

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**COMPARACIÓN DE LAS TINCIONES HEMATOXILINA-EOSINA Y GIEMSA  
PARA LA IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS  
DE BIOPSIA GÁSTRICA DE PACIENTES DEL HOSPITAL IESS RIOBAMBA  
ENTRE OCTUBRE Y DICIEMBRE DEL 2009.**

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MEDICO CIRUJANO

MARCELO JOAQUÍN TORO ARIAS

Directora: Dra. Sonia Sotomayor

Quito 2010

## **DEDICATORIA**

*“Este trabajo está dedicado a mi querida familia por su excesiva e intensa preocupación; en especial a mi madre. Y a todas las personas que han contribuido para moldear mi alma y mi corazón”.*

*“Para Mauricio Ildefonso y María Soledad”*

## AGRADECIMIENTOS

*“A Dios, por ser la luz que ilumina mi vida, por la fuerza para entender la realidad de las situaciones y en gratitud por haber creado todo cuanto existe.*

*A mi familia, por concederme la formación espiritual y moral que ahora poseo, por acompañarme en los momentos de desolación y por impulsarme a ser mejor persona y mejor cristiano cada día.*

*A mis sobrinos queridos, por dotarme de dulzura y paciencia; por acrecentar mis deseos de ser padre pronto..*

*A mis amigos, mis hermanos, por el apoyo mostrado en cada instante en las penas más amargas en los desengaños amorosos incluso en los momentos de distracción y excesos.*

*A mis maestros en especial a la Dra. Sonia Sotomayor por tratarme como un verdadero hijo, al Dr. René Buitrón gracias por su amistad y ejemplo. Al Dr. Marcelo Toro Córdova por su guía y apoyo.*

*Al Dr. Roberto Pólit, a la Dra. Rosa Guerreo, Al Dr. Jorge Mejía por el inmenso aporte a la investigación.*

*Por último, a M.E.C.R mil gracias por ser el motor que ha movido todo aunque ni se lo imagine.*

**Marcelo Toro Arias**

## TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
TABLA DE CONTENIDO .....	IV
LISTA DE TABLAS Y CUADROS.....	VII
LISTA DE FIGURAS .....	VIII
RESUMEN .....	IX
Capítulo I .....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo II .....	8
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	8
HELICOBACTER PYLORI.....	8
2.1. HISTORIA.....	8
2.2. EPIDEMIOLOGÍA.....	13
2.3. MICROBIOLOGÍA DEL GÉNERO HELICOBACTER .....	14
2.3.1. TAXONOMÍA.....	16
2.4. Helicobacter gástricos.....	17
2.4.1. Helicobacter pylori.....	17
2.5. ASPECTOS PATOGENICOS DEL H. PYLORI.....	20
2.5.1. Factores de virulencia .....	22
2.5.2. Factores invasivos .....	23
2.5.3. Morfología espiral y motilidad.....	24
2.5.4. Enzimas .....	26
2.5.5. Proteasas y lipasas .....	31
2.5.6. Catalasa y superóxido dismutasa.....	32
2.5.7. Factores que protegen a la bacteria y facilitan la invasión.....	35
2.5.7.1. Localizador intracelular .....	35
2.5.7.2. Inhibidores de la secreción acida.....	35
2.5.7.3. Sensibilidad a bilis .....	35
2.5.7.4. Factores de adherencia.....	36
2.5.7.5. Hidrofobicidad .....	37
2.5.7.6. Glicocálix .....	39
2.5.7.7. Hemaglutininas .....	40
2.5.7.8. Factores tóxicos .....	41
2.5.7.9. Citotoxina .....	41
2.5.7.10. Hemolisinas.....	44
2.5.7.11. Otros factores .....	45
2.6. POSIBLES MECANISMOS DE PATOGENESIS.....	46
2.7. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN.....	47
2.8. ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI .....	50

2.8.1. LESIONES ESPECÍFICAS .....	51
2.8.1.1. Localización .....	51
2.8.1.2. Daño a las células epiteliales superficiales .....	52
2.8.1.3. Infiltrado inflamatorio.....	53
2.8.1.4. Entidades nosológicas.....	53
2.9. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI ....	56
2.9.1. MÉTODOS INVASIVOS .....	59
2.9.1.1. Histología .....	60
2.9.1.2. Microscopía directa. ....	63
2.9.1.2.1. Lugar de toma de muestra.....	63
2.9.1.3. Cultivo .....	64
2.9.1.4. Prueba rápida de la ureasa a partir de la biopsia .....	65
2.9.2. MÉTODOS NO INVASIVOS.....	67
2.9.2.1. Serología .....	67
2.9.2.2. Urea breath test (prueba de la respiración con urea) .....	71
2.9.2.2.1. Urea breath test con <sup>13</sup> C .....	72
2.9.2.2.2. Urea breath test con <sup>14</sup> C .....	73
2.10. TRATAMIENTO .....	74
Capítulo III .....	76
3.1. HIPÓTESIS Y DISEÑO METODOLÓGICO .....	76
3.1.1. HIPÓTESIS.....	76
3.1.1.1. Primaria .....	76
3.1.1.2. Secundarias .....	76
3.2. Problema de la Investigación .....	77
3.3. Objetivos .....	78
3.3.1. Objetivo General:.....	78
3.3.2. Objetivos Específicos: .....	78
3.4. Diseño Metodológico .....	79
3.4.1. Muestra.....	79
3.4.2. Tipo de estudio .....	80
3.4.3. Procedimiento de recolección de la información .....	80
3.4.4. Plan de análisis de datos.....	85
3.5. Criterios de Inclusión y exclusión .....	86
3.5.1. Criterio de inclusión .....	86
3.5.2. Criterio de exclusión: .....	86
3.6. Operalización de Variables.....	87
Capítulo IV .....	88
RESULTADOS .....	88
4.1. Análisis General.....	88
4.2. Perfil de la población.....	88
4.3. Resultados del Estudio .....	91
4.3.1. Evaluación de pruebas diagnósticas .....	91
4.3.1.1. Observador A .....	91
4.3.1.2. Observador B.....	91
4.3.1.3. Observador C.....	92
4.3.2. Estudio de concordancia .....	94

4.3.3. Relación de Identificación Positiva de Helicobacter pylori con la edad. ....	96
4.3.4. Relación de Identificación Positiva de Helicobacter pylori con el sexo. ....	96
Capítulo V.....	97
Discusión, Conclusiones y Recomendaciones.....	97
5.1. Discusión.....	97
5.2. Conclusiones.....	102
5.3. Recomendaciones.....	103
BIBLIOGRAFÍA.....	104
ANEXO 1.....	115
ANEXO 2.....	116
ANEXO 3.....	117

## LISTA DE TABLAS Y CUADROS

- Tabla 2.1.** Bacterias del género *Helicobacter* y sus asociaciones
- Tabla 2.2.** Comparación de técnicas para la detección de *Helicobacter pylori*
- Tabla 3.1.** Tabla de resumen del procesamiento automático de tejidos.
- Tabla 3.2.** Operalización de Variables
- Tabla 4.1.** Resumen de datos obtenidos de sensibilidad, especificidad valores predictivos positivos y negativos con intervalos de confianza en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009 para el antro gástrico.
- Tabla 4.2.** Resumen de datos obtenidos de sensibilidad, especificidad valores predictivos positivos y negativos con intervalos de confianza en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009 para incisura angularis.
- Tabla 4.3.** Resumen de datos obtenidos de sensibilidad, especificidad valores predictivos positivos y negativos con intervalos de confianza en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009 para el cuerpo gástrico.
- Tabla 4.4.** Resumen de datos obtenidos de concordancia entre observadores en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009.
- Cuadro 4.1.** Distribución de edad de los pacientes en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs hematoxilina eosina en el hospital de Riobamba 2009
- Cuadro 4.2.** Distribución por sexo de los pacientes en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009
- Cuadro 4.3.** Distribución según el nivel de instrucción de los pacientes en el estudio de comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura. 2.1** Composición de la Superfamilia VI de rRNA

**Figura. 2.2.** Vías de infección de *Helicobacter pylori*

**Figura. 3.1.** Frascos para recolección de biopsias gástricas.

**Figura. 3.2.** Placas porta objetos rotuladas.

## RESUMEN

**Introducción.** El *Helicobacter pylori* en la actualidad resulta ser un microorganismo de gran importancia hablando de patología gástrica por su clara relación con la gastritis crónica atrófica, su asociación con las úlceras gástricas y duodenales y su inclusión por parte de la IARC en 1994 (grupo de estudio del cáncer, perteneciente a la Organización Mundial de la Salud) entre los agentes carcinógenos tipo 1<sup>1</sup>. La infección por *Helicobacter pylori* está ampliamente diseminada, su prevalencia a nivel mundial es del 30 al 50 %. Existe una relación inversa entre el grado de infección con esta bacteria y el nivel socioeconómico de cada región<sup>2</sup>.

Razones sobran para indagar y profundizar en el estudio de esta bacteria en especial en Ecuador por ser un país con tan alta incidencia en comparación con muchas otras regiones del mundo. En la ciudad de Riobamba se encontró una prevalencia del 63,5%, la misma que aumenta con la edad siendo el 70% entre los 45 y 60 años.<sup>3</sup>

---

<sup>1</sup> International Agency for Cancer Research. Shistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to human. IARC: Lyon, 1994:61.

<sup>2</sup> Pounder RE, Ng D. the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the different countries. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9: 27-30.

<sup>3</sup> Mejía J, Nicolalde M. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes de consulta externa gastroenterológica Hospital IESS Reg.5. Riobamba: Informe Institucional;1998.

Se requieren de métodos seguros y extensibles para la identificación y terapia de sujetos *Helicobacter pylori*-positivos y en elevado riesgo de desarrollar cáncer gástrico<sup>4</sup>.

El objetivo principal del estudio es comparar las tinciones de Hematoxilina Eosina y Giemsa para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica de pacientes del Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) Riobamba entre Octubre y Diciembre del 2009.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio de evaluación de pruebas diagnósticas y otro de concordancia.

La información socio demográfica se obtuvo mediante formularios de recolección elaborados para el efecto. Se realizaron Endoscopia Digestiva Alta a 114 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión a los cuales se les realizó tres biopsias gástricas (una de antro, una de incisura angularis y una de cuerpo) realizándose dos cortes histológico de cada biopsia ; posterior a su procesamiento en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital IESS Riobamba resultaron seis placas porta objetos por cada paciente (tres procesadas con la coloración de Hematoxilina Eosina y tres procesadas con Giemsa) las mismas que fueron observadas por tres Médicos Patólogos expertos quienes consignaron los resultados en hojas de registro específica.

---

<sup>4</sup> An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. The EUROGAST Study Group. Lancet 1993; 341:1359.

Los datos obtenidos se trasladaron a cuadros de análisis estadístico de 2X2 utilizando el programa Epidat 3,1 para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo de las observaciones con la coloración de Hematoxilina Eosina comparándola con Giemsa (Gold estándar) según sitio de biopsia gástrica.

**Resultados.** La investigación fue realizada en 114 pacientes (78 mujeres y 36 varones) de entre 21 y 85 años. Del total de placas se obtuvieron resultados positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante la coloración de Giemsa un 31,6% que equivale a 36 pacientes y un resultado negativo para un 68,4% que corresponden a 78 pacientes.

Para la Evaluación de Pruebas diagnósticas se calculó en tablas de 2x2 con un nivel de confianza del 95% lo utilizando 114 casos y nos proporcionó los siguientes resultados:

La prueba de Hematoxilina Eosina tiene alta sensibilidad (93,1% con un IC=85,72-100%), especificidad (89,61% con un IC=82,15-97,07%) y valor predictivo negativo (95,83% con un IC=90,52-100%) para identificar *Helicobacter pylori* en la incisura angularis y valor predictivo positivo mejor en cuerpo (84,38% con un IC=74,7-94,05%); sin que todos los datos obtenidos lleguen a igualar la prueba Gold estándar.

Para el estudio de concordancia se realizó el cálculo de la concordancia entre observadores con nivel de confianza del 95% donde pudimos rescatar los siguientes resultados:

Kappa para Hematoxilina Eosina:

Para el antro un Kappa de 0,4152 con un intervalos de confianza de (0,2914-0,5390), para la incisura angularis un Kappa de 0,4957 con un intervalos de confianza de (0,3748-0,6165) y para el cuerpo un Kappa de 0,5162 con un intervalos de confianza de (0,3973- 0,6351).

Kappa para Giemsa:

Para el antro un Kappa de 0,6460 con un intervalos de confianza de (0,5363-0,7557) y, para la incisura angularis un Kappa de 0,5988 con un intervalos de confianza de (0,4844-0,7132) y para el cuerpo un Kappa de 0,6451 con un intervalos de confianza de (0,5341- 0,7561).

**Discusión.** Para estudios invasivos la sensibilidad y especificidad de la histología para identificación de *Helicobacter pylori* son satisfactorias con rangos de 83-93.5% y 90.4-100% respectivamente<sup>5</sup>, proporcionándole un valor agregado como método diagnóstico definitivo en la identificación de *Helicobacter pylori*<sup>6</sup>. Autores como Laine et al. (1997) concluyen que la coloración con Giemsa es la preferida para la identificación de *Helicobacter pylori* en base a su buena sensibilidad, excelente especificidad y que no presenta dificultades técnicas en su preparación, comparada

---

<sup>5</sup> Taj Y, Essa F, kasmi SU, Abdullah E. Sensitivity and specificity of various diagnostic test in the detection of *Helicobacter pylori*. J Coll physicians Surg Pak 2003; 13:90-3

<sup>6</sup> O Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of Staining methods. Journal of Clinical Pathology 2000, 53:756-759.

con la de Genta y Hematoxilina eosina que poseen aceptable sensibilidad del 90% y 98% respectivamente<sup>7</sup>.

En este mismo sentido Anim et al (2000), concluye que Hematoxilina eosina pueden utilizarse como valoración inicial pero que al presentar una baja densidad de bacterias, otra tinción debe ser usada<sup>8</sup>

Los resultados encontrados en nuestro estudio para Hematoxilina Eosina con una sensibilidad de 93,1%, especificidad de 89,61%, valor predictivo positivo de 87,93% y un valor predictivo negativo de 95,83% con respecto a la tinción de Giemsa es justificable su uso en nuestro medio, todo lo anteriormente dicho considerando que para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* se requiere de una prueba sensible.

Datos comparables a los obtenidos en la literatura mundial.

En cuanto a la concordancia realizada entre observadores para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* comparando distintos métodos de coloración, un estudio realizado por O Rotimi y colaboradores nos muestra un acuerdo moderado para la tinción de Giemsa Modificado ( $\kappa=0,733$ ), estudio realizado entre dos observadores<sup>9</sup>.

En nuestro estudio se alcanzaron acuerdos moderados de igual manera, pero con relativa independencia del lugar de toma de la muestra. En el antro gástrico y con la coloración de Giemsa el índice Kappa fue de 0,6460 y para Hematoxilina Eosina en

---

<sup>7</sup> Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 463-7.

<sup>88</sup> Anim JT, Al-Sobkie N, Prasad A, John B, Sharma Pn, Al-Jamar I. Assessment of different methods for staining *Helicobacter pylori* in endoscopic gastric biopsies. *Acta Histochem* 2000; 102: 129-37.

<sup>9</sup> O Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of Staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000, 53: 756-759.

el cuerpo gástrico se obtuvo un índice Kappa de 0,5162; cabe recalcar que los datos del estudio fueron realizados con tres observadores.

**Palabras clave:** *Identificación histológica de Helicobacter pylori, Giemsa, Hematoxilina Eosina.*

## Capítulo I

### INTRODUCCIÓN

El descubrimiento del *Helicobacter pylori* en el año de 1982 por Barry Marshall y Robin Warren ha sido un hito de gran importancia hablando de patología gástrica por su clara relación con la gastritis crónica atrófica, su asociación con las úlceras gastroduodenales y su inclusión por parte de la IARC en 1994 (grupo de estudio del cáncer, perteneciente a la Organización Mundial de la Salud) entre los agentes carcinógenos tipo 1.

*Helicobacter Pylori* puede definirse como un bacilo curvado gramnegativo, oxidasa, catalasa y ureasa positivo. Quizás la característica más importante que le diferencia de otros bacilos oxidasa y catalasa positivos, es la presencia de una potente ureasa que ha servido para realizar el diagnóstico de la infección producida por estos microorganismos a partir de las muestras de biopsia gástrica.

El descubrimiento de que *Helicobacter pylori* está implicado en diferentes patologías gástricas, ha supuesto un cambio conceptual, ya que es la primera vez que una bacteria se considera como causante de un proceso gástrico el cual era tratado de forma paliativa pero no curativa.

Existen diferentes argumentos que adscriben a *Helicobacter pylori* un papel patogénico, como son sus características de adherencia, toxicidad, actividad ureásica y factores inmunológicos. Además de estas características hay informes de

que *Helicobacter pylori* puede causar gastritis en una mucosa gástrica previamente normal.<sup>10</sup>

La infección por *Helicobacter pylori* está ampliamente diseminada, su prevalencia a nivel mundial es del 30 al 50 %. Existe una relación inversa entre el grado de infección con esta bacteria y el nivel socioeconómico de cada región.

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.<sup>11</sup> 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 %.

La definición de las relaciones entre esta infección y la génesis de cáncer gástrico debe ser definida, más particularmente los mecanismos de interacción entre la infección por *Helicobacter pylori*, los factores genéticos del huésped y los factores dietarios. También requiere de definiciones la reversibilidad de las anormalidades relacionadas con el cáncer (hipoclorhidria, atrofia y metaplasia intestinal) una vez que haya tenido lugar la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori*.

Razones sobran para indagar y profundizar en el estudio de esta bacteria en especial en Ecuador por ser un país con tan alta incidencia en comparación con muchas otras regiones del mundo. En la ciudad de Riobamba se encontró una

---

<sup>10</sup> Marshall BJ et al. Attempt to fulfill postulates for pyloric Campylobacter. Med J Aust 1985;142:436-439

<sup>11</sup> Pounder RE, Ng D. the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the different countries. Aliment Pharmacol Ther 1995

prevalencia del 63,5%, la misma que aumenta con la edad siendo el 70% entre los 45 y 60 años de edad.<sup>12</sup>

Los métodos de diagnóstico son un punto importante de aclarar por la necesidad de diagnosticar con mayor certeza y menor costo a los pacientes que potencialmente podrían sufrir alguna manifestación patológica debida a esta bacteria. Se requieren de métodos seguros y extensibles para la identificación y terapia de sujetos *Helicobacter pylori*-positivos y en elevado riesgo de desarrollar cáncer gástrico.

Los métodos de diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, se clasifican en dos grupos:

1.- Indirectos o no Invasivos.- Que se dividen en dos grupos, los serológicos (memoria inmunológica) y los tests del aliento que utilizan urea marcada con C-13 o C-14, siendo el primero de ellos el más utilizado por emplear un método no reactivo. Todos los métodos diagnósticos tienen elevada sensibilidad y especificidad, que oscila del 90-100% de los casos. Su correcta utilización depende de diversos factores tales como lugar de trabajo, experiencia, costo, etc.

2. Directos o invasivos que precisan de la realización de una endoscopia y son tres, el test de la ureasa en tejido, la histología y el cultivo bacteriológico de las muestras obtenidas por biopsia.

---

<sup>12</sup> Mejía J, Nicolalde M. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes de consulta externa gastroenterológica Hospital IESS Reg.5. Riobamba: Informe Institucional;1998.

De ellos la histología es el método más ampliamente usado aunque hubo una preocupación inicial referente a la especificidad y la sensibilidad de la evaluación histológica, los resultados igualan o pueden superar a los del cultivo.

Las tinciones histológicas más utilizadas en nuestro medio por su costo, son hematoxilina-eosina y Giemsa, esta última con una excelente sensibilidad y especificidad. Otras como la de Warthin-Starry y de Genta, que han demostrado gran precisión, son de mayor costo, más elaboradas e implican la manipulación de reactivos de alta toxicidad.

Por otro lado el lugar de la porción gástrica donde se toma la muestra también es relevante para la identificación específica de *Helicobacter pylori*, la literatura nos indica que aunque se prefiera frecuentemente el antro gástrico como zona elegida para la toma de la muestra de la biopsia con el fin de hacer evidente la infección por *Helicobacter pylori*, un cierto número de estudios indica que el organismo se encuentra en el cuerpo del estómago en la mayoría de casos.<sup>13</sup>

*Helicobacter pylori* coloniza específicamente la superficie del epitelio de la mucosa gástrica. La colonización se realiza preferentemente en el antro<sup>14</sup>, se asocia a las células parietales, especialmente en las uniones intracelulares.

Otros estudios que han comparado tomas de muestra del antro y del cuerpo gástrico, han demostrado una frecuencia similar de aislamientos en ambas

---

<sup>13</sup> Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. Campylobacter pyloridis gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J Gastroenterol 1987;82:292-296

<sup>14</sup> Blaser MJ. Gastric Campylobacter-like organism gastritis and peptic ulcer disease. Gastroenterol 1987;93:371.

localizaciones.<sup>15-16</sup>. Sin embargo, en aproximadamente el 10% de los pacientes sólo se puede aislar *Helicobacter pylori* a partir de una sola de estas localizaciones (antro o cuerpo), lo que obliga a realizar biopsias de ambas zonas cuando se quiere lograr el máximo rendimiento de las detecciones.<sup>17</sup>

En el Hospital del IESS de la ciudad de Riobamba se realiza el diagnóstico de la presencia de *Helicobacter pylori* y sus lesiones asociadas por medio de Análisis histológico obteniendo biopsias gástricas a través de Endoscopia Digestiva Alta en el Servicio de Endoscopia del Hospital.

Las biopsias a su vez son procesadas en el Servicio de Anatomía Patológica utilizando rutinariamente la tinción con Hematoxilina-Eosina, situación que se repite en la mayoría de Servicios de Diagnóstico Patológico en todo el país.

La coloración convencional del tejido con hematoxilina y eosina se recomienda para el diagnóstico de inflamación progresiva, pero no ofrece muchas garantías para la detección de *Helicobacter pylori* debido a la dificultad en su distinción con este procedimiento de coloración. Por otro lado, *Helicobacter pylori* se identifica con facilidad gracias al procedimiento de coloración de Giemsa, que tiñe de un azul

---

<sup>15</sup> Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ, Carrick J, Ralston M, Brady L, Lee A. Campylobacter pyloridis gastritis II: Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. Am J Gastroenterol 1987a;82:297-301

<sup>16</sup> Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal Campylobacter pylori in patients with Barrett's esophagus. Gastroenterology 1988;95:216-218.

<sup>17</sup> Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal Campylobacter pylori in patients with Barrett's esophagus. Gastroenterology 1988;95:216-218.

uniforme frente al azul débil de fondo<sup>18</sup>. A causa de su simplicidad, rapidez y un coste bajo, se considera el Giemsa como la coloración de elección<sup>19,20</sup>.

Otros estudios concluyen que la tinción con hematoxilina y eosina es un método barato de detección de *Helicobacter pylori*, pero con características de rendimiento de la prueba inferior a la de Giemsa, Genta, plata.<sup>21</sup>

Razones por las cuales se ha decidido realizar este estudio, comparando las tinciones histológicas (Hematoxilina-Eosina y Giemsa) y las tres porciones gástricas más representativas (antro, incisura angularis y cuerpo).

También se debe realizar una correcta medición intra y entre observadores de la concordancia que existe en la identificación de *Helicobacter pylori* comparando a su vez las tinciones de Hematoxilina-Eosina y Giemsa.

El objetivo principal del estudio es comparar las tinciones de Hematoxilina Eosina y Giemsa para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica de pacientes del Hospital del IESS Riobamba entre Octubre y Diciembre del 2009.

El presente estudio tiene una gran relevancia social, porque si bien el *Helicobacter pylori* se presenta en todos los estratos sociales, los beneficiarios de sus resultados serán principalmente los sectores de bajos recursos económicos, porque se requiere establecer el costo beneficio de los métodos.

---

<sup>18</sup> Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ. Simplified techniques for identifying *Campylobacter pyloridis*. Clin Pathol 1986;39:1279

<sup>19</sup> Madan E, Kemp J, Wesrblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of straining methods for identifying *Campylobacter pylori*. Am J Clin Pathol 1988;90:450-453

<sup>20</sup> Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA, Tseng J. Improves visualization of mucus penetration by *Campylobacter pylori* using Brown-Hopps stain. J Clin Pathol 1988;41:232

<sup>21</sup> Carlo A. Fallone, Vivian G. Loo, John Lough & Alan N. Barkun. **Hematoxylin and Eosin Staining of Gastric Tissue for the Detection of *Helicobacter pylori***. *Helicobacter* Volume 2, Issue 1, Pages32 – 35 1997 Blackwell Science, Inc.

Las implicaciones prácticas de esta investigación se manifestaran en la selección correcta de la prueba de diagnóstico de *Helicobacter pylori*.

El valor de este estudio se evidenciará 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.

La utilidad metodológica se traduce en la opción de replicar este estudio en otras instituciones de salud con características similares para cotejar los resultados obtenidos.

## Capítulo II

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### HELICOBACTER PYLORI

##### 2.1. HISTORIA.

Los microorganismos pertenecientes al género *Helicobacter* son bacterias que tienen un gran interés en medicina, sobre todo por su implicación en la patología gastroduodenal.

La historia de estos bacilos espirales comienza en el siglo pasado, concretamente en 1893, cuando se refieren los descubrimientos de bacterias espirales en el estómago de perros y gatos, datos aportados por Bizzozero, que son confirmados tres años más tarde por Salomón, quien demuestra la presencia de “espiroquetas” en la capa de mucina de estómagos humanos y de animales.<sup>22</sup>

A comienzos de este siglo, concretamente en 1906, Kreintz y colaboradores dan a conocer el hallazgo de microorganismos similares a los citados anteriormente en enfermos con cáncer gástrico<sup>23</sup>. Hasta 1983, año en que Doenges cita la presencia de microorganismos espirales en el 43% de 242 estómagos estudiados<sup>24</sup>, no existen otros datos bibliográficos. El mismo autor describe estas bacterias como densas con

---

<sup>22</sup> Bizzozero G. Ueber die schlauchformigen drusen des megendarmkarnals und die baziehungen ihres epithels zudem oberfachenepithel der schleimhaur. Arch F Mikr Anat 1893;42:82-152.

<sup>23</sup> Kreintz W. Ueber das auftreten von spirochaeten verschiendner form im mageninhalte bei carcinoma ventriculi. Dtsch Med Wochenschr 1906;32:872.

<sup>24</sup> Doenges JL. Spirochetes in the gastric glands of macacus Rhesus and humans without definite history of related disease. Proc Soc Exp Med Biol 1938;38:536-538.

sólo dos o tres espirales y que pueden encontrarse algunas veces dentro de las células parietales gástricas. Dos años más tarde, en 1940, Freedberg y Barron detectan la presencia de bacterias curvadas en el 40% de las muestras obtenidas de gastrectomías subtotales. Estos autores citan en su trabajo la asociación de estos microorganismos con las úlceras gástricas.<sup>25</sup>

La correlación entre patología gástrica y presencia de bacterias curvadas se comienza a considerar, sin embargo, no avanza de manera importante. En el año 1954, Palmer publica un estudio de 1000 biopsias de estómago, donde no encuentra bacterias espirales.<sup>26</sup>

Las posibles razones que se han citado para explicar este hecho, coinciden en advertir que las muestras de biopsia gástrica estudiadas fueron obtenidas de la curvatura mayor del estómago y no del antro pilórico.

En 1975 Steer y Colin-Jones refieren la presencia de microorganismos gram negativos con forma espiral en las biopsias de enfermos con úlcera gástrica, bacterias que se encuentran bajo la capa de moco gástrico y en la propia mucosa gástrica.<sup>27</sup> Pero cronológicamente el año que va a marcar una pauta distinta es 1980, año en que se comienza la búsqueda de bacterias curvadas en las biopsias gástricas de enfermos australianos con patología gastroduodenal.

---

<sup>25</sup> Freedberg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis* 1940;7:443-538.

<sup>26</sup> Palmer ED. Investigation of the gastric spirochaetes of human. *Gastroenterol* 1954;27:218-220-

<sup>27</sup> Steer HW, Colin-Jones GG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975;16:590-597.

El cultivo de estas bacterias curvadas supone el comienzo de una etapa científica de enorme interés, ya que por unas u otras razones la incubación próxima a los siete días origina que estos microorganismos se puedan cultivar.

El género microbiano en el que se incluyen estas bacterias en 1983 es el de *Campylobacter* y la especie propuesta es la de *pyloridis*. Así pues, a uno de los primeros trabajos científicos de Marshall y Warren, que se publica en la revista "The Lancet" y que titulan "Bacilos curvados no identificados en el estómago de enfermos con gastritis y úlcera péptica"<sup>28</sup>, le siguen una importante cantidad de trabajos que describen el descubrimiento de *Campylobacter pyloridis* en las mucosas gástricas de enfermos con gastritis y con úlcera péptica.

La necesidad del empleo correcto del género y la especie de los microorganismos, para saber sin lugar a dudas de qué estamos hablando cuando nos referimos a un determinado proceso infeccioso, es obligada.

En 1985, Marshall lleva a cabo personalmente la ingestión de estos microorganismos, que llama pyloric *Campylobacter*, en un intento de demostrar los postulados de Koch. Se produce un cuadro de gastritis con toda la sintomatología acompañante, así como en los datos anatomopatológicos, microbiológicos y terapéuticos que eran necesarios para demostrar el efecto patogénico de estas

---

<sup>28</sup> Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984;1:1311-1315

bacterias<sup>29</sup>. En 1987, Morris también establece que la ingestión de un inóculo denso de estas bacterias conduce a un cuadro de infección gástrica.<sup>30</sup>

La aportación inicial de los australianos Warren y Marshall al conocimiento de estos microorganismos curvados, y su implicación en la patología gastroduodenal, la describen otros dos australianos, Lee y Hazell, de la siguiente manera: “En 1980, Warren, un anatomopatólogo del oeste de Australia, había detectado la presencia de un gran número de bacterias espirales en el epitelio gástrico de enfermos con gastritis crónica activa. Llegó entonces al convencimiento de que estos microorganismos estaban asociados con la inflamación del estómago humano, pero no pudo interesar a otros colegas en este hallazgo hasta que logró hacerlo con el Dr. Barry Marshall, al cual le propuso intentar el cultivo de estas bacterias a partir de las biopsias gástricas. Los intentos de cultivo fueron infructuosos hasta unas vacaciones de Semana Santa, cuando se dejaron cultivando unas placas durante un período de incubación inusual, concretamente de seis días. Fue entonces que, con la publicación del cultivo de este microorganismo y la descripción del Dr. Warren sobre la asociación de esta bacteria con la gastritis, se produce un resurgir en el interés del papel de estas bacterias en la enfermedad del estómago”.<sup>31</sup>

---

<sup>29</sup> Marshall BJ, Amstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985;142:436-469.

<sup>30</sup> Morris a, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987;87:192-198

<sup>31</sup> Lee A, Hazell SL. *Campylobacter pylori* in health and disease: an ecological perspective. *Microb Ecol Hlth and Dis* 1988;1:1-16

Estos descubrimientos se difunden por todo el mundo y a partir de 1983 comienza la búsqueda de *Campylobacter pyloridis* en las muestras de biopsias gástricas de enfermos. Como fruto de esta búsqueda aparecen las primeras publicaciones y las comunicaciones a los congresos nacionales e internacionales.

Dentro de las especies del género *Helicobacter* que actualmente se reconocen, la especie *pylori* es la que presenta mayor interés, pero es necesario hacer referencia a todo un conjunto de especies que se encuentran tanto en el hombre como en otros animales.

## 2.2. EPIDEMIOLOGÍA

Los estudios epidemiológicos han mostrado que la infección por *H. pylori* ocurre en la población mundial<sup>32</sup>

Se calcula que el *Helicobacter pylori* infecta entre el 50 y el 75% de la población mundial, siendo la infección más prevalente en el mundo<sup>33</sup>. De cada 10 personas infectadas por la bacteria, sólo una sufre una enfermedad y nueve nunca la desarrollan, siendo en estas últimas un regulador de la homeostasis gástrica.

Además de la edad, el factor de riesgo más importante es el de las carencias socio económicas. 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. El residir en comunidades cerradas tales como hogares para pacientes con retardo mental, hospitales de estancia prolongada para enfermos crónicos y orfanatos es otro factor de incidencia; en estas circunstancias, el contacto entre individuos es más cercano que el normal y las normas de higiene pueden ser menores.

La infección por el *Helicobacter pylori* se asocia etiológicamente, sin duda, con el desarrollo de úlcera péptica, ya sea gástrica o duodenal, y con el desarrollo de un tipo especial de linfoma gástrico (linfoma MALT). Tiene además un papel

---

<sup>32</sup> **Cave DR.** 1997. Epidemiology and Transmission of *Helicobacter pylori* Infection. How Is *Helicobacter pylori* Transmitted?. *Gastroenterology*. **113**: S9-S14.

<sup>33</sup> Parsonnet J. Factors associated with disappearance of *Helicobacter pylori* in the West. In: *Helicobacter pylori*. Basic Mechanisms to Clinical Cure. 2000; 45-52

protagónico en el desarrollo del cáncer gástrico; de hecho se estima que en la cadena multicausal del cáncer gástrico contribuye como agente etiológico aproximadamente en un 50%<sup>34</sup>. 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<sup>35</sup>.

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.<sup>36</sup> 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 %.

### **2.3. MICROBIOLOGÍA DEL GÉNERO HELICOBACTER**

El descubrimiento de *Helicobacter pylori* por Warren y Marshall en 1982 ha representado un hito en la historia de la microbiología. Aparecía un microorganismo que no sólo era nuevo para la ciencia, sino que ha llevado a un nuevo concepto en patología gastroduodenal causando importantes repercusiones. Para el

---

<sup>34</sup> Palli D: Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. J Gastroenterology 2000; 35:84-89

<sup>35</sup> Asghar RJ, Parsonnet J: *Helicobacter pylori* and risk for gastric adenocarcinoma. Sem Gastroenterology 2001;12:203-208

<sup>36</sup> Pounder RE, Ng D. the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the different countries. Aliment Pharmacol Ther 1995

microbiólogo supuso originalmente un problema de clasificación. ¿Dónde clasificar este microorganismo? El lugar más adecuado fue incluirlo en el género *Campylobacter*, aunque se constató que ciertas propiedades eran atípicas. Como la mayoría de los *Campylobacter* presentaba una forma curvada, se movía mediante flagelos polares, era microaerófilico estricto, no sacarolítico, y la composición de las bases de su ácido desoxirribonucleico (DNA) de 36 moles/100 de guanina más citosina (G+C) era del mismo bajo nivel (29-38 moles/100) que los *Campylobacter*.

Por otro lado, los flagelos polares eran múltiples en vez de únicos, envainados.

Se pensó que este organismo sería probablemente la especie tipo de un nuevo género, pero entonces existían muy pocos hechos en los cuales basar este cambio de género. Así pues se incluyó en el género *Campylobacter* y debido a su localización más importante de infección en el antro del estómago, se propuso el epíteto de *pyloridis*, del griego *pyloros*, «el portero, el que mira en ambas direcciones», en este caso hacia el estómago y el duodeno.

Más tarde se puntualizó que el nombre gramaticalmente correcto en latín era *pylori*, y por eso se le llamó *Campylobacter pylori*. En 1989 se encuentra en el estómago de los hurones un organismo similar, *C. mustelae*, y se recopilan suficientes datos para definir el nuevo género: *Helicobacter* (del griego, «bacteria

espiral)<sup>37</sup>. Así este organismo llega a ser *Helicobacter pylori*, que es el nombre actualmente validado.

Desde entonces se han descrito varios *Helicobacter* nuevos y organismos similares a *Helicobacter* en estómagos e intestinos de animales.

### **2.3.1. TAXONOMÍA**

Siempre ha sido difícil encuadrar a los *Campylobacter* y bacterias relacionadas debido a sus requerimientos exigentes de crecimiento y a la relativa inactividad en las pruebas bioquímicas convencionales. Los problemas se acrecentaron por su deficiente supervivencia *in vitro*, lo que quiere decir que las cepas clásicamente descritas murieron y se perdieron para estudios posteriores. Durante un tiempo hubo mucha confusión, pero recientes avances en tecnología molecular y del DNA han aportado orden y clarificación de una manera que no se podría haber imaginado hace unos cuantos años.

Los métodos genómicos analíticos modernos, especialmente el análisis de secuencias de 16S ribosomales de ácido ribonucleico (rRNA), demuestran que *Campylobacter* y *Helicobacter* son los miembros principales de un grupo distinto de bacterias (rRNA Superfamilia VI) que está relacionado lejanamente con otras

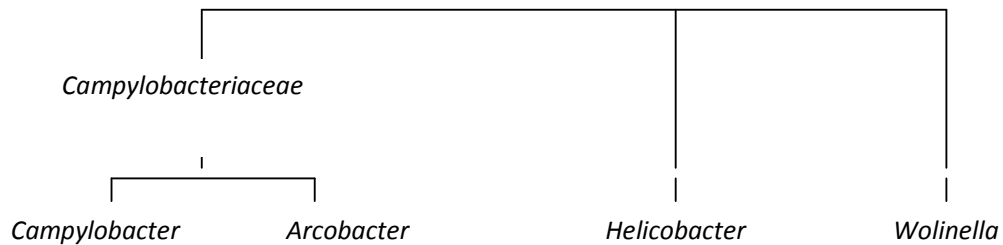
---

<sup>37</sup> Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, McConnell W, Harper WES. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter mustelae* comb. nov., and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int J Syst Bact* 1989; 39:397-405

eubacterias<sup>38</sup>. Otros miembros del grupo son *Arcobacter*, excluido recientemente del género *Campylobacter*, y *Wolinella*, que consta sólo de una especie, *W. succinogenes*, un habitante del rumen bovino.

El género *Helicobacter* contiene actualmente 10 especies oficialmente nominadas y existen otras esperando la descripción y la validación adecuadas.

**Figura 2.1 Composición de la Superfamilia VI de rRNA**  
**Superfamilia VI de rRNA**



Autor: Vandamme y cols.

## 2.4. *Helicobacter* gástricos

### 2.4.1. *Helicobacter pylori*

Es la especie tipo de este género y es con mucho el más importante en patología humana. En el estómago, se ven las bacterias como bacilos gram negativos cortos espirales o en forma de S de 30nm de ancho y aproximadamente 2,5 u de largo.

<sup>38</sup> Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, De Ley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generis descriptions and proposal of *arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bact* 1991; 41:88-103

Las bacterias cultivadas in vitro son menos espirales y aparecen más como bacilos curvados. Presentan normalmente de cuatro a seis flagelos polares envainados, cada uno insertado en el cuerpo de la célula bacteriana mediante un amplio disco de 90 nm<sup>5</sup>. La vaina se continúa con el componente de la membrana más externa de la pared celular y algunas se prolongan hasta el extremo del flagelo en forma de protuberancia.

Probablemente la función de la vaina es la de proteger al filamento flagelar de la despolimerización del ácido gástrico. La pared celular está formada por muchos elementos similares a anillos de 12 nm. En los cultivos expuestos al aire, las bacterias se hacen rápidamente cocoides y eventualmente degeneran. La capacidad para transformarse en formas cocoides se observa en la mayoría de los miembros de la rRNA Superfamilia VI.

**Tabla 2.1. Bacterias del género Helicobacter y sus asociaciones**  
**MICROBIOLOGÍA DEL GÉNERO HELICOBACTER**

Especies	Huésped habitual	Asociación
<i>Gástricas:</i> <i>H. pylori</i> (especie tipo)	Hombre	Gastritis crónica activa; fuerte asociación con úlcera péptica y cáncer gástrico
<i>H. mustelae</i>	Hurones	No patología/algunas veces gastritis y ulceración
<i>H. nemestrinae</i>	Macaco	No patología
<i>H. acinonyx</i>	Leopardo	Gastritis
<i>H. felis</i>	¿Gato, perro, hombre?	No patología/a veces gastritis
<i>H. heilmannii</i>	¿Hombre gato y perro <sup>b</sup> ?	Gastritis crónica activa (no común en hombre) ¿Gastritis en gatos y perros?
<i>Gastrospirillum</i>	Cerdo	¿Gastritis?
<i>Intestinales:</i> <i>H. cinaedi</i>	Hámster	No patología en hámster; proctocolitis en hombres homosexuales
<i>H. fennelliae</i>	?	Proctocolitis en hombres homosexuales
<i>H. canis</i>	Perro	¿Enteritis?
<i>H. muridarum</i>	Roedores	No patología en intestino, pero puede colonizar en estómago y causar gastritis en roedores viejos
<i>H. hepáticas</i>	Ratones	Hepatitis; coloniza en ciego y colon
<i>Flexispira rappini</i>	Ovejas, ratones	Abortos ovinos; ha sido aislado de pacientes con diarrea crónica

Parece ser que el hombre es el único reservorio natural de *H. pylori*. Se han aislado bacterias indistinguibles de *H. pylori* de monos macacos cautivos (*Macaca rhesus*, *M. nemestrina*) con gastritis similar a la de los humanos, pero no se sabe si representa infección natural o infección adquirida a partir de los cuidadores de

estos animales. Además de estos primates no humanos, los cerdos y algunos perros son los únicos otros animales que han sido infectados con éxito con *H. pylori*.

## **2.5. ASPECTOS PATOGENICOS DEL H. PYLORI**

*Helicobacter pylori* es un bacilo que se encuentra asociado con la mucosa gástrica. Este microorganismo se ha observado de manera excepcional en la mucosa antral histológicamente normal, pero se encuentra siempre en la mucosa de pacientes con gastritis crónica activa. También se encuentra en el duodeno durante la inflamación duodenal.

Es evidente que *H. pylori* causa gastritis y no es simplemente un oportunista que ocupa un nicho ecológico que le es favorable. *H. pylori* está altamente adaptado al ambiente gástrico donde induce inflamación, aunque un importante porcentaje de personas colonizadas permanecen asintomáticas, y otros pacientes desarrollan sintomatología y procesos ulcerogénicos, dependiendo probablemente de factores del microorganismo, pero también de las características del huésped.

Existen diferentes argumentos que adscriben a *H. pylori* un papel patogénico, como son sus características de adherencia, toxicidad, actividad ureásica y factores inmunológicos. Además de estas características hay dos informes de auto

inoculación que muestran de manera convincente que *H. pylori* puede causar gastritis en una mucosa previamente normal<sup>39</sup>.

No están claramente establecidos los mecanismos por los que *H. pylori* coloniza e infecta la mucosa gástrica, llevando al desarrollo de la gastritis, de la úlcera gástrica, la úlcera duodenal o el hecho de estar implicado como factor de riesgo importante en la aparición del cáncer gástrico.

*Helicobacter pylori* es de los pocos microorganismos adaptados a vivir en el medio ácido. Esta adaptación puede estar producida, en primer lugar, por su motilidad en medios viscosos y con poco contenido de oxígeno y en segundo lugar, por la producción de grandes cantidades de ureasa que le proporciona un microambiente alcalino.

En los últimos años se ha intensificado la búsqueda de los factores que producen la ulceración y se han propuesto diferentes determinantes de virulencia in vitro.

Sin embargo, la metodología empleada no ha sido siempre correctamente aplicada y, además, no se sabe claramente como se correlacionan los parámetros detectados in vitro con el proceso de la enfermedad.

---

<sup>39</sup> Marshall BJ et al. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. Med J Aust 1985

### 2.5.1. Factores de virulencia

La capacidad de *H. pylori* para sobrevivir en un ambiente tan hostil como el gástrico, puede ser atribuida al desarrollo de características especializadas que le permiten un alto nivel de adaptación<sup>40</sup>.

Para que un microorganismo pueda manifestar su acción patógena debe ser capaz de: 1) llegar a la superficie del huésped y colonizar el epitelio, mediante mecanismos de adherencia; 2) atravesar la barrera cutáneo-mucosa para alcanzar los tejidos subepiteliales y por lo tanto tener capacidad de penetración, multiplicación e invasión, y 3) producir alteraciones y lesiones en las células y en los tejidos del huésped, que serán los responsables del cuadro patológico propiamente dicho.

Los factores identificados y claramente implicados en virulencia son a) los flagelos, probablemente necesarios para moverse a través de la capa de mucus; b) la ureasa, necesaria a la hora de neutralizar el ambiente ácido del estómago para permitir la colonización inicial, y c) una citotoxina que produce vacuolización en células epiteliales y que es más frecuente en aislamientos de pacientes con úlcera péptica que entre pacientes con gastritis antral.

---

<sup>40</sup> Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986

Además de éstos existen otro número de factores detectados in vitro, que pueden estar implicados en el desarrollo de la enfermedad y que se dividen en tres categorías, aunque un mismo factor podría estar incluido en más de una categoría.

- A) FACTORES INVASIVOS. Representados por la morfología helicoidal y por los flagelos que le permiten ser móvil y penetrar a través del mucus.
- B) FACTORES DE ADHERENCIA. Son de vital importancia en la colonización inicial de la mucosa gástrica del huésped por *H. pylori* y por lo tanto para la patogénesis posterior.
- C) FACTORES TÓXICOS. *H. pylori* posee diferentes enzimas o proteínas que actúan como factores tóxicos para la mucosa gástrica.

### **2.5.2. Factores invasivos**

Las bacterias necesitan penetrar en el organismo y atravesar el epitelio cutáneo-mucoso. Entre los mecanismos que intervienen en la capacidad de penetración e invasión se encuentran:

- 1) Morfología espiral y motilidad.
- 2) Enzimas que facilitan la penetración e invasión.
- 3) Componentes bacterianos que inhiben la fagocitosis y las defensas del huésped.

### 2.5.3. Morfología espiral y motilidad

La movilidad está considerada como el mayor factor de virulencia de *H. pylori* y es una de las dos características detectadas in vitro que se correlaciona bien con experimentos in vivo en modelos animales (junto con la ureasa).

*Helicobacter pylori* puede presentar tres tipos morfológicos principales durante su ciclo vital: formas espirales, cuando se encuentra en la mucosa gástrica; bacilos rectos, cuando se halla en medios de cultivo, o formas cocoides, cuando se trata de cultivos viejos.

La morfología espiral o helicoidal junto con su movilidad le facilita el movimiento y el paso a través de ambientes como el mucus<sup>41</sup>.

*Helicobacter pylori* posee entre cuatro y seis flagelos polares, de 2,5 nm de largo y 30 nm de diámetro, con un bulbo terminal membranoso. Son filamentos compuestos de flagelina, con un gancho, una placa basal de anclaje a la célula y una envuelta o vaina «esto no es común a la mayoría de las bacterias). La envuelta flagelar se continúa con la membrana de la pared celular externa, y probablemente sirve para proteger a los filamentos de flagelina contra los factores ambientales adversos, como el ácido gástrico que podría romperlos<sup>42</sup>.

---

<sup>41</sup> Geis G, Leying H, Suerbaum S, Mai U, Opferkuch W. Ultrastructure and chemical analysis of *Campylobacter pylori* flagella. *J Clin Microbiol* 1989

<sup>42</sup> Hazell SL, Lee A. *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion, and gastric ulcers. *Lancet* 1986

Estas bacterias se mueven más eficazmente que otros microorganismos curvados en medios altamente viscosos. La movilidad es un factor de virulencia esencial ya que variantes no móviles de *H. pylori* no colonizan la superficie gástrica.

Las cepas no móviles o ligeramente móviles son menos virulentas que las cepas móviles, y los flagelos pueden promover la adherencia entre las bacterias y el epitelio del huésped y así facilitar la colonización.

Muchas bacterias flageladas pueden expresar variación en la fase flagelar. Las cepas de *H. pylori* pueden ser poblaciones heterogéneas de variantes móviles y no móviles, o poblaciones homogéneas con diferencias en las fases flagelares. Las cepas con mayor número de bacterias móviles en el inóculo bacteriano serán las que colonicen la mucosa gástrica con mayor probabilidad. Las cepas que no sean capaces de desarrollar su fase flagelar no serán capaces de colonizar el epitelio gástrico.

#### 2.5.4. Enzimas

La ureasa es la enzima más estudiada de las producidas por *H. pylori*. Se han encontrado enzimas similares en todas las especies de *Helicobacter* sp que colonizan la mucosa gástrica de diferentes animales, lo que sugiere que es un factor de colonización importante<sup>43</sup>.

La ureasa de *H. pylori* se encuentra localizada en la membrana externa y en el espacio periplásmico. Está formada por una estructura hexamérica, seis monómeros de 88,1 kDa. Cada monómero está compuesto por dos subunidades de 26,5 y 61,6 kDa; la subunidad más grande lleva incorporado un átomo de níquel. El tamaño molecular total del complejo de la ureasa es de 528,95 kDa, incluyendo los seis átomos de níquel.

Se han propuesto varios mecanismos de actuación de la ureasa en *H. pylori*:

1. Provisión de nitrógeno nutricional en forma de amonio. La energía necesaria para sintetizar un sistema enzimático de la complejidad y distribución de la ureasa de *H. pylori* está asociada normalmente con componentes celulares esenciales productores de energía. La ureasa de *H. pylori* está localizada sobre toda la superficie celular permitiendo la generación de un gradiente electroquímico por la producción de  $\text{NH}_4^+$  a través de la membrana citoplasmática, que podría ser utilizado como una fuente de energía. Este mecanismo se ha propuesto para la ureasa de *Ureaplasma urealyticum*. Sin embargo, la posibilidad de obtener cultivos de algunas cepas ureasa negativas

---

<sup>43</sup> Turbett GR, Hoj PB, Horne R, Mee BJ. Purification and characterization of the urease enzymes of *H. pylori* from humans and animals. *Infect Immun* 1992

in vitro, y que los inhibidores de ureasa no produzcan efectos letales en este microorganismo<sup>44</sup>, indican que el amonio puede ser un metabolito preferido, pero no esencial fuera del huésped. Probablemente, una vez que el microorganismo se instala en el huésped la supervivencia no es absolutamente dependiente de la ureasa. Por otra parte, los requerimientos nutricionales de *H. pylori* in vitro, sugieren que el amonio no es una fuente de nitrógeno preferida o esencial.

2. Protección frente al ácido de la mucosa gástrica. La supervivencia en el ambiente ácido del estómago se produciría por la formación de un microambiente alcalino alrededor del microorganismo. Sin embargo, *H. pylori* se ha encontrado en asociación con las células epiteliales gástricas y con las capas de mucina que producen un ambiente relativamente neutro, por lo que no parecería imprescindible la formación de ese microambiente. Aunque no se dude de la capacidad de la ureasa para proteger a *H. pylori* de la acidez gástrica, el concepto de que la razón de ser de la ureasa sea únicamente ésta, no parece real. Otras especies bacterianas acidófilas o tolerantes de la acidez son capaces de sobrevivir regulando su pH citoplasmático y a través del desarrollo de estructuras de membrana resistentes a la acidez y sistemas enzimáticos.

La producción de amonio puede ser importante para proteger la bacteria del ambiente ácido del estómago cuando el organismo se ingiere por primera vez, pero

---

<sup>44</sup> Smíih GW, Tasman-Jones C, Wiggins PM, Lees SP. Pig gastric mucus: a one-way barrier for *H.* Gasiroenierology 1985

no es tan importante cuando la infección se establece en el ambiente menos ácido de la profundidad de la capa de mucus.

3. Implicación en la patogénesis de la úlcera gástrica. Para comprender mejor la lesión que produce *H. pylori* sobre la mucosa gástrica, vamos a recordar muy brevemente algunos mecanismos que ésta utiliza para defenderse de las múltiples agresiones endógenas o exógenas a las que se encuentra sometida de manera habitual.

Algunos de los mecanismos defensivos que se pueden encontrar son a) las prostaglandinas, que estimulan acciones defensivas como inhibición de la secreción acida y estimulación de otras secreciones del estómago; b) la barrera gástrica, se refiere a b habilidad del estómago de mantener un alto gradiente de concentración de iones hidrógeno, entre el lumen gástrico y el tejido de la mucosa; c) secreción de otros factores luminales; d) mantenimiento de la continuidad epitelial, y e) la capa de mucus secretada por las células superficiales, que es una barrera física y además impide el flujo hacia el tejido de los iones hidrógeno, porque crea una capa de agua y electrolitos. Cuando la barrera de la mucosa gástrica está intacta, sólo una pequeña cantidad de iones hidrógeno son capaces de pasar desde la luz del estómago (pH muy ácido) hacia los tejidos de la mucosa (pH fisiológico), ya que esos iones son dispersados por la capa de mucus. Cuando la barrera se encuentra dañada, el flujo de iones

hidrógeno aumenta de manera alarmante desde la luz del estómago hacia los tejidos, produciéndose un aumento del pH en la luz del estómago y lo que es peor, provocando salida de iones  $K^+$  y  $Na^+$  del interior del tejido hacia la luz del estómago, y el exceso de iones aumentará la lesión gástrica

La ureasa puede ser responsable: 1) del aumento del flujo de los iones hidrógeno al interior de la mucosa, rompiendo la integridad de la barrera gástrica, aumentando la sensibilidad de la mucosa a la ulceración y contribuyendo a la hipoclorhidria, y 2) de estimular la producción de gastrina y producir como resultado final el aumento de la acidez, llevando a la lesión de la mucosa gástrica.

La concentración de amonio en el mucus de individuos infectados por *H. pylori* es cuatro veces mayor que la encontrada en el de personas no infectadas. La hidrólisis de la urea por *H. pylori* produce amonio que se acumula en la capa de mucina gástrica protectora, causando una pérdida de la integridad iónica.

Estos cambios inducidos por amonio pueden explicar la hipoclorhidria que se produce en las enfermedades asociadas a *H. pylori*, así como aumentar el flujo de los iones hidrógeno hacia la mucosa, conduciendo a la lesión en las células epiteliales gástricas. Esto explicaría el desarrollo de las gastritis y de la úlcera

péptica, aunque algunos autores han visto que el contenido de amonio no es tóxico en el estómago<sup>45</sup>, y que la ureasa no es esencial para que *H. pylori* sobreviva.

El amonio derivado de la hidrólisis de la urea puede ejercer un efecto patológico agudo. La toxicidad del amonio depende de diferentes factores: a) el amonio (NH<sub>3</sub>) es tóxico por sí mismo, pero no lo es el ion amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>); b) las células varían en su células epiteliales superficiales y necrosis de los tejidos profundos; d) el amonio contribuye potencialmente a la hiperplasia celular y a la producción de tumores, y e) el amonio puede influir en el desarrollo de gastritis atrófica crónica en humanos.

La actividad ureásica no parece ser productora de inflamación. Sin embargo, el amonio derivado de la ureasa en conjunción con la inflamación puede contribuir a la lesión de la mucosa a través de la producción de monocloraminas. El ácido hipocloroso generado por la mieloperoxidasa de los leucocitos polimorfonucleares puede reaccionar con componentes nitrogenados incluyendo el amonio y generar directa o indirectamente monocloraminas. La monocloramina es bactericida, citotóxica, citolítica y puede contribuir a la lisis celular y ulceración.

Se ha visto que *H. pylori* es citotóxico para las células epiteliales gástricas humanas en cultivo celular y esta toxicidad se encuentra aumentada por el amonio liberado tras la hidrólisis de la urea.

---

<sup>45</sup> Klucinski W, Targowski SP. Ammonia toxicity for mammalian and avian lymphocytes from blood. Immunopharmacol 1984

Resumiendo estos datos, podemos ver que son varios los mecanismos por los que la ureasa puede contribuir a la patología gastroduodenal. No obstante, es importante tener en cuenta que si todas las personas infectadas con *H. pylori* tienen ureasa, deben existir otros factores diferentes para que unos individuos desarrollen úlcera y otros no.

Hacen falta más estudios para saber cuál es el papel primario de la ureasa en relación con la bacteria en sí misma.

Los genes productores de ureasa de *H. pylori* están siendo estudiados ampliamente con el fin de conocer mejor cómo se expresan y regulan, tanto en *H. pylori* como en otros organismos como *Campylobacter* sp o *E. coli*.

#### **2.5.5. Proteasas y lipasas**

El mucus gástrico humano contiene 63,7% de proteínas, 14,8% de carbohidratos, 18,2% de lípidos y 0,2% de ácidos grasos unidos covalentemente. *H. pylori* afecta a la integridad de la mucosa gástrica por la elaboración de proteasas extracelulares y lipasas, capaces de degradar las proteínas del mucus y los lípidos. La actuación de estas enzimas, junto con la proliferación bacteriana, lleva a un desequilibrio en el mucus.

El efecto de la proteasa extracelular de *H. pylori* se ha demostrado en modelos experimentales. Incubando filtrados de *H. pylori* con mucus gástrico se observa una pérdida de viscosidad del 35% en 48 horas. Las proteasas parecen ser enzimas de

bajo peso molecular (50 kDa) con una actividad óptima a pH 7 y 37°C. También se ha demostrado actividad lipolítica y presencia de fosfolipasa A en filtrados de *H. pylori*, y se ha sugerido que rompen la integridad de los lípidos de la mucosa gástrica. Se ha demostrado la presencia de fosfolipasa A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, y C. La fosfolipasa C es predominantemente intracelular mientras que las otras dos son extracelulares. Estas enzimas pueden actuar en la membrana celular del epitelio gástrico y en la barrera hidrofóbica de los lípidos en la superficie del mucus. Además de estos efectos la acción de proteasas, lipasas y fosfolipasas tiene presumiblemente un papel nutricional proveyendo aminoácidos, ácidos grasos y fosfatos a la bacteria. Las fosfolipasas también pueden estimular la inflamación a través de la cascada del ácido araquidónico que influirá en el desarrollo de la úlcera<sup>46</sup>.

#### **2.5.6. Catalasa y superóxido dismutasa**

Son dos enzimas que actúan protegiendo a la bacteria de los efectos letales de los metabolitos tóxicos del oxígeno.

Se ha sugerido que la catalasa de *H. pylori* es un factor de virulencia importante en la enfermedad gastroduodenal asociada a esta bacteria. En primer lugar la actividad catalásica de *H. pylori* es relativamente alta comparada con la de otros microorganismos y, por otra parte, *H. pylori* puede mutar a ser catalasa negativo cuando se cultiva en el laboratorio. Esto último sugiere que no necesita la catalasa para romper el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generado por su metabolismo endógeno. De forma específica

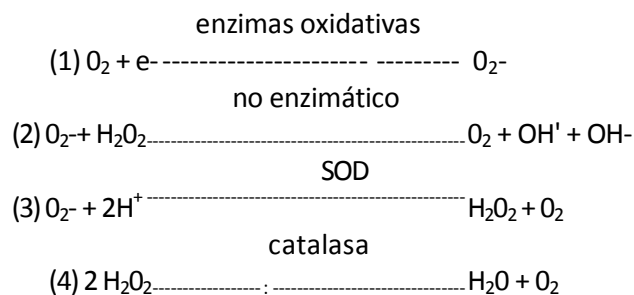
---

<sup>46</sup> Slomiany BL, Murty VLN, Piotrowsky J et al. *H. pylori* and gastric mucus integrity. En: Menge H, Gregor M, Tytgat GNJ, eds. *Helicobacter pylori*. Springer Verlag, Berlín, 1990

la catalasa puede ayudar a que la bacteria sobreviva en la mucosa gástrica inflamada, destruyendo el peróxido de hidrógeno generado por las células inflamatorias. La figura 8 muestra una imagen típica de la prueba de catalasa en tubo con un aislamiento de *H. pylori*.

Algunas de las enzimas de oxidación-reducción interaccionan con el oxígeno molecular para producir aumento de superóxido  $O_2^-$ , radicales hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (reacciones 1 y 2). Todos estos productos son extremadamente tóxicos para la bacteria.

La enzima superóxido dismutasa elimina los radicales superóxido formando peróxido de hidrógeno (reacción 3), y la catalasa lo eliminará formando agua y oxígeno (reacción 4).



Aunque parece claro el papel protector de la catalasa frente a la lesión oxidativa, pueden haber otros factores implicados. El papel de la superóxido dismutasa (SOD) no está todavía bien definido. En otros patógenos como *Nocardia asteroides* tanto la catalasa como la SOD protegen al microorganismo de la destrucción por los

polimorfonucleares, las Mycobacterias requieren la catalasa para su supervivencia en las lesiones crónicas y en *Shigella flexneri* es la SOD la que juega un papel importante en la patogénesis.

Sin embargo, la presencia o ausencia de catalasa o de SOD no es el único factor que influye en el efecto de los metabolitos del oxígeno, porque también depende de la sensibilidad de los componentes celulares a la lesión producida por el oxígeno<sup>47</sup>.

---

<sup>47</sup> Slomiany BL, Slomiany A. Role of mucus in gastric mucosal protection. *J Physiol Pharmacol* 1991

## **2.5.7. Factores que protegen a la bacteria y facilitan la invasión**

### **2.5.7.1. Localizador intracelular**

H. pylori se adhiere a un amplio rango de células de mamíferos en cultivos celulares. Cuando las bacterias se incuban en cultivos de células HEp-2 o de células de adenocarcinoma se produce una endocitosis. Esto es difícil de observar en células de muestras de biopsia humana, pero es posible que no se haya buscado suficientemente. Estas células endocitadas escaparían a la acción de los antibacterianos que no penetren intracelularmente. El significado de este efecto está todavía sin determinar.

### **2.5.7.2. Inhibidores de la secreción ácida**

Células de H. pylori son capaces de inhibir la estimulación de la secreción ácida de células parietales de conejos, que puede estar producida por la presencia de una proteína inhibitoria.

### **2.5.7.3. Sensibilidad a bilis**

Helicobacter pylori no es capaz de crecer en medio de agar sangre con 5% de bilis, se desarrolla poco en bilis entre 0,5 y 1%, y crece completamente bien en bilis al 0,1%<sup>60</sup>.

No obstante, la exposición de H. pylori a 5% de bilis en medio líquido durante 30 minutos mata únicamente al 25% de las cepas. Aunque la concentración de bilis del duodeno llegara a ser tóxica para H. pylori, el microorganismo puede encontrarse

sumergido en el mucus gástrico y la bilis se libera de forma intermitente, por lo que *H. pylori* puede sobrevivir al paso por el duodeno.

#### **2.5.7.4. Factores de adherencia**

*Helicobacter pylori* es sensible a la acidez del estómago, se protege probablemente con la capa de mucus, pero cuando esta capa es degradada necesita utilizar caminos alternativos que le permitan seguir viviendo. Lo que hace es penetrar en las uniones intercelulares donde se adhiere de forma específica para evitar el ser arrastrado fuera del estómago, al degradarse la capa de mucus<sup>48</sup>.

La adherencia requiere el contacto de la bacteria con la célula del huésped, las dos superficies son electronegativas y se crea una fuerza de repulsión, con la formación de una barrera electrostática que dificulta la aproximación. La presencia de moléculas hidrofóbicas y de adhesinas en la superficie de la bacteria permite neutralizar la barrera y facilitar el contacto.

Las adhesinas pueden presentar configuración complementaria de los receptores celulares, creando enlaces independientes y aumentando la fuerza de la unión. Generalmente están asociadas con estructuras superficiales, con polímeros extracelulares (glicocálix) o con diversos componentes de la membrana externa (proteínas, lipopolisacáridos).

---

<sup>48</sup> Hazell SL, Markesieh DC, Evans DJ, Evans DG, Graham DY. Influence of media supplements on growth and survival of *Campylobacter pylori*. Eur J Clin Microb Infect Dis 1989

*Helicobacter pylori* coloniza específicamente la superficie del epitelio de la mucosa gástrica. La colonización se realiza preferentemente en el antro, se asocia a las células parietales, especialmente en las uniones intracelulares, y sólo se encuentra en otras partes del tracto gastrointestinal donde hay metaplasia gástrica. En las células epiteliales gástricas aparecen engrosamientos en el punto en el que la bacteria se une a la célula, seguido de una unión específica con los factores de adherencia de *H. pylori*, que ayudará a dirigir la colonización.

#### **2.5.7.5. Hidrofobicidad**

*Helicobacter pylori* expresa una superficie hidrofílica con varios dominios hidrofóbicos, que puede favorecer la adherencia a las células epiteliales a través de interacciones hidrofóbicas no específicas. La hidrofobicidad se ha observado en el 90% de las cepas de *Helicobacter pylori*, con mayor hidrofobicidad a bajos pH y en presencia de urea. La capa de proteínas confiere carga negativa a la superficie bacteriana, en las condiciones ácidas del estómago esta capa estaría parcialmente eliminada, exponiendo las regiones hidrofóbicas a la superficie y aumentando la adherencia y la penetración en el mucus.

*Helicobacter pylori* tiene sustancias de superficie que interaccionan con lípidos por uniones hidrofóbicas o por uniones específicas. Se ha descrito que el fenómeno de floculación entre el reactivo VDRL (Venereal Disease Research Laboratory, una solución estandarizada con colesterol, lecitina y cardiolipina) y *H. pylori*, es

específico de este microorganismo y no se ha observado con otros patógenos humanos. El sustrato más probable para *H. pylori* es el colesterol, que es el lípido mayoritario de las membranas de las células eucarióticas. La reacción positiva del VDRL en *H. pylori* puede indicar una adherencia específica del organismo.

#### **2.5.7.6. Glicocálix**

Son polímeros extracelulares en su mayoría insolubles, que se observan por microscopía electrónica como un entramado de fibrillas y que intervienen en la facilidad para adherirse a las superficies celulares.

El glicocálix tiene más de 40 nm de ancho y es más grande cuando la bacteria se encuentra en la mucosa gástrica que cuando es cultivada in vitro. La región externa se elimina después de vigorosos lavados, mostrando filas de puntos radicales con una periodicidad de aproximadamente 14 nm. Estos estudios sugieren que existe una capa estructural análoga a la composición de glicoproteínas de otras especies gramnegativas. En muestras gástricas, la superficie de glicocálix del organismo y las microvellosidades epiteliales se unen con frecuencia como puentes o puntos de confluencia. La adhesión a los tejidos puede tener algún efecto en la inducción de la inflamación, pero es posible que sea muy importante en la inducción de ulcerogénesis.

Además de su implicación en la adhesión, a esta capa se le han propuesto otras funciones: servir de poro para filtrar las macromoléculas de acuerdo con el tamaño o con la forma que posean; de esta manera pueden prevenir el ataque de enzimas nocivas o interacciones entre componentes del complemento del suero y de la membrana plasmática, y también puede prevenir la entrada de antibióticos. En algunos casos se ha visto que la capa de glicocálix puede ayudar a mantener la

integridad estructural, incluso bajo condiciones ambientales extremas incluyendo pH ácidos.

#### **2.5.7.7. Hemaglutininas**

Existen hemaglutininas en *H. pylori* que tienen actividad sobre diferentes clases de eritrocitos. Se ha caracterizado una hemaglutinina fibrilar en la superficie celular que se une específicamente a la N-acetil neuraminil-lactosa y se ha propuesto como el primer mecanismo por el que *H. pylori* inicia la colonización de la mucosa gástrica. Se han descubierto hemaglutininas solubles (se encuentran en el sobrenadante de una suspensión celular), algunas cepas las presentan durante un corto espacio de tiempo después del aislamiento, y después de subcultivar la cepa en el laboratorio pierden esta capacidad, y sin embargo otras cepas no lo pierden incluso después de subcultivos durante años. Otros autores indican que existen multitud de hemaglutininas. Se han descrito otros factores que actúan en la adhesión como, 1) un glicolípido (fostatidiletanolamina), que es un receptor presente en el antro del estómago y que se une de manera específica a *H. pylori*, y se ha propuesto como un receptor epitelial gástrico para *H. pylori*<sup>18</sup>; 2) la laminina (componente de la membrana basal) que une a *H. pylori*, y 3) la presencia de pilis en *H. pylori*, altamente conservados y que se ha sugerido que actúan como adhesinas<sup>49</sup>.

---

<sup>49</sup> Sleytr UB. Regular assays of macro molecules on bacterial cell walls: Structure, chemistry, assembly and function. *Internat Rev Cytology* 1987;53:1-64. receptor for *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1989

#### **2.5.7.8. Factores tóxicos**

*Helicobacter pylori* es capaz de elaborar diferentes sustancias que actúan sobre la mucosa gástrica, dañándola y produciendo la patogénesis de la enfermedad.

#### **2.5.7.9. Citotoxina**

La demostración de la presencia de citotoxina en aislamientos de *H. pylori* in vitro es un fenómeno clásico del laboratorio de microbiología.

Los productos filtrados obtenidos a partir de cepas de *H. pylori* cultivados en caldo producen efectos citopáticos no letales y vacuolizantes en una variedad de líneas celulares de mamíferos. Este efecto vacuolizante se ha correlacionado con la presencia de una proteína de 87 kDa.

Se ha observado en aproximadamente la mitad de los aislamientos de diferentes regiones geográficas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las cepas de pacientes con úlcera péptica y las de pacientes con gastritis crónica, pero no está totalmente definido que la presencia de citotoxina sea esencial para que se produzca la úlcera péptica, porque en cepas de algunos pacientes con úlcera no se ha detectado la citotoxina.

La metodología utilizada para determinar la citotoxina in vitro se puso en duda cuando se observó que, en presencia de bajas concentraciones de urea intracelular, se producía vacuolización con todas las cepas de *H. pylori*. Después de diversos

estudios, Cover y colaboradores concluyen que la vacuolización producida por los sobrenadantes de cultivos de *H. pylori*, aunque se potencie por la presencia de ureasa (por la producción de amonio), no está producida únicamente por este factor.

El efecto de la toxina en la patogénesis se ve apoyado porque se produce efecto citopático vacuolizante. No existen modelos animales en los que se pueda estudiar la ulcerogénesis, por lo que es más difícil la interpretación de la citotoxina *in vitro*.

Algunos estudios serológicos no han revelado una asociación convincente entre anticuerpos frente a citotoxina entre pacientes con úlcera y personas infectadas no ulcerosas. Por otra parte se ha visto que biopsias gástricas de pacientes con úlcera producen anticuerpos IgA frente a la proteína específica. Estos anticuerpos neutralizan el efecto de la citotoxina *in vitro*.

La toxina vacuolizante producida por cepas de *Helicobacter pylori* ha sido purificada y caracterizada. Es interesante que la molécula de citotoxina tiene secuencia homóloga con varias proteínas transportadoras de iones y de ATPasas H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> gástricas humanas.

Además de la proteína de 87 kDa que produce vacuolas en cultivos celulares, se ha caracterizado otra proteína de 120,128 o 130 kDa que se ha encontrado en el sobrenadante de cultivos de *H. pylori* productor de citotoxina, sugiriéndose un papel importante en la patogénesis. Esta proteína también es inmunogénica en

pacientes infectados. La molécula de 128 kDa producida por el gen *cagA* (cytotoxic associated gen) no es citotóxica por sí misma pero está altamente asociada, probablemente porque el producto del gen *cagA* es necesario para la transcripción, la maduración, el transporte o la funcionalidad de la citotoxina. Aunque en general, los genes productores de citotoxina y los *cagA* no se encuentran en las cepas no citotóxicas, una minoría de cepas que poseen el gen *cagA* no producen niveles detectables de citotoxina. Este fenómeno puede reflejar la sensibilidad subóptima en el ensayo de cultivo celular para detectar la citotoxina o indicar que existen más factores además del antígeno de 120 a 128 kDa asociado con actividad citotóxica.

Se han utilizado técnicas de PCR para detectar el gen *cagA*, a partir de heces de pacientes colonizados por *H. pylori*. Estos conocimientos nos permitirán desarrollar métodos de diagnóstico más rápidos, simples y que nos darán información sobre el estado toxigénico del organismo infectante.

La producción de citotoxina *in vitro* se correlaciona con la producción *in vivo*, porque se ha detectado la presencia de anticuerpos frente a la proteína de 87 kDa en los pacientes y, por otra parte, la infección con aislamientos citotóxicos puede estar asociada con un aumento del infiltrado de los leucocitos polimorfonucleares en la mucosa antral.

Puesto que las sales de amonio potencian la actividad citotóxica de *H. pylori*, Cover y colaboradores estudiaron el efecto de otras sales débiles sobre la actividad citotóxica en cultivos celulares comprobando que cloruro amónico, trimetilamina, trietanolamina y nicotina potencian la actividad vacuolizante en células HeLa. La

potenciación de la actividad citotóxica por el amonio y la nicotina pueden contribuir a la lesión de la mucosa gastroduodenal asociada con esta infección<sup>50</sup>.

#### **2.5.7.10. Hemolisinas**

Cultivos de *H. pylori* en agar sangre de oveja producen colonias con beta-hemólisis alrededor de la colonia o al menos debajo de ella. Sin embargo, este efecto no se produce cuando se utiliza sangre humana en las placas de agar. Se ha descrito una hemolisina libre en algunas cepas de *H. pylori*, que es activa en eritrocitos humanos, de caballo, de conejo, oveja y cobayas, y no está asociada con actividad urealítica.

Existen diferentes tipos de hemolisinas bacterianas: fosfolipasas asociadas a colesterol y activadas por sulfidrilos, etcétera. En el caso de la hemolisina de *H. pylori* se ha visto que no es activada por sulfidrilos, ni asociada a colesterol, porque el colesterol, el ditiotreitól y la L-cisteína no influyen en la hemólisis. Contienen fosfolipasa C relacionada con la actividad hemolítica frente a eritrocitos de cobayas, aunque en otros estudios no se ha visto relación con eritrocitos de conejo. También se ha detectado fosfolipasa A, especialmente fosfolipasa A2 y parece que contribuye a la actividad hemolítica asociada a células de *H. pylori*. Las fosfolipasas bacterianas tienen diferentes especificidades de sustrato, la fosfolipasa A2 de *H. pylori* tiene probablemente una especificidad alta por cardiolipina.

---

<sup>50</sup> Covacci A, Censini S, Bugnoli M, Petracca R, Burroni D, Macchia G, Massone A, Papini E, Xiang Z, Figura N, Rappuoli R. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. Proc Natl Acad Sci EE.UU 1993

La caracterización inicial de la actividad hemolítica asociada a células indica que la citolisina activada por sulfidrilos no está implicada y que la fosfolipasa C no es el factor predominante. Parece que los responsables son la actuación de la fosfolipasa A y otros factores no enzimáticos. No obstante, el mecanismo exacto permanece desconocido.

#### Factores estimulantes de neutrófilos

La infección por *H. pylori* es crónica pero se caracteriza por una alta respuesta inflamatoria aguda. En general, los productos de origen bacteriano conocidos que activan los neutrófilos son formil-metionil-leucil-fenilalanina (FMLP) y péptidos relacionados, endotoxinas, células completas y componentes de la pared celular. Estudiando sobrenadantes de cultivos de *Helicobacter pylori* parece que existe un oligopéptido de N-formil-met. FMLP es el péptido N-formilado quimiotáctico mejor caracterizado.

#### **2.5.7.11. Otros factores**

##### Microorganismo microaerofílico

Es otra característica adaptativa al medio en el que se desarrolla. La concentración de oxígeno en la superficie epitelial del estómago y en la capa de mucus es muy baja pero no totalmente anaeróbica. Los aislamientos de *Helicobacter pylori* no

permanecerán viables in vitro en condiciones aeróbicas ni en anaerobiosis durante largos períodos de tiempo<sup>51</sup>.

## **2.6. POSIBLES MECANISMOS DE PATOGÉNESIS**

Los pasos reales que llevan al establecimiento de *H. pylori* en el ambiente gástrico y a la producción de un proceso inflamatorio no se han definido todavía.

La producción de grandes cantidades de ureasa podría crear un microambiente alcalino que proteja al microorganismo de la acidez gástrica hasta que se introduzca debajo de la mucosa. La bacteria parece atacar la superficie de las células epiteliales posiblemente por hemaglutininas superficiales, podría ser similar al proceso producido por *E. coli* enteropatógeno. Los microorganismos se acumulan especialmente en las uniones intercelulares y las rompen<sup>52</sup>.

Únicamente el 50% de las cepas producen citotoxina y por lo tanto el significado patogénico que tiene es cuestionable, aunque parece encontrarse asociada con formas más graves de la enfermedad.

Independientemente del mecanismo exacto por el que se produce la lesión en el tejido, esto tiene como consecuencia una respuesta de leucocitos, conduce a la

---

<sup>51</sup> Mooney C, Keenen J, Munster D, Wilson I, Allardyce R, Bagshaw P, Chapman D, Chadwick V. Neutrophil activation by *Helicobacter pylori*. *Gut* 1991

<sup>52</sup> Dick JD. *Helicobacter (Campylobacter) pylori*: A New Twist to an old Disease. *Ann Rev Microbiol* 1990

aparición de la gastritis y se provoca una inflamación que puede llevar al desarrollo de la úlcera<sup>53</sup>.

Otro mecanismo propuesto para la producción de las úlceras sería que el ambiente gástrico se altere por *H. pylori* debido a la hidrólisis de la urea en las uniones intracelulares. Esto previene el paso normal de iones H<sup>+</sup> y aumenta la difusión de iones hacia la mucosa, resultando en hipoclorhidria y lesión de tejidos<sup>54</sup>.

Algunos investigadores explican el mecanismo por la presencia de la actividad proteolítica del organismo que degrada la mucina, esto puede disminuir la barrera de protección del mucus y permite al ácido dañar las células epiteliales subyacentes.

No hay suficiente soporte para asegurar que ninguna de estas hipótesis sea el mecanismo patogénico o si alguna o todas se producen realmente en los pacientes.

## **2.7. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN**

La patología resultante de la infección en *H. pylori* no es uniforme. Puede variar desde una gastritis leve sin consecuencias clínicas, hasta úlceras pépticas y neoplasias. El diagrama de la figura pretende explorar las distintas vías que puede seguir la infección, tomando como indicador el infiltrado inflamatorio y el tipo de gastritis. Se postula que dichos marcadores indican la forma del progreso de la infección.

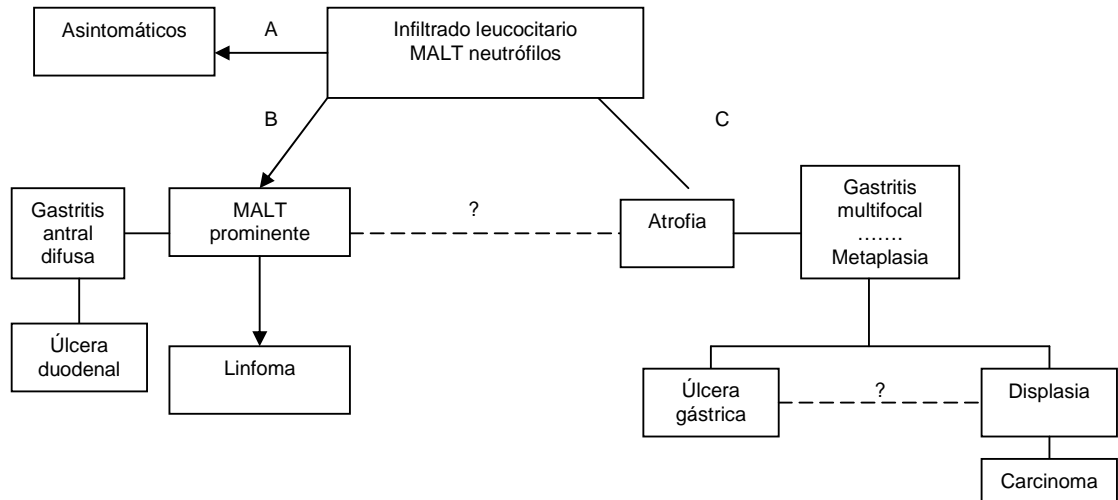
---

<sup>53</sup> Chen XG, Correa P, Ofierhaus J, Rodríguez E, Jamey F, Hoffman E, Fox J, Hunter F, Diavolitsis S. Ultrastructure of the gastric mucosa harboring *Campylobacter*-like orga- nism. *Am J Clin Pathol* 1986

<sup>54</sup> Buck GE. *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. *Clin Microbiol Rev* 1990

La vía A parece ser la más frecuente, ya que la gran mayoría de las personas infectadas no tienen síntomas o signos atribuibles a la infección. Aunque se sospecha que la mayoría de individuos asintomáticos tienen una gastritis superficial leve, es posible que esta suposición sea falsa. Un estudio reciente invitó a examen clínico a donantes de sangre supuestamente sanos y se encontró con frecuencia alta de lesiones clínicas importantes, incluyendo úlceras pépticas.

**Figura. 2.2. Vías de infección de *Helicobacter pylori*.**



La vía B tienen como característica principal el predominio del infiltrado linfocitario y su prototipo es la gastritis antral difusa. La complicación más frecuente de esta vía es la úlcera duodenal y la más rara, el linfoma MALT.

La vía C se caracteriza por un importante infiltrado de polinucleares neutrófilos, además de los constantes linfocitos. Su prototipo es la gastritis atrófica multi-focal. La complicación observada con más frecuencia es la úlcera gástrica y la más rara, el adenocarcinoma.

Los factores que determinan las distintas vías de infección son desconocidos. Entre los que se sospechan están la variedad de cepas bacterianas, los factores dietéticos y el bagaje genético que determina la susceptibilidad individual a la infección.

## 2.8. ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI

El tipo más frecuente de gastritis crónica lo constituye la *atrófica multifocal* es encontrada en todos los continentes y tipos raciales, y su presencia generalmente coincide con la distribución geográfica de las poblaciones con alto riesgo de cáncer gástrico. El análisis histológico muestra focos independientes de atrofia glandular y presencia de epitelio intestinal metaplásico, el cual puede ser de fenotipo maduro o intestino delgado, o fenotipo inmaduro o intestino grueso, además hay infiltrado inflamatorio mononuclear, el cual disminuye en intensidad al aumentar la atrofia<sup>55,56</sup>.

Los focos de pérdida epitelial, en estadios avanzados, tienden a ser confluentes lo que resulta en extensas áreas de atrofia, que eventualmente terminan por comprometer la gran mayoría de la mucosa gástrica. Desde el punto de vista terapéutico y pronóstico es importante determinar tanto la extensión del proceso, como la apropiada tipificación del tipo de metaplasia intestinal presente, para ello se recomiendan coloraciones histoquímicas especiales dado que la simple evaluación del tejido con las coloraciones histológicas rutinarias muestra amplia variabilidad con concordancia moderada<sup>57,58</sup>.

---

<sup>55</sup> Appelman H.D., *Gastritis: terminology, etiology, and clinicopathological correlation's another biased view.* Hum Pathol 1994;25:1006-1019.

<sup>56</sup> Ruge M., De Mario F., Cassaro M., et al. *Pathology of the gastric antrum and body associated with Helicobacter pylori infection in non-ulcerous patients: Is the bacterium a promoter of intestinal metaplasia?* Histopathology 1993;22:9-15.

<sup>57</sup> Meek E., Stiefken P., Jaramillo L.F. *Concordancia en la clasificación de la metaplasia intestinal en biopsias gástricas usando coloraciones histológicas convencionales vs. coloraciones especiales en el*

La gastritis crónica fue motivo de atención científica mucho antes del descubrimiento del *H. pylori*, lo que llevó a la caracterización de diferentes entidades nosológicas<sup>59</sup>. Después de dicho hallazgo se ha visto que el *H. pylori* está frecuentemente presente en varias de dichas entidades. Esto ha llevado a que en la actualidad algunos autores propongan que todas las gastritis crónicas asociadas a la bacteria constituyan una entidad única. Otros autores proponen que las distintas entidades resultan de la interrelación de varios factores etiológicos, siendo uno de ellos, de manera prominente, el *H. pylori*<sup>60</sup>.

## **2.8.1. LESIONES ESPECÍFICAS**

### **2.8.1.1. Localización**

*Helicobacter pylori* forma colonias en la capa de moco que cubre el epitelio superficial de la mucosa gástrica. Las bacterias son de localización extracelular y se observan de manera destacada en las foveolas gástricas. Con microscopio electrónico de barrido se observa que las bacterias están especialmente concentradas frente a las uniones intercelulares. Esta localización es debida a que la bacteria depende de la urea, que se filtra entre las células epiteliales para la

---

*Hospital Universitario San Ignacio*. Revista Colombiana de Gastroenterología 1999; vol. XIV, nº 4:225-229.

<sup>58</sup> Filipe M.I., Barbatis C., Sandey A. *Expression of intestinal mucin antigens in the gastric epithelium and its relationship with malignancy*. Hum Pathol 1994;25:1006-1019.

<sup>59</sup> Correa P. The epidemiology and pathogenesis of chronic gastritis: three etiologic entities. En: *Frontiers of Gastrointestinal Research*. Van der Reis L, ed. Kargers, Basel, 1980;6:98- 108

<sup>60</sup> Correa P. Gastritis crónica. En: *Enfermedades Digestivas*. Vilardell F, Rodes J, Malagelada JR et al, eds. Ediciones CEA, Madrid, 1990

formación de la nube de amonio que la protege del ácido clorhídrico. El mismo mecanismo explica la ocasional presencia de la bacteria entre las células epiteliales, a donde penetra después de romper las uniones intercelulares (tight junctions). Aunque la mayoría de las bacterias flotan en el moco, ocasionalmente se observan bacterias adheridas a la membrana citoplasmática, que ha formado pequeños promontorios o pedestales. En raras ocasiones se observa que las bacterias penetran hasta los canalículos intracelulares de las células parietales en reposo.

#### **2.8.1.2. Daño a las células epiteliales superficiales**

La infección por *H. pylori* se asocia a cambios degenerativos del citoplasma de la célula epitelial. Con microscopio de luz dichos cambios se identifican por pérdidas de la parte superficial del citoplasma celular por erosiones en las que las colonias bacterianas reemplazan grupos de células epiteliales degeneradas o necróticas. En coloraciones de ácido peryódico (PAS), la lesión se identifica por la pérdida del moco citoplasmático.

La infección disminuye el número y el calibre de las microvellosidades de las células superficiales y se asocia a la presencia de abundantes fagolisosomas intracitoplasmáticos.

Los cambios degenerativos que se producen son destacados en los cuellos glandulares. Puesto que estas células son las únicas que replican en el estómago

normal, es posible que esta limitación en la capacidad regenerativa conduzca a la pérdida glandular (atrofia).

#### **2.8.1.3. Infiltrado inflamatorio**

La respuesta leucocitaria a la infección por *H. pylori* es generalmente abundante y en ella predominan los linfocitos y los polinucleares neutrófilos en proporciones relativas que varían según el tipo de gastritis.

Los polinucleares neutrófilos emigran desde los capilares de la lámina propia hacia el epitelio superficial. Atraviesan la lámina epitelial por las células superficiales y se depositan en la luz de las foveolas y en el moco extracelular.

Los linfocitos y plasmocitos se localizan en la lámina donde pueden ser muy abundantes y acompañarse de folículos linfoides prominentes.

Macrófagos y polinucleares eosinófilos se encuentran también presentes en el infiltrado inflamatorio, generalmente de manera menos destacada que los otros leucocitos mencionados.

#### **2.8.1.4. Entidades nosológicas**

Las formas agudas de gastritis por *H. pylori* son de rara aparición en la práctica del patólogo; se han estudiado aprovechando las autoinfecciones voluntarias y las accidentales<sup>61</sup>. En ellas predomina el infiltrado polinuclear y la lesión epitelial.

---

<sup>61</sup> Morris A, Nicholson G. Ingestión of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987

Las gastritis crónicas constituyen un grupo de entidades que han creado mucha confusión. Ésta se debe principalmente a que hay una considerable variación en la frecuencia de dichas entidades en distintas poblaciones y a la tendencia de los autores a extrapolar directamente sus observaciones a otras poblaciones. Las dos entidades más frecuentemente observadas en asociación con *H. pylori* son las gastritis antral difusa y la gastritis atrófica multifocal.

La gastritis antral difusa se caracteriza por un denso infiltrado de linfocitos y plasmocitos que ocupa todo el espesor y toda la extensión de la mucosa antral. Puede asociarse con prominentes folículos linfoides. Esta característica es casi constante en niños, adolescentes y adultos jóvenes y menos frecuentes en otros grupos. El grado de infiltración por neutrófilos (erróneamente llamado «actividad») es variable, como lo son los cambios degenerativos epiteliales. Estas lesiones generalmente se extienden a la zona limítrofe entre el antro y el cuerpo gástricos. La mucosa oxíntica (cuerpo y fondo gástricos) puede ser normal o presentar un infiltrado linfoplasmocitario superficial en el estroma interfoveolar y alrededor de los cuellos glandulares.

La gastritis antral difusa es la lesión que acompaña de forma casi constante a la úlcera péptica duodenal. Es más frecuente en pacientes de clase socioeconómica media-alta y no se considera lesión precursora del carcinoma gástrico.

La gastritis atrófica multifocal se caracteriza por pérdida focal de glándulas y su reemplazo por epitelio de tipo intestinal (metaplasia intestinal). Estudios en poblaciones con alta frecuencia de la entidad han llegado a la conclusión de que los focos independientes de atrofia y metaplasia aparecen primero en la parte media de la curvatura menor (incisura angularis) y la zona limítrofe antro-corporal, luego en las porciones distales (antrales) y proximales (corporales) de la curvatura menor y finalmente en las caras anterior y posterior tanto del antro como del cuerpo. Con el correr del tiempo los focos independientes convergen y llegan a formar zonas metaplásticas extensas<sup>62</sup>.

La gastritis atrófica multifocal es más frecuente en las poblaciones con alta manifestación de úlcera y carcinoma gástricos. Se sospecha que es una lesión precursora de dichas entidades. Es más frecuente en poblaciones de bajos estratos socioeconómicos, siendo Japón la excepción a esta regla.

Se han descrito formas más raras de gastritis crónica en las que se sospecha una asociación estrecha con *H. pylori*. Tal es el caso de la llamada gastritis linfocítica, en la cual hay una marcada infiltración de linfocitos entre las células epiteliales superficiales. También se ha descrito asociada a *H. pylori* una gastritis con destacada hiperplasia foveolar que se ha denominado «gastritis hipertrófica» y que

---

<sup>62</sup> Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia of the gastric mucosa in Colombian migrants. *J Nati Cáncer Inst* 1970

es posible que corresponda a la llamada «hiperplasia foveolar focal» que puede presentarse endoscópicamente como pequeños y múltiples pólipos mucosos<sup>63</sup>.

*Helicobacter pylori* parece no tener excesiva relación con otras formas de gastritis que son frecuentes en ciertas poblaciones, tales como la gastritis por AINEs y la gastritis atrófica corporal difusa (tipo A) del síndrome de anemia perniciosa.

## **2.9. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI**

Desde el momento en que Marshall y Warren establecieron en 1983 la asociación de *Helicobacter pylori* con gastritis y úlcera péptica, se han desarrollado una gran cantidad de técnicas diagnósticas con el fin de identificar el microorganismo. El desarrollo de métodos diagnósticos fiables ha sido de gran importancia en la comprensión del papel de *H. pylori* en la fisiopatología de los trastornos gastroduodenales y en la elección de pautas de tratamiento antimicrobiano efectivo con el objetivo de erradicar la bacteria. Los métodos de diagnóstico disponibles han proporcionado una inestimable información en lo que concierne a la historia natural y a la epidemiología de la infección por *H. pylori*.

Cierto número de pruebas, que han sido utilizadas para mejorar la precisión del diagnóstico y resultan más efectivas al utilizarlas selectivamente en un problema

---

<sup>63</sup> Stolte M, Batz C, Eidt S, Bayerdorffer E. Hypertrophic gastritis in *H. pylori* infection. En: *Helicobacter pylori*, basic mechanisms to clinical cure. Hunt R, Tytgat G, eds. Kluwer Academic Publishers. Boston, 1993

clínico particular o de investigación. Por ejemplo, los métodos serológicos se recomiendan en estudios epidemiológicos (valorando la prevalencia de la infección por *H. pylori* en un estudio de población), pero son de uso limitado en la evaluación de pacientes sintomáticos a los que se realiza una endoscopia o para evaluar la eficacia del tratamiento en la erradicación del organismo. El test más específico, el cultivo, requiere más técnica y es menos sensible en algunos centros, pero sigue siendo muy apropiado en determinadas situaciones para conocer el perfil de sensibilidad antimicrobiana de organismos resistentes al tratamiento. De este modo, la utilidad de estas pruebas puede optimizarse utilizándose de forma apropiada.

Los métodos de detección de *H. pylori* pueden clasificarse en dos categorías: directos e indirectos. La demostración directa de la presencia del organismo con la colaboración histológica o a través de un cultivo microbiológico en las muestras de biopsia gástrica, se basa en la endoscopia, un procedimiento invasivo.

Las técnicas indirectas se basan en la detección de una característica de la bacteria (la capacidad de la hidrólisis de la urea) o en la respuesta del sistema inmune ante su presencia (anticuerpos específicos). Estas pruebas no requieren un examen endoscópico a base de biopsias y consecuentemente se les puede denominar no invasivas.

A causa del alto grado de especificidad, se considera a una o a ambas pruebas (cultivo y/o histología) como el método estándar de referencia con el que se

comparan los métodos indirectos. Sin embargo, la utilización de este estándar como una medida de diagnóstico preciso puede fallar en la identificación de casos reales de infección que han sido detectados con pruebas indirectas, siendo difícil de esta manera distinguir entre resultados verdaderos y falsos. Esta observación debe tenerse en cuenta a la hora de comparar distintas técnicas de diagnóstico.

<b>Tabla. 2.2. Comparación de técnicas para la detección de Helicobacter pylori</b>				
<b>Métodos</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Coste</b>	<b>Tiempo</b>
	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>Relativo*</b>	
<b>No invasivos:</b>				
( <sup>13</sup> C)-UBT <sup>a</sup>	90-100	>95	++	++
( <sup>14</sup> C)-UBT <sup>b</sup>	90-100	>95	++	++
ELISA serología <sup>c</sup>	85->95	80-95	+++	+++
<b>Invasivos**:</b>				
Cultivo <sup>d</sup>	75-90	100	+	+
Histología <sup>e</sup>	85-90	95-100	+	+
Test ureasa <sup>1</sup>	85-95	95-100	+++	+++
Tinción de Gram	90	90-100	++	+++

\* Incluye coste de la endoscopia si es necesaria. UBT, prueba de la respiración de la urea. ELISA.

\*\*Teóricamente, excepto para la prueba de la ureasa, no se deben encontrar falsos positivos en las pruebas irvasivas.

+++excelente; ++ bueno; + peor

### **Comentarios**

<sup>a</sup> Preferentemente en mujeres embarazadas, niños y cuando se requieren múltiples pruebas.

- <sup>b</sup> Exposición pequeña a la radiación; no hay protocolos establecidos; se necesitan estudios válidos; apropiado para el seguimiento de la terapéutica antimicrobiana.
- <sup>c</sup> Necesidad de estudios locales validados, no apropiado para seguimiento a corto plazo de la terapéutica antimicrobiana.
- <sup>d</sup> Necesita algunas precauciones para realizarse con fiabilidad.
- <sup>e</sup> Se recomiendan dos biopsias (antro y cuerpo).
- <sup>f</sup> Método diagnóstico rápido, fácil y seguro; sensibilidad disminuida después de tratamiento antimicrobiano.

### **2.9.1. MÉTODOS INVASIVOS**

Aunque se prefiera frecuentemente el antro gástrico como zona elegida para la toma de la muestra de la biopsia con el fin de hacer evidente la infección por *H. pylori*, un cierto número de estudios indica que el organismo se encuentra en el cuerpo del estómago en la mayoría de los casos de infección por *H. pylori*. Se recomienda con frecuencia que al menos dos biopsias del antro se obtengan para histología debido a la posible distribución desigual de las lesiones inflamatorias o a la posibilidad de problemas técnicos asociados a la recogida, al transporte o al procesamiento de las muestras.

Se debería tener en mente que *H. pylori* sólo infecta al epitelio gástrico y a la capa de mucosa que lo recubre, de modo que es más difícil poner en evidencia al organismo en caso de atrofia gástrica, metaplasia intestinal o reflujo biliar que perturban su hábitat natural. En definitiva, tras un tratamiento de corto o largo plazo a base de inhibidores de la bomba de protones, se produce un cambio en la

disminución de la colonización antral y una tendencia hacia la colonización del cuerpo del estómago.

#### **2.9.1.1. Histología**

Aunque hubo una preocupación inicial referente a la especificidad y la sensibilidad de la evaluación histológica, los resultados igualan o pueden superar a los del cultivo. La naturaleza en parches de la infección requiere un mínimo de dos biopsias, una del antro gástrico y otra del fondo. Barthel y Everett sugieren que pueden ser mejores candidatos para el “patrón de oro” evasivo las biopsias múltiples de la mucosa. Se han empleado tinciones con hematoxilina y eosina, Warthin-Starry, Gram, azul de toluidina, Wright-Giemsa y Brown-Hopps, con diferencias diagnósticas relativamente pequeñas entre ellas. Se ha comunicado un alto grado de positividad con una técnica de impronta o toque con el uso de muestras de biopsia, y continuadas con tinción con Gram, la citología con pincel ofrece otro método simple y eficaz para establecer el diagnóstico.

Las más utilizadas en nuestro medio por su costo, son hematoxilina-eosina y Giemsa, esta última con una excelente sensibilidad y especificidad. Otras como la de Warthin-Starry y de Genta, que han demostrado gran precisión, son de mayor costo, más elaboradas e implican la manipulación de reactivos de alta toxicidad.

La coloración habitual de Hematoxilina-Eosina que es la más económica, además de identificar al *Helicobacter pylori*, simultáneamente da información sobre el grado de

compromiso inflamatorio y en adultos la evolución de procesos atróficos o malignos, es la de menor sensibilidad y especificidad para detectar el *Helicobacter pylori* y la experiencia del patólogo es más determinante.

En su trabajo original, Warren recomienda la coloración con plata de Warthin-Starry<sup>64</sup>. Esta coloración permite una visualización perfecta del organismo, pero es relativamente complicada, extensa y costosa de preparar. Por una parte, los organismos son difíciles de distinguir, algunas veces, en el precipitado de plata en la capa mucosa, y de esta forma nos conduce a positivas falsas de las biopsias. La coloración convencional del tejido con hematoxilina y eosina se recomienda para el diagnóstico de inflamación progresiva, pero no ofrece muchas garantías para la detección de *Helicobacter pylori* debido a la dificultad en su distinción con este procedimiento de coloración. Por otro lado, *Helicobacter pylori* se identifica con facilidad gracias al procedimiento de coloración de Giemsa, que tiñe de un azul uniforme frente al azul débil de fondo<sup>65</sup>. A causa de su simplicidad, rapidez y un coste bajo, se considera el Giemsa como la coloración de elección<sup>66-67</sup>.

Con respecto a la comparación de pruebas, se cuenta con reportes de investigaciones realizadas, así: El estudio realizado por Manan y col sirvió para

---

<sup>64</sup> Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis Lancet 1983;I:1273

<sup>65</sup> Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ. Simplified techniques for identifying *Campylobacter pyloridis*. Clin Pathol 1986;39:1279

<sup>66</sup> Madan E, Kemp J, Wesrblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of straining methods for identifying *Campylobacter pylori*. Am J Clin Pathol 1988;90:450-453

<sup>67</sup> Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA, Tseng J. Improves visualization of mucus penetration by *Campylobacter pylori* using Brown-Hopps stain. J Clin Pathol 1988;41:232

determinar que método de tinción fue el más rentable y más fácil de realizar e interpretar de forma rutinaria. Sesenta y un consecutivos biopsias del antro gástrico fueron teñidas con hematoxilina y eosina, Giemsa, Brown-Brenn, y Warthin-Starry, con 23 de los casos manchada por Brown-Hopps. De las manchas de la prueba, la de Wright-Giemsa fue el más fácil de realizar. Los organismos de la de Wright-Giemsa mostraron un suave color púrpura uniforme, mientras que la de Warthin-Starry dio al organismo un aspecto granular, que a veces puede ser confuso para precipitar la plata. Tanto la de Wright-Giemsa y Brown-Hopps, tenía el más alto grado de identificación del organismo (definida por la positividad por ciento). El uso rutinario de la de Wright-Giemsa para la identificación de *Campylobacter pylori* en biopsias de antro gástrico es recomendable.<sup>68</sup>

Otra investigación realizada en el año 2000, el interobservador fue mejor con el método de anticuerpos (98%), seguido por el McMullen% (90), Giemsa (87%), y HpSS (85%). De la norma 60 "de oro" positivos y negativos de los casos, 30 fueron positivos por la tinción de Giemsa, 29 por el método de McMullen, 29 por HpSS, y 30 por el anticuerpo. Sin embargo, hubo dos falsos positivos con el método HpSS. El Giemsa es el más barato y más fácil de realizar técnicamente. Concluyen que la tinción de Giemsa modificado es el método de elección porque es sensible, barata, fácil de realizar y reproducible.<sup>69</sup>

---

<sup>68</sup> Madan E, Kemp J, Westblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. 1988 "Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. Am J Clin Pathol 1988 Oct;90(4):450-3.

<sup>69</sup> Rotimi, A Cairns, S Gray, P Moayyedi, M F Dixon. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000;53:756-759; doi:10.1136/jcp.53.10.756

### **2.9.1.2. Microscopía directa.**

Aunque el cultivo y la histología pueden ser métodos muy sensibles y específicos para el diagnóstico de *H. pylori*, no proporcionarán un diagnóstico rápido. Generalmente la histología necesita un mínimo de 48 horas mientras que el cultivo puede requerir hasta 7 días.

Cuando se precisan resultados rápidos se puede utilizar la microscopía directa de biopsias recién obtenidas. Una tinción de Gram es fácil de realizar. La biopsia puede ser frotada sobre la superficie de un porta y a partir de ésta se realizará la tinción. En manos de un observador con experiencia la tinción de Gram puede ser una prueba de alto rendimiento. Se han citado sensibilidades del orden del 90% y la especificidad es normalmente de alrededor del 100%<sup>70</sup>. Cuando se obtiene tejido del antro y del fundus gástrico, la sensibilidad de la tinción de Gram está próxima al 100%. La utilización de una técnica de lavado-impronta para la preparación de la extensión, más que del material de toda la biopsia, se ha encontrado que proporciona mejores resultados.

#### **2.9.1.2.1. Lugar de toma de muestra**

Aunque se prefiera frecuentemente el antro gástrico como zona elegida para la toma de la muestra de la biopsia con el fin de hacer evidente la infección por

---

<sup>70</sup> Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1988;26:1393-1394

*Helicobacter pylori*, un cierto número de estudios indica que el organismo se encuentra en el cuerpo del estómago en la mayoría de casos.<sup>71</sup>

Otros estudios que han comparado tomas de muestra del antro y del cuerpo gástrico, han demostrado una frecuencia similar de aislamientos en ambas localizaciones.<sup>72-73</sup>. Sin embargo, en aproximadamente el 10% de los pacientes sólo se puede aislar *Helicobacter pylori* a partir de una sola de estas localizaciones (antro o cuerpo), lo que obliga a realizar biopsias de ambas zonas cuando se quiere lograr el máximo rendimiento de las detecciones.<sup>74</sup>

*Helicobacter pylori* coloniza específicamente la superficie del epitelio de la mucosa gástrica. La colonización se realiza preferentemente en el antro<sup>75</sup>, se asocia a las células parietales, especialmente en las uniones intracelulares.

### **2.9.1.3. Cultivo**

El aislamiento microbiológico de muestras de la biopsia gástrica constituye la «regla de oro» para la identificación de *H. pylori*. Aunque el cultivo esté considerado como un procedimiento tedioso, con unas mínimas precauciones, para la mayor parte de los laboratorios no se deberían presentar problemas en el cultivo de *H. pylori*. Sin

---

<sup>71</sup> Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. *Campylobacter pyloridis* gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. *Am J Gastroenterol* 1987;82:292-296

<sup>72</sup> Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ, Carrick J, Ralston M, Brady L, Lee A. *Campylobacter pyloridis* gastritis II: Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. *Am J Gastroenterol* 1987a;82:297-301

<sup>73</sup> Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1988;95:216-218.

<sup>74</sup> Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1988;95:216-218.

<sup>75</sup> Blaser MJ. Gastric *Campylobacter*-like organism gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterol* 1987;93:371.

embargo, se ha de apuntar que, para diagnósticos rutinarios de la infección, el cultivo de *H. pylori* no es frecuentemente necesario, debido a la histología y a la prueba rápida de la ureasa a partir de la biopsia que detectará el organismo en la mayoría de los pacientes. A pesar de sus inconvenientes en comparación con otras técnicas de diagnóstico, el aislamiento a través de cultivo es muy válido para tipar el organismo y para determinar su sensibilidad ante agentes antimicrobianos, que son importantes en las investigaciones epidemiológicas y en la determinación de la evolución de la resistencia. El cultivo puede ser también apropiado para la detección de un escaso número de bacterias después del tratamiento. Es igualmente importante para descubrir las propiedades de virulencia del organismo y para la producción de reactivos serológicos.

#### **2.9.1.4. Prueba rápida de la ureasa a partir de la biopsia**

La primera prueba rápida y más simple desarrollada para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* fue la prueba de la ureasa, basada en la capacidad del organismo de producir grandes cantidades de ureasa<sup>76</sup>. La ureasa cataliza la degradación de la urea en amonio y bicarbonato. Esta reacción produce un aumento en el pH del medio circundante, que puede ser detectado por un indicador como el rojo fenol que cambia el color del amarillo al rosa o rojo. McNulty y Wise fueron los primeros en citar la aplicación clínica de esta prueba para la detección de

---

<sup>76</sup> Simor AE, Cooter NB, Low DE. Comparison of four stains and a urease test for rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990;9:350-352

la infección por *H. pylori*<sup>77</sup>. Utilizando el caldo de urea de Christensen al 2% incubado a temperatura ambiente, encontraron una sensibilidad del 90% a las 24 horas y una especificidad del 97% comparado con el cultivo como método de referencia. Otros investigadores confirmaron posteriormente estos resultados.

Cuando la lectura se realizaba después de 1 a 4 horas las pruebas de la ureasa mostraban una especificidad del 100%, pero generalmente disminuía la sensibilidad que se situaba alrededor del 60 al 70%. Se han propuesto diversas variaciones para mejorar la realización de la prueba y hacerla más simple y más rápida. El caldo de urea original al 2% ha sido aumentado del 6 al 10% en estudios recientes<sup>41</sup>. Otras modificaciones han consistido en reducir el volumen del caldo en el cual se introduce la biopsia, alterando la concentración del rojo fenol y el pH de la solución, cambiando la fórmula del caldo o agar mediante la adición de agentes bacteriostáticos, factores de crecimiento o tampones, y aumentando la temperatura de incubación desde la temperatura ambiente hasta 55°C<sup>78</sup>

---

<sup>77</sup> Deltre M, Glupczynski Y, De Prez C et al. The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1989;24 (suppl 160): 19-24

<sup>78</sup> Vaira D, Holton J, Cairns S, Falzon M, Salmón PR. Four hour rapid urease test (RUT) for detecting *Campylobacter pylori*: is it reliable enough to start treatment. *J Clin Pathol* 1988; 41:355-356

## 2.9.2. MÉTODOS NO INVASIVOS

Normalmente se emplean dos métodos no invasivos para detectar la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica: la serología y la prueba de la respiración (breath test) utilizando urea marcada.

### 2.9.2.1. Serología

La infección por *H. pylori* conduce a una respuesta inmune local y sistémica<sup>79</sup>. Esta respuesta ha sido la base para el desarrollo de ensayos diagnósticos en la infección por *H. pylori*. Los estudios preliminares han demostrado que la respuesta inmune a *H. pylori* a nivel de la mucosa es predominantemente de tipo IgA, mientras que la respuesta de anticuerpos sistémicos consiste esencialmente en inmunoglobulinas de la clase IgG. La detección de la respuesta sistémica del tipo IgA no ha sido un hallazgo constante, y los títulos de anticuerpos a un conjunto de antígenos de células completas de *Helicobacter pylori* se han mostrado más altos para la clase IgG que para la clase IgA.

Los anticuerpos IgM no parecen diferir entre los individuos *H. pylori*-positivos y los negativos<sup>80</sup>.

Se han desarrollado varios métodos serológicos para la detección de *H. pylori* «aglutinación bacteriana, prueba de fijación de complemento, inmunofluorescencia

---

<sup>79</sup> Hirschl AM, Pletschette M, Hirschl MH, Berger J, Stanek G, Rotter ML. Comparison of different antigen preparations in an evaluation of the immune response to *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:570-575

<sup>80</sup> Evans Jr DJ, Evans DG, Graham DY. A sensitive and specific serologic test for detection of *Campylobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1989;96:1004-1008

indirecta, inmunoblot, ELISA)<sup>81</sup>. En general, se ha encontrado el método de ELISA más sensible para la detección de anticuerpos a *H. pylori* que la aglutinación bacteriana o la fijación de complemento. Por estas razones son comúnmente empleados los métodos de ELISA para IgG e IgA. La medición de los anticuerpos de ambas clases de inmunoglobulinas parece mejorar la sensibilidad.

La selección de un antígeno apropiado ha sido problemática. Ciertamente, muchas de las pruebas de primera generación estaban basadas en extractos antigénicos crudos obtenidos de cepas de *H. pylori* aisladas localmente. Estos ensayos basados en un conjunto de antígenos de células completas dieron de forma general resultados aceptables, pero originaban reacciones cruzadas con sueros que contenían anticuerpos frente a *Campylobacter jejuni*. Posteriormente fueron comunicadas mejoras después de la utilización de antígenos parcialmente purificados como los extractos ácidos de glicina<sup>82</sup>.

Hoy día no obstante, el aislamiento, la identificación y la purificación de antígenos específicos ha llevado al desarrollo de varios sistemas de ELISA, algunos de los cuales han sido incorporados a kits comerciales disponibles. En conjunto, la sensibilidad y la especificidad de estas nuevas pruebas rondan o son superiores al 90%. Las comparaciones entre los diferentes estudios son, sin embargo, difíciles

---

<sup>81</sup> Newell DG, Johnstone BJ, Ali MH, Reed PI. An enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of *Campylobacter pylori*-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1988;23 (suppl 142):53-57

<sup>82</sup> Loffeld RJLF, Vriese WTJ, Stobberingh EE. Usefulness of several commercial enzyme-linked immunoassays for detection of *Helicobacter pylori* in clinical medicine. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993;5:333-337

debido a que la realización de la serología es claramente dependiente de la calidad de los métodos de referencia (normalmente cultivo e histología), lo cual puede variar significativamente en los diferentes centros.

También son muy importantes los valores de realización de un ensayo en relación con los valores de punto de corte (cut-off) y con la prevalencia de la infección en la población. Por consiguiente, en relación con los métodos basados en la técnica de ELISA los resultados obtenidos pueden ser peores a los anunciados por las casas que los comercializan, y siempre debe avisarse de la necesidad de reevaluar localmente una nueva prueba utilizando sueros de enfermos en los cuales se ha determinado por otros métodos su situación frente a *H. pylori*<sup>83</sup>.

La serología ha encontrado su principal aplicación en los estudios epidemiológicos y ha servido para conocer los porcentajes de prevalencia de *H. pylori* en varias poblaciones e investigar factores como el origen geográfico, la situación socioeconómica, los antecedentes étnicos y la edad.

¿Qué se puede decir acerca del papel exacto de las pruebas serológicas para la detección de *H. pylori* en la práctica clínica? Se ha sugerido su empleo como screening preendoscópico en los enfermos adultos dispépticos para disminuir la realización de endoscopias y por consiguiente el coste. Sóbala y colaboradores han

---

<sup>83</sup> Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans Jr DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. *Gastroenterology* 1991;100:1495-1501

propuesto la realización de las pruebas serológicas como método de screening antes de la endoscopia en enfermos dispépticos menores de 45 años podría reducir la realización de endoscopia más del 20%, mediante la identificación de aquellos que son *H. pylori*-negativos y que sea por consiguiente extremadamente raro que tengan una úlcera péptica, con una sensibilidad para detectar la enfermedad ulcerosa péptica del 97%. Sin embargo, la adopción de tal política de forma generalizada es actualmente prematura y se requieren más estudios ya que la no realización de la endoscopia sólo con criterios serológicos o sin considerar la naturaleza de los síntomas del enfermo, puede pasar por alto diversas enfermedades distintas de la úlcera péptica (esofagitis por reflujo, hernia de hiato, gastritis erosiva, pólipos gástricos, duodenitis, etc.).

Otra importante indicación de las investigaciones serológicas es su aplicación en el seguimiento del tratamiento de erradicación a largo plazo. Varios estudios han demostrado que el descenso significativo en el título de anticuerpos IgG e IgA, generalmente se produce después de seis meses de una erradicación satisfactoria.

Se ha encontrado que la monitorización de los títulos de IgG es más útil en esta indicación que la medición de los cambios en los niveles de IgA, debido a que muchos enfermos infectados con *H. pylori* no producen una respuesta adecuada sistémica de IgA. El fallo en el tratamiento o la reinfección van normalmente acompañados de un rápido aumento en el título de anticuerpos después de una

disminución inicial. Por consiguiente, la serología puede constituir un indicador fiable, aunque lento, de la efectividad del tratamiento. No obstante, su idoneidad para monitorizar la eficacia del tratamiento en la práctica rutinaria no está demostrada, ya que la velocidad de disminución del título de anticuerpos en los enfermos que responden al tratamiento, puede mostrar amplias variaciones entre los distintos individuos y también a causa de que actualmente no existen claros puntos de corte (debido a los diferentes antígenos utilizados en los distintos estudios), que sirvan para elegir el tiempo óptimo en el seguimiento del enfermo.

#### **2.9.2.2. Urea breath test (prueba de la respiración con urea)**

*Helicobacter pylori* posee una ureasa extremadamente potente que hidroliza la urea marcada, con liberación de CO<sub>2</sub> marcado que se excreta con la respiración que se exhala. Las pruebas de la respiración con urea marcada con <sup>13</sup>C y <sup>14</sup>C son ambas semicuantitativas y miden la infección activa por *H. pylori*.

La distribución de la urea a través del estómago previene el error de la toma de muestras localizadas y permite las mediciones semicuantitativas de la extensión de la infección por *H. pylori* en la totalidad del estómago. Ambas pruebas (<sup>13</sup>C y <sup>14</sup>C) son fáciles de realizar con mínimas posibilidades de variaciones por parte del observador o errores metodológicos, con lo cual son muy sensibles y específicas para la detección de *H. pylori*<sup>84</sup>.

---

<sup>84</sup> Logan R. Urea breath tests for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993;5 (suppl 2):S46-S49

#### **2.9.2.2.1. Urea breath test con <sup>13</sup>C**

La mayor ventaja de esta prueba es que utiliza un isótopo natural, no radiactivo, estable; puede ser utilizada repetidamente en cualquier enfermo, incluyendo mujeres embarazadas y niños, y no se requiere licencia para su utilización. Ya que el carbono 13 no es radiactivo, las muestras pueden ser enviadas por correo a centros especializados o a laboratorios comerciales para su estudio; por consiguiente, no son necesarios los requerimientos de la costosa espectrometría de masas. Los resultados pueden estar disponibles en horas e incluso cuando se envían por correo se pueden obtener en días. Esta prueba ha sido modificada y se ha desarrollado un protocolo estándar europeo, que es más simple y más barato que los métodos previos. No se requiere equipo especial para estas pruebas y los enfermos pueden ser estudiados en grupos. Probando secuencialmente el estado de *H. pylori* con esta prueba, también se obtiene una idea de los porcentajes de erradicación y de recurrencia después del tratamiento antimicrobiano. Ya que esta prueba detecta muy bajos niveles de infección (o de recurrencia) de *H. pylori*, la erradicación puede ser monitorizada con seguridad sólo dos semanas después de terminar el tratamiento. Actualmente, varias compañías farmacéuticas utilizan esta prueba para los ensayos clínicos en fase II de nuevos fármacos anti-ff. *pylori*.

#### **2.9.2.2.2. Urea breath test con <sup>14</sup>C**

La amplia disponibilidad de los contadores de centelleo para análisis de CO<sub>2</sub> con carbono-14, hacen de esta prueba una alternativa atractiva a la prueba anterior con carbono-13. Sin embargo, no existen protocolos estandarizados para esta prueba, y se han utilizado diferentes variaciones en la metodología y en los valores de punto de corte. Por consiguiente, son necesarios estudios de convalidación a nivel local. Así pues, aunque la dosis de radiación administrada con cada carbono-14 de esta prueba es baja, el uso de un isótopo radiactivo limita el número de aplicaciones que se pueden hacer y restringe su utilización en algunos grupos de enfermos (no está recomendado en niños ni en mujeres embarazadas).

Esta prueba ha sido generalmente considerada como una versión más barata de la prueba con carbono-13. No obstante, debido al incremento en su desarrollo y a su más frecuente utilización, la diferencia en el coste de ambas pruebas se ha reducido de forma considerable.

Ambas pruebas tienen una sensibilidad y especificidad que se comparan de forma excelente con otros métodos para la detección de *H. pylori*, como el cultivo o la histología<sup>80</sup><sup>84</sup>. Estas pruebas detectan mucho más bajos niveles de infección por *H. pylori* y, valorando la mucosa gástrica completa, evitan riesgos de error en el muestreo. Ambas son ideales para la valoración del estado de infección por *H. pylori*

como métodos no invasivos, antes del tratamiento y para la monitorización en la respuesta del mismo.

## 2.10. TRATAMIENTO

Las indicaciones actuales del tratamiento erradicador de *H. pylori* son: los pacientes con úlcera péptica, gastritis atrófica multifocal, linfoma MALT y a los familiares en primer grado de pacientes con cáncer gástrico.

La amoxicilina es generalmente más eficaz a pH neutral y mediante su combinación con un inhibidor de la bomba de protones como omeprazol se podían obtener porcentajes de erradicación del 55 % después de 2 semanas y con escasos efectos colaterales.<sup>85</sup> Una terapia dual en la cual se combina el omeprazol con la claritromicina resultó ser más consistente,<sup>86</sup> pero los resultados también variaban y frecuentemente se encontraban por debajo del 70 %. Por todo lo anterior estos procedimientos han caído en desuso en Europa.

El Grupo Europeo de estudio del *Helicobacter pylori* recomienda el tratamiento con un inhibidor de la bomba de protones como el omeprazol (dos veces al día),

---

<sup>85</sup> Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection, the Maastricht consensus report. Gut 1997

<sup>86</sup> Axon ATR, Moayyedi P. Eradication of *Helicobacter pylori*: omeprazole in combination with antibiotics. Scan J Gastroenterol 1996

claritromicina 500 mg (cada 12 horas) y amoxicilina 1 g o metronidazol 400 mg o 500mg (cada 12 horas) durante 7 a 14 días.<sup>87</sup>

Las pautas de curación con este régimen son de aproximadamente el 85%.

---

<sup>87</sup> Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007;56:772–81.

## Capítulo III

### 3.1. HIPÓTESIS Y DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1.1. HIPÓTESIS

##### 3.1.1.1. Primaria

La coloración de Hematoxilina Eosina para la identificación histopatológica de *Helicobacter pylori* en material de biopsia gástrica es aceptable con relación a la tinción con Giemsa.

##### 3.1.1.2. Secundarias

- La correcta identificación de *Helicobacter pylori* depende del lugar de toma de la biopsia (incisura, antro o cuerpo).
- La correcta identificación de *Helicobacter pylori* depende del observador.
- El método de elección en nuestro medio debería ser la tinción con Giemsa para la identificación de *Helicobacter pylori*.
- Existe un adecuado nivel de concordancia entre observadores para la identificación de *Helicobacter pylori* utilizando las tinciones de Giemsa y Hematoxilina Eosina.

### 3.2. Problema de la Investigación

- ❖ ¿Qué tinción histológica para biopsias gástricas (Giemsa vs Hematoxilina Eosina) es más adecuada para la identificación de *Helicobacter pylori* en pacientes que fueron sometidos bajo pedido a Endoscopia Digestiva Alta en el Hospital IESS, de Riobamba-Ecuador, entre los meses de Octubre y Diciembre del 2009?

De esta pregunta se generan las sub preguntas:

- ❖ ¿Cuál es la sensibilidad, especificidad y los valores predictivos positivos y negativos, de la prueba Hematoxilina-Eosina en la identificación histológica de *Helicobacter pylori* en el Hospital IESS, de Riobamba-Ecuador, entre los meses de Octubre y Diciembre del 2009?
- ❖ ¿Se conoce si el lugar de la biopsia de estómago (incisura, antro y cuerpo) hace que una prueba sea mejor que otra para la identificación de *Helicobacter pylori* entre los pacientes del Hospital IESS, de Riobamba-Ecuador, entre los meses de Octubre y Diciembre del 2009?
- ❖ ¿Se ha evaluado la frecuencia de *Helicobacter pylori* y la estratificada por grupos de edad, sexo, estado civil y ocupación en el Hospital IESS Riobamba?
- ❖ ¿La identificación histológica de *Helicobacter pylori* depende de la experiencia del médico patólogo independientemente del método de coloración que se utilice?

### **3.3. Objetivos**

#### **3.3.1. Objetivo General:**

El objetivo principal del estudio es comparar las tinciones de Hematoxilina Eosina y Giemsa para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica de pacientes del Hospital del IESS Riobamba entre Octubre y Diciembre del 2009.

#### **3.3.2. Objetivos Específicos:**

1. Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y razón de verosimilitud de la prueba de tinción Hematoxilina-Eosina y Giemsa (gold estándar) para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* en el Hospital del IESS Riobamba entre Octubre y Diciembre del 2009.
2. Establecer si el lugar de la biopsia de estómago (incisura, antro y cuerpo) hace que una prueba sea mejor que otra.
3. Determinar la probabilidad de que la identificación de *Helicobacter pylori* mediante Hematoxilina-Eosina sea correcto, en comparación con la prueba Giemsa.
4. Determinar la prevalencia de *Helicobacter pylori* según ciertas características demográficas como son grupos de edad, sexo, estado civil y nivel de instrucción.

5. Establecer el grado de acuerdo en los diagnósticos entre los tres observadores para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante las técnicas de tinción histopatológica con Giemsa y Hematoxilina Eosina.

### **3.4. Diseño Metodológico**

#### **3.4.1. Muestra**

##### **Prueba Piloto.**

Para el cálculo de la muestra se requirió previamente de una prueba piloto que sirvió para validar los instrumentos y obtener parámetros para el cálculo del tamaño muestral.

La prueba piloto se realizó con 15 casos escogidos al azar. Los datos obtenidos fueron procesados en el programa Epidat 3.1.

Se calculó la sensibilidad para cada uno de los observadores y para las distintas regiones gástricas estudiadas. Obteniéndose reiteradamente una sensibilidad del 90%

Con dichos datos y para que al final del estudio los resultados se sitúen entre  $0,90 \pm 0,05$  (85 y 95%) se calculó la muestra con base a las tablas de definición de tamaño muestral diseñadas por García Romero y publicadas en el libro Epidemiología Clínica de los Doctores Moreno, Cano y García Primera edición 1988 Facultad de Medicina-UNAM, dando como resultado una muestra total de 114 pacientes.

### **3.4.2. Tipo de estudio**

Se realizó un estudio de evaluación de pruebas diagnósticas y otro de concordancia.

### **3.4.3. Procedimiento de recolección de la información**

Cumplidos los criterios de inclusión y firma del consentimiento informado (ANEXO1) se recolectaron datos socio demográficos como edad, genero, estado civil y nivel de instrucción en el formulario de recolección de datos (ANEXO2) y se realizaron las Endoscopías Digestivas Altas por el Dr. Jorge Mejía Chávez (Médico Internista y Endoscopista del Hospital IESS Riobamba), con un video gastroscopio Pentax de origen japonés Modelo: EG2931K Serie: E110389; tomándose biopsias del antro, de la incisura angularis y del cuerpo (una biopsia por zona gástrica), ya que según G, Yardley JH en su trabajo publicado en la revista Gastroenterology en 1988 titulado Gastric and esophageal Campylobacter pylori in patients with Barrett's esophagus, demuestra que en aproximadamente el 10% de los pacientes sólo se puede aislar *Helicobacter pylori* a partir de una sola de estas localizaciones (antro o cuerpo), lo que obliga a realizar biopsias de ambas zonas cuando se quiere lograr el máximo rendimiento de las detecciones.

Las biopsias gástricas fueron colocadas en frascos separados, conteniendo 7cc de formol buferado, previamente etiquetados (Etiqueta amarilla para antro, roja para incisura angularis y verde para cuerpo; y rotulados con un numero distintivo desde el 1 hasta el 114; y las letras A para antro, I para incisura angularis y C para cuerpo).

**Figura. 3.1. Frascos para recolección de biopsias gástricas.**



Las muestras son trasladadas al Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital IESS donde son procesadas como se describe a continuación:

PROCESAMIENTO AUTOMÁTICO DE TEJIDOS: En el procesador automático de tejidos se realizan mecánicamente los sucesivos cambios de líquidos que se inicia con la fijación luego la deshidratación, aclaramiento y finaliza con la impregnación de los tejidos en parafina.

**Técnica de 16 horas**

**Tabla. 3.1. Tabla de resumen del procesamiento automático de tejidos.**

<b>N° de recipiente</b>	<b>Cronometría del proceso</b>
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

Procedimiento de la coloración con Hematoxilina Eosina:

1. Desparafinizar e hidratar los cortes, usando la siguiente técnica:
  - a. Los cortes adheridos a los porta objetos, colocar a la estufa a 60° C por 20 minutos.
  - b. Xilol, tres cambios. Tres minutos en cada uno.
  - c. Alcohol absoluto, tres cambios, 12 inmersiones en cada uno.
  - d. Lavar en agua corriente, cinco cambios.
2. Hematoxilina de Harris por 15 minutos.
3. Lavar en agua corriente, cinco cambios.
4. Para conseguir el azulado de los cortes, 4 a5 inmersiones en agua amoniacal.
5. Lavar en agua corriente, cinco cambios.
6. Eosina, de 3 a 4 minutos, dependiendo de la edad del colorante y de los efectos deseados.
7. Deshidratar en alcohol al 95% y alcohol absoluto, para remover en exceso de eosina, utilizar dos cambios de 10 inmersiones cada uno.
8. Retirar las placas del alcohol y dejar al aire de 5 a 10 minutos.
9. Xilol, 2 cambios de 2 minutos cada uno.
10. Montaje en Permount.

### **Tinción de Giemsa**

#### **Solución Buffer:**

Fosfato de sodio monobásico anhidro  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .....6.0 gr

Fosfato de potasio dibásico  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .....5.0 gr

Mezclar las sales de Buffer y pesar separadamente 1 gr. Poner en viales y colocar en una pequeña ampolla o tubo de prueba.

Disolver en un litro de agua destilada que proporciona una solución Buffer de aproximadamente ph 7.0

### **Solución Giemsa**

Giemsa..... 3.0 ml

Solución Buffer..... 97.0 ml

### **Solución de ácido acético glacial acuoso**

Ácido acético glacial.....1.0 ml

Agua destilada..... 499.0 ml

### **Procedimiento:**

1. Desparafinizar con xileno por dos cambios de dos minutos cada uno.
2. Alcohol absoluto dos cambios por dos minutos cada uno.
3. Alcohol al 95% por un minuto.
4. Alcohol al 95% por dos minutos.
5. Alcohol al 80%, 70%, 50%, por un minuto cada uno.
6. Lavar en agua destilada por 15 segundos.
7. Solución buffer por 30 minutos.
8. Solución de Giemsa toda la noche.
9. Lave rápidamente en solución buffer.
10. Solución de Ácido acético glacial acuoso por un minuto.
11. Alcohol Absoluto, dos cambios de 15 segundos cada uno.

12. Xilol, dos cambios de dos minutos cada uno.

13. Montar con Permount

Las placas histológicas fueron rotuladas de igual manera que los frascos.

**Figura. 3.2. Placas porta objetos rotuladas.**



De cada caso se obtuvieron seis placas histológicas, tres para la coloración con Hematoxilina-Eosina (una para antro, una para incisura angularis y una para el cuerpo gástrico) y tres para la coloración con Giemsa (una para antro, una para incisura angularis y una para el cuerpo gástrico).

Los 114 casos (684 laminillas) fueron estudiadas por tres Médicos Patólogos: Dra. Sonia Sotomayor (Médico tratante del Servicio de Anatomía Patológica del hospital Carlos Andrade Marín y docente de la PUCE), Dra. Rosa Guerrero (Médico tratante del Servicio de Anatomía Patológica del hospital Carlos Andrade Marín), Dr. Marcelo Toro Córdova (Jefe del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital IESS Riobamba); expertos observadores, asignados igualmente al azar (A, B, C), la observación se realizó en un microscopio óptico bajo un campo de 40X y los

resultados del procedimiento para la identificación de *Helicobacter pylori* fueron consignados en la Hoja de Registro de Observación (Anexo3).

#### **4.4.4. Plan de análisis de datos**

Los datos socio demográficos consignados en la hoja de recolección (ANEXO2), fueron capturados en una base de datos realizada en el programa SPSS 17.0 (con autorización de la pontificia Universidad Católica del Ecuador), realizándose su respectivo análisis.

Los datos de las observaciones se consignaron en hojas diseñadas de acuerdo al formato mostradas en el Anexo 3 y se trasladaron a cuadros de análisis estadístico de 2X2 utilizando el programa Epidat 3,1 para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y el índice de concordancia Kappa entre observadores entre las coloración de Hematoxilina Eosina comparándola con Giemsa (Gold estándar) según sitio de biopsia gástrica.

Para la presentación de los resultados se elaboraron gráficos, tablas de distribución de frecuencia y cruces de algunas variables para conocer la relación entre las variables más importantes.

En las variables cuantitativas, del análisis general, se determinó: el promedio, media, moda, desviación estándar, valores máximos y mínimos. En tanto que para las variables cualitativas se incluyó el porcentaje de cada una.

Al realizar el análisis bivariado, se establecieron los niveles de asociación y significación entre las variables relacionadas. De tal manera, que cuando se formaron tablas de 2x2 se identificó el valor del chi cuadrado (p) con corrección de Yates y de OR e intervalos de confianza.

Todo lo anteriormente mencionado se realizó con autorización del Comité de Bioética del Hospital IESS Riobamba.

### **3.5. Criterios de Inclusión y exclusión**

#### **3.5.1. Criterio de inclusión**

Se tomaron para la investigación a los pacientes que acudieron al Hospital del IESS de Riobamba con la solicitud de examen realizado por facultativos de consulta externa y emergencia, para realizarse endoscopia digestiva alta y que firmaron el formulario de consentimiento informado.

#### **3.5.2. Criterio de exclusión:**

Se excluyó todo paciente que en el procedimiento se visualizara masa tumoral o úlcera gástrica o que presentara sangrado digestivo alto.

### 3.6. Operalización de Variables

VARIABLE	DEFINICIÓN
EDAD	Años que un ser ha vivido desde su nacimiento. Referente al tiempo
SEXO	Características fenotípicas de una persona
INSTRUCCIÓN	Último nivel académico alcanzado
ESTADO CIVIL	Situación marital legal de una persona.
Identificación de <i>Helicobacter pylori</i> con Giemsa	Observación directa de bacilos Gram negativos curvos
Identificación de <i>Helicobacter pylori</i> con Hematoxilina Eosina	No observación directa de bacilos Gram negativos curvos

## **Capítulo IV**

### **RESULTADOS**

#### **4.1. Análisis General**

La investigación fue realizada en 114 pacientes a quienes se les realizó inicialmente una Endoscopia Digestiva Alta con toma de biopsias y posteriormente los estudios histopatológicos correspondientes a la investigación en el Hospital del IESS Riobamba entre los meses de Octubre y Diciembre del 2009.

#### **4.2. Perfil de la población**

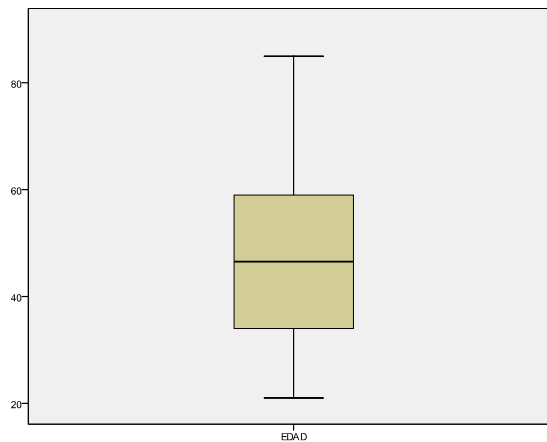
El estudio se realizó en la ciudad de Riobamba en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de seguridad Social (IESS) en las áreas de Endoscopía Digestiva y de Anatomía Patológica en material de biopsias gástricas que se obtuvieron de 114 pacientes usuarios, entre los meses de Octubre y Diciembre del año 2009.

Del total de personas se obtuvieron resultados positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante la coloración de Giemsa un 31,6% que equivale a 36 pacientes y un resultado negativo para un 68,4% que corresponden a 78 pacientes.

De ellos 78 fueron mujeres (68,4%) y 36 fueron varones (31,6%); su edad osciló entre 21 y 85 años (47,5 años en promedio), una media de 46,5 años y una moda de 47 años, de los cuales resultaron positivos para la identificación de *Helicobacter pylori* mediante Giemsa 20 hombres y 16 mujeres. En cuanto a su estado civil, 64

pacientes se encontraban casados (56,1%); 26 solteros (22,8%); y entre viudas, en unión libre y divorciados sumaban el 21,1% restante. De acuerdo al nivel de instrucción el 52,6% (60 pacientes) estaban cursando o tenían instrucción superior; el 29,8% (34 pacientes) tenían instrucción secundaria; el 14% (16 pacientes) tenían instrucción primaria y tan solo el 3,5% (4 pacientes) no tenían ningún tipo de instrucción. La distribución por cuartiles de la edad de los pacientes se puede apreciar en el siguiente cuadro:

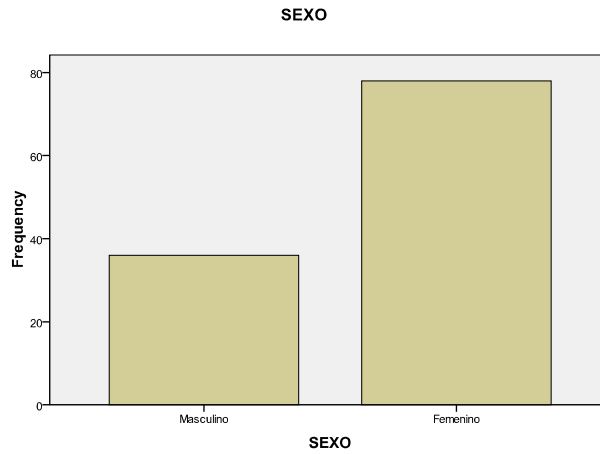
**CUADRO 4.1.** DISTRIBUCION DE EDAD DE LOS PACIENTES EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009



Fuente: Encuesta (anexo2)  
Elaboración: Marcelo Toro A

La frecuencia por sexo del total de la muestra estudiada fueron mujeres (68,4%) y 36 varones (31,6%) se evidencia en el siguiente cuadro:

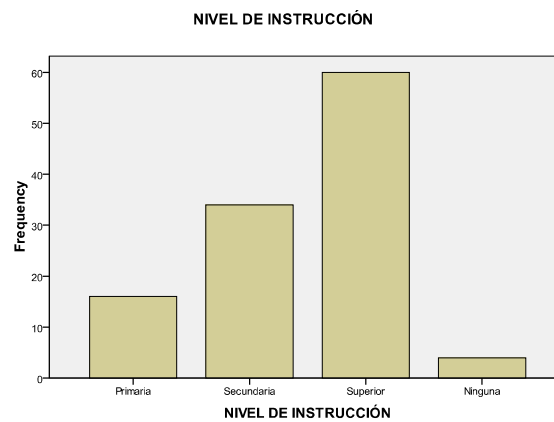
**CUADRO 4.2.** DISTRIBUCION POR SEXO DE LOS PACIENTES EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009



Fuente: Encuesta (anexo2)  
Elaboración: Marcelo Toro A

El nivel de instrucción y su distribución de los pacientes estudiados se puede apreciar en el siguiente cuadro:

**CUADRO 4.3.** DISTRIBUCION SEGUN EL NIVEL DE INSTRUCCIÓN DE LOS PACIENTES EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009



Fuente: Encuesta (anexo2)  
Elaboración: Marcelo Toro A

### **4.3. Resultados del Estudio**

#### **4.3.1. Evaluación de pruebas diagnósticas**

Se calculó en tablas de 2x2 con un nivel de confianza del 95% lo utilizando 114 casos y nos proporcionó los siguientes resultados:

##### **4.3.1.1. Observador A**

Antro: Sensibilidad de 77,42% con un intervalo de confianza de (61,09-93,75), Especificidad de 86,75% con un intervalo de confianza de (78,85-94,64), Valor predictivo positivo de 68,57% con un intervalo de confianza de (51,76-85,38) y un Valor predictivo negativo de 91,14% con un intervalo de confianza de (84,24-98,04).

Incisura Angularis: Sensibilidad de 91,89% con un intervalo de confianza de (81,75-100), Especificidad de 89,61% con un intervalo de confianza de (82,15-97,07), Valor predictivo positivo de 80,95% con un intervalo de confianza de (67,89-94,02) y un Valor predictivo negativo de 95,83% con un de confianza de (90,52-100).

Cuerpo: Sensibilidad de 80% con un intervalo de confianza de (64,02-95,98), Especificidad de 89,29% con un intervalo de confianza de (82,08-96,5), Valor predictivo positivo de 72,73% con un intervalo de confianza de (56,02-89,44) y un Valor predictivo negativo de 92,59% con un intervalo de confianza de (86,27-98,91).

##### **4.3.1.2. Observador B**

Antro: Sensibilidad de 89,29% con un intervalo de confianza de (80,29-98,28), Especificidad de 74,14% con un intervalo de confianza de (62,01-86,27), Valor predictivo positivo de 76,92% con un intervalo de confianza de (65,91-87,93) y un

Valor predictivo negativo de 87,76% con un intervalo de confianza de (77,56-97,95).

Incisura Angularis: Sensibilidad de 93,1% con un intervalo de confianza de (85,72-100), Especificidad de 82,14% con un intervalo de confianza de (71,22-93,07), Valor predictivo positivo de 84,38% con un intervalo de confianza de (74,70-94,05) y un Valor predictivo negativo de 92% con un de confianza de (83,48-100).

Cuerpo: Sensibilidad de 89,47% con un intervalo de confianza de (80,63-98,32), Especificidad de 87,72% con un intervalo de confianza de (78,32-97,12), Valor predictivo positivo de 87,93% con un intervalo de confianza de (78,69-97,18) y un Valor predictivo negativo de 89,29% con un intervalo de confianza de (80,29-98,28).

#### **4.3.1.3. Observador C**

Antro: Sensibilidad de 87,04% con un intervalo de confianza de (77,15-96,92), Especificidad de 58,33% con un intervalo de confianza de (45,03-71,64), Valor predictivo positivo de 65,28% con un intervalo de confianza de (53,59-76,97) y un Valor predictivo negativo de 83,33% con un intervalo de confianza de (70,87-95,79).

Incisura Angularis: Sensibilidad de 84,75% con un intervalo de confianza de (74,72-94,77), Especificidad de 61,82% con un intervalo de confianza de (48,07-75,57), Valor predictivo positivo de 70,42% con un intervalo de confianza de (59,10-81,74) y un Valor predictivo negativo de 79,07% con un de confianza de (65,75-92,39).

Cuerpo: Sensibilidad de 81,13% con un intervalo de confianza de (69,66-92,61), Especificidad de 65,57% con un intervalo de confianza de (52,83-78,32), Valor predictivo positivo de 67,19% con un intervalo de confianza de (54,90-79,47) y un Valor predictivo negativo de 80% con un intervalo de confianza de (67,91-92,09).

La prueba de Hematoxilina Eosina tiene alta sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo para identificar *Helicobacter pylori* en las tres zonas gástricas (antro, incisura angularis y cuerpo) con porcentajes más altos a nivel de incisura angularis y valor predictivo positivo mejor en incisura y cuerpo; sin que todos los datos obtenidos lleguen a igualar la prueba Gold estándar.

A continuación se muestran tablas de resumen de los valores obtenidos en el estudio en relación a sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivos y negativos con sus respectivos intervalos de confianza se resaltan los resultados relevantes mencionados anteriormente:

**Tabla 4.1.** RESUMEN DE DATOS OBTENIDOS DE SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD VALORES PREDICTIVOS POSITIVOS Y NEGATIVOS CON INTERVALOS DE CONFIANZA EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009 PARA EL ANTRO GÁSTRICO.

ANTRO								
Obs	Sens	IC %	Espec	IC %	VPP	IC %	VPN	IC %
A	77,42%	61,09-93,75	86,75%	78,85-94,64	68,57%	51,76-85,38	91,14%	84,24-98,04
B	89,29%	80,29-98,28	74,14%	62,01-86,27	76,92%	65,91-87,93	87,76%	77,56-97,95
C	87,04%	77,15-96,92	58,33%	45,03-71,64	65,28%	53,59-76,97	83,33%	70,87-95,79

Fuente: Comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009  
Elaboración: Marcelo Toro A

**Tabla 4.2.** RESUMEN DE DATOS OBTENIDOS DE SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD VALORES PREDICTIVOS POSITIVOS Y NEGATIVOS CON INTERVALOS DE CONFIANZA EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009 PARA INCISURA ANGULARIS.

<b>INCISURA ANGULARIS</b>								
<b>Obs</b>	<b>Sens</b>	<b>IC %</b>	<b>Espec</b>	<b>IC %</b>	<b>VPP</b>	<b>IC %</b>	<b>VPN</b>	<b>IC %</b>
<b>A</b>	91,89%	81,75-100	89,61%	82,15-97,07	80,95%	67,89-94,02	95,83%	90,52-100
<b>B</b>	93,1%	85,72-100	82,14%	71,22-93,07	84,38%	74,7-94,05	92%	83,48-100
<b>C</b>	84,75%	74,72-94,77	61,82%	48,07-75,57	70,42%	59,1-81,74	79,07%	65,75-92,39

Fuente: Comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009  
Elaboración: Marcelo Toro A

**Tabla 4.3.** RESUMEN DE DATOS OBTENIDOS DE SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD VALORES PREDICTIVOS POSITIVOS Y NEGATIVOS CON INTERVALOS DE CONFIANZA EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009 PARA EL CUERPO GÁSTRICO.

<b>CUERPO</b>								
<b>Obs</b>	<b>Sens</b>	<b>IC %</b>	<b>Espec</b>	<b>IC %</b>	<b>VPP</b>	<b>IC %</b>	<b>VPN</b>	<b>IC %</b>
<b>A</b>	80%	64,02-95,98	89,29%	82,08-96,5	72,73%	56,02-89,44	92,59%	86,27-98,91
<b>B</b>	89,47%	80,63-98,32	87,72%	78,32-97,12	87,93%	78,69-97,18	89,29%	8,29-98,28
<b>C</b>	81,13%	69,66-92,61	65,57%	52,83-78,32	67,19%	54,9-79,47	80%	67,91-92,09

Fuente: Comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009  
Elaboración: Marcelo Toro A

#### 4.3.2. Estudio de concordancia

Se realizó el cálculo de la concordancia entre observadores con nivel de confianza del 95% donde pudimos rescatar los siguientes resultados:

Kappa para Hematoxilina Eosina:

Para el antro un Kappa de 0,4152 con un intervalos de confianza de (0,2914-0,5390) y para la incisura angularis un Kappa de 0,4957 con un intervalos de confianza de (0,3748-0,6165) y para el cuerpo un Kappa de 0,5162 con un intervalos de confianza de (0,3973- 0,6351).

Kappa para Giemsa:

Para el antro un Kappa de 0,6460 con un intervalos de confianza de (0,5363-0,7557) y, para la incisura angularis un Kappa de 0,5988 con un intervalos de confianza de (0,4844-0,7132) y para el cuerpo un Kappa de 0,6451 con un intervalos de confianza de (0,5341- 0,7561).

El índice de concordancia Kappa más representativo entre los observadores se presentó con la tinción de Giemsa en la zona del antro gástrico mostrando una concordancia moderada entre observadores. En cuanto a la prueba con Hematoxilina Eosina la mayor concordancia fue en el cuerpo gástrico presentando concordancia moderada de igual manera.

A continuación se muestra una tabla de resumen la concordancia entre observadores resaltando los hallazgos anteriormente mencionados:

**Tabla 4.4.** RESUMEN DE DATOS OBTENIDOS DE CONCORDANCIA ENTRE OBSERVADORES EN EL ESTUDIO DE COMPARACION DE LAS TECNICAS DE COLORACION GIEMSA VS HEMATOXILINA EOSINA EN EL HOSPITAL DE RIOBAMBA 2009.

<b>Kappa entre Observadores</b>				
	<b>Hematoxilina Eosina</b>		<b>Giemsa</b>	
<b>Sitio de Biopsia</b>	<b>Índice Kappa</b>	<b>Intervalo de confianza</b>	<b>Índice Kappa</b>	<b>Intervalo de confianza</b>
<b>Antro</b>	0,4152	0,2914-0,8065	0,6460	0,5363-0,7557
<b>Incisura Angularis</b>	0,4957	0,3748-0,6165	0,5988	0,4844-0,7132
<b>Cuerpo</b>	0,5162	0,3973-0,6351	0,6451	0,5341-0,7561

Fuente: Comparación de las técnicas de coloración Giemsa vs Hematoxilina Eosina en el hospital de Riobamba 2009  
Elaboración: Marcelo Toro A

#### **4.3.3. Relación de Identificación Positiva de Helicobacter pylori con la edad.**

Para el análisis entre identificación positiva de Helicobacter pylori y la edad, se recodificó la variable edad en dos grupos (entre 0-47 años y 48-85 años), y se relacionaron con los resultados encontrados positivos con la tinción de Giemsa en la incisura angularis.

Entre 0 y 47 años se encontraron 50 pacientes de los cuales fueron positivos 17; entre los 48 y 85 años se encontraron 64 pacientes de los cuales fueron positivos 19. ( $p=0,242$ ) OR= 1,22 IC (0,552-2,698).

#### **4.3.4. Relación de Identificación Positiva de Helicobacter pylori con el sexo.**

El análisis realizado entre identificación positiva de Helicobacter pylori y el sexo se realizó entre 36 varones y 78 mujeres relacionándolos con los resultados encontrados positivos con la tinción de Giemsa en la incisura angularis.

Entre los varones se encontraron 16 casos positivos; entre las mujeres se encontraron 20 casos positivos. ( $p=4,031$ ) OR= 2,32 IC (1,011-5,326).

## Capítulo V

### Discusión, Conclusiones y Recomendaciones

#### 5.1. Discusión

La bacteria de superficie gástrica *Helicobacter pylori* se asocia generalmente con gastritis crónica activa o gastritis crónica no activa y tiene importancia en la patogénesis de otras entidades gastroduodenales como úlcera péptica, cáncer gástrico y linfoma gástrico, también actúa como colonizador asintomático en el 2% de los casos dependiendo de sus características patógenas y de la respuesta inmunológica del hospedador.

Las consecuencias adversas de la infección por *Helicobacter pylori* hacen que sea necesario un diagnóstico exacto para instituir un tratamiento erradicativo apropiado.

El método diagnóstico más popular y práctico utilizado en la mayoría de hospitales es la identificación histológica invasiva endoscópica en muestras de tejido tomadas del antro gástrico principalmente.

El estudio histológico utiliza diversas técnicas de coloración que incluyen: Warthin-Starry, Giemsa, Steiner silver<sup>88,89</sup>; Genta, Azul de Toluidina, Carbol de Fuchina,

---

<sup>88</sup> Garvey W, Fathi A, Bigelow F. Modified Steiner for the demonstration of spirochetes. *J histotechnol* 1985; 8:15-7

<sup>89</sup> Kolts BE, Joseph B, Achem SR, Bianchi T, Monteiro C. *Helicobacter pylori* detection. A quality and cost analysis. *Am. J Gastroenterol* 1993; 88:650-5

Giemsa, Giemsa modificado, Hematoxilina Eosina, Azul de metileno y una triple tinción de Carbol Fuchsina/ Alcian blue/ Hematoxilina eosina, entre la pruebas no inmunológicas.

Para estudios invasivos la sensibilidad y especificidad de la histología para identificación de *Helicobacter pylori* son satisfactorias con rangos de 83-93.5% y 90.4-100% respectivamente<sup>90</sup> proporcionándole un valor agregado como método diagnóstico definitivo en la identificación de *Helicobacter pylori*<sup>91</sup>.

Autores como Laine et al. (1997) concluyen que la coloración con Giemsa es la preferida para la identificación de *Helicobacter pylori* en base a su buena sensibilidad, excelente especificidad y que no presenta dificultades técnicas en su preparación, comparada con la de Genta y Hematoxilina eosina que poseen aceptable sensibilidad del 90% y 98% respectivamente<sup>92</sup>.

Similar reporte de sensibilidad y especificidad para Giemsa lo expresa Wabinga (2002) comparándola con inmunohistoquímica<sup>93</sup>.

Sin embargo Fallone et al. (1997) demuestra que Hematoxilina eosina es un método barato para identificar *Helicobacter pylori* pero con un rendimiento característicamente inferior que Giemsa, Genta o tinciones de plata<sup>94</sup>. Si bien es cierto Hematoxilina eosina puede reconocer *Helicobacter pylori*, su sensibilidad es

---

<sup>90</sup> Taj Y, Essa F, ksmi SU, Abdullah E. Sensitivity and specificity of various diagnostic test in the detection of *Helicobacter pylori*. *J Coll physicians Surg Pak* 2003; 13:90-3

<sup>91</sup> O Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of Staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000, 53:756-759.

<sup>92</sup> Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gatrountest Endosc* 1997; 45: 463-7.

<sup>93</sup> Wabinga HR. Comparison of immunohistochemical and modified Giemsa stains for demonstration of *Helicobacter pylori* infection in an african population. *Afr Health Sci* 2002; 2: 52-5

<sup>94</sup> Fallone Ca, Loo VG, Lough J, Barkun AN. Hematoxylin and eosin staining of gastric tissue for the detection of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1997; 2: 32-5.

baja cuando hay pocas bacterias por lo que se ha optado por el uso de coloraciones adicionales<sup>95</sup>. En este mismo sentido Anim et al (2000) concluye que Hematoxilina eosina pueden utilizarse como valoración inicial pero que al presentar una baja densidad de bacterias, otra tinción debe ser usada<sup>96</sup>

Por otro lado la coloración de Giemsa es difícil de prepara y consume tiempo, ya que usa varios sustratos químicos.

A razón de que en los servicios de anatomía patológica del país y de que nuestros médicos patólogos presentan una gran experiencia en la utilización de la prueba de Hematoxilina Eosina y a los resultados encontrados en nuestro estudio alcanzando una sensibilidad de 93,1%, especificidad de 89,61%, valor predictivo positivo de 87,93% y un valor predictivo negativo de 95,83% con respecto a la tinción de Giemsa es justificable su uso en nuestro medio, todo lo anteriormente dicho considerando que para el diagnostico de *Helicobacter pylori* se requiere de una prueba sensible.

Datos comparables a los obtenidos en la literatura mundial.

Por otro lado, para una mejor utilización del método y para aprovechar mejor los recursos se debería hacer por lo menos una toma de biopsia de la incisura angularis por ser la zona gástrica donde se registraron los valores más altos de sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo.

---

<sup>95</sup> O Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of Staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000, 53: 756-759.

<sup>96</sup> Anim JT, Al-Sobkie N, Prasad A, John B, Sharma Pn, Al-Jamar I. Assessment of different methods for steining *Helicobacter pylori* in endoscopic gastric biopsies. *Acta Histochem* 2000; 102: 129-37.

En cuanto a la concordancia realizada entre observadores para la identificación histológica de *Helicobacter pylori* comparando distintos métodos de coloración, un estudio realizado por O Rotimi y colaboradores nos muestra un acuerdo moderado para la tinción de Giemsa Modificado ( $\kappa=0,733$ ), estudio realizado entre dos observadores<sup>97</sup>.

En nuestro estudio se alcanzaron acuerdos moderados de igual manera, pero con relativa independencia del lugar de toma de la muestra. En el antro gástrico y con la coloración de Giemsa el índice Kappa fue de 0,6460 y para Hematoxilina Eosina en el cuerpo gástrico se obtuvo un índice Kappa de 0,5162; cabe recalcar que los datos del estudio fueron realizados con tres observadores motivo por el cual el nivel de concordancia disminuyó en cierto modo. Por lo que se sugiere la elaboración de un protocolo en la técnica de observación, en el que se considere el contexto local en el que se realiza la observación y que sea independiente del método de tinción que se utilice.

Por la naturaleza multifocal de las lesiones gástricas es imprescindible que exista adecuada representación de las diferentes regiones del estómago. El consenso del sistema actualizado de Sydney recomienda como guía obtener un mínimo de biopsias de mucosa gástrica de sitios definidos para evaluar las lesiones asociadas con la presencia de *H. pylori*<sup>98</sup>.

---

<sup>97</sup> O Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of Staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000, 53: 756-759.

<sup>98</sup> Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996; 20: 1161-81.

Aunque se prefiera frecuentemente el antro gástrico como zona elegida para la toma de la muestra de la biopsia con el fin de hacer evidente la infección por *Helicobacter pylori*, un cierto número de estudios indica que el organismo se encuentra en el cuerpo del estómago en la mayoría de casos.<sup>99</sup> En nuestro estudio se sugiere que para una mayor efectividad de la prueba de Hematoxilina Eosina en la identificación del microorganismo se realice una toma rutinaria de biopsia en la incisura angularis porque se encontró la sensibilidad más alta del estudio, además Pelayo Correa insiste en no ignorar la incisura para la toma de las biopsias, ya que las lesiones gástricas más tempranas y más avanzadas se encuentran en este sitio<sup>100</sup>.

---

<sup>99</sup> Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. Campylobacter pyloridis gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J Gastroenterol 1987;82:292-296

<sup>100</sup> Dixon M, Gentan R, Yardley J, Correa P. Classification and grading of gastritis: the updated Sydney System. Am J Surg Pathol, 1996; 20(10): 1161-1181

## 5.2. Conclusiones

1. La tinción de Hematoxilina Eosina para la identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas es una prueba aceptable en comparación a la realizada con Giemsa.
2. La sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos obtenidos en el presente estudio son concordantes con los referidos en la literatura mundial al respecto.
3. Las muestras tomadas en incisura angularis posibilitan que la prueba con Hematoxilina Eosina tenga mejor sensibilidad, especificidad y valores predictivos en la identificación de *Helicobacter pylori*.
4. La tinción de Hematoxilina Eosina es un buen procedimiento para la identificación de *Helicobacter* pero no alcanza al Gold estándar (Giemsa).
5. Existe un grado de concordancia moderado entre observadores cuando identifican *Helicobacter pylori* con ambas tinciones (Hematoxilina Eosina y Giemsa).
6. Para alcanzar resultados óptimos en la identificación histológica de *Helicobacter pylori* se debería utilizar la tinción de Giemsa, aunque la Hematoxilina Eosina es un método alternativo aceptable, sobre todo en las biopsias de incisura angularis.

### 5.3. Recomendaciones

1. En primera instancia se debería elaborar un plan de diagnóstico temprano de *Helicobacter pylori*, por parte de las autoridades de Salud para prevenir las lesiones gástricas asociadas.
2. Se debería crear un protocolo de observación para la identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas independientemente de que tinción se utilice.
3. El personal que realiza las Endoscopías Digestivas Altas debería incluir una muestra de incisura angularis para asegurar una mejor detección de *Helicobacter pylori*.
4. Ya que la prueba con Hematoxilina Eosina no alcanza los valores de sensibilidad y especificidad de Giemsa para la identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas se sugiere que se realice de rutina la coloración de Giemsa.
5. Se recomienda realizar un estudio en el que se evalúe la utilidad del Giemsa para el estudio morfológico de la mucosa gástrica.
6. Se debería hacer un estudio de densidad de colonización de *Helicobacter pylori* dependiendo del área gástrica (antro, incisura angularis o cuerpo).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Marshall BJ et al. Attempt to fulfill postulates for pyloric *Campylobacter*.  
Med J Aust 1985;142:436-439
2. Pounder RE, Ng D. the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the  
different countries. Aliment Pharmacol Ther 1995
3. Mejía J, Nicolalde M. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes de  
consulta externa gastroenterológica Hospital IESS Reg.5. Riobamba: Informe  
Institucional;1998.
4. Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. *Campylobacter pyloridis* gastritis  
I:Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J  
Gastroenterol 1987;82:292-296
5. Blaser MJ. Gastric *Campylobacter*-like organism gastritis and peptic ulcer  
disease. Gastroenterol 1987;93:371.
6. Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ, Carrick J, Ralston M, Brady L, Lee A.  
*Campylobacter pyloridis* gastritis II: Distribution of bacteria and associated  
inflammation in the gastroduodenal environment. Am J Gastroenterol  
1987a;82:297-301
7. Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients  
with Barrett's esophagus. Gastroenterology 1988;95:216-218.
8. Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients  
with Barrett's esophagus. Gastroenterology 1988;95:216-218.
9. Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ. Simplified techniques for identifying

Campylobacter pyloridis. Clin Pathol 1986;39:1279

10. Madan E, Kemp J, Wesrblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of straining methods for identifying Campylobacter pylori. Am J Clin Pathol 1988;90:450-453
11. Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA, Tseng J. Improves visualization of mucus penetrattion by Campylobacter pylori using Brown-Hopps stain. J Clin Pathol 1988;41:232
12. Carlo A. Fallone , Vivian G. Loo , John Lough & Alan N. Barkun. **Hematoxylin and Eosin Staining of Gastric Tissue for the Detection of *Helicobacter pylori***. Helicobacter Volume 2, Issue 1 , Pages32 – 35 1997 Blackwell Science, Inc.
13. Bizzozero G. Ueber die schlauchformigen drusen des megendarmkarnals und die baziehungen ihres epithels zudem oberfachenepithel der schleimhaur. Arch F Mikr Anat 1893;42:82-152.
14. Kreintz W. Ueber das auftreten von spirochaeten verschiendner form im mageninhalt bei carcinoma ventriculi. Dtsch Med Wochenschr 1906;32:872.
15. Doenges JL. Spirochetes in the gastric glands of macacus Rhesus and humans without definite history of related disease. Proc Soc Exp Med Biol 1938;38:536-538.
16. Freedberg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis 1940;7:443-538.
17. Palmer ED. Investigation of the gastric spirochaetes of human.

Gastroenterol 1954;27:218-220-

18. Steer HW, Colin-Jones GG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975;16:590-597.
19. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311-1315
20. Marshall BJ, Amstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985;142:436-469.
21. Morris a, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987;87:192-198
22. Lee A, Hazell SL. *Campylobacter pylori* in health and disease: an ecological perspective. *Microb Ecol Hlth and Dis* 1988;1:1-16
23. **Cave DR.** 1997. Epidemiology and Transmission of *Helicobacter pylori* Infection. How Is *Helicobacter pylori* Transmitted?. *Gastroenterology*. **113**: S9-S14.
24. Parsonnet J. Factors associated with disappearance of *Helicobacter pylori* in the West. In: *Helicobacter pylori. Basic Mechanisms to Clinical Cure*. 2000; 45-52
25. Palli D: Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence. *J Gastroenterology* 2000; 35:84-89
26. Asghar RJ, Parsonnet J: *Helicobacter pylori* and risk for gastric adenocarcinoma. *Sem Gastroenterology* 2001;12:203-208
27. Pounder RE, Ng D. the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the

- different countries. *Aliment Pharmacol Ther* 1995
28. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, McConnell W, Harper WES. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter mustelae* comb. nov., and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int J Syst Bact* 1989; 39:397-405
29. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, De Ley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bact* 1991; 41:88-103
30. Marshall BJ et al. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985
31. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986
32. Geis G, Leying H, Suerbaum S, Mai U, Opferkuch W. Ultrastructure and chemical analysis of *Campylobacter pylori* flagella. *J Clin Microbiol* 1989
33. Hazell SL, Lee A. *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion, and gastric ulcers. *Lancet* 1986
34. Turbett GR, Hoj PB, Horne R, Mee BJ. Purification and characterization of the urease enzymes of *H. pylori* from humans and animals. *Infect Immunit* 1992
35. Smith GW, Tasman-Jones C, Wiggins PM, Lees SP. Pig gastric mucus: a one-

- way barrier for H+. *Gastroenterology* 1985
36. Klucinski W, Targowski SP. Ammonia toxicity for mammalian and avian lymphocytes from blood. *Immunopharmacol* 1984
37. Slomiany BL, Murty VLN, Piotrowsky J et al. H. pylori and gastric mucus integrity. En: Menge H, Gregor M, Tytgat GNJ, eds. *Helicobacter pylori*. Springer Verlag, Berlín, 1990
38. Slomiany BL, Slomiany A. Role of mucus in gastric mucosal protection. *J Physiol Pharmacol* 1991
39. Hazell SL, Markesich DC, Evans DJ, Evans DG, Graham DY. Influence of media supplements on growth and survival of *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 1989
40. Sleytr UB. Regular assays of macro molecules on bacterial cell walls: Structure, chemistry, assembly and function. *Internat Rev Cytology* 1987;53:1-64.
41. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, Petracca R, Burrone D, Macchia G, Massone A, Papini E, Xiang Z, Figura N, Rappuoli R. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci EE.UU* 1993
42. Mooney C, Keenen J, Munster D, Wilson I, Allardyce R, Bagshaw P, Chapman D, Chadwick V. Neutrophil activation by *Helicobacter pylori*. *Gut* 1991
43. Dick JD. *Helicobacter (Campylobacter) pylori*: A New Twist to an old Disease. *Ann Rev Microbiol* 1990

44. Chen XG, Correa P, Offerhaus J, Rodríguez E, Jamey F, Hoffman E, Fox J, Hunter F, Diavolitsis S. Ultrastructure of the gastric mucosa harboring Campylobacter-like organism. *Am J Clin Pathol* 1986
45. Buck GE. Campylobacter pylori and gastroduodenal disease. *Clin Microbiol Rev* 1990
46. Correa P. The epidemiology and pathogenesis of chronic gastritis: three etiologic entities. En: *Frontiers of Gastrointestinal Research*. Van der Reis L, ed. Karger, Basel, 1980;6:98- 108
47. Correa P. Gastritis crónica. En: *Enfermedades Digestivas*. Vilardell F, Rodes J, Malagelada JR et al, eds. Ediciones CEA, Madrid, 1990
48. Morris A, Nicholson G. Ingestión of Campylobacter pyloridis causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987
49. Correa P, Cuello C, Duque E. Carcinoma and intestinal metaplasia of the gastric mucosa in Colombian migrants. *J Natl Cancer Inst* 1970
50. Stolte M, Batz C, Eidt S, Bayerdorffer E. Hypertrophic gastritis in H. pylori infection. En: *Helicobacter pylori, basic mechanisms to clinical cure*. Hunt R, Tytgat G, eds. Kluwer Academic Publishers. Boston, 1993
51. Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis *Lancet* 1983;i:1273
52. Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ. Simplified techniques for identifying Campylobacter pyloridis. *Clin Pathol* 1986;39:1279
53. Madan E, Kemp J, Wesrblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of

- straining methods for identifying *Campylobacter pylori*. *Am J Clin Pathol* 1988;90:450-453
54. Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA, Tseng J. Improves visualization of mucus penetrattion by *Campylobacter pylori* using Brown-Hopps stain. *J Clin Pathol* 1988;41:232
55. Madan E, Kemp J, Westblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. 1988 "Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. *Am J Clin Pathol* 1988 Oct;90(4):450-3.
56. Rotimi, A Cairns, S Gray, P Moayyedi, M F Dixon. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000;53:756-759; doi:10.1136/jcp.53.10.756
57. Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1988;26:1393-1394
58. Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. *Campylobacter pyloridis* gastritis I:Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. *Am J Gastroenterol* 1987;82:292-296
59. Hazell SL, Hennessy WB, Borody TJ, Carrick J, Ralston M, Brady L, Lee A. *Campylobacter pyloridis* gastritis II: Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. *Am J Gastroenterol* 1987a;82:297-301
60. Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients

- with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1988;95:216-218.
61. Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1988;95:216-218.
62. Blaser MJ. Gastric *Campylobacter*-like organism gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterol* 1987;93:371.
63. Simor AE, Cooter NB, Low DE. Comparison of four stains and a urease test for rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990;9:350-352
64. Deltenre M, Glupczynski Y, De Prez C et al. The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1989;24 (suppl 160): 19-24
65. Vaira D, Holton J, Cairns S, Falzon M, Salmón PR. Four hour rapid urease test (RUT) for detecting *Campylobacter pylori*: is it reliable enough to start treatment. *J Clin Pathol* 1988; 41:355-356
66. Hirschl AM, Pletschette M, Hirschl MH, Berger J, Stanek G, Rotter ML. Comparison of different antigen preparations in an evaluation of the immune response to *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:570-575
67. Evans Jr DJ, Evans DG, Graham DY. A sensitive and specific serologic test for detection of *Campylobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1989;96:1004-1008
68. Newell DG, Johnstone BJ, Ali MH, Reed PI. An enzyme-linked

- immunosorbent assay for the serodiagnosis of *Campylobacter pylori*-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1988;23 (suppl 142):53-57
69. Loffeld RJLF, Vriese WTJ, Stobberingh EE. Usefulness of several commercial enzyme-linked immunoassays for detection of *Helicobacter pylori* in clinical medicine. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993;5:333-337
70. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans Jr DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. *Gastroenterology* 1991;100:1495-1501
71. Logan R. Urea breath tests for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993;5 (suppl 2):S46-S49
72. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection, the Maastricht consensus report. *Gut* 1997
73. Axon ATR, Moayyedi P. Eradication of *Helicobacter pylori*: omeprazole in combination with antibiotics. *Scand J Gastroenterol* 1996
74. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection – The Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007;56:772–81.
75. Garvey W, Fathi A, Bigelow F. Modified Steiner for the demonstration of spirochetes. *J histotechnol* 1985; 8:15-7
76. Kolts BE, Joseph B, Achem SR, Bianchi T, Monteiro C. *Helicobacter pylori* detection. A quality and cost analysis. *Am. J Gastroenterol* 1993; 88:650-5
77. Taj Y, Essa F, Kasmi SU, Abdullah E. Sensitivity and specificity of various

- diagnostic test in the detection of *Helicobacter pylori*. *J Coll physicians Surg Pak* 2003; 13:90-3
78. O Rotimi, A Cairns, S Gray. Histological Identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of Staining methods. *Journal of Clinical Pathology* 2000, 53:756-759.
79. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc* 1997; 45: 463-7.
80. Wabinga HR. Comparison of immunohistochemical and modified Giemsa stains for demonstration of *Helicobacter pylori* infection in an african population. *Afr Health Sci* 2002; 2: 52-5
81. Fallone Ca, Loo VG, Lough J, Barkun AN. Hematoxylin and eosin staining of gastric tissue for the detection of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1997; 2: 32-5.
82. Anim JT, Al-Sobkie N, Prasad A, John B, Sharma Pn, Al-Jamar I. Assessment of different methods for staining *Helicobacter pylori* in endoscopic gastric biopsies. *Acta Histochem* 2000; 102: 129-37.
83. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996; 20: 1161-81.
84. Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. *Campylobacter pyloridis* gastritis

I:Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J Gastroenterol 1987;82:292-296

85. Dixon M, Genta R, Yardley J, Correa P. Classification and grading of gastritis: the updated Sydney System. Am J Surg Pathol, 1996; 20(10): 1161-1181

## ANEXO 1

### Consentimiento informado

#### **COMPARACIÓN DE LAS TINCIONES HEMATOXILINA-EOSINA Y GIEMSA PARA LA IDENTIFICACION DE HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE BIOPSIA GASTRICA DE PACIENTES DEL HOSPITAL IESS RIOBAMBA ENTRE OCTUBRE Y DICIEMBRE DEL 2009.**

Señor usuario del servicio de Gastroenterología del IESS de Riobamba, de la manera más comedida le invitamos a Usted a participar en el estudio propuesto, usted ha sido elegido por acudir a este servicio con un pedido para realizarse endoscopia.

Una endoscopia gastrointestinal alta es un procedimiento que permite que el médico vea el interior de su esófago y estómago. Utiliza un instrumento llamado endoscopio o tubo visor. Los endoscopios tienen una cámara diminuta unida a un tubo largo y delgado para ver el interior de un órgano.

Las personas por realizarse este examen no pagarán ningún costo económico adicional y sus resultados en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, serán socializados con los directivos y colegas médicos del hospital del IESS con los mismos pacientes y familiares.

La información obtenida será confidencial. Su participación es voluntaria; en caso de negarse a participar, con seguridad, no se afectarán las relaciones personales con la institución.

En caso de aceptar a participar en el estudio se tomarán los siguientes datos: nombre, edad, estado civil, nivel de instrucción.

También se le realizará la endoscopia digestiva alta y se le tomará biopsias del estómago. En la muestra se analizará la presencia de *Helicobacter pylori* mediante coloraciones de Hematoxilina Eosina y Giemsa.

Después de haber leído detenidamente la hoja de consentimiento informado y de haber escuchado las respuestas a mis inquietudes en forma voluntaria autorizo a que se me tomen los datos necesarios y a realizarme la endoscopia.

Voluntariamente acepto mi participación en este estudio y entiendo que tengo el derecho de retirarme en cualquier momento sin que esto signifique ningún perjuicio para mi persona.

Fecha -----

Firma-----

## ANEXO 2

### FORMULARIO PARA RECOLECCION DE DATOS

Identificación:	N° HC
<div style="text-align: right; margin-bottom: 10px;"> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> </div> Fecha de nacimiento Día <div style="margin-top: 20px; display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> </div> <div style="text-align: center;"> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <span>Mes</span> <span>Año</span> </div>	<div style="text-align: center; margin-bottom: 10px;"> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> </div> Edad <div style="margin-top: 20px;">             Años Cumplidos           </div>
Sexo	Hombre ( )  Mujer ( )
Estado Civil Actual (En el último mes)	Soltero ( )  Viudo ( )  Unión libre ( )  Casado ( )  Divorciado ( )  Separado ( )
Nivel de Instrucción:	Primaria ( )  Secundaria ( )  Superior ( )  Ninguna ( )

**ANEXO 3**  
REGISTRO DE OBSERVACIÓN  
HEMATOXILINA – EOSINA

Identificación	Helicobacter pylori					
	ANTRO		INCISURA ANGULARIS		CUERPO	
1	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
2	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
3	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
4	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
5	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
6	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
7	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
8	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
.....	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
114	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>

REGISTRO DE OBSERVACIÓN

GIEMSA

Identificación	Helicobacter pylori					
	ANTRO		INCISURA ANGULARIS		CUERPO	
1	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
2	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
3	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
4	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
5	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
6	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
7	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
8	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
.....	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>
114	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>	Positivo	<input type="checkbox"/>
	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>	Negativo	<input type="checkbox"/>