointestinales: en la submucosa, hacia los órganos vecinos mediante conductos linfáticos, y por vía transperitoneal y hematológica.

Las lesiones malignas gastrointestinales representan una importante causa de mortalidad. Para las neoplasias malignas del tubo digestivo, a diferencia del carcinoma colorrectal, no existen recomendaciones; existe evidencia sólida que avala que el cáncer del tubo digestivo superior puede desarrollarse en asociación con múltiples patologías subyacentes, conocidas como lesiones premalignas. Es en la identificación y vigilancia de estas lesiones, en donde se puede incidir para la detección oportuna y tratamiento temprano de las neoplasias malignas del tubo digestivo.

En cuanto a las lesiones premalignas, se ha establecido que la dieta y los factores ambientales tienen un papel crucial en la etiología del cáncer gástrico. Se los ha relacionado con la forma epidémica del adenocarcinoma gástrico y está asociado con gastritis crónica atrófica y con metaplasia intestinal de la mucosa gástrica.

(Osorio, 2009) (Castillo, 2006). La gastritis crónica, con infección de *Helicobacter pylori* progresa a gastritis crónica atrófica que en la presencia de nitritos avanza a metaplasia intestinal y displasia. Pero se han mencionado además, co-factores que son los responsables que lesiones premalignas progresen a cáncer. Entre estos, se menciona la baja ingesta de ácido ascórbico y la alta ingesta de nitratos que empeoran la metaplasia intestinal y la baja ingesta de betacarotenos en el empeoramiento de la displasia.

6.7. MODELO OPERATIVO

Fase	Actividad	Indicadores	Responsables	Metas
Planificación	<ul style="list-style-type: none"> Realizar invitaciones para capacitación. Preparar temas para capacitación. Seleccionar materiales para capacitación. Seleccionar profesionales que expondrán los temas. 	<ul style="list-style-type: none"> Tarjetas. Informes. Diapositivas. Bibliografías. Cronogramas. 	<ul style="list-style-type: none"> Jefe de Laboratorio. Licenciadas de Laboratorio. Auxiliares del Laboratorio. Autora de la investigación. 	<ul style="list-style-type: none"> Instruir sobre la significancia de la utilización Giemsa como método diagnóstico eficaz y rápido en la detección de <i>H. pylori</i>.
Ejecución	<ul style="list-style-type: none"> Investigación. Exposición de resultados. Capacitación del taller. 	<ul style="list-style-type: none"> Número de asistentes. 	<ul style="list-style-type: none"> Jefe de Laboratorio. Licenciadas de Laboratorio. Auxiliares del Laboratorio. Autora de la investigación. 	<ul style="list-style-type: none"> Taller didáctico de métodos diagnósticos de <i>H. pylori</i>.
Evaluación	<ul style="list-style-type: none"> Prueba inicial. Revisión de temas expuestos. Prueba final. 	<ul style="list-style-type: none"> Instrumento de evaluación. 	<ul style="list-style-type: none"> Jefe de Laboratorio. Licenciadas de Laboratorio. Auxiliares del Laboratorio. Autora de la investigación. 	<ul style="list-style-type: none"> Porcentaje de entendimiento de la capacitación. Certificado de asistencia al taller de técnicas o métodos de diagnóstico de <i>H. pylori</i>. Proyectos de nuevos temas de investigación acorde a la capacitación.

6.8. MARCO ADMINISTRATIVO

6.8.1. ADMINISTRACIÓN

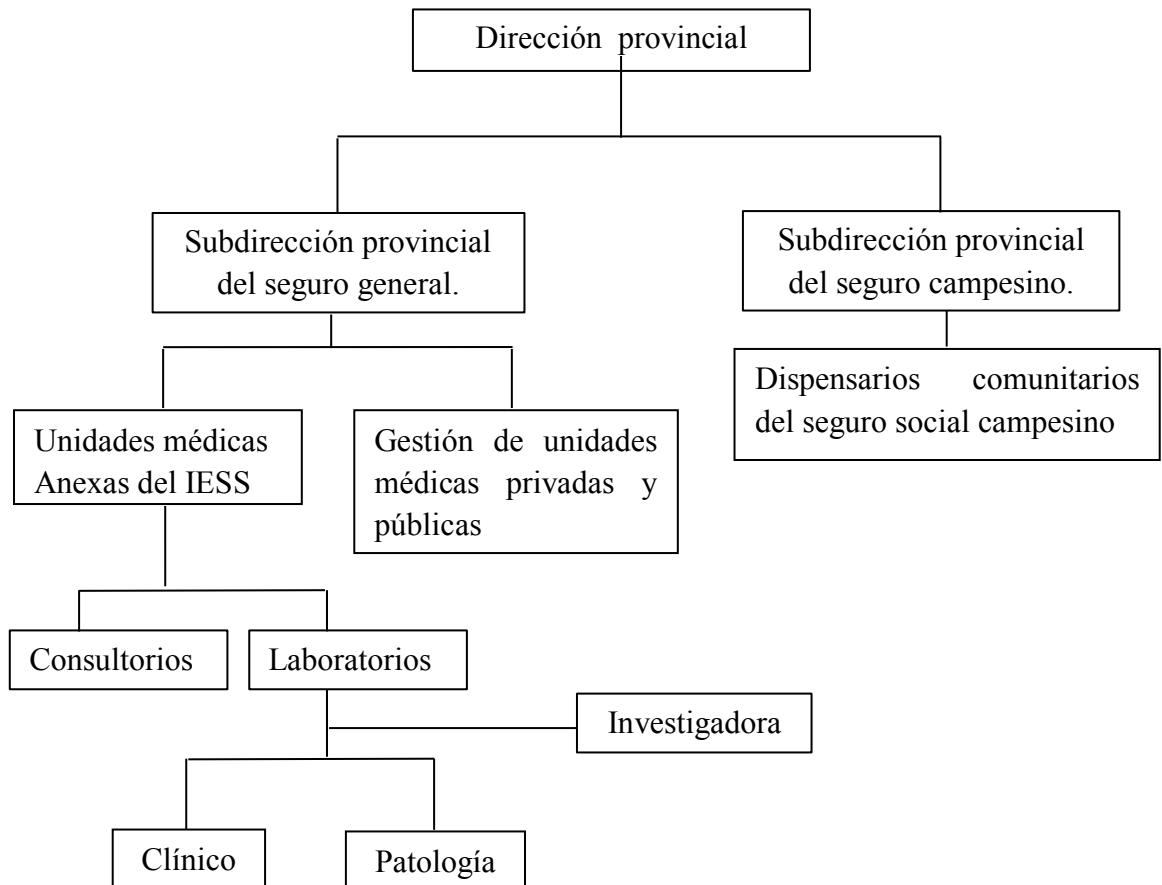


Diagrama N.-2 Marco Administrativo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, E. (2012). Histoquímica. Ed. Real Sociedad Española de Química. España. Pág. 114-118.
2. Viella, A y otros. (2003). Linfoma gástrico tipo MALT. Medicina Clínica, Pág. 120.
3. Avalos, R. (2009). Infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con lesiones gástricas. Gastroenterología.
4. Bermúdez, L. (2014). Métodos para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*.
5. Carreño, A. (2009). Características de las pruebas antígenos fecales (ELISA) y test de aliento de urea frente a tinción HE y tinción Giemsa en histología para diagnóstico de Hp. Bogotá.
6. Castillo, C. (2006). El envejecimiento y la infección con *Helicobacter Pylori* en el desarrollo de Gastritis Crónica Atrófica: una lesión premaligna. Quito, Pichincha, Ecuador. Obtenido de Repositorio Digital de la Universidad San Francisco de Quito.
7. Cheng, M. (2002). Using enzyme immunoassay to detect *Helicobacter pylori* stool antigen for investigating the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents in Changhua. Acta Paediatr Taiwan. 43:133-9.
8. Corti, R. (2012). Conductas de lesiones preneoplásicas del estómago. Sociedad de Gastroenterología de Uruguay.

9. Cruz, C. (2008). Detección del gen babA2 de *Helicobacter pylori* por medio de la técnica molecular PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en mucosa gástrica y su correlación con alteraciones histopatológicas. Ecuador.
10. Demirdjian, G. (2009). Pediatría basada en la evidencia. Argentina.
11. Ecuador. Ministerio de Salud. 2006. (s.f.). Ley Orgánica de Salud. Quito-Ecuador.
12. Elguer, J. y otros. (2011). Histoquímica. Dialnet, 114-116.
13. Enciclopedia Libre Mundial Electrónica. (2014). Nobel Museum: Biography of Paul Ehrlich. Hamburgo, Alemania.
14. Fescina, R. y otros. (2005). Evaluación de los procedimientos diagnósticos. Aspectos metodológicos. Salud Perinatal. Cuba. Pág. 39-43.
15. Fuenmayor, B. (2006). Nuevas evidencias sobre la utilidad diagnóstica de una fórmula no comercial para la detección de la actividad de ureasa de *Helicobacter pylori* en biopsias gástrica. Maracaibo.
16. Gisbert, J. (2005). Infección por *Helicobacter Pylori*. En J. P. Gisbert, Problemas Comunes en la Práctica Clínica. Págs. 301-326. Madrid, España.
17. Gómez, F. (2004). *Helicobacter pylori* en la población infantil ecuatoriana. Ecuador.
18. González, M. y otros. (2012). Listas guía de comprobación de estudios sobre pruebas diagnósticas incluidos en revisiones sistemáticas. España.
19. Grajales, G, y otros. (2013). Escrutinio y seguimiento de lesiones premalignas del tubo digestivo superior. México. Pág. 120-124

20. Harry, J. (2012). Development of the Follicle Complex and Oocyte tagging in Red Drum, *Sciaenops ocellatus* Linnaeus. *JOURNAL OF MORPHOLOGY*, 273, 801–829.
21. Hernández, M. (2005). Asociación entre la infección por *Helicobacter pylori* y anemia en niños de edad escolar. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 1561-3011.
22. INEC. (2010). Principales Causas de Mortalidad General en Ecuador. Quito Ecuador .
23. Kaliszan B, S. J. (2006). Applicability and efficacy of qualifying criteria for an appropriate use of diagnostic upper gastrointestinal endoscopy. *Gastroenterol Clin Biol.*, Pág. 673-680.
24. Khakhoo, & Fung. (2009). Endoscopic, histological and ultrastructural correlations in chronic gastritis. *AMJ Gastroenterol*, 269-279.
25. Logan, W. (2001). Métodos Diagnósticos para la detección de *Helicobacter pylori*. *British Medical Journal*, Pág. 323, 920-922.
26. Martínez, L. (2000). *Helicobacter pylori* en la patología gastroduodenal. Los Angeles.
27. Ministerio de Salud Pública. (2007). Manual de Procedimientos de Laboratorio para el Diagnostico Histopatológico. Ecuador.
28. Moayyedi, P. (2013). Hematoxilina Eosina para la identificación de daño tisular causado por infección de *Helicobacter pylori*. *Sociedad Chilena de Citología*.
29. Molina, G. (2012). Histoquímica. El Salvador. Pág. 3-22

30. Moreira, V y otros. (2013). Linfoma gástrico MALT. Revista Española de Enfermedades Digestivas. Scielo. 105.
31. Navarro, F. (2000). Formulación de preguntas clínicas e introducción a la estrategia de búsqueda de información. Pág. 51-52.
32. Osorio Pagola. (2009). Caracterización de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con úlcera gástrica.
33. Perea, J. (2003). Tinción Giemsa. . Colombia.
34. Rivas, F y otros. (2000). *Helicobacter pylori*: factores de virulencia, patología y diagnóstico. Revista Biomédica de la Facultad e Microbiología de Costa Rica, 11, 187-205.
35. Rotimi, O. y otros. (2000). Identificación histológica de *Helicobacter pylori*: comparación de métodos de tinción. Journal of Clinical pathology. UK
36. Salas, V. (2004). Utilidad de técnicas histológicas para el diagnóstico de infección en piezas anatómicas. Cuba.
37. Sempértegui. (2007). Low Concentrations of Zinc in Gastric Mucosa are Associated with Increased Severity of *Helicobacter pylori*-Induced Inflammatioórtegui .
38. Valdivia, M. (2011). *Helicobacter pylori*: factores de virulencia, patología y diagnóstico. Revista Biomédica de la Facultad e Microbiología de Costa Rica, 11, 187-205.
39. Screeninglab Barcelona. Técnica histológica y microscopia. (2012). Editorial Médica Panamericana. España.
40. Vélez, H. (2004). Gastroenterología y Hepatología. 5ta Ed. Bogotá.

41. Weitz, J. y otros. (2002). Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedad Digestiva. Ed. Sociedad Chilena de Gastroenterología. Santiago de Chile. Pág. 79-91.
42. Yerushalmy, J. (2000). Problemas estadísticos en la evaluación de los métodos de diagnóstico médico, con especial referencia a técnicas. P. Rico.
43. Zamora, J. y. (2008). Análisis de la calidad de los estudios de evaluación de pruebas diagnósticas. . Madrid.

LINKOGRAFÍA

1. Cistern, G. (2012). Estudio histopatológico. Recuperado en julio del 2014, disponible en: <http://es.slideshare.net/fotomedica2012/el-estudio-histopatolgico>.
2. FCM. Laboratorio Clínico. (2011). Prevalencia de Helicobacter pylori por micro-Elisa en materias fecales. Cuenca-Ecuador. Recuperado en julio del 2014, disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3850/1/pdf>.
3. Martínez, L. (s.f.). Helicobacter Pylori en la patología gastroduodenal: una puesta al día. Recuperado en mayo del 2014, disponible en: <http://www.sld.cu/sitios/gastroenterologia/temas.php?idv=18247>.
4. Molina G. (2012). Histoquímica. Recuperado el 1 de Febrero de 2014, de <http://www.slideshare.net/GiovArn/histoquimica>.
5. Nieto, J. (2010). Prácticas de Tinción de Giemsa. Practicas de Laboratorio de Hematología. Recuperado en febrero de 2014, disponible en: <http://es.scribd.com/doc/49115405/Practica-15-Tincion-de-Giemsa>.

6. Quintana, F. (2004). Cáncer de estómago. Recuperado en julio de 2014, disponible en: http://www.medicosecuador.com/espanol/articulos_medicos/13_4.htm.
7. Tinción de Giemsa. (2010). Recuperado en julio de 2014, disponible en: <http://es.scribd.com/doc/49115405/Practica-15-Tincion-de-Giemsa>.

CITAS BIBLIOGRÁFICAS - BASE DE DATOS DE UTA

1. **SPRINGER**. La cuantificación de *Helicobacter pylori* niveles en muestras de suelo de parques infantiles públicos en España. Recuperado el 26 noviembre del 2013, disponible en la página web en el sitio: <http://link.springer.com/article/10.1631/jzus.B0900238>
2. **EBRARY**. Estudio molecular de los factores de virulencia y de la resistencia a claritromicina en la infección por *Helicobacter pylori*. Recuperado el 16 de junio del 2014, disponible en la página web en el sitio: <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10444934&p00=Helicobacter%20pilory>
3. **EBRARY**. *Helicobacter pylori*: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. Recuperado el 16 de junio del 2014, disponible en la página web en el sitio: <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10109405&p00=Helicobacter%20pilory>
4. **EBRARY**. Tratamiento por infección de *Helicobacter pilory* asociada con gastritis en infantes. Recuperado el 16 de junio del 2014, disponible en la página web en el sitio: <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10109445&p00=HELICOBACTER+PILORY>

5. **EBRARY.** Diagnóstico de *Helicobacter pylori* por PCR convencional, utilizando los Primers 16SrRNAHpTr-F Y 16rRNAHpTr-R, frente al estudio histológico de biopsia gástrica. Recuperado el 16 de junio del 2014, disponible en la página web en el sitio: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/2446>.

ANEXOS

HOJA DE RESULTADOS									
FECHA	CÓDIGO	EDAD	H.E (TINCIÓN)	RESULTADO	GÉNERO	FECHA	GIEMSA (TINCIÓN)	RESULTADO	DIAGNÓSTICO
18/12/2012	3538	40	240 segundos	+	Femenino	19/12/2012	45 segundos	+	GC atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3539	63	180 segundos	-	Femenino	19/12/2012	65 segundos	-	GC no atrófica moderada con MIC focal G1
18/12/2012	3540	45	180 segundos	+	Masculino	19/12/2012	120 segundos	+	GC atrófica leve activa con MIC e incom. focal G1
18/12/2012	3553	30	240 segundos	+	Femenino	19/12/2012	120 segundos	+	GC no atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3554	55	240 segundos	+	Femenino	19/12/2012	120 segundos	-	GC no atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3555	31	240 segundos	+	Femenino	19/12/2012	60 segundos	+	GC atrófica leve activa G1
18/12/2012	3556	57	180 segundos	+	Femenino	19/12/2012	60 segundos	++	GC atrófica leve activa G1
18/12/2012	3583	65	180 segundos	+	Masculino	19/12/2012	60 segundos	++	GC atrófica leve activa G1
18/12/2012	3584	25	180 segundos	+	Masculino	19/12/2012	60 segundos	++	GC no atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3585	66	180 segundos	+	Masculino	19/12/2012	120 segundos	++	GC atrófica leve activa G1
18/12/2012	3586	96	180 segundos	-	Masculino	19/12/2012	60 segundos	-	GC atrófica severa activa con MIC G1
18/12/2012	3587	48	120 segundos	+	Femenino	19/12/2012	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3608	56	240 segundos	+	Masculino	19/12/2012	40 segundos	+	GC atrófica leve activa con MIC G1
18/12/2012	3609	32	180 segundos	+	Femenino	19/12/2012	120 segundos	++	GC atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3611	34	240 segundos	++	Masculino	19/12/2012	30 segundos	++	GC no atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3612	45	180 segundos	-	Femenino	19/12/2012	120 segundos	+	GC no atrófica moderada activa G1
18/12/2012	3613	87	240 segundos	-	Masculino	19/12/2012	15 segundos	++	GC atrófica moderada activa G1
09/01/2013	3660	62	180 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC e incom. focal G1
09/01/2013	3661	62	120 segundos	-	Femenino	10/01/2013	45 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC focal G1
09/01/2013	3455	33	180 segundos	-	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada G1
09/01/2013	3493	36	120 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	+	GC atrófica moderada activa G1
09/01/2013	3494	50	120 segundos	-	Femenino	10/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa G1
09/01/2013	3495	30	180 segundos	++	Masculino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa G1

09/01/2013	3496	28	120 segundos	-	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3497	47	120 segundos	-	Masculino	10/01/2013	60 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3710	62	180 segundos	++	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC atrófica leve activa	G1
09/01/2013	3711	63	240 segundos	-	Masculino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3712	69	120 segundos	-	Masculino	10/01/2013	60 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC extensa	G1
09/01/2013	3713	54	240 segundos	-	Masculino	10/01/2013	120 segundos	-	GC atrófica leve activa	G1
09/01/2013	3714	62	180 segundos	-	Masculino	10/01/2013	60 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC extensa	G1
09/01/2013	3715	62	120 segundos	-	Masculino	10/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa con MI incom. ext.	G1
09/01/2013	3716	51	180 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3717	52	180 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3718	43	120 segundos	-	Masculino	10/01/2013	45 segundos	-	GC atrófica leve activa	G1
09/01/2013	3719	79	120 segundos	-	Femenino	10/01/2013	45 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3720	41	180 segundos	+	Femenino	10/01/2013	55 segundos	+	GC atrófica leve activa	G1
09/01/2013	3722	76	120 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3626	36	120 segundos	++	Femenino	10/01/2013	60 segundos	+	GC atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
09/01/2013	3627	35	120 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	++	GC atrófica leve activa con MI incom. focal	G1
09/01/2013	3628	19	240 segundos	-	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa folicular	G1
09/01/2013	3656	60	120 segundos	+	Femenino	10/01/2013	60 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC e incom. focal	G1
09/01/2013	3657	44	120 segundos	+	Femenino	10/01/2013	30 segundos	+	GC atrófica leve activa con MIC e incom. focal	G1
09/01/2013	3659	65	180 segundos	-	Femenino	10/01/2013	30 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3664	25	180 segundos	++	Femenino	10/01/2013	20 segundos	-	GC atrófica leve activa	G1
09/01/2013	3666	68	120 segundos	+	Masculino	10/01/2013	30 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3668	51	120 segundos	+	Femenino	10/01/2013	45 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC e incom. focal	G1
09/01/2013	3670	51	120 segundos	-	Masculino	10/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
09/01/2013	3671	47	120 segundos	-	Femenino	10/01/2013	30 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3684	66	180 segundos	+	Masculino	24/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3686	28	180 segundos	-	Femenino	24/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica leve activa	G1
17/01/2013	3688	50	180 segundos	-	Masculino	24/01/2013	30 segundos	-	GC no atrófica leve activa	G1

17/01/2013	3690	33	180 segundos	-	Femenino	24/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica severa activa	G1
17/01/2013	3691	40	180 segundos	++	Masculino	24/01/2013	5 segundos	+++	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3692	35	120 segundos	-	Masculino	24/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3694	56	120 segundos	-	Masculino	24/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3695	54	180 segundos	+	Femenino	24/01/2013	60 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3697	48	120 segundos	-	Femenino	24/01/2013	90 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
17/01/2013	3707	47	120 segundos	+	Femenino	24/01/2013	5 segundos	+++	GC no atrófica moderada activa focal	G1
17/01/2013	3709	50	120 segundos	+	Femenino	24/01/2013	60 segundos	++	GC atrófica moderada activa con MIC e incom. extensa	G1
17/01/2013	3730	81	60segundos	-	Femenino	24/01/2013	120 segundos	++	GC atrófica leve activa	G1
17/01/2013	3731	45	60 segundos	+	Masculino	24/01/2013	10 segundos	+	GC atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3877	45	120 segundos	-	Femenino	23/01/2013	20 segundos	-	GC no atrófica leve activa	G1
22/01/2013	3878	65	120 segundos	-	Masculino	23/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3879	68	180 segundos	+	Femenino	23/01/2013	60 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	38881	47	60 segundos	+	Masculino	23/01/2013	180 segundos	+	GC no atrófica moderada activa con MIC e incom. focal	G1
22/01/2013	3882	31	180 segundos	-	Femenino	23/01/2013	220 segundos	-	GC no atrófica leve activa	G1
22/01/2013	3884	57	120 segundos	+	Masculino	23/01/2013	15 segundos	+	GC no atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
22/01/2013	3885	61	180 segundos	++	Femenino	23/01/2013	180 segundos	+	GC atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
22/01/2013	3891	75	180 segundos	-	Femenino	23/01/2013	60segundos	-	GC atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3895	54	180 segundos	-	Femenino	23/01/2013	90 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3896	55	120 segundos	+	Femenino	23/01/2013	60 segundos	++	GC atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3898	49	180 segundos	++	Femenino	23/01/2013	50 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3901	53	180 segundos	-	Masculino	23/01/2013	50 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
22/01/2013	3903	62	60 segundos	-	Masculino	23/01/2013	30 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
24/01/2013	3732	70	60 segundos	-	Femenino	28/01/2013	15 segundos	-	GC atrófica leve activa	G1
24/01/2013	3734	72	40 segundos	-	Femenino	28/01/2013	50 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
25/01/2013	3736	41	60 segundos	-	Masculino	28/01/2013	30 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3737	25	60 segundos	-	Femenino	28/01/2013	45 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3740	14	120 segundos	-	Masculino	28/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1

25/01/2013	3741	66	120 segundos	-	Femenino	28/01/2013	25 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3748	73	120 segundos	-	Femenino	28/01/2013	85 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3749	82	80 segundos	-	Femenino	28/01/2013	45 segundos	-	GC atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3756	49	120 segundos	-	Femenino	28/01/2013	60 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC e incom. focal	G1
25/01/2013	3757	32	120 segundos	-	Masculino	28/01/2013	65 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3774	32	45 segundos	++	Masculino	28/01/2013	20 segundos	+++	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3775	52	60 segundos	-	Masculino	28/01/2013	65 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MIC e incom. focal	G1
25/01/2013	3778	52	60 segundos	-	Masculino	28/01/2013	120 segundos	-	GC atrófica leve activa	G1
25/01/2013	3779	58	120 segundos	-	Masculino	28/01/2013	130 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3777	60	20 segundos	-	Femenino	28/01/2013	55 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
25/01/2013	3782	38	60 segundos	-	Femenino	28/01/2013	90 segundos	-	GC no atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
25/01/2013	3783	26	45 segundos	++	Femenino	28/01/2013	10 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3784	29	60 segundos	-	Femenino	28/01/2013	110 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3800	26	90 segundos	+	Femenino	28/01/2013	120 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3802	55	120 segundos	-	Femenino	28/01/2013	120 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3806	74	60 segundos	-	Masculino	28/01/2013	25 segundos	++	GC atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
25/01/2013	3807	47	60 segundos	-	Femenino	28/01/2013	15 segundos	+	GC no atrófica leve activa	G1
25/01/2013	3808	50	25 segundos	-	Masculino	28/01/2013	60 segundos	-	GC no atrófica leve activa	G1
25/01/2013	3810	47	60 segundos	-	Femenino	28/01/2013	70 segundos	-	GC atrófica moderada activa con MI incom. focal	G1
25/01/2013	3811	26	120 segundos	-	Masculino	28/01/2013	95 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3812	48	60 segundos	++	Femenino	28/01/2013	20 segundos	++	GC atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3813	21	120 segundos	-	Femenino	28/01/2013	170 segundos	-	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3814	28	120 segundos	-	Masculino	28/01/2013	60 segundos	+	GC no atrófica moderada activa	G1
25/01/2013	3815	33	15 segundos	++	Femenino	28/01/2013	30 segundos	++	GC no atrófica moderada activa	G1

<i>Columna1. HE</i>	
Media	135,7281553
Error típico	5,671376765
Mediana	120
Moda	120
Desviación estándar	57,55818781
Varianza de la muestra	3312,944984
Curtosis	0,649530517
Coefficiente de asimetría	0,007597865
Rango	225
Mínimo	15
Máximo	240
Suma	13980
Cuenta	103

<i>Columna2. Giemsa</i>	
Media	63,98058252
Error típico	3,84124769
Mediana	60
Moda	60
Desviación estándar	38,98440628
Varianza de la muestra	1519,783933
Curtosis	2,819307445
Coefficiente de asimetría	1,424807069
Rango	215
Mínimo	5
Máximo	220
Suma	6590

SIGLAS	SIGNIFICADO
GC	Gastritis crónica
MIC	Metaplasia intestinal completa
MIC e incom.	Metaplasia intestinal completa e incompleta
HE	Hematoxilina eosina
G1	Grupo 1

Elaborado por: Escudero Salinas Nela

Fuente: Investigación de campo