

**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE
MANABI**

**FACULTAD DE ESPECIALIDADES MEDICAS EN
LAS AREAS DE LA SALUD**

CARRERA: LABORATORIO CLINICO

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA INVESTIDURA DE:

LICENCIADO EN: LABORATORIO CLINICO

TEMA:

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESPECIFICIDAD
DEL HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE
SANGRE Y HECES A 100 PACIENTES DE 30 A 80
AÑOS ATENDIDOS EN EL LABORATORIO “PALACIO
ALCIVAR” DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO, DURANTE
EL PERIODO DE MAYO A NOVIEMBRE DEL 2007”.**

AUTOR:

WILTER MELVIN MACIAS MENDOZA

DIRECTOR DE TESIS:

LCDO. PABLO BARREIRO MACIAS

MANTA – MANABI - ECUADOR

TEMA:

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESPECIFICIDAD DEL HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE SANGRE Y HECES A 100 PACIENTES DE 32 A 80 AÑOS ATENDIDOS EN EL LABORATORIO “PALACIO ALCIVAR” DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO, DURANTE EL PERIODO DE MAYO A NOVIEMBRE DEL 2007”.



UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE ESPECIALIDADES TECNOLOGICAS EN
EL AREA DE SALUD

CARRERA: LABORATORIO CLINICO

Manta, 17 de Noviembre de 2008

Sr. Dr.
Hernán Rodríguez Barcia
Decano de la Facultad de Especialidades Tecnológicas

De mi consideración.

Por la presente comunicamos a Ud. Que de acuerdo a los requerimientos contemplados en los reglamentos de la universidad; procede a la revisión, análisis y valoración del borrador de tesis de:

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESPECIFICIDAD DEL HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE SANGRE Y HECES A 100 PACIENTES DE 30 A 80 AÑOS ATENDIDOS EN EL LABORATORIO “PALACIO ALCIVAR” DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO, DURANTE EL PERIODO DE MAYO A NOVIEMBRE DEL 2007”.

Previa a la obtención del título de licenciado en Laboratorio Clínico, el mismo que está de acuerdo con la reglamentación existente en la escuela.

Por lo tanto como miembro del tribunal; le otorgo la nota de.....

Atentamente.

Lcda. Josefa Galarza



UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE ESPECIALIDADES TECNOLOGICAS EN
EL AREA DE SALUD
CARRERA: LABORATORIO CLINICO

Manta, 17 de Noviembre de 2008

Sr. Dr.
Hernán Rodríguez Barcia
Decano de la Facultad de Especialidades Tecnológicas

De mi consideración.

Por la presente comunicamos a Ud. Que de acuerdo a los requerimientos contemplados en los reglamentos de la universidad; procede a la revisión, análisis y valoración del borrador de tesis de:

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESPECIFICIDAD DEL HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE SANGRE Y HECES A 100 PACIENTES DE 30 A 80 AÑOS ATENDIDOS EN EL LABORATORIO “PALACIO ALCIVAR” DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO, DURANTE EL PERIODO DE MAYO A NOVIEMBRE DEL 2007”.

Previa a la obtención del título de licenciado en Laboratorio Clínico, el mismo que está de acuerdo con la reglamentación existente en la escuela.

Por lo tanto como miembro del tribunal; le otorgo la nota de.....

Atentamente.

Dra. Patricia Gómez



**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABI
FACULTAD DE ESPECIALIDADES TECNOLOGICAS EN
EL AREA DE SALUD**

CARRERA: LABORATORIO CLINICO

TEMA:

**“EL ESTUDIO DE LA ESPECIFICIDAD Y COMPARACION DEL
HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRAS DE SANGRE Y HECES
EN 100 PACIENTES DE 30 A 80 AÑOS ATENDIDOS EN EL
LABORATORIO “PALACIO ALCIVAR” DE LA CIUDAD DE
PORTOVIEJO, EN EL PERIODO DE MAYO A NOVIEMBRE DEL
2007”.**

Sometida a consideración de los honorables miembros que conforman el tribunal en el área de salud, previo a la obtención del título de licenciado en Laboratorio Clínico, por parte del autor Wilter Melvin Macías Mendoza.

MIEMBROS DEL TRIBUNAL	FIRMA	NOTA
Lcda. Josefa Galarza	-----	-----
Dra. Patricia Gómez	----- -----	----- -----

CERTIFICACION

En calidad de director de tesis certifico que el presente trabajo de tesis ha sido elaborado por el autor **WILTER MELVIN MACIAS MENDOZA** egresado de la Facultad de Especialidades Tecnológicas en las Áreas de Salud, Especialidad de Laboratorio Clínico que se acuerda al respectivo tema aceptado por el Honorable Consejo de Facultad.

El contenido, las expresiones e ideas de este trabajo son exclusivos de los autores.

Atentamente.

Lcdo. Pablo Barreiro Macías
DIRECTOR DE TESIS

DECLARATORIA

Yo, **WILTER MELVIN MACIAS MENDOZA**, de la Facultad de Especialidades Tecnológicas en las Áreas de Salud, Especialidad de Laboratorio Clínico, declaro que este trabajo fue realizado en el Laboratorio Clínico “Palacio Alcívar” de la ciudad de Portoviejo, y es de carácter inédito.

El Autor

WILTER MACIAS MENDOZA

AGRADECIMIENTO

El autor de la presente investigación expresa sus más sinceros agradecimientos a las autoridades de la facultad de especialidades tecnológicas en el área de la salud, de la universidad laica “Eloy Alfaro” de Manabí.

A él Lcdo. Pablo Barreiro Macías por su acertada dirección en mi investigación, a la Dra. Ida Alcívar de palacio y el Dr. Pablo Palacio Alcívar directores del laboratorio clínico “PALACIO ALCIVAR”, a todo su personal por haberme permitido realizar mi tema de tesis, y a todas las personas que me brindaron siempre su apoyo de manera incondicional.

Sin todo ellos este trabajo no hubiera sido posible.

El autor

Wilter Macías Mendoza

DEDICATORIA

Este ha sido un trabajo realizado con gusto y dedicación, y me ha dado logros satisfactorios que impartiré en la sociedad, dedico este trabajo, principalmente a DIOS sobre todas las cosas por darme cada día la perseverancia y la fortaleza para lograr culminar mis metas propuestas.

A mis padres Wilter Macías y Mayra Mendoza que gracias a sus esfuerzos y sabios consejos supieron inculcar en mi persona buenos principios morales como espirituales, a mis hermanos María y Juan, y demás familiares por contribuir con su granito de arena para verme convertido en un gran profesional.

Al Lcdo. Pablo Barreiro mi director de tesis y gran maestro, y demás profesores por sus grandes conocimientos clínicos impartidos en el aula de manera incondicional.

A mis amigos, en especial al Lcdo. Jorge Pachay quien con sus sabios consejos y sus conocimientos impartidos, fue un pilar fundamental en la realización de este proyecto.

A mi novia Araceli Quiroz, a quien amo con todo mi corazón gracias con el apoyo y las fuerzas que me das día a día.

Y a todas las personas que de una u otra manera me apoyaron para seguir adelante en los proyectos de mi vida.

Gracias

Autor

Wilter Macías Mendoza.

INDICE GENERAL DE CONTENIDO TEMATICO.

I. INTRODUCCION.	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	3
III. JUSTIFICACION.	5
IV. OBJETIVOS.	6
IV. I OBJETIVOS GENERAL.	6
IV. II OBJETIVOS ESPECIFICOS.	6
V. PREGUNTAS DE LA INVESTIGACION.	7
VI. MARCO TEORICO.	8
VII. HIPOTESIS.	60
VII. HIPOTESIS PRINCIPAL.	60
VII. HIPOTESIS ALTERNATIVA.	60
VIII. CONCEPTUALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	61
IX. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.	62
IX.1. OPERACIONALIZACION DE LA HIPOTESIS PRINCIPAL.	62
IX.2. OPERACIONALIZACION DE LA HIPOTESIS ALTERNATIVA.	63
X. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN DE CAMPO.	64
X.1. DISEÑO DEL PROYECTO.	64
X.2. TIPO DE ESTUDIO.	64
X.3. UNIVERSO Y POBLACIÓN.	64
X.4. INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS.	65
X.5. TECNICAS DE RECOLECCION DE DATOS.	65
XI. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO.	66
XI.1. RECURSOS HUMANOS.	67
XI.2. RECURSOS INSTITUCIONALES.	67
XI.3. RECURSOS MATERIALES.	67
XI.4. RECURSOS ECONOMICOS.	68
XII. INTERPRETACION Y GRAFICOS ANALITICO DE LOS RESULTADOS DEL TRABAJO DE CAMPO.	69
XIII. COMPROBACION DE HIPOTESIS.	81
XIV. COMPROBACION DE VARIABLES Y OBJETIVOS	82

XV. INFORME EJECUTIVO CON IMPACTO SOCIAL.	83
XVI. CONCLUSIONES.	85
XVII. RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS.	87
XIII. PROPUESTA.	89
IXX. BIBLIOGRAFIAS.	91
XX. ANEXOS.	92

I. INTRODUCCION

La infección por *Helicobacter pylori* es una de las más comunes en el hombre y aunque ocurre en todo el mundo, es más frecuente en los países desarrollados y la prevalencia disminuye cuando aumenta el nivel socioeconómico.

Helicobacter pylori es un bacilo Gramnegativo corto, con múltiples flagelos, microaerófilo, Presenta dimensiones de 0,5 a 1,0 um de ancho y 3,0 um de largo, tiene una morfología espiral en forma de sacacorchos, Coloniza las capas profundas del moco de recubrimiento gástrico y duodenal, y se adhiere a las células epiteliales superficiales de la mucosa del estómago y duodeno, sin invadir la pared. La bacteria segrega amoníaco, alcalinizando el medio; así se protege de la acción acídica del jugo gástrico. El amoníaco además irrita la mucosa, ayudado por proteasas y fosfolipasas bacterianas que destruyen el moco protector. La mucosa y su lámina propia son invadidas por un denso infiltrado de células inflamatorias, especialmente neutrófilos.

Esta bacteria ha sido identificada como agente causal del 85% de las ulcera péptica, 100% de gastritis crónica y cáncer gástrico clasificado además como carcinógeno tipo1. Como resultado de su interferencia esta bacteria es capaz de causar deficiencia en la absorción de nutrientes que pueden comprometer el estado nutricional del 80% individuos afectados y vincularse con la aparición de manifestación carenciales o con el agente causal de enfermedades crónicas.

Con toda probabilidad; 70% de la adquisición natural de la infección por *Helicobacter pylori* se produce con frecuencia en la edad infantil y una vez establecida la infección persiste durante toda la vida, Aunque también se ha descrito su eliminación natural. Se considera que su adquisición es por contacto interpersonal aunque el contacto con animales o con agua contaminada se ha considerado como fuentes potenciales de infección. Como posibles vías se propusieron la oral-oral, fecal-oral o una fuente común ambiental.

El individuo infectado con sus heces o manos contaminadas pasa la bacteria a los alimentos, agua u objetos que toca y de aquí se propagará a otros individuos. La transmisión de *Helicobacter pylori* se produce sobre todo entre miembros de la misma familia. No se transmite por vía sexual.

La infección de *Helicobacter pylori* se puede diagnosticar por métodos invasivos (se requiere endoscopia con toma de biopsia gástrica), o no invasivos (no requieren endoscopia previa). Esta bacteria se adapta a la mucosa gástrica y produce una infección inmunológica admitiendo que la contaminación se produce por las causas anteriormente anotadas.

En este trabajo quiero recalcar la utilidad y comodidad de ciertos métodos no invasivos como son los estudios serológicos para determinar la presencia de los anticuerpos mediante la técnica de quimioluminiscencia en sangre dejando claro las ventajas y desventajas de la misma, y a la vez realizar un estudio comparativo con la prueba de detección de antígeno en materia fecal, mediante la técnica de micro Elisa. Para que de esta manera las personas que lean esté material tengan la seguridad de un diagnostico específico y sensible para detectar la presencia de esta bacteria que está causando daños irreversibles en el ser humano.

En el marco teórico; El capítulo I trata de la identificación, conceptualización, las definiciones, la interpretación científica del *Helicobacter pylori*, así de la enfermedades más peligrosa de esta bacteria, que es la gastritis y que si no se recibe el tratamiento adecuado i a tiempo puede producir el cáncer gástrico.

El capítulo II y III contempla las aplicaciones de los métodos seleccionados (invasivos y no invasivos) y las técnicas usadas para la recolección de datos, tipos de muestras, procesamientos de la tesis.

Es por esto que en el presente trabajo de acuerdo con el titulo se centra su atención en los génesis de la patología gastroduodenal asociada con la infección de *Helicobacter pylori* y en factores

geográficos y socioeconómicos que parecen orientar la frecuencia de su aparición, en diferentes regiones del mundo, y su respectivo diagnóstico mediante los métodos seleccionados anteriormente (invasivos y no invasivos) para su respectiva comparación en sangre y heces, y también en la importante posibilidad de que tratando a tiempo la infección pudiera reducirse la aparición de cáncer gástrico.

La metodología de la investigación aplicada en este trabajo es el Diseño Cuasi-Experimental, del tipo prospectivo sobre la población; porque está fundado en la experiencia, que se sabe y que sirve de experimento y Prospectivo porque determina el conjunto de análisis y estudios realizados con el fin de explicar o de predecir la incidencia del *Helicobacter Pylori*.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El *Helicobacter Pylori* es una bacteria que vive en el agua contaminada y de aquí se propaga a la tierra, alimentos, etc. El hábitat primario del *Helicobacter pylori* es la mucosa gástrica del antro y el fondo del estómago de los seres humanos. El *Helicobacter pylori* tiene distribución mundial, Se estima que más de dos tercios de la población mundial se encuentra infectada por esta bacteria, al menos el 20% de las personas menores de 30 años se encuentra *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica, pero su prevalencia aumenta de 40 a 60% en personas mayores de 60 años, incluso en personas asintomáticas. La proporción de infección varía de nación a nación.

Si bien en los países subdesarrollados el contacto con el *Helicobacter pylori* se produce en las primeras etapas de la vida, la proporción es de alrededor de un 65% de la población, siendo mucho mayor en países del tercer mundo, En este último caso, es común, probablemente por las malas infraestructuras sanitarias, carecía de agua potable, cañerías de aguas servidas y sobre todo una mala higiene personal, encontrar infecciones en niños. Se desconoce su modo de transmisión exacto. Como posibles vías se propusieron la oral-oral, fecal-oral o una fuente común ambiental, El individuo infectado con sus heces o manos contaminadas pasa la bacteria a los alimentos, agua u objetos que toca y de aquí se propagará a otros individuos. La transmisión de *Helicobacter pylori* se produce sobre todo entre miembros de la misma familia. No se transmite por vía sexual.

En las naciones industrializadas, la infección se da principalmente en personas de edad avanzada cerca del 50% de los adultos mayores de 60 años se encuentran infectados, frente a un 20% que se presentan en personas de menos de 40 años y en los sectores más pobres. En un extenso estudio realizado en reclutas del ejército, encontraron una tasa global de positividad del 26.3%. Esta tasa se incrementa del 24% en el grupo de 17 a 18 años de edad al 43% en el de 24 a 26 años. La seropositividad fue del 44% en negros, del 38% en personas de origen hispanos y del 14% en blancos.

Con estos antecedentes es claro entender que en la población ecuatoriana, al igual que en otros países latinos y en general en los países pobres a nivel mundial la infección por *Helicobacter Pylori* esta diseminada con cerca del 80% de la población adulta contaminada.

Es así que se evaluaron de manera aleatoria pacientes provenientes de las cuatros regiones geográficas del Ecuador: litoral (costas del Pacífico), sierra (cordillera Andina), oriente (selva Amazónica) y región insular (Islas Galápagos). Se incluyeron pacientes traídos a los diferentes centros de salud pública entre Julio de 2001 y Julio del 2002. Para evaluar si existe asociación entre infección con *Helicobacter pylori* y sintomatología gastrointestinal recurrente, se excluyó aquellos pacientes que no recibieron tratamiento antiparasitario en más de un año desde la fecha que fueron incluidos en el estudio.

Se estudiaron 257 pacientes de los cuales 139 fueron de sexo femenino (54.08%) y 118 de sexo masculino (45.91%). Del total, 162 fueron *Helicobacter pylori* positivos representando una seroprevalencia de 63.03%. El mayor porcentaje de pacientes con anticuerpos fue encontrado en la sierra con un 71.7% y en la costa con un 68.6%, seguidos del oriente y la región insular con 52.3% y 20% respectivamente.

Frente a estas evidencias es necesario concienciar a las respectivas autoridades de salud y hacer énfasis en la implementación de normas de higiene adecuada. De esta manera se podría de mejorar la calidad de vida y los estratos socioeconómicos bajos.

III. JUSTIFICACION

Con este trabajo se deja evidencia de la sensibilidad y efectividad de los métodos no invasivos para el diagnóstico de Helicobacter Pylori que nos aportan un resultado similar más rápidos, menos traumático y menor costo que en los métodos invasivos.

Es por ello que se escogió para el estudio una población conformada por un número de 100 pacientes que se atendieron en el laboratorio clínico "Palacio Alcívar" de la ciudad de Portoviejo durante los meses de mayo a noviembre del 2007, los cuales se realizaron Helicobacter pylori tanto en sangre como en heces.

Los métodos en comparación son quimioluminiscencia y micro Elisa para lo cual se emplearon los equipos que posee la institución como son el Immulite 1000 y Chem Well.

Así mismo este estudio surge como necesidad de valorar y comparar los métodos de detección de Helicobacter Pylori de anticuerpos, en suero y de antígenos en heces, ya que la infección por esta bacteria provoca complicaciones a nivel gastrointestinal que se inicia con una inflamación en el revestimiento de la pared del estómago causando gastritis crónica en un 100% y en lo posterior transformarse en úlcera péptica duodenales en un 95% y terminar en cáncer. Antes del descubrimiento de Helicobacter pylori, éste se atribuía al estrés, a factores medioambientales usualmente relacionados con el individuo, la dieta y el entorno.

La incidencia de gastritis aumenta con la edad. En la población latinoamericana, incluyendo la ecuatoriana, el Helicobacter pylori es una importante fuente de morbilidad. Su prevalencia se encuentra entre el 10% al 80% y está relacionada con cuadros de gastritis crónica y úlcera péptica

Además se deja al alcance del lector las técnicas actualmente utilizadas para la determinación en sangre y en la materia fecal del Helicobacter Pylori para de esta manera lograr que más laboratorios se interesen por esta práctica. Ya que las pruebas no invasivas (UBT, serología para IgG, antígeno en heces), son tan precisas para determinar la presencia de Helicobacter pylori en pacientes no tratados como las pruebas invasivas (endoscopias, biopsias, CLO test).

IV. OBJETIVOS

IV. I OBJETIVO GENERAL

Establecer un estudio comparativo entre las técnicas de quimioluminiscencia y micro Elisa para detectar la presencia de anticuerpos y antígenos anti-*Helicobacter pylori* en muestras de sangre y heces fecales, en pacientes atendidos en el laboratorio clínico "PALACIO ALCIVAR" de la ciudad de Portoviejo y de esta manera contribuir a mejorar el estilo de vida o de salud del grupo en estudio con efecto del esquema multidisciplinario de salud, beneficiando con prevención a la familia o la comunidad.

IV. II OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Detectar la presencia de ANTICUERPOS IgG e IgM, específicos de Helicobacter pylori, en muestra de sangre.
- Determinar la presencia de ANTIGENOS de Helicobacter pylori en muestra de heces fecales.
- Demostrar cuál de las dos técnicas utilizadas es la más efectiva y específica en la determinación de Helicobacter pylori.
- Conocer los niveles de especificidad del Helicobacter pylori de acuerdo a las técnicas utilizadas en sangre y en heces, con relación a la edad y el sexo.
- Determinar los hábitos alimentarios del grupo en estudio.
- Conocer el grado de insalubridad y el bajo conocimiento ambiental del grupo étnico o la familia.
- Analizar el nivel del sistema inmunológico del grupo en cuestión.
- Proponer un plan de tratamiento con monitoreo frecuentemente; para recuperar la salud del grupo afectado, con énfasis a la prevención tanto en la familia como a la comunidad.

V. PREGUNTAS DE LA INVESTIGACION.

- ¿Qué es el Helicobacter pylori?
- ¿Cuáles de las técnicas utilizadas es más específica para la identificación del Helicobacter pylori?
- ¿Qué grupo poblacional es el más susceptible a contraer la infección por Helicobacter pylori?
- ¿Cuál anticuerpo es más específico para el diagnóstico de Helicobacter pylori; el IgG o IgM?
- ¿Serán las mujeres de 50 – 60 años de edad, las más vulnerables a contraer el Helicobacter pylori?
- ¿Serán los hombres los más afectados por el Helicobacter Pylori?
- ¿Cuál es el régimen y los hábitos alimentario y nutricional del grupo en cuestión y su familia (Café, Almuerzo, Merienda, Horarios)?
- ¿Qué nivel de conocimiento ambiental rodea el entorno del grupo infectado – objeto de investigación?
- ¿Cuál es el nivel de instrucción, orientación y estado civil del grupo?
- ¿Con qué frecuencia se realizan exámenes para determinar la presencia de la bacteria Helicobacter Pylori?

VI. MARCO TEORICO

ESQUEMA DE CONTENIDO DEL MARCO TEORICO.

CAPITULO I

I.1. ANATOMIA HUMANA DEL ESTOMAGO.	14
I.2. ESTRUCTURA DEL ESTOMAGO.	15
I.3. TRASTORNOS GASTRICOS.	16
I.4. ANTECEDENTES DEL HELICOBACTER PYLORI.	16
I.5. CARACTERISTICAS GENERALES.	17
I.6. ETIOLOGIA.	18
I.7. MORFOLOGIA.	18
I.8. CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS.	19
I.9. CARACTERISTICA DE VIRULENCIA.	21
I.10. EPIDEMIOLOGIA.	21
I.11. VIAS DE TRANSMICION.	22
I.12. MODO DE INFECCION.	23
I.13. CICLO DE LA INFECCION.	23
I.14. FACTORES PATOGENICOS.	24
I.15. PATOGENESIS.	24
I.16. FISIOPATOLOGIA.	25
I.17. ENFERMEDADES CAUSADAS POR EL H. PYLORI.	25
I.17.1. ENFERMEDADES DIGESTIVAS.	26
I.17.1.1. GASTRITIS.	26
I.17.1.2. ULCERAS PEPTIDAS DUODENALES.	27
I.17.1.3. CANCER GASTRICO.	28
I.17.2. ENFERMEDADES EXTRADIGESTIVAS.	29
I.17.2.1. ENFERMEDADES VASCULARES.	29
I.17.2.2. ENFERMEDADES DE LA PIEL.	30
I.17.2.3. ENFERMEDADES AUTOINMUNES.	31
I.17.3. ENFERMEDADES EN NIÑOS.	32
I.17.3.1. ANEMIA FERROPENICA.	32
I.17.3.2. RETRASO DE CRECIMIENTO.	32
I.18. TRATAMIENTO.	33

I.19. PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR H. PYLORI.	35
CAPITULO II	
II.1. DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI.	36
II.1.1. MÉTODOS INVASIVOS.	36
II.1.1.1. HISTOLOGÍA Y VISIÓN MICROSCÓPICA.	36
II.1.1.2. PRUEBA DE LA UREASA EN BIOPSIAS (CLO TEST).	37
II.1.1.3. CULTIVO DE HELICOBACTER PYLORI.	37
II.1.1.4. MÉTODOS MOLECULARES.	38
II.1.2. MÉTODOS NO INVASIVOS.	39
II.1.2.1. PRUEBA DE ALIENTO CON UREA MARCADA CON CARBONO.	39
II.1.2.2. MÉTODO SEROLÓGICO.	39
II.1.2.3. ANTÍGENO EN HECES.	40
CAPITULO III	
III.1. DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI IgG EN SANGRE.	42
III.1.1. EL SISTEMA INMULITE.	42
III.1.2. ¿QUE ES LA QUIMIOLUMINISCENCIA Y COMO FUNCIONA EL SISTEMA INMULITE?	43
III.1.3. HELICOBACTER PYLORI PARA EL DIAGNÓSTICO IN VITRO CON EL ANALIZADOR IMMULITE 1000.	45
III.1.3.1. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST.	45
III.1.3.2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS.	46
III.1.3.3. ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES.	47
III.1.3.4. MATERIALES SUBMINISTRADO.	47
III.1.3.5. ENSAYO.	48
III.1.3.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.	48
III.1.3.7. VALORES ESPERADOS.	49
III.1.3.8. LIMITACIONES.	49
III.1.3.9. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICA.	50
III.2. DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES.	51
III.2.1. ¿QUE ES LA MICRO ELISA?	51
III.2.2. LECTOR DE ELISA CHEM WELL.	51

III.2.3. PRINCIPIO Y ESPECIFICACIONES.	54
III.2.4. MICRO ELISA PARA EL DIAGNOSTICO DE HELICOBACTER PILORY EN HECES.	56
III.2.4.1. PRINCIPIO DE LA PRUEBA.	56
III.2.4.2. COMPONENTES.	57
III.2.4.3. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO.	57
III.2.4.4. NOTAS IMPORTANTES.	59
III.2.4.5. IMTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.	59

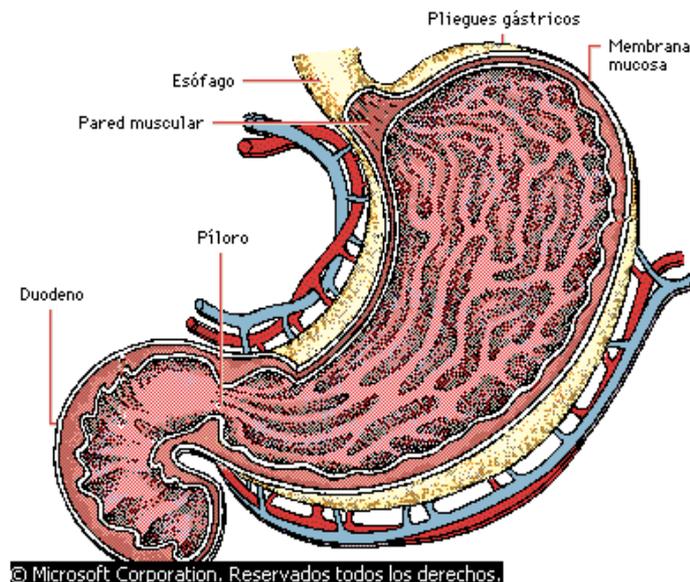
CAPITULO I

I.1. ANATOMIA HUMANA DEL ESTOMAGO.

El estómago es un saco hueco, elástico y musculoso con forma de J, siendo la parte más ancha del tubo digestivo. Su superficie externa es lisa, mientras que la interna presenta numerosos pliegues que favorecen la mezcla de los alimentos con los jugos digestivos.

Está situado en la zona superior de la cavidad abdominal ubicado en su mayor parte en el lado izquierdo del cuerpo, bajo el diafragma, el estómago es un órgano muscular que conecta el esófago con el intestino delgado. Se encuentra compuesto por una región cardíaca, que limita con el esófago mediante un esfínter llamado cardias; una región media, llamada cuerpo o antro, y una región pilórica que comunica con el intestino a través del esfínter pilórico.

Su principal función es la descomposición de los alimentos, por lo que gracias a sus contracciones se completa la acción digestiva mecánica. Además, en él se realiza también parte de la digestión química, gracias a la acción del jugo gástrico secretado por las glándulas que existen en sus paredes.



Las células de su revestimiento secretan enzimas, ácido clorhídrico y otros productos químicos que continúan el proceso digestivo que comienza en la boca. También produce sustancias mucosas que impiden el contacto con las propias paredes del estómago.

Constituye, así mismo, un órgano dilatado de almacenamiento. Un músculo circular que existe en la parte inferior, permite al estómago guardar casi un litro y medio de comida, lo que hace posible no tener que ingerir alimento cada poco tiempo.

I.2 ESTRUCTURA DEL ESTOMAGO.

Los tejidos del estómago incluyen una cubierta externa fibrosa que deriva del peritoneo y, debajo de ésta, una capa de fibras musculares lisas dispuestas en estratos diagonales, longitudinales y circulares. En la unión del esófago y el estómago, la capa muscular circular está mucho más desarrollada y forma un esfínter, el cardias.

La contracción de este músculo impide el paso de contenido esofágico hacia el estómago y la regurgitación del contenido gástrico hacia el esófago. En la unión del píloro y el duodeno existe una estructura similar, el esfínter pilórico.

La submucosa es otra capa del estómago formada por tejido conjuntivo laxo en el cual se encuentran numerosos vasos sanguíneos y linfáticos, y terminaciones nerviosas del sistema nervioso vegetativo. La capa más interna, la mucosa, contiene células secretoras; algunas segregan ácido clorhídrico, que no sólo neutraliza la reacción alcalina de la saliva, sino que proporciona un carácter ácido al contenido gástrico y activo a los jugos digestivos del estómago.

Estos jugos están secretados por un tipo diferente de células. Las enzimas que se encuentran en el jugo gástrico son pepsina, que en presencia de ácido fragmentan las proteínas en peptonas; la renina, que coagula la leche, y tal vez lipasa, que rompe las grasas en ácidos grasos y glicerol. Un tercer tipo de células producen mucosidades para proteger al estómago de sus propias secreciones.

Los tejidos del estómago, e incluso la mucosidad, son digeribles por los jugos gástricos. Sin embargo, en condiciones normales, el revestimiento mucoso se renueva con más rapidez que se elimina. Cuando un trastorno psicossomático o patológico impide la secreción adecuada de mucosidad, la mucosa gástrica se erosiona y se forma una úlcera.

I.3. TRASTORNOS GASTRICOS.

Muchos de los síntomas que se atribuyen a enfermedades del estómago pueden estar originados por trastornos psicossomáticos, enfermedades sistémicas generales o enfermedades de órganos vecinos, como el corazón, hígado o riñones. Además de las úlceras y el cáncer, las alteraciones gástricas incluyen: dispepsia (indigestión gástrica), gastritis y estenosis, además de las originadas por las cicatrices de las úlceras curadas.

El tratamiento de las dispepsias (molestias postprandiales) es el de la entidad causal. En el caso de trastornos orgánicos (gastritis, úlceras) se establece una pauta terapéutica atendiendo al tipo de alteración específica; así, se combina una dieta (absoluta, blanda) con fármacos del tipo antiácido (almagato, magaldrato) y bloqueantes de los receptores H₂ (cimetidina, ranitidina) y de la bomba de hidrogeniones (omeprazol).

Se ha demostrado en estudios recientes, la existencia de una bacteria (*Helicobacter pylori*) que vive en el estómago de las personas que presentan úlcera gástrica. Es resistente a la acidez del jugo gástrico y se piensa que es el agente causante del 70% de las úlceras gástricas.

I.4. ANTECEDENTES DEL HELICOBACTER PYLORI.

Las investigaciones realizadas acerca de la enfermedad ulcerosa, la gastritis crónica y el cáncer gástrico dan la posibilidad de que fuera un microorganismo, el *Helicobacter Pilory*.

La gastritis producida por el *Helicobacter Pilory* tiene amplia distribución en muchos países y puede ser una de la infecciones más frecuente en el hombre.

Esta enfermedad acido-péptica es altamente prevalente en el mundo y llega al 10%, y regionalmente como al 20 o 30%, se ha comprobado que es una patología frecuente en pediatría. Se ha relacionado con el 95% de las úlceras duodenales, el 70% de las úlceras gástricas, el 100% de gastritis crónicas activas.

Los microorganismos pertenecientes al género *Helicobacter* son bacterias que tienen interés en medicina por lo que se refiere a su

implicación en patologías gastroduodenales. Este género se refiere a grupos muy bien definidos de microorganismos, algunos de los cuales causan diarrea, gastritis e infecciones sistémicas en los seres humanos en todo el mundo.

Desde 1983 se ha dedicado un considerable interés al *Helicobacter Pilory* el cual se ha observado sobre la superficie del epitelio antral gástrico en pacientes con gastritis crónica activa.

La gastritis parece predisponer a la ulcera gástrica porque las células que están dañadas son más susceptibles a la digestión acida péptica.

No se debe olvidar que la mayoría de la población es asintomática y que esta colonización es directamente proporcional al grado de contaminación ambiental. En países en desarrollo aumentan a cifras del 70% y en los países desarrollados no sobrepasa el 60%.

El *Helicobacter Pilory* se encuentra solamente en células epiteliales gástricas secretoras de moco, este puede ser factor importante de la patogenia de enfermedad ulcerosa péptica, las lesiones ocasionadas por *Helicobacter Pilory* en la mucosa gástrica son segmentarias, significa esto que deja zonas sanas sin daño tisular y por tanto ausente de bacterias.

Es de cuando se pudo cultivar el *Helicobacter Pilory* en 1983 la evidencia científica lo relaciona cada vez con mayor certeza, en pacientes sintomáticos, con cambios inflamatorios en la mucosa gástrica en un 80% y con úlceras duodenales en 100% a tal punto que la enfermedad acido péptica a llegado a tener el mismo comportamiento epidemiológico que el del *Helicobacter Pilory*.

I.5. CARACTERISTICAS GENERALES.

Hasta finales del siglo XX los científicos consideraron al estomago como un ambiente hostil para el crecimiento bacteriano. Por primera vez en 1975, la gastritis se asocio con la presencia en la mucosa gástrica, de una bacteria Gramneegativa. EN 1983 Marshall y J.R. Warren cultivaron de la mucosa gástrica humana un microorganismo gramnegativo, microaerofilico y de forma espirada y estudiaron su asociación con la inflamación del aparato gastrointestinal.

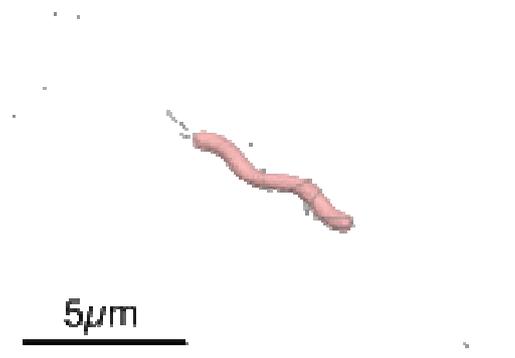
El microorganismo cultivado fue previamente incluido en el género *Campilobacter* con el nombre de *Campilobacter Pilory*, pero más

tarde se inserto en el nuevo género *Helicobacter*, en donde además de *Helicobacter Pilory* se encuentra otras onces especies que han sido aisladas de la mucosa gástrica e intestinal de otros mamíferos. Después de estos resultados se produjo su aislamiento, caracterización y cultivo.

I.6.ETIOLOGIA.

Helicobacter Pilory es el principal agente etiológico de la ulcera péptica, su erradicación conduce a la curación definitiva de las úlceras gástricas y duodenales, se encuentra implicado en la patología de la gastritis no atróficas y multifocal atrófica y en el riesgo de desarrollar cáncer gástrico, existen dos grupos distintos de *Helicobacter Pilory*, las bacterias de tipo 1 y las bacterias de tipo 2. Las primeras mas patógenas e inducen a una respuesta inflamatoria mas intensa.

I.7. MORFOLOGIA.



El *Helicobacter pylori* es un bacilo Gramnegativo corto, curvado, helicoidal, con múltiples flagelos y microaerófilo (con preferencia por medios escasos en oxígeno), Usa hidrogeno y metalogénesis como fuente de energía. Además es oxidasa y catalasa positiva.

Esta bacteria vive exclusivamente en la capas del mucus del estómago humano donde está parcialmente protegido del acido clorhídrico, siendo el único organismo conocido que puede subsistir en un ambiente tan extremadamente acido.

Tiene una morfología espiral en forma de sacacorchos cuando se encuentra en la mucosa gástrica y menos espiral cuando crece en

medios artificial. Presenta unas dimensiones de 0,5 a 1,0 μm de ancho y 3,0 μm de largo y las características estructurales típicas de los bacilos gramnegativo, con una membrana externa. Tiene de 4 a 6 flagelos polares, Fundamentales para su movilidad que están recubiertas por una vaina de estructura lipídica, igual que su membrana externa que parece tener la misión de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido.

Coloniza las capas profundas del moco de recubrimiento gástrico y duodenal, y se adhiere a las células epiteliales superficiales de la mucosa del estómago y duodeno, sin invadir la pared. La bacteria segrega amoníaco, alcalinizando el medio; así se protege de la acción ácida del jugo gástrico (pH 3).

El amoníaco además irrita la mucosa, ayudado por proteasas y fosfolipasas bacterianas que destruyen el moco protector. La mucosa y su lámina propia son invadidas por un denso infiltrado de células inflamatorias, especialmente neutrófilos.

El estudio morfológico del *Helicobacter Pylori* se pueden preparar y se colorean con tinciones de Giemsa, azul de toluidina o plata, crece con un oxígeno reducido a 37° durante 5-7 días, en agar chocolate o agar sangre.

I.8. CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS.

El *Helicobacter Pylori* segrega ciertas proteínas que atraen a los macrófagos y neutrófilos produciendo inflamación en la zona afectada. Produce además ciertos factores solubles entre los que se encuentran la ureasa, la citotoxina VacA (Vacualization Associated Gen) que produce la formación de vacuolas en las células gastrointestinales; la citotoxina CagA (Citotoxin Associated gen) que al igual que VagA está fuertemente asociada con el desarrollo de las úlceras.

❖ *La Ureasa*

Es una enzima capaz de hidrolizar la urea produciendo amonio y produce una alcalinización del ambiente, y le permite la colonización en el medio ácido del estomago e induce daño en las células del epitelio gástrico. Se puede detectar por el cambio de color rosa se produce al virar el Ph del medio que contiene urea.

La bacteria segrega además proteasas, citotoxina como interleuquinas (IL 1-12), factor de necrosis tumoral alfa (TNF alpha), factor de activación plaquetaria (FAF), Interferon gamma (INF gamma), especies reactivas de oxígeno (ROS), Identificado parte del mecanismo mediante el cual el Helicobacter Pilory es capaz de sobrevivir en el ácido del estómago.

❖ *La urel*

En mayo de 2000 Sachs y otros describieron una proteína que nombraron urel miembro de las amidoporina que regula la transferencia de urea del medio externo del estómago hacia el citoplasma del Helicobacter Pilory mediante canales que atraviesan la membrana celular.

Cuando el medio externo es excesivamente ácido, los canales incrementan 300 veces la cantidad de urea que entra al citoplasma del Helicobacter Pilory y ello resulta en la suficiente producción de amonio para neutralizar la peri plasma.

Si la urea no se encuentra presente, una insuficiente cantidad de urea entra por esos canales y se genera menos amonio. Sin la capacidad para neutralizar el propio peri plasma el Helicobacter Pilory se hace vulnerable al Ph del estómago. Este es mecanismo de adaptación, defensa y sobre vivencia en esas condiciones hostiles.

❖ *La catalasa*

Es la que permite a la bacteria resistir el ataque de las células inflamatorias permitiéndole sobrevivir en el hospedero

Es una enzima capaz de descomponer el agua oxigenada y convertir en agua liberando oxígeno. Esta liberación de oxígeno se observa visualmente como producción de burbuja.

❖ *Oxidasa*

Es una enzima capaz de oxidar un determinado sustrato formando compuesto coloreado purpura en presencia de oxígeno.

Todas las enzimas anteriores, excepto la catalasa son producidas por el Helicobacter Pilory y absorbidas por el epitelio gastrointestinal lo que desencadena un grupo de señales pro inflamatoria que culmina con el reclutamiento y activación de las células inflamatorias.

I.9. CARACTERISTICA DE VIRULENCIA.

El Helicobacter Pilory tiene característica que le permiten colonizar la mucosa del estomago, inducir daños en los tejidos o liberarse de los mecanismos de defensa del huésped. Entre sus características de virulencia son las siguientes:

❖ *Estructura espiral*

La estructura de la bacteria permite introducirse a través de la capa gástrica actuando de forma similar a un sacacorchos y favorece por lo tanto al acercamiento de las células epiteliales gástricas.

❖ *Movilidad*

Tiene de 4 – 6 flagelos polares que le permiten gran movilidad para escapar de la acidez del estomago, llegar a la mucosa del estomago, refugiarse, colonizar y no ser eliminado.

❖ *Las adherencias*

Posee una gran variedad de adhesivas que reconocen a los receptores de forma específica y se unen a ellos comenzando la colonización bacteriana.

I.10. EPIDEMIOLOGIA.

En la última década ha quedado patente que la infección por Helicobacter Pilory es una de las más frecuentes en humanos y la principal causas de gastritis crónica.

Gastritis e infección por Helicobacter Pilory presenta un perfil epidemiológico similar, con un incremento de prevalencia en los últimos años. Además de que un 60% de los afectados han adquirido la enfermedad e la infancia.

La prevalencia de la infección esta en relación con los aspectos socio-económicos de la población, la diseminación de persona a persona, y la prevalencia del uso del equipo del endoscopio son las alternativas más comunes de la población de la bacteria.

Se estima que más de dos tercios de la población mundial se encuentran infectados por esta bacteria. La proporción de infección varía de nación a nación. En el mundo occidental (Oeste de Europa, Norteamérica y Australia), la proporción es de alrededor de un 25 %

de la población, siendo mucho mayor en el tercer mundo. En este último caso, es común, probablemente por las malas condiciones sanitarias, encontrar infecciones en niños. En los Estados Unidos, la infección se da principalmente en personas de edad avanzada (más del 50 por ciento de éstas ocurren en personas de más de 60 años, frente a un 20 por ciento que se presentan en personas de menos de 40) y en los sectores más pobres.

Estas discrepancias se atribuyen a una mayor higiene y al mayor uso de antibióticos en países más ricos. De cualquier forma, en los últimos años están apareciendo cepas de *Helicobacter pylori* que presentan resistencia a antibióticos. En el Reino Unido hay incluso cepas resistentes a metronidazol.

I.11. VIAS DE TRANSMICION.

La infección del *Helicobacter Pylori* se adquiere a muy temprana edad principalmente en la infancia y afecta a la mitad de la población mundial, tiene mayor prevalencia en países en vía de desarrollo que en los desarrollados y se asocia con el nivel socio-cultural y económico de la población, todo esto se relaciona con la higiene ambiental.

❖ *La vía oral*

Se ha aislado *Helicobacter Pylori* en la saliva y en la placa dental lo que podría sugerir la posibilidad de que la cavidad bucal sea un reservorio material de la bacteria, y en la vía oral-gástrica también se la socia con la inadecuada desinfección de gastroscopios.

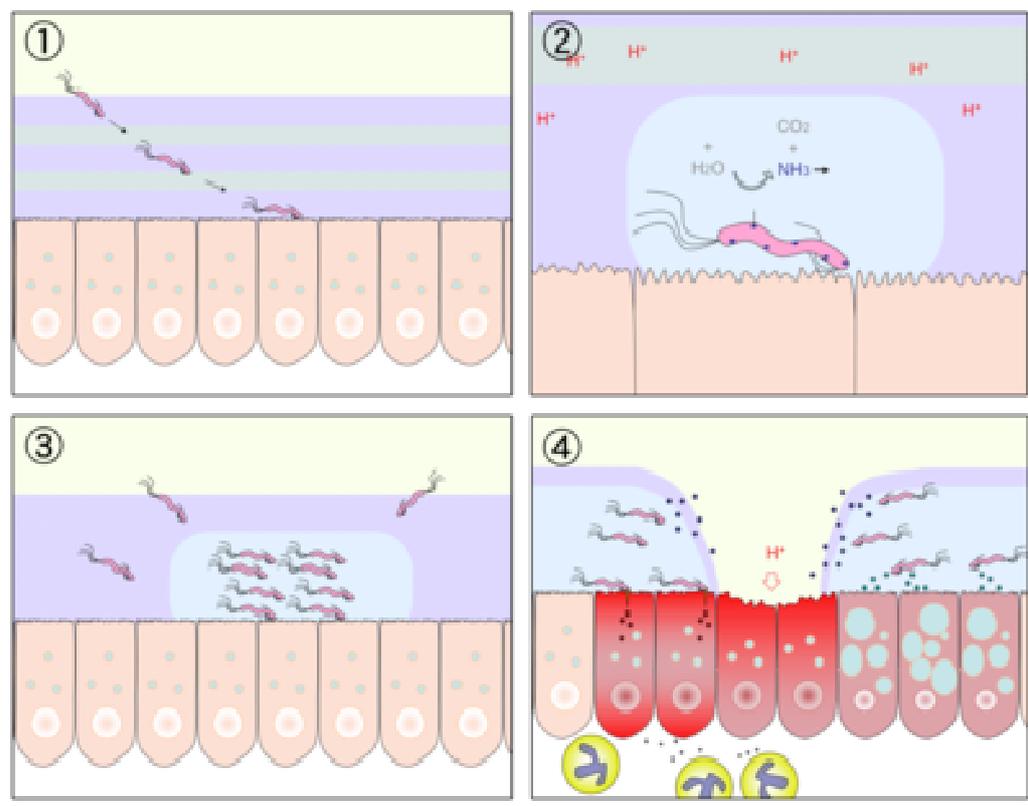
❖ *La vía fecal-oral*

Los patrones sociales y geográficos demuestran una alta incidencia en poblaciones en vías de desarrollo.

La diseminación de las bacterias con las heces de pacientes infectados lleva a la posibilidad de que las moscas sean los vectores mecánicos de la infección, sin embargo algunos autores dudan tal posibilidad aunque no se ha logrado infectar las moscas a partir de heces contaminadas con *Helicobacter Pylori*.

I.12. MODO DE INFECCION.

1. El *Helicobacter pylori* penetra la capa mucosa del estomago y se adhiere a la superficie de la capa mucosa epitelial gástrica.
2. Produce amoniaco a partir de la urea, para neutralizar el acido gástrico.
3. Migración y proliferación del *Helicobacter pylori* al foco de infección.
4. Se desarrolla la ulceración gástrica con destrucción de la mucosa, inflamación y muerte de las células mucosas.



I.13. CICLO DE LA INFECCION.

El sitio más común de infección es el área que no secreta ácido y se encuentra cerca del esfínter del píloro donde microorganismos persisten durante años por lo general más de 30.

Al inicio de lugar a la gastritis superficial crónica después produce las Úlceras.

Los investigadores informan que las proteínas de choque calórico del *Helicobacter Pylori* comparte antígenos con los tejidos de huéspedes y se cree que estos antígenos de reactividad cruzada producen auto inmunidad en forma de una respuesta mediada por la célula o por anticuerpos y da lugar a un nivel bajo de inflamación la misma que aumenta la secreción de gastrina y de ácido gástrico.

I.14. FACTORES PATOGENICOS.

Por otra parte el hidróxido de amonio generado durante la hidrólisis de urea contribuye significativamente el daño histológico asociado con esta infección, aunque debe enfatizar que el amonio no es tóxico, si no que el daño infringido es el resultado del ion hidróxido generado por el equilibrio del amonio con el agua, este desdobra el moco gástrico haciéndolo más fluido y la bacteria puede desplazarse más fácilmente para ganar espacio intercelulares.

La actividad de la urea también puede ser responsable indirectamente al daño tisular mediante su interacción con el sistema inmune.

El potencial de virulencia de esta enzima se refleja en la fuerte respuesta de inmunoglobulina séricas generada contra ellos detectadas en pacientes con gastritis activa debido al *Helicobacter Pylori*.

I.15. PATOGENESIS.

Los factores de la virulencia de *Helicobacter Pylori* causan gastritis, úlceras pépticas y algunos tipos de neoplasias, la principal evidencia para cada una de estas rutas consiste en el aislamiento e identificación del DNA del *Helicobacter Pylori* en saliva, placa dental, heces y agua.

El *Helicobacter Pylori* es un microorganismo altamente adaptado al ambiente gástrico de tal modo que los seres humanos y los primates no humanos son las únicas especies que adquieren la infección de modo natural, sin embargo siempre produce inflamación de la mucosa.

El *Helicobacter Pylori* origina una infección local que no tiene extensión en el ámbito sistémico, lo que sugiere que si bien los

mecanismos generales de defensa resultan protectores los mecanismos locales no lo son tanto.

La mucosa gástrica con infección crónica por *Helicobacter Pilory* se caracteriza por daño tisular y por el incremento de macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y linfocitos, durante la infección del *Helicobacter Pilory* se produce acumulación de fagocitos en la mucosa gástrica y la liberación por parte del *Helicobacter Pilory* de sustancias con actividad quimiotáctica capaces de atraer fagocitos.

El *Helicobacter Pilory* produce una respuesta de anticuerpos tanto en el suero como en el jugo gástrico.

I.16. FISIOPATOLOGIA.

Cuando la mucosa gástrica es colonizada por la bacteria, esta se altera notablemente y disminuye las microvelocidades quebrantándoles el medio de sostén e induciendo una proteo lisis. Estas alteraciones también se pueden producir en el duodeno en los casos de ulcera duodenales.

Los investigadores no están seguros de la manera en que las personas contraen el *Helicobacter Pilory*, pero creen que pueden ser por medio de los alimentos o el agua, también han encontrado al *Helicobacter Pilory* en la saliva de algunas personas infectadas, de manera que la bacteria puede propagarse también por el contacto boca a boca.

I.17. ENFERMEDADES CAUSADAS POR EL HELICOBACTER PYLORI.

Aunque aún no se han despejado muchas dudas sobre la bacteria en estudios, presentamos una lista parcial de las asociaciones establecidas hasta el momento:

❖ Digestivas:

Gastritis:

Úlcera péptica duodenal,

Cáncer gástrico.

❖ Extradigestivas

Vasculares (cardiopatía isquémica, síndrome Raynaud)

Autoinmune (Síndrome de Sjögren, linfoma de MALT,

Purpura de schönlein- Henoch)

Piel (rosácea, urticaria)

❖ Niños

Anemia ferropénica

Retraso de crecimiento

I.17.1. ENFERMEDADES DIGESTIVAS.

I.17.1.1. GASTRITIS.

La gastritis se origina después de la infección por *Helicobacter Pylori* puede desarrollarse sin manifestaciones o bien origina la manifestación clínica propia de la gastritis aguda (dolor epigástrico, náuseas y vómito).

❖ *La gastritis aguda* por *Helicobacter Pylori* es poco frecuente y cuando se ha descrito ha sido tras ingestión accidental o en voluntarios. Su curso es 7 a 10 días y puede evolucionar a la eliminación espontánea del *Helicobacter Pylori* o más frecuentemente a su cronicidad.

❖ *La gastritis crónica* se caracteriza por la infiltración inflamatoria crónica, constituida por linfocitos y células plasmáticas, con presencia de folículos linfoides y un grado variable de actividad infiltración inflamatoria aguda.

La gastritis crónica por *Helicobacter Pylori* es un proceso dinámico que evoluciona hacia la atrofia que afecta al antro y a la mucosa transicional y se extiende en dirección al cuerpo. También se puede asociar a metaplasma intestinal como respuesta a la agresión crónica.

En áreas metaplásicas no se detecta *Helicobacter pylori* y la inflamación es menor que en las no metaplásicas. La atrofia y el metaplasma son dos procesos diferentes que se pueden presentar de forma independiente.

I.17.1.2. ULCERAS PEPTIDAS DUODENALES.

Se considera como una manifestación local producida por una etiología muy variada donde entran a formar parte diversos factores, como inestabilidad emocional, alteraciones endocrinas, manifestaciones nerviosas, discrasias sanguíneas, etc. tenemos a ulcera duodenal, cuyo principal agente causal es la infección por *Helicobacter pylori* está asociada a la gastritis antral y no aumenta el riesgo de cáncer gástrico en relación a la población en general.

Por el contrario la ulcera gástrica forma parte del complejo de gastritis atrófica multifocal y considerada como precursor del cáncer gástrico.

En cuanto a la ulcera péptica, el *Helicobacter pylori* debilita el revestimiento de la mucosa que protege el estomago lo cual permite que el acido afecte a la superficie sensible que se halla por debajo de dicho revestimiento. Por efecto tanto del acido como de la misma bacteria, esta superficie se irrita y se forma una llaga o ulcera. Debido a que esta bacteria puede sobrevivir en el acido del estomago porque secreta enzimas que lo neutralizan.

Este mecanismo permite que el *Helicobacter pylori* se abra paso hasta la zona segura o sea el revestimiento mucosa protector. Una vez allí la forma de espiral que tiene la bacteria le ayuda a perforar el revestimiento. Lo cual produce incomodidad gástrica y los síntomas más relevantes de la ulcera péptica que son los siguientes.

- Se presenta entre dos y tres horas después de comer.
- Aparece y desaparece durante varios días o semanas.
- Se mitiga ingiriendo alimentos y medicamentos antiácidos.
- Se presenta a mitad de la noche.
- Pérdida del apetito.
- Pérdida de peso.
- Eructos, nauseas, vómitos.
- Distensión del abdomen.

Existen otros síntomas más característicos:

- Dolor del estomago de carácter agudo y repentino.

- Evacuación de heces fecales sanguinolentas y negras.
- Vómitos de sangre o aspecto de poso de café.

Estos síntomas pueden indicar un problema grave como:

- Perforación, cuando la ulcera perfora la pared del estomago.
- Hemorragias, cuando el acido del estomago o la ulcera rompe un vaso sanguíneo.
- Obstrucción, cuando la ulcera bloquea el trayecto de los alimentos que van a salir del estomago.

I.17.1.3. CANCER GASTRICO.

Se puede clasificar en dos tipos el carcinoma gástrico desde el punto de vista histopatológico.

El difuso cuya etiopatogenia es desconocida.

El adenocarcinoma gástrico se clasifica en dos tipos:

- *Cáncer gástrico intestinal (expansivo).*

Cuya etiopatogenia está relacionada con el Helicobacter pylori. Predomina en poblaciones de alto riesgo y es común en personas de edad avanzadas, en los que es mayor La prevalencia de gastritis atrófica con una presencia de metaplasma intestinal.

- *Cáncer gástrico de tipo difuso (infiltrativo).*

Es más frecuentes en pacientes jóvenes donde es más fácil descubrir la gastritis en su primer estadio, la gastritis superficial se relaciona especialmente con el cáncer gástrico de este tipo.

Ambos tipos representan estadios consecutivos de una misma infección por lo tanto la aparición de uno u otro tipo de cáncer gástrico se relaciona con factores ambientales que actuarían en una u otra fase del proceso, es decir, que la diferenciación del cáncer gástrico dependerá del estadio evolutivo de la gastritis, la infección superficial o atrófica.

Se investigan dos mecanismos relacionados con esta supuesta capacidad de Helicobacter pylori de producir cáncer. El primero involucra la posibilidad de generar radicales libres asociada a una

infección de H. pylori, la cual produciría un aumento en la tasa de mutación de la célula huésped. El segundo mecanismo ha sido llamado ruta perigenética e involucra la transformación del fenotipo de la célula huésped por medio de alteraciones en proteínas celulares tales como las proteínas de adhesión.

Se ha propuesto la posibilidad de que Helicobacter pylori induzca inflamación y niveles localmente altos de TNF-alfa o interleucina 6. De acuerdo con el mecanismo perigenético propuesto, las moléculas señalizadores de inflamación, tales como TNF-alfa, podrían alterar la capacidad de adhesión de las células epiteliales del estómago y conducir a la dispersión y migración de estas células epiteliales mutadas, sin necesidad de alteraciones adicionales en genes supresores de tumores como, por ejemplo, los genes que codifican para proteínas de adhesión celular.

I.17.2. ENFERMEDADES EXTRADIGESTIVAS.

El Helicobacter pylori también ha sido relacionada con una serie de enfermedades Extradigestivas, cuya dirección apunta a los mediadores de la inflamación que son activados por el Helicobacter pylori. Tener esta bacteria ha sido asociado a un riesgo, hasta dos veces mayor a parecer enfermedades cardiovasculares, con el infarto al miocardio y con la enfermedad coronaria.

La infección crónica por Helicobacter pylori acompañada de inflamación persistente de la mucosa gástrica incrementa la concentración de proteínas de fase aguda, como fibrinógeno y ácido sialico, los cuales son productores de la enfermedad coronaria.

I.17.2.1. ENFERMEDADES VASCULARES.

CARDIOPATIA ESQUEMICA.

Las infecciones bacterianas en general son responsables de cambios en el metabolismo de proteínas de fase aguda e incluso pueden generar actividad pro coagulante, incluyendo todo ellos en el daño de la pared vascular.

En 1995 se publico un estudio realizado en el que se vuelven a encontrar que aquellos sujetos con una enfermedad coronaria

presentaban unos datos serológicos a favor de la asociación *Helicobacter pylori* – cardiopatía isquémica. Así mismo sugiere que esta asociación podría ser explicada por los efectos a largo plazo de proceso inflamatorio, que incluye un incremento en los niveles plasmáticos de fibrinógenos por ácido sialico y otras proteínas de fase aguda.

ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES.

Se han publicado diferentes estudios de seros prevalencia que muestran un vínculo entre *Helicobacter pylori* y las enfermedades cardiovasculares. Los supuestos mecanismos engloban el desencadenamiento de mediadores inflamatorios como la proteína C reactiva y diferentes citoquinas (IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 y TNF- α) y la reactividad cruzada frente a la proteína de choque térmico 60.

Es importante destacar la aparición de numerosos trabajos basados en un importante número de casos y controles que tras excluir los factores de confusión como tabaco, dieta, hábitos de vida y condiciones socioeconómicas encuentran una débil relación entre *Helicobacter pylori* y este tipo de patología.

SINDROME DE RAYNAUD.

El fenómeno consiste en un desorden vascular funcional definido por vaso espasmos intermitentes de las arteriolas que ocurre preferentemente en mujeres jóvenes. Estudios serológicos han mostrado una relación entre este síndrome y *Helicobacter pylori*, así como una remisión del mismo tras la erradicación del microorganismo.

I.17.2.2. ENFERMEDADES DE LA PIEL

ROSACEA.

La rosácea es una dermatitis crónica y progresiva de la región facial, que se caracteriza por episodios repetidos de sofocos, y eritema de carácter persistente, con fase de inflamación en la que aparecen pápulas y pústulas.

Es más frecuente en hombres que en mujeres y edad de comienzo suele ser en la tercera década de vida. Con respecto a su patología y patogenia no son conocida en su totalidad, pero si existen una serie de factores con relación a la enfermedad como son: genéticos, vasculares, psicológicos, farmacológicos, ambientales, digestivos, inmunológicos, infecciones y parasitosis, Helicobacter pylori.

Evidentemente no se conoce tampoco el posible papel etiopatogenico que pueden representar la infección por Helicobacter pylori en la rosácea. Lo que si hay que algunos artículos que han relacionado estas dos entidades y que la erradicación de la infección mejora la rosácea.

URTICARIA CRONICA.

La urticaria es una enfermedad cutánea o cutánea- mucosa de etiología desconocida y de larga evolución. Se caracteriza por lesiones purigenosas, edematosas, y eritoma-papulosa, que desaparecen sin dejar rastro. Se trata de una entidad tremendamente heterogénea, ya que se ha relacionado con una cantidad de posibles factores etiológicos. Se han publicado algunos trabajos que relacionan la infección por Helicobacter pylori como posible factor etiopatogenico de la urticaria crónica.

I.17.2.3. ENFERMEDADES AUTOINMUNES

PURPURA DE SCHONLEIN-HENOCH.

Esta caracterizada por una purpura palpable, dolor abdominal, hemorragia gastrointestinal, artralgia y afectación renal y nerviosa. Es una vasculitis que afecta a la piel, el tubo digestivo, las articulaciones, los riñones, y el sistema nervioso cuando aparecen enfermedades infecciosas estreptocócicas de las vías respiratorias superiores. Se han descrito casos de pacientes con la enfermedad e infección por Helicobacter pylori, cuya sintomatología desaparece tras el tratamiento de la erradicación de la bacteria.

SINDROME DE SJÖGREN.

Se caracteriza por una infiltración de linfocito y células plasmáticas y una disminución progresiva en la secreción de las glándulas exocrinas, este cuadro ha sido relacionado con Helicobacter Pylori,

Otras enfermedades autoinmune relacionada con el microorganismo son la tiroides autoinmune, las arritmias idiopáticas y la enfermedades de Parkinson.

EL LINFOMA MALT.

El MALT “Tejido Linfoide Asociado a Mucosa” fue descubierto por Isaacson y Wright, en el año de 1983. Es un linfoma de células B, extra nodal, encuadrado dentro del grupo de los linfomas de la zona marginal.

Es un Linfoma que predomina en la edad adulta, más frecuente en mujeres y que constituye el 5-10 % de las neoplasias gástricas. A pesar de representar tan solo el 2-3% de los linfomas, la localización gástrica supone el 70% de los extra-ganglionares.

Otras localizaciones del Linfoma tipo MALT son el pulmón, cabeza y cuello, anexos oculares, tiroides, piel, mama y resto del tracto gastrointestinal.

I.17.3. ENFERMEDADES EN NIÑOS.

I.17.3.1. ANEMIA FERROPENICA.

El *Helicobacter pylori* se propone hoy en día como agente causal del desarrollo de la deficiencia de vitamina B12. La sola erradicación de bacteria es capaz de corregir los niveles de vitamina B12 y anemia. Como una de las manifestaciones no gastrointestinales ha sido referida la anemia ferropenica.

La curación de la infección por *Helicobacter pylori* se encuentra asociada con la regresión de la dependencia del hierro y la recuperación de la anemia ferropenica. El tratamiento para la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* mejora la anemia aun en pacientes que no reciben terapia de hierro.

I.17.3.2. RETRASO DE CRECIMIENTO.

En estudios con escolares escoceses e italianos se detecto una mayor infección con *Helicobacter pylori* en los niños con una baja estatura y reducido peso corporal y en niños franceses que se examinaron por su baja estatura se detecto el 55% de positividad para *Helicobacter pylori*.

I.17.4. OTRAS ENFERMEDADES RELACIONADAS CON EL HELICOBACTER PYLORI.

Otras enfermedades extra digestivas relacionadas con el Helicobacter pylori son:

Encefalopatía hepática, Diabetes mellitus, Retraso en la menarquía y anemia sideropénica.

I.18. TRATAMIENTO.

Los pacientes con úlceras péptica y Helicobacter pylori positivos deben ser tratados con terapia de erradicación, pero no está definido cuando debe extenderse esta terapia de erradicación.

Todos los pacientes con historia de úlcera que hacen uso frecuente de antiácidos necesitan ser identificados y tratados. Se desconoce si los pacientes sin úlcera se benefician del tratamiento antibiótico. Un tratamiento empírico ha sido sugerido para la dispepsia con el objetivo de curar a todos los pacientes con úlceras ocultas. En pacientes con una elevada incidencia de enfermedad ulcerosa debe ser más barato prescribir antibióticos a todos los pacientes dispépticos con prueba de Helicobacter pylori positiva que investigar a todos los dispépticos para confirmar el diagnóstico de úlcera.

El cambio más significativo de la terapia en los últimos cinco años ha sido el desarrollo de tratamientos cortos efectivos. La primera terapia definida en 1988 comprendía el suministro triple de la combinación de bismuto con dos antibióticos. Este resultó al final ser un régimen complicado con marcados efectos colaterales, variable de un centro a otro e inefectivo en la bacterias resistentes al metronidazol. Con el objetivo de simplificar el régimen, se introdujo la terapia dual.

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

Cuando se desea alcanzar niveles de erradicación superior al 85% debe utilizarse el RCB (ranitidine bismuto citrate) en combinación

con la claritromicina, un antibiótico que es efectivo contra el Ph, posiblemente porque se concentra por la mucosa gástrica. En la actualidad se recomienda utilizar RBC con claritromicina de 500 mg dos veces al día durante dos semanas. Por supuesto que a estas elevadas dosis, las dos desventajas del método son su elevado costo y la posibilidad de efectos colaterales. Buenos resultados en comparación con los que se logran usando la terapia triple, se obtienen cuando se utiliza un régimen como este propuesto durante siete días.

Una terapia adicional que reduce el costo y que da buenos resultados con el tratamiento por una semana es la es la clásica terapia triple con bismuto y en combinación con un inhibidor de la bomba de protones. Algunas veces a esta se la conoce también como terapia cuádruple y tienen todas las desventajas de los régimen complicados pero la duración es corta y por ello reduce el riesgo de los efectos colaterales.

La variante más ampliamente utilizada es la terapia triple basada en un inhibidor de bomba acida que se suministra durante siete días. Se estructura de forma tal que se suministra un inhibidor de bomba acida con dos de los siguientes tres antibióticos: nitroimidazol, amoxicilina y claritromicina. Su ventaja es que el tratamiento tiene lugar por siete días con dos dosis diarias, el inhibidor que se recomienda es el omeprazol, aunque otras drogas similares son igualmente efectivas. La sustitución de una antagonista de los receptores H2 por el inhibidor de la bomba acida ha sido también usada con éxito en algunos estudios.

Un régimen usado con frecuencia es la combinación de omeprazol con metronidazol, 400mg dos veces al día y claritromicina 250mg dos veces al día. Su mayor critica es que en muchos países el Ph tienen una elevada resistencia al metronidazol y se supone que en los países desarrollado hasta el 80% de los individuos pueden ser portadores del Helicobacter pylori resistente. Los más recientes estudios en este campo indican que el omeprazol desempeña un papel fundamental en la erradicación del Helicobacter pylori a pesar de la presencia de cepas resistentes de esta bacterias.

Por lo anterior la combinación de la terapia triple con omeprazol-amoxicilina-claritromicina, con la cual la mayor parte de los estudios publicados muestran cifras de erradicación superiores al 90% elimina las interferencias que podría producir la posible resistencia, se ha convertido en la más popular en el momento actual.

I.19. PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI.

Las áreas tropicales empobrecidas deben basarse en objetivos que tengan posibilidades del éxito. Se deben tener metas de control de la infección con ayudas adicionales para mejorar el estado sanitario.

Las nuevas estrategias estarán determinadas sin dudas por nuevas medidas diagnósticas terapéuticas y preventivas para controlar mejor las consecuencias de las infecciones por *Helicobacter pylori*.

Algunos microorganismo con morfología espiral han sido observados en la mucosa gástrica, luego del aislamiento del *Helicobacter pylori* en 1982 por Warren y Marshall que vino a marcar el inicio de la nueva era en lo que respecta a la génesis de la patología duodenal, sin embargo se abren nuevas posibilidades que requieren una continua investigación de la búsqueda de métodos rápidos y efectivos para evaluar la resistencia de antibióticos, o bien evaluar antígenos bacterianos con la posibilidad de ser utilizados como vacunas contra las gastritis y las úlceras pépticas.

CAPITULO II

II.1. DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR HELICOBACTER PYLORI.

Para diagnosticar la infección por *Helicobacter pylori* se puede realizar métodos invasivos (que requieren endoscopia con toma de biopsia gástrica) o métodos no invasivos (no requieren endoscopia previa).

A la hora de elegir uno u otro hay que tener en cuenta el objetivo del diagnóstico (epidemiológico, diagnóstico o de seguimiento) el centro en que nos encontramos (experiencia del personal y disponibilidad de medios) y las características del paciente, (prevalencia del *Helicobacter pylori* en la población, edad del paciente, medicación previa, etc.). No se debe olvidar que mientras que todos los métodos pueden servir para diagnosticar la infección por *Helicobacter pylori* (con diferentes porcentajes de sensibilidad y especificidad) la endoscopia con toma de biopsia para el estudio histológico permite además diagnosticar el tipo de enfermedad, por otra parte el cultivo es imprescindible para conocer la sensibilidad de los antimicrobianos, con el fin de aplicar el tratamiento para conocer los porcentajes de sensibilidad en cada población.

II.1.1. METODOS INVASIVOS.

Se denomina así puesto que requieren de la obtención de biopsia.

II.1.1.1. HISTOLOGIA Y VISION MICROSCOPICA.

El estudio histológico de la biopsia permite conocer las lesiones de la mucosa además de detectar la lesión por *Helicobacter pylori*. La confirmación histológica de la inflamación de la mucosa es mas permite detectar zonas de metaplasma intestinal; además es fundamental para el diagnóstico de la gastritis y su clasificación.

Se han utilizado diferentes tinciones o bien el examen de fresco utilizando un microscopio con contraste de fase.

Los anatomopatólogos utilizan la coloración de Warthin-Starry u otra técnica de impregnación argéntica, o la de Giemsa para el examen de muestra de biopsia. Las preparaciones por aplastamiento del material de biopsias pueden teñirse con Gram con buenos

resultados; el colorante de contraste fucsina básica al 0.1 % permite reconocer mejor la morfología típica de la bacteria.

Otras tinciones son útiles para determinar el diagnóstico de la infección para conocer el grado de patología gástrica. Entre ellas destacan las tinciones de carbofuchina, genta y tinciones inmunohistoquímica.

La forma curva del *Helicobacter pylori* hace que su observación en el frotis pueda utilizarse como diagnóstico presuntivo, la coloración con azul de toluidina permite la fácil identificación de la bacteria ya que se colorea intensamente.

La visión microscópica tiene una sensibilidad y especificidad menor que la del cultivo y para obtener buenos resultados es necesario realizar una impronta densa en el portaobjetos 2-3 gotas de biopsia homogeneizada. Para conseguir una buena sensibilidad se recomienda partir de dos muestras una de antro y otra de cuerpo.

II.1.1.2. PRUEBA DE LA UREASA EN BIOPSIAS (CLO TEST).

Es una técnica muy rápida, pero un poco menos sensible y específica, El fundamento de la prueba rápida de la ureasa consiste en detectar la presencia de la enzima de la siguiente forma:

Helicobacter pylori por medio de la ureasa descompone la urea en anhídrido carbónico y amoníaco, lo cual genera un aumento del pH básico que va a ponerse en evidencia mediante el cambio de color del indicador del medio de naranja-amarillo a rosa fuerte debido a la acción del indicador de pH.

La prueba de ureasa rápida (CLO Test) se puede realizar directamente con la muestra de biopsia gástrica obtenida por endoscopia digestiva alta.

II.1.1.3. CULTIVO DE HELICOBACTER PYLORI.

El aislamiento para el cultivo de *Helicobacter pylori* es sin duda el más específico para el diagnóstico del microorganismo. No obstante su sensibilidad varía notablemente en relación con diferentes variables como la recogida, transporte (suero fisiológico isotónica estéril) y almacenamiento (5 horas a 4°C), los medios de cultivo

utilizados y las condiciones de incubación (porcentaje de CO₂ y humedad, principalmente).

Se puede considerar como un método tedioso y e incluso de difícil realización, pero debe efectuarse de rutina si se realiza la endoscopia ya que aporta un gran número de ventajas en el estudio de la bacteria. Entre ellas destaca el conocimiento de la sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, la caracterización de factores de virulencia y la posibilidad del tipado de cepas con fines epidemiológicos.

La biopsia debe ser macerada y homogenizada con suavidad, esto se hace en un mortero de vidrio esmerilado o colocando en un tubo de 16x100 mm que actúa como mortero y se macera con un tubo de 13x100 mm que actúa como pistilo y sirve para inocular el material macerado en el medio de cultivo; el medio de cultivo que empleamos es un medio sólido no selectivo; es agar Brucella con infusión de cerebro corazón (BHI) y con sangre de carnero al 5% o agar chocolate modificado y los medios se incuban en microaeróbica humidificada (10% de CO₂, 5% de O₂, 85% de N) por 5-7 días a 35°, las colonias son pequeñas grises, translúcidas, circulares y de 1 a 2 mm de diámetro, las reacciones positivas para catalasa, oxidasa y ureasa permiten la identificación.

II.1.1.4. METODOS MOLECULARES.

En los últimos años se han desarrollado numerosas técnicas que permiten detectar la presencia de ADN de *Helicobacter pylori* directamente de la biopsia gástrica, pero también de otras muestras como heces, saliva o agua. La mayoría de las técnicas se basan en la PCR tanto clásica como en tiempo real. El objetivo de todas ellas ha sido:

- Detección de genes específicos de la bacteria.
- Detección de factores de virulencia.
- Detección de mecanismo de resistencia.

II.1.2. METODOS NO INVASIVOS.

Se denomina así puesto que no requieren de la obtención de biopsia, los dos más utilizados son la serología y la prueba de carbono marcado en el aliento del paciente. Sin embargo recientemente se ha diseñado una prueba para la detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en heces del paciente, cuya correlación es excelente aun respecto al hallazgo de la bacteria sin necesidad de recurrir a la biopsia.

II.1.2.1. PRUEBA DE ALIENTO CON UREA MARCADA CON CARBONO.

Es un método indirecto que se basa en la presencia de la ureasa de *Helicobacter pylori*. El paciente ingiere una solución con urea marcada isotópicamente con C13 (no radioactivo) o C14 (radioactivo) disuelta en agua y se recoge el aliento 30 minutos después de la ingestión de la solución de urea, previamente se habrá recogido otra muestra de aliento basal.

Si el *Helicobacter pylori* se encuentra en el estómago, este hidroliza la urea gracias a su ureasa y se libera CO₂ marcado y amoníaco que se absorbe y difunde a la sangre. El CO₂ se transporta a los pulmones y es liberado con el aliento del paciente, mientras que el amoníaco se excreta por la orina.

La cantidad de urea, que refleja la magnitud de la infección por *Helicobacter pylori*, se evalúa midiendo la abundancia y velocidad de excreción de urea en el amonio de la orina. Los resultados se miden como la relación de C13 o C14 de la prueba con respecto al estándar.

II.1.2.2. METODO SEROLOGICO.

Se basan fundamentalmente en la detección de anticuerpos IgG e IgA. Mediante el método ELISA o Quimioluminiscencia, pero no permiten dar seguimiento post tratamiento al paciente, ya que los anticuerpos suelen permanecer elevados entre 24 y 48 meses después del tratamiento.

Aunque manteniendo un suero control pre tratamiento es posible un seguimiento mediante ELISA cuantitativo. La infección por

Helicobacter pylori induce una respuesta de anticuerpo tanto local como sistémico. Produciendo un incremento transitorio de la IgM seguido de un aumento de la IgA y de la IgG, la que se mantiene durante toda la infección.

Estos anticuerpos pueden detectarse mediante enzimoimmunoanálisis o mediante aglutinación de látex. Generalmente se emplea suero y se detecta la IgG específica. La determinación de la IgA puede emplearse como una técnica de segunda línea si una prueba muy bien validada y sensible para la IgG es negativa.

Los métodos de Elisa comerciales para la IgG tienen una sensibilidad del 90 al 95% y una especificidad del 85 – 92%. Las pruebas serológicas rápidas que recientemente se han puesto en el mercado, basadas en Elisa en fase sólida o en la aglutinación de látex, con una sensibilidad del 80 – 85% y una especificidad entre 75 – 80%.

II.1.2.3. ANTIGENO EN HECES.

Es un método no invasivo para la detección de *Helicobacter pylori* tiene una excelente sensibilidad, la prueba parece ideal para evaluar la evaluación pos tratamiento, como para la investigación de este agente la identificación de antígenos de *Helicobacter pylori* en heces del paciente lo cual se ha realizado en pruebas inmunoenzimáticas.

Estas pruebas tienen una excelente sensibilidad y especificidad para el diagnostico y seguimiento del tratamiento antimicrobiano.

TEST	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	COSTO
HISTOLOGIA BIOPSIAS	95.6	100	ALTO
SEROLOGIA	95.6	92.6	BAJO
ANTIGENO EN HECES	93.4	91.9	MEDIO
UREA EN ALIENTO	93.3	98.1	ALTO
CLO TEST	88.6	100	ALTO
PCR	93.2	96.2	ALTO

CAPITULO III

III.1. DETERMINACION DE HELICOBACTER PYLORI IgG EN SANGRE.

III.1.1. EL SISTEMA IMMULITE.

El Immulite es un inmuno analizador de acceso continuo al azar, basado en la quimioluminiscencia amplificado. El sistema Immulite utiliza ensayos específicos por medio de una perla de poliestireno recubierta de anticuerpos o ligando como fase solida, que se encuentra dentro de la unidad de reacción diseñada para el analizador.

El sistema se fundamenta en las características de la unidad de reacción, que sirve como recipiente para la reacción, la incubación, el lavado por el centrifugado vertical, logrando una eficiente separación entre la fracción libre y la unida y el desarrollo de la reacción quimioluminisciente.

La emisión de luz del sustrato quimioluminisciente es directa o inversamente proporcional a la cantidad de analito en la muestra del paciente según el ensayo sea inmunométrico o competitivo. La emisión de luz es detectada por un tubo fotomultiplicador y el reporte es impreso y generado en el computador externo de cada muestra.

Características principales:

- ❖ Es totalmente automático.- Deposita las copas de muestra, copas de reacción y reactivos en el carrusel.
- ❖ Sistema de acceso continuo.- Las pruebas no se efectúan por lote sino que se pueden ir cargando indefinidamente las pruebas.
- ❖ Quimioluminiscencia amplificada.- La amplificación enzimática por quimioluminiscencia permite un límite de detección más bajos que los sistemas de quimioluminiscencia por marcación directa, mientras que la marcación directa solo
- ❖ produce uno o dos fotones por eventos de inmuno enlace la reacción enzimática amplificada produce miles de fotones por inmuno enlace.

- ❖ Sistema de lavado patentado.- Cada prueba es sometida a cuatro lavado y brinda mayor sensibilidad y especificidad en los resultados.
- ❖ Lector óptico de barras.- Este dispositivo permite al sistema reconocer las muestras y las pruebas a realizarse a cada paciente.
- ❖ Economía en controles.- los resultados son calculados en base de curvas de calibración almacenadas en la base de datos del sistema Immulite.

IMMULITE 1000



III.1.2. ¿QUÉ ES LA QUIMIOLUMINISCENCIA Y CÓMO FUNCIONA EL SISTEMA IMMULITE?

La quimioluminiscencia es un proceso muy simple en el cual, una molécula de alta energía es excitada químicamente y se descompone liberando su energía en forma de luz. La energía requerida para la emisión de la luz es generada por la oxidación de un sustrato específico.

Funcionamiento.- Es un sistema novedoso totalmente automatizado y de acceso continuo al azar, cuenta con un amplio menú de pruebas, que incluye la línea de hormonas, marcadores tumorales, drogas y otros compuestos.

El desarrollo de las pruebas cuenta con las siguientes características:

El sistema solo requiere de un procedimiento diario de rutina de 5 minutos de arranque, se pueden colocar 75 muestras a la vez y agregar continuamente.

Todos los pasos del manejo están automatizados:

- ❖ Identificación con código de barras de muestras y reactivos.
- ❖ Pipeteo de muestras y reactivos.
- ❖ Incubación a 37 grados centígrados con agitación periódica.
- ❖ Lavado por centrifugación vertical.
- ❖ Adición de sustrato.
- ❖ Lectura y reporte de resultados.

Unidad de prueba.- La unidad de prueba tiene en su interior una perla de poliestireno recubierta con el anticuerpo específico para el análisis que vamos a cuantificar, el reactivo conjugado con enzima (fosfatasa alcalina) y la muestra son pipeteados en esta unidad de prueba, luego incubada por 30-60 minutos a 37 grados centígrados con agitación intermitente cada 10 segundos, para maximizar la cinética de la reacción.

Técnica de lavado.- Al final de la incubación la perla se lava por medio de una centrifugación altamente eficiente, sobre su eje vertical a más o menos 10.000 RPM, el líquido sobrenadante de la reacción se deposita en la cámara lateral de la unidad de prueba, este lavado se repite como mínimo 3 veces lo que garantiza una óptima separación entre la fracción libre y la unida.

Reacción Quimiolumincente.

El sustrato luminigénico es adicionado a la unidad de prueba la cual se incuba 10 minutos y luego pasa al tubo foto multiplicador donde se detecta la señal quimiolumincente.

El Dioxano Fosfato en presencia de la Fosfatasa Alcalina conjugada produce un compuesto intermedio de descomposición dando como resultado una emisión de luz directamente proporcional a la cantidad de la enzima producida.

Calibración.- Los resultados son calculados con base de curvas de calibración almacenadas en la base de datos del sistema Immulite.

El Software.- El programa nos permite:

- ❖ Programar, almacenar y consultar información de los pacientes.
- ❖ Almacenar y consultar los datos de control de calidad y mantiene en memoria los parámetros de curva.

III.1.3. HELICOBACTER PILORY PARA EL DIAGNOSTICO IN VITRO CON EL ANALIZADOR IMMULITE 1000.

III.1.3.1.RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL TEST.-

En 1983 Warren y Marshall describieron un bacilo curvado asociado con la mucosa gástrica en casos de gastritis crónica estableciendo comparaciones de forma tentativa, entre este organismo y el género *Campilobacter*.

Más recientemente los investigadores han demostrado una correlación entre la colonización por parte de este organismo ahora denominado *Helicobacter Pilory* y la ulcera gástrica y duodenal y la gastritis crónica. La colonización por *Helicobacter Pilory* es de naturaleza crónica y parece causar la inflamación histológica de la mucosa gástrica.

Cuando se elimina el *Helicobacter Pilory* de la mucosa gástrica, la inflamación tiende a reducirse. Si el organismo re coloniza la inflamación aumenta en gravedad y coincide con la aparición de síntomas gastrointestinales. La ausencia de síntomas gastrointestinales en presencia del *Helicobacter Pilory* indica colonización en lugar de infección. Las pruebas clínicas más recientes han confirmado que el *Helicobacter Pilory* es el agente causante de la mayoría de los casos de gastritis crónica y de ulcera; Se han presentado evidencias que lo asocian también con el carcinoma gástrico.

Los procedimientos actuales de detección de *Helicobacter Pilory* se basan en el aislamiento del organismo a partir del tejido obtenido por una biopsia endoscópica. También se examina el tejido por medio de Histología, tinción Gram y análisis de la enzima ureasa que el organismo produce en abundancia. Cada uno de los métodos incluyendo la Histología y la tinción Gram requiere material de

biopsia tomado de múltiples puntos. Además la necesidad de ejecutar una gastroscopia invasiva, cada uno de estos métodos conlleva otros inconvenientes.

La presencia de Helicobacter Pilory se ha detectado también con un análisis de urea en aliento (usando isótopos radioactivos) y por métodos serológicos.

Se ha determinado una respuesta serológica en antígenos de Helicobacter Pilory en individuos con duodenitis, gastritis crónica y ulcera gástrica o duodenal. Además muchas personas que no tienen síntomas clínicos son seropositivas para los anticuerpos del Helicobacter Pilory, Aumentando la frecuencia con la edad. Por tanto aunque la serología del Helicobacter Pilory es un método sensible para determinar la colonización, la diferenciación entre colonización y enfermedad activa no resulta posible.

III.1.3.2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS.-

El Immulite 2000 Helicobacter Pilory IgG es un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 2x30 min.

Recogida de la muestra:

Se recomienda el uso de una ultra centrifuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de las muestras antes de ser recibidas por el laboratorio, en este caso los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debido a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras.

Algunas muestras particularmente aquella de pacientes sometidos a terapia anticoagulante puede requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de

los aditivos incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadoras de la coagulación y/o anticoagulantes.

Volumen requerido: 10 ul De suero.

Dilución de la muestra del paciente: Las muestras deben prediluirse, a una proporción de 1 por 20. Esta dilución debe realizarse manualmente, añadiendo 20 ul de muestra a 400 ul de diluyente para muestra de Helicobacter Pilory suministrado en el kit.

III.1.3.3. ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES.

Para uso diagnóstico in vitro:

Reactivos: mantener a 2-8 grados centígrados, desechar de acuerdo con las normas aplicables.

La bola está recubierta con un antígeno del Helicobacter Pilory inactivado. Sin embargo se recomienda tomar precauciones debido a la posible presencia de organismos residuales, cuando se trabaje con el material subministrado y cuando se deseche.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis, para anticuerpos para el HIV 1 y 2, para el antígeno de superficie de Hepatitis B, y para los anticuerpos de Hepatitis C.

Se ha usado azida sódica en concentraciones menores de 0,01 g/dl como conservante, para su eliminación lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato Quimiolumincente: evitar la contaminación y exposición a la luz directa y al sol.

Agua: usar agua destilada o desionizada.

III.1.3.4. MATERIALES SUBMINISTRADOS.

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

- ❖ Cartuchos de bolas de Helicobacter Pilory IgG con códigos de barras: 100 bolas recubiertas con antígenos del Helicobacter Pilory inactivado parcialmente purificado estable a 2-8 grados centígrados.
- ❖ Vial de reactivo de Helicobacter Pilory IgG con códigos de barras: 11,5 ml de una solución tampón. 11,5 fosfatasa alcalina conjugada con anticuerpo monoclonal murino anti IgG Humana en solución tampón estable 2-8 grados centígrados.
- ❖ Ajustadores de Helicobacter Pilory IgG: Dos viales de cada uno con 4ml. de suero con IgG. Reactiva al Helicobacter Pilory en solución tampón estable 2-8 grados centígrados.
- ❖ Controles de Helicobacter Pilory IgG Negativo suero humano con IgG. No reactiva al Helicobacter Pilory.
- ❖ Bajo positivo y positivo con IgG. Reactiva al Helicobacter Pilory estable a 2-8 grados centígrados durante 14 días después de abrirse o hasta 6 meses.
- ❖ Diluyente de Helicobacter Pilory IgG. Para la dilución de las muestras del paciente y controles que van a analizarse estable de 2-8 grados centígrados.

III.1.3.5. ENSAYO.

Para obtener el funcionamiento óptimo es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador del Immulite 1000.

Intervalo de ajuste: 2 semanas.

Muestra de control de calidad: use los controles suministrados junto con el kit.

III.1.3.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

Positivo: un resultado mayor o igual de 1,1 U/ml. se considera “positivo” e indica que se han detectado anticuerpos IgG Para Helicobacter Pilory en la muestra.

Indeterminado: un resultado mayor o igual a 0,9U/ml. y menor de 1,1U/ml. es considerado “indeterminado”, las muestras podrían ser reensayadas. Las muestras indeterminadas podrían ser analizadas por un método alternativo, o una segunda muestra podría ser recogida, dentro de un margen de tiempo razonable (Ej. Una semana)

Negativo: un resultado menor a 0,9U/ml. se considera “negativo” e indica que no se han detectado anticuerpos de IgG para Helicobacter Pilory en la muestra.

III.1.3.7. VALORES ESPERADOS.

La mayoría de los individuos expuestos al Helicobacter Pilory poseen anticuerpos IgG para el organismo. Además la presencia de anticuerpos del Helicobacter Pilory está en función de edad, raza, geografía y estado clínico. Las proporciones específicas para edades de infección del Helicobacter Pilory son similares para hombres y mujeres.

El Helicobacter Pilory ha sido también identificado como factor de riesgo de cáncer gástrico, cerca del 100% en pacientes con ulcera duodenal, 85 presentan ulcera gástrica y del 50 al 100% con cáncer gástrico están infectados por Helicobacter Pilory.

Una proporción relativamente grandes de pacientes con niveles positivos de anticuerpos son asintomáticos, aunque estén colonizados por Helicobacter Pilory. Por tanto, los niveles de anticuerpo no se correlacionan necesariamente con la gravedad de los síntomas clínicos.

III.1.3.8. LIMITACIONES.

Para la determinación de la seroconversión de no reactivo a reactivo deben tomarse dos muestras de suero separadas por tres o cuatro semanas durante las etapas agudas y de convalecencia de la infección. La muestra de la fase aguda debe analizarse en paralelo con la muestra de convalecencia.

Los individuos con infección aguda por Helicobacter Pilory pueden no exhibir anticuerpos IgG detectable en las primeras etapas de la infección.

Los resultados de pacientes infectados con virus de HIV, pacientes sometidos a una terapia inmunosupresora, o en pacientes con otro desorden que originen inmunosupresión, deben interpretarse con cautela.

Los anticuerpos heterofílicos en el ser humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencia.

Las características de rendimiento de este ensayo no se han establecido para su uso con muestras de recién nacidos, sangre de cordón umbilical o pacientes pre trasplantados.

Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

III.1.3.9. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS.

Intervalo de calibración: 0,4 – 8,0 U/ml.

Sensibilidad: 0,4U/ml.

Especificidad:

El ensayo es altamente específico para anticuerpos IgG frente al *Helicobacter Pilory*, sin que presente reacción cruzada a *Campylobacter jejini*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter coli*.

La presencia de bilirrubina en concentraciones hasta 200 mg/dl, la hemólisis en concentraciones hasta 800 mg/dl y la lipemia en concentraciones hasta 3000 mg/dl. No tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

III.2. DETERMINACION DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES

III.2.1. ¿QUE ES LA MICRO ELISA?

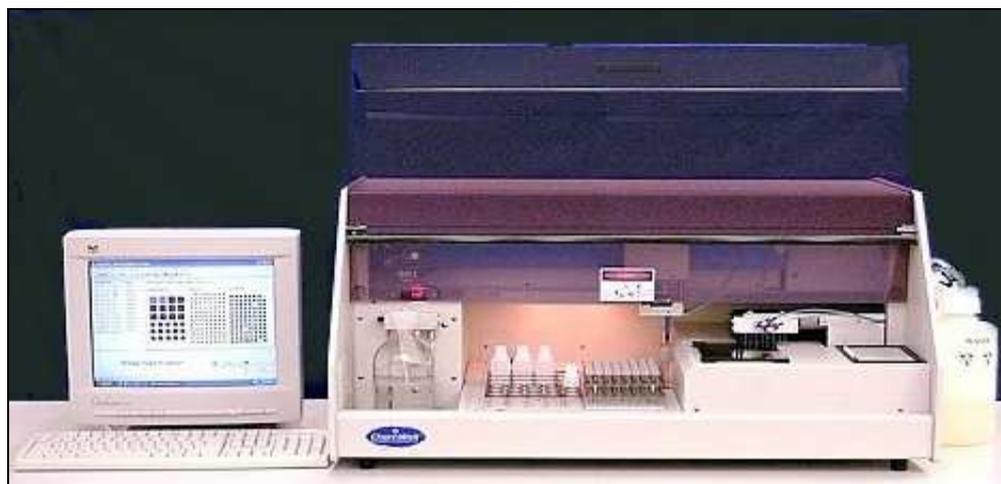
La técnica ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, puede ser medido espectrofotométricamente.

ELISA es una herramienta fundamental de la inmunología clínica. De acuerdo con el principio de la interacción del anticuerpo-antígeno, esta prueba permite la visualización fácil de resultados y se puede terminar sin la preocupación adicional del uso radiactivo de los materiales.

VENTAJAS:

- ❖ Elevada sensibilidad (~1ng de Ig/ml).
- ❖ Permite cuantificar tanto el suero (ELISA INDIRECTO) como el Antígeno (ELISA TIPO SANDWICH).
- ❖ El antígeno puede ser soluble o particulado.
- ❖ Los resultados son objetivable utilizando un espectrofotómetro especial para micro placas.
- ❖ Permite determinar el isotipo de los anticuerpos que reaccionan con el antígeno, dependiendo del <<segundo anticuerpo>> utilizado.

III.2.2. LECTOR DE ELISA CHEM WELL



INTRODUCCION.

Chem Well es un sistema controlado por ordenador del instrumento, capaz de automatizar lo que sea etapas del proceso del análisis que impliquen estas funciones:

Dirección del líquido.....	aspira y dispensa a Partir 2 UL a 1.95 ml.
Incubación.....	Temperaturas de Calefacción; La bobina Caliente a 37°C, la Placa Caliente a 25°C o a 37°C, O a ninguna temperatura
Control de la temperatura (ambiente)	
Mezclado.....	solo en la placa de Reacción.
Lavado de tiras de la placa de la Reacción.....	8 pozos simultáneamente
Mide el tiempo.....	A partir de 1 segundo a 24 horas.
La lectura óptica.....	De la gama de UV/visible.
El cálculo.....	Utiliza datos almacenaje De las Numerosas Ecuaciones pre Programado.
Almacenamiento de los datos.....	Capacidad ilimitada.
Reportes de los datos.....	con muchas opciones Para Elegir.

El sistema permite que usted defina y que programe un número ilimitado de protocolos modificados para requisitos particulares seleccionando opciones exhibidas del menú de un programa del software del Microsoft Windows ®1. Este sistema abierto se puede programar para realizar los análisis colorimétricos de la bioquímica o los análisis enzima-ligados del inmunoabsorbente (“ELISA” o “EIA”), que se pueden manejar usando los volúmenes, las temperaturas, y las longitudes de onda proporcionadas.

Tiene muchos usos posibles en el análisis de la prueba clínica y veterinaria, de la prueba ambiental, del alimento y de agua, investigación de la ciencia de vida, y puede también ser utilizado en los procesos de producción que implican el volumen micro que dispensa, diluyendo, incubando, leyendo, y lavándose.

Chem Well es una combinación única de un sistema automático y de un sistema automatizado de EIA, dos instrumentos de la bioquímica en uno. Rendimiento de procesamiento máximo hasta 200 reacciones de punto final por hora o 170 reacciones cinéticas por hora.

Las reacciones ocurren en microposillos plásticos estándares en vez de tazas de la muestra o de un carrusel. Las tiras y las placas de Microposillos son disponibles en el comercio de muchas fuentes. Coloque sus botellas reactivas y tubos de la muestra en los estantes desprendibles del instrumento. Entonces, programe el instrumento para tomar a partir de un lugar, dispensan a otro, lavan la punta de prueba, lavan la placa, leen los pozos, incuban, se mezclan, o lo que usted quisiera que hiciera. Al hacer reacciones de la química, los grupos de cuatro pozos se miden el tiempo simultáneamente. Las filas de 8 se miden el tiempo juntas para coordinar procesos de ELISA.

Chem Well no es dedicado para el uso con ninguna reacción química, método, o fabricante particular. Esto le da muchas ventajas incluyendo gran flexibilidad en cómo usted la utiliza.

Su laboratorio decide a cómo instalar sus estantes y placas, los reactivo que usted utilizarán, cuántos controles usted funcionará, cuántos diversos usos que usted desea en él, y así sucesivamente. Esto también significa que el instrumento se debe primero programar antes de cada nuevo uso.

Para asegurar la calidad de la información clínica, cada nueva disposición debe ser validada antes de divulgar resultados del espécimen.

En algunos casos la programación, la optimización, y la validación pudieron haber sido hechas ya. Antes de aplicar cualquier nuevo sistema clínico el reactivo, compruebe primero con el fabricante de diagnóstico el reactivo para saber si hay instrucciones, información de la validación, y extremidades específicas del uso.

También le aconseja correr especímenes concentraciones conocidas para verificar los ajustes de los parámetros fijados en el equipo. Después de eso, los programas se pueden recordar fácilmente para la revisión, utilizan, cambian, o canceladura de usted. Usted decide todo incluyendo cómo manual y cómo es automático usted quisiera que fuera su sistema.

III.2.3. LOS PRINCIPIOS Y LAS ESPECIFICACIONES

Dos bombas de la jeringuilla se utilizan para hacer diluciones exactas. La selección de la jeringuilla apropiada del tamaño es hecha automáticamente por el instrumento dependiendo del volumen requerido. Los volúmenes menos de 30 ul es medida por la jeringuilla más pequeña.

La sola punta de prueba se mueve a la izquierda a la derecha así como verticalmente. Se equipa de un mecanismo detección superficial de líquido que para la punta de prueba automáticamente cuando la extremidad se sumerge suficientemente. El lavado de la punta de prueba utiliza DI H₂O de la botella primera y drena a la botella abajo

Cada uno de los 3 estantes se mueve independientemente hacia adelante y detrás del instrumento. Se refieren como un “estante el reactivo”, un “estante de la muestra” y “placa de la reacción”, no obstante el programa permite que usted asigne el uso de los estantes libremente. Por ejemplo, usted puede colocar los reactivos en el estante de la muestra, o utilice dos estantes para realizar pre diluciones.

Cada estante tiene un arreglo de los agujeros o de los surcos configurados para llevar a cabo un cierto tipo de tubos, de botellas, de tubos micro, de micro pocillos, o de otros envases. Los estantes

se identifican en el software de Chem Well de modo que usted pueda decir al instrumento qué configuración usted desea utilizar. También se exhiben gráficamente.

La placa de la incubación bien se puede fijar al calor a 25°C, 37°C, o permanecerá en la temperatura ambiente (Debe ser observado que la opción de calentar la placa a 25°C debe ser utilizada solamente cuando la temperatura ambiente está constantemente debajo de 20°C). Los estantes del reactivo y de la muestra no son de temperatura controlada.

Cuando la punta de prueba lleva un reactivo a una placa incubada de la reacción, la bobina de temperatura controlada de la punta de prueba pre-caliente el líquido antes de dispensar

Los estantes el reactivo se pueden cargar y descargar las botellas mientras está en funcionamiento. La localización de cada reactivo se indica usando en la pantalla de computadora con un color específico. Alternativamente, las disposiciones preferidas del estante de reactivo se pueden almacenar en paneles. Para la conveniencia óptima usted puede de almacenar múltiple estantes cargados en el refrigerador listo cargar y utilizar.

Cuando es hora de tomar una lectura óptica, la placa de la reacción se mueve automáticamente hacia atrás y se coloca en el sistema óptico de 4 canales. Cuatro lámparas se alinean para brillar abajo a través de cuatro pozos ópticos simultáneamente. Una rueda que tiene 8 filtros está rotando constantemente debajo de la placa. Se diseña la rueda del filtro de modo que 4 filtros se alineen con los 4 pozos para las lecturas de la absorbencia. Según su disposición, usted puede elegir exhibir o imprimir informes para crear expedientes del laboratorio e informes permanentes del médico.

III.2.4. MICRO ELISA DE HELICOBACTER PILORY EN HECES CON EL CHEM WEEL

El Helicobacter Pylori es una bacteria Gram. Negativa, primeramente lo aislaron en la mucosa gástrica por Marshall y Warren en 1983.

Esta bacteria se difunde ampliamente en hombres, sin limitación de sexo y edad, se ha encontrado que las infecciones pueden ser transmitidas directamente por contacto de los fluidos biológicos contaminados (saliva, heces, las secreciones del cuerpo) y también de la comida contaminadas y bebidas.

El Helicobacter Pilory y en particular alguna fatiga patogénica (CagA +), es el responsable de agente de etiología de la mayoría de infecciones activas y lesiones de la mucosa gástrica en el hombre.

La infección del H. pylori actúa como cofactor en el desarrollo de patologías del tumorales del aparato gástrico y es sospechoso de estar relacionado con algunas patologías inflamatorias del aparato genital femenino, que generalmente evoluciona a la formación neoplasias.

El H. pylori en particular y algunas cepas patogénicas son los agentes etiológicos responsables de la mayoría de infecciones activas y lesiones de la mucosa gástrica en el hombre.

En la actualidad, la identificación de Helicobacter Pilory se hace principalmente con técnicas de Histoquímica, con la determinación de la actividad de la ureasa en un sustrato isotópico (prueba de respiración y análisis de masa), con tiempo de consumir sistemas de la cultura bacteriológica y con técnicas de biología molecular caras (PCR).

El ELISA para Helicobacter Pilory Ag se ha introducido recientemente como un específico, rápido y no invasivo (análisis de heces) y es el método más barato de descubrimiento.

III.2.4.1. PRINCIPIO DE LA PRUEBA.-

Se usan heces de los pacientes como una fuente de muestra para la determinación del antígeno de Helicobacter Pilory.

Se cubren pequeñas laminas con un combinado de afinidad de anticuerpos purificados de monoclonal de ratón dirigidos al Helicobacter Pilory (antígenos más específicos).

En la primera incubación, la fase sólida se trata con la muestra, previamente extraída de las heces, y simultáneamente con una mezcla de anticuerpos monoclonal a *Helicobacter Pylori*, conjugados con peroxidasa (HRP).

Después de lavar fuera todos los otros componentes de la muestra, en la segunda Incubación la enzima limitada específicamente presente en la fase sólida genera un signo óptico que es proporcional a la cantidad de los antígenos del *Helicobacter Pylori* presente en la muestra.

III.2.4.2. COMPONENTES:

- ❖ Micro pocillos con antígenos específicos purificados del *Helicobacter Pylori* con anticuerpos de ratón monoclonal.
- ❖ Calibradores de *Helicobacter Pylori* Ag.
- ❖ Concentrado de Búfer de lavado.
- ❖ Enzima conjugada de color roja.
- ❖ Sustrato Cromógeno (debe ser guardado y protegido de la luz, sensible a la fuerte iluminación).
- ❖ Diluyentes de Especímenes (de color azul).
- ❖ Acido Sulfúrico (Irritante).

III.2.4.3. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO.

En ensayo tiene que ser llevado a cabo según lo que el reporte informo, teniendo cuidado en mantener el mismo tiempo de incubación para todas las muestras probadas.

Dos procedimientos son disponibles: un método cuantitativo capaz para proporcionar una cuantificación de *Helicobacter Pylori* Ag en el espécimen y un método cualitativo.

Ensayo cuantitativo:

- ❖ Ubicar el número requerido de tiras en el recipiente plástico y cuidadosamente identifica los pozos para los calibradores y muestras. Deje un pozo vacío para blanco de muestra.

- ❖ Pipetee 100 ul. De calibradores en duplicado dentro de los pozos de calibración.
- ❖ Con 1 ml del diluyente de muestra mezclar aproximadamente 1 mg de heces. Agitar fuertemente y dejar en reposo.
- ❖ Con la pipeta de Pasteur proporcionada aspire el líquido sobrenadante de la mezcla del diluyente de muestra con las heces, dentro de la cámara interna de cada pocillo y dispense 2 gotas (aproximadamente 100 ul.) dentro de la muestra.
- ❖ cuidando de que no haya presencia de restos de muestras en los pocillos
- ❖ Chequee la presencia de muestras en el pozo a simple vista (hay una marcada diferencia colorida entre los pozos vacíos y llenos) o leyendo a las 450/620nm. (Las muestras muestran OD valor más alto que 0.100).
- ❖ Dispense 100ul. De Enzima Conjugada en todos los pozos, salvo A1, usados para el blanco de operaciones.
- ❖ Nota importante: Tenga cuidado de no tocar la superficie interna del pozo con la punta de la pipeta cuando el conjugado es dispensado. La contaminación podría ocurrir.
- ❖ Observe la adición del conjugado, chequee que el color de las muestras se hayan vuelto del color café a rojizo pálido e incubar las laminas por 120 minuto a +37° grados centígrados.
- ❖ Nota importante: la tira tiene que sólo ser sellada con la lámina del sellado adhesiva cuando la prueba ha realizado por mano. No cubra la tira al usar a Elisa el puesto de trabajo.
- ❖ Cuando la primera incubación ha terminado, lave los micros pozos previamente como se describió.
- ❖ Pipetee 200ul. Sustrato Cromógeno en todos los pozos, A1+B1 incluido. Incube las láminas protegidas de la luz a temperatura ambiente (18-24grados centígrados) por 20 min.
- ❖ Nota importante: No exponga a luz fuerte directa.
- ❖ Pipetee100ul. De Acido Sulfúrico en todos los pozos para detener la reacción enzimática, usando la misma secuencia de pipeteo.

- ❖ La medida del color intenso de la solución en cada pozo, es descrita en la sección 1.5 que usa un filtro de 450nm y si es posible un filtro de 620-630nm, El blanco de instrumento de A1 o B1 o ambos.

III.2.4.5. NOTAS IMPORTANTES:

1. La interpretación de resultados debe hacerse bajo la vigilancia del supervisor del laboratorio para reducir el riesgo de errores de juicio y mal interpretación.
2. Cualquier resultado positivo debe ser confirmado primero repitiendo la prueba y entonces, si todavía es positivo, por un método alternativo antes de un diagnóstico de infección de Helicobacter Pilory es confirmado.
3. Cuando los resultados de la prueba del laboratorio a otra sección, debe prestarse atención para evitar traslado de los datos erróneos.
4. El diagnóstico de infección de Helicobacter Pilory tiene que ser tomado y dado al paciente por un médico adecuadamente calificado. También debe tomar en cuenta otro diagnóstico para tener una evidencia de infección.

III.2.4.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

- ❖ Mayor de 0.05 (POSITIVO).
- ❖ Menor de 0.05 (NEGATIVO).

VII. HIPOTESIS

VI.I. Hipótesis principal:

La detección del *Helicobacter pylori* mediante el estudio comparativo entre los métodos de quimioluminiscencia y micro- Elisa, nos permitirá determinar la mayor o menor especificidad de ambos métodos tanto en sangre como en heces.

Variable Independiente:

- ❖ Método quimioluminiscencia.
- ❖ Método micro lisa.

Variable Dependiente:

Determinación de mayor o menor especificidad para detección de *Helicobacter Pylori* en sangre y heces humanas.

VI.II. Hipótesis Alternativa:

La mayor incidencia de *Helicobacter pylori* se observa en personas del sexo femenino mayores de 50 años.

Variables Independientes:

Incidencia de *Helicobacter Pylori* y sus complicaciones en personas mayores de 50 años.

Variable Dependiente

Mujeres mayores de 50 años, se observa con frecuencia la presencia de la bacteria.

VIII. CONCEPTUALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Hipótesis Principal

Variable Independiente:

Métodos de quimioluminiscencia y micro-Elisa.

La quimioluminiscencia es un Proceso en el cual, una molécula de alta energía es excitada químicamente y se descompone liberando su energía en forma de luz.

La micro Elisa se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase solida mediante anticuerpo que directa o indirectamente reacciona frente a una reacción.

Variable Dependiente:

Determinación de mayor o menor especificidad para la detección de Helicobacter Pylori.

Establecimiento metodológico sobre mayor o menor especificidad en la detección del Helicobacter pylori.

Hipótesis Alternativa

Variable Independiente

Incidencia de Helicobacter Pylori y sus complicaciones.

Mayor o menor frecuencia de aparición de Helicobacter pylori en la población en estudio, sobretodo en el sexo femenino.

Variable Dependiente

Mujeres mayores de 50 años. Grupo social vulnerable de enfermarse por Helicobacter Pylori.

Personas del sexo femenino mayores de 50 años son las más afectadas a contagiarse de la bacteria.

IX. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

IX.1. HIPOTESIS PRINCIPAL

VARIABLE		CONCEPTO	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
Variable independiente	Método De Quimioluminiscencia	Proceso en el cual, una molécula de alta energía es excitada químicamente y se descompone liberando su energía en forma de luz.	Técnica de Quimioluminiscencia	Quimioluminiscencia en sangre para determinar la presencia de anticuerpos anti-Helicobacter Pylori.	> De 1.1 POSITIVO. Entre .0 - 1.1 INDETERMINADO. < De 0.9 NEGATIVO.
	Método de Micro Elisa	Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida median anticuerpo que directa o indirectamente reacciona una reacción.	Técnica de Micro Elisa	Micro Elisa en heces para determinar la presencia de antígenos anti-Helicobacter Pylori	> De 0.5 POSITIVO. < De 0.5 NEGATIVO.
Variable dependiente	Determinación de mayor o menor especificidad para detección de Helicobacter Pylori.	Establecimiento metodológico sobre mayor o menor especificidad en la detección del Helicobacter pylori.	Edad Y Sexo. Patologías gástricas.	Número de años del paciente y género. Gastritis crónicas. Úlceras péptidas duodenales. Carcinomas gástricos.	> 50 a años. Presencia O Ausencia.

IX.2. HIPOTESIS ALTERNATIVA.

VARIABLE		CONCEPTO	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
Variable independiente	Mujeres mayores de 50 años	Mayor o menor frecuencia de aparición de Helicobacter pylori en la población en estudio.	Edad	Número de años que tienen el paciente.	Mayores de 50 años.
			Genero	Sexo masculino o femenino de los pacientes.	Masculino. Femenino.
Variable dependiente	Incidencia de Helicobacter pylori.	Personas del sexo masculino mayores de 60 años.	Número de casos positivos.	Identificación.	Positivo. Negativo.
			Números de casos negativos.	Identificación.	Positivo. Negativo.

X. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

X.1. DISEÑO DEL PROYECTO:

Se aplicó el Diseño Cuasi-Experimental, del tipo prospectivo, sobre la población. Es Cuasi-Experimental porque está fundado en la experiencia, que se sabe y que sirve de experimento con vistas a posibles perfeccionamientos y aplicaciones.

Es prospectivo por que determina el conjunto de análisis y estudios realizados con el fin de explorar o de predecir la incidencia del *Helicobacter pylori* bacteria causantes de gastritis crónica y ulcera pepticas duodenales en pacientes de 32 a 81 años atendidas en el laboratorio Palacio Alcívar entre Mayo a Noviembre del 2007.

X.2. TIPO DE ESTUDIO:

Descriptivo, explicativo, Prediccivo y correlacional que nos permitan comparar especificidad y sensibilidad de los métodos empleados en el estudio.

Descriptivo.- se encuentra fundamentada a descubrir detalladamente los rasgos externos del objeto fenómeno es decir, que aparece a los sentidos del investigador.

Explicativo.- permite declarar o exponer cualquier materia, doctrina o texto difícil, con palabras muy claras para hacerlo más perceptibles.

Prediccivo.- técnica que nos permite anunciar por revelación, ciencia o conjetura algo que ha de suceder.

X.3. UNIVERSO Y POBLACIÓN.

Universo:

El total de personas que se realizan exámenes de *Helicobacter pylori* en sangre y heces en el laboratorio "Palacio Alcívar".

Población:

Lo conforman los 100 pacientes de entre 32 y 80 años que se realizan exámenes de *Helicobacter pylori* en sangre y heces fecales en el laboratorio "Palacio Alcívar".

Muestra:

Esta dada por el total de la población.

X.4. INSTRUMENTOS DE RECOLECIÓN DE DATOS:

Los instrumentos de trabajo de campo utilizados fueron:

- ❖ Historias Clínicas.
- ❖ Cámara fotográfica.
- ❖ Equipos de Micro Elisa y quimioluminiscencia.

Estos instrumentos fueron de mucha ayuda para la recolección de información acorde con el tema.

X.5. TECNICAS DE RECOLECIÓN DE DATOS:

Las técnicas que se utilizaron en este trabajo de investigación fueron:

- ❖ Observación
- ❖ Registros.
- ❖ Análisis de documentos.
- ❖ Lectura científica.
- ❖ Revisión bibliográfica y de internet.

Estas técnicas fueron un soporte académico y funcional en la investigación de campo para realizar el proyecto de titulación.

XI. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO

Se recolectaron 100 muestras de sangre y heces de pacientes de 32 a 81 años que se atendieron en el laboratorio "Palacio Alcívar" de la ciudad de Portoviejo, durante los meses de mayo a noviembre del 2007; con la autorización de la líder del laboratorio Dra. Ida Alcívar de Palacio. Procediendo a receptar y procesar las muestras en conjunto con el profesional a cargo del área el Dr. Pablo Palacio Alcívar.

A través de las encuestas se pudo recopilar datos a cada una de las pacientes atendidas, lo que permitió obtener la información necesaria para realizar posteriormente las estadísticas y establecer así los factores que contribuyen a poner en riesgo a esta población de contraer la infección por *Helicobacter pylori*.

Las muestras que se receptaron fueron aquellas que cumplían los requisitos pre analítico que garantizaban la idoneidad de la muestra para ello se emplearon los criterios que mantiene la institución para aceptar o rechazar una muestra y que son:

- ❖ Muestra de heces que haya sido recolectada en un envase estéril.
- ❖ Al recoger la muestra de heces, no debe contaminarse con orina.
- ❖ No tomar laxantes.
- ❖ Si se ha realizado un examen radiológico contrastado (bario), no tomar la muestra de heces.
- ❖ Que el paciente se encuentre en ayuno de 10 a 12 horas previas al examen.
- ❖ Que el paciente no haya ingerido bebidas alcohólicas, ni haber fumado.
- ❖ Si está tomando algún medicamento, comuníquelo al profesional del laboratorio que lo atienda.

Cada una de las muestras fue procesada siguiendo los procedimientos establecidos por la institución. Permittedose así determinar si había una infección por *Helicobacter pylori* en los pacientes.

Posteriormente utilizamos los datos con los cuales realizamos las tablas y gráficos que constan en el presente estudio.

XI.1. RECURSOS HUMANOS:

Son aquellas personas que contribuimos en la elaboración del proyecto de tesis.

- ❖ Sr. Wilter Melvin Macias Mendoza. **Autor**
- ❖ Lcdo. Pablo Barreiro Macías **Director de Tesis**

XI.2. RECURSOS INSTITUCIONALES:

Este espacio lo constituyen las instituciones que de una u otra forma con su logística apporto en su determinado momento a la realización y culminación del proyecto de tesis.

- ❖ Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.
- ❖ Facultad de Especialidades Tecnológicas en el Área de Salud.
- ❖ Laboratorio clínico “Palacio Alcívar” de la ciudad de Portoviejo.

XI.3. RECURSOS MATERIALES:

Son los recursos materiales básicos que permitieron procesar, ordenar y recolectar datos que fueron de utilidad en la investigación.

- ❖ Computadoras, e Internet.
- ❖ Fotocopiadora.
- ❖ Bibliografía actualizada, trabajos ya realizados más de 5 años.
- ❖ Recursos técnicos.
- ❖ El laboratorio clínico con equipos de Immulite 1000 (quimioluminiscencia) y Chem Well (Micro Elisa).
- ❖ Materiales de oficina.
- ❖ Equipos y materiales de especialidad los mismos que apoyaron de manera cuantitativa y significativa; para realizar las determinaciones inmunológicas y así lograr obtener la especificidad comparativa entre sangre y heces.

XI.4. RECURSOS ECONOMICOS:

1	COMPUTADORA	1085.00	1085.00
2	TINTA DE IMPRESORA	12.50	50.50
3	RESMA DE HOJAS	4.75	14.25
4	SOBRE DE MANILA	0.25	3.00
5	COPIAS	0.05	3.50
6	EMPASTADO	20.00	60.00
7	INTERNET	35.00	35.00
8	TRASPORTE	2.00	80.00
9	REFRIGERIOS	1.50	30.00
10	OTROS	30.00	30.00
		TOTAL	1391.25

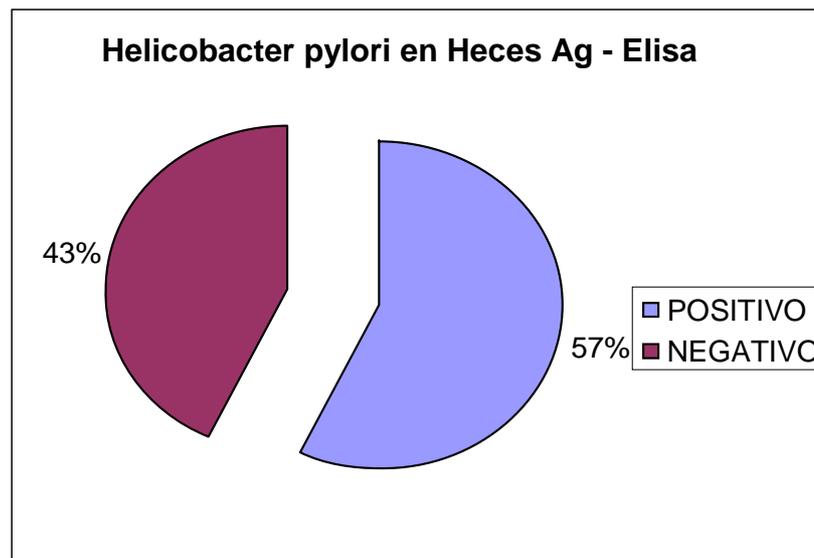
El presente trabajo investigativo fue solventado en su totalidad por el autor; sin este número resulta imposible culminar el trabajo de titulación, es como la brújula que desliza al barco.

**XII. INTERPRETACION Y GRAFICOS ANALITICO; DE
LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN PACIENTES CON
HELICOBACTER PYLORI ATENDIDOS EN EL
LABORATORIO “PALACIO ALCIVAR” DE LA CIUDAD
DE PORTOVIEJO, DURANTE EL PERIODO DE MAYO A
NOVIEMBRE DEL 2007.**

TABLA # 1

HELICOBACTER PYLORY EN HECES PARA LA DETECCION DE ANTIGENO – POR EL METODO DE MICRO ELISA

	FRECUENCIA	PORCENTAJE %
POSITIVO	57	57%
NEGATIVO	43	43%
TOTAL	100	100%



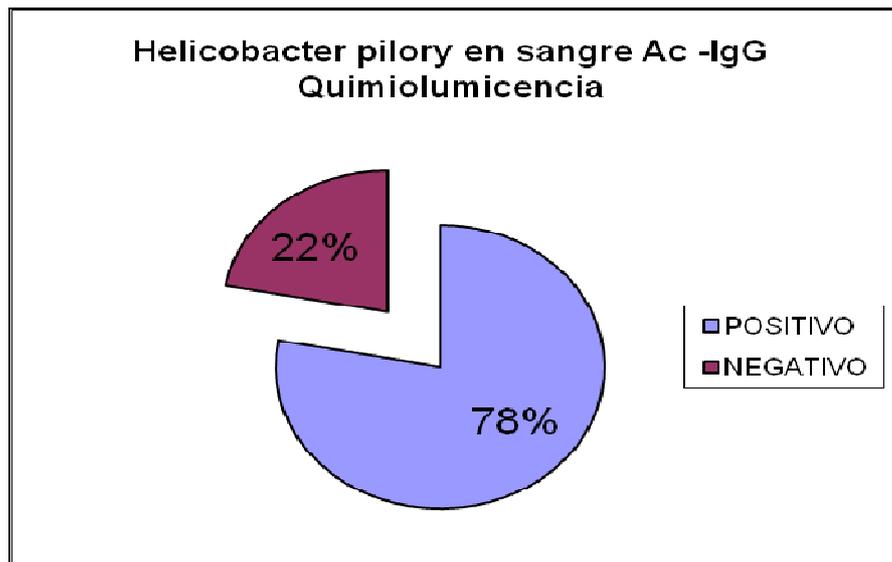
FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.
AUTOR: Wilter Macías Mendoza.

ANALISIS E INTERPRETACION: En el gráfico se observa que el 57% de los pacientes fue positivo para la detección de Helicobacter pylori Ag en heces por el método de Elisa. Mientras que el 43% fue negativo. Demostrando una alta incidencia del genero bacteriano en la población en estudio.

TABLA # 2

HELICOBACTER PYLORY EN SANGRE PARA LA DETECCION DE ANTICUERPO IgG- POR EL METODO DE QUIMIOLUMINISCENCIA.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE %
POSITIVO	78	78%
NEGATIVO	22	22%
TOTAL	100	100%



FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.

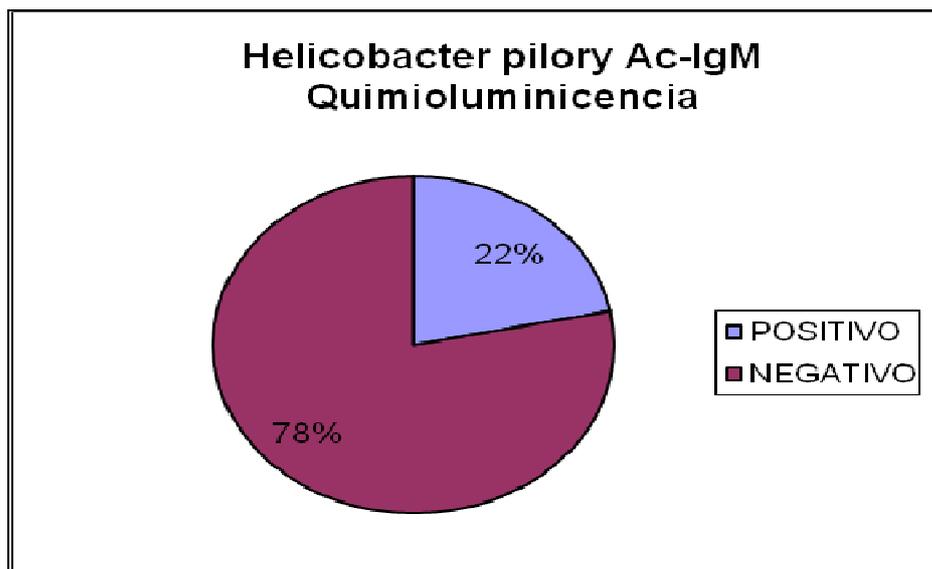
AUTOR: Wilter Macías Mendoza.

ANALISIS E INTERPRETACION: De acuerdo al estudio se observa que el 78% de los pacientes fue positivo para la detección de anticuerpos IgG de Helicobacter pylori en sangre con el método de quimioluminiscencia. Mientras que el 22% fue negativo. De la misma manera se detecta que la tendencia del género bacteriano es elevada en el grupo en estudio. Aumentando la intervención inmediata del equipo de salud.

TABLA # 3

HELICOBACTER PYLORY EN SANGRE PARA LA DETECCION DE ANTICUERPO IgM – CON EL METODO DE QUIMIOLUMINISCENCIA.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE %
POSITIVO	21	21%
NEGATIVO	79	79%
TOTAL	100	100%



FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcivar", Portoviejo- Ecuador.

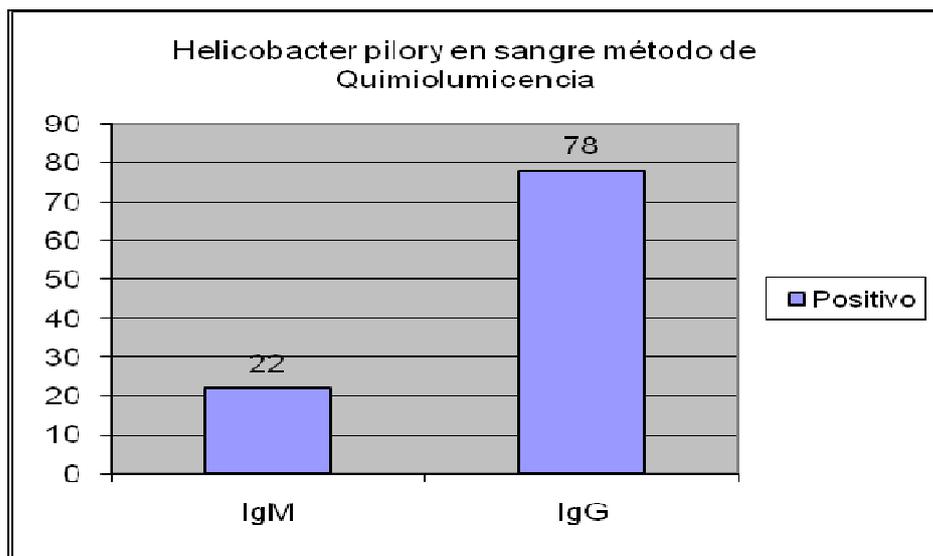
AUTOR: Wilter Macías Mendoza.

ANALISIS E INTERPRETACION: En este gráfico se detecta que el 22% de los pacientes fue positivo para anticuerpos IgM de Helicobacter pylori en sangre con el método de quimioluminiscencia. Mientras que el 79% fue negativo.

TABLA # 4

COMPARACION DE HELICOBACTER PILORY EN SANGRE ANTICUERPO IgM Y IgG – CON EL METODO DE QUIMIOLUMINISCENCIA.

	FRECUENCIA		PORCENTAJE %
	IgM	IgG	
POSITIVO	22	78	100%
TOTAL	100		100%



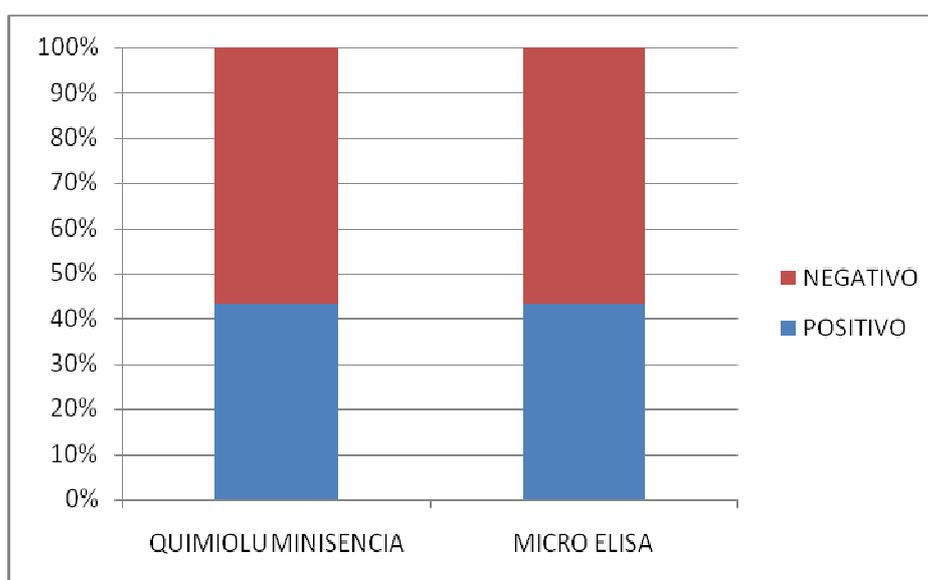
FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.
AUTOR: Wilter Macías Mendoza.

ANALISIS E INTERPRETACION: De la investigación realizada se observa que el 78% de los pacientes fue positivo para la detección de anticuerpos IgG de Helicobacter pylori en sangre con el método de quimioluminiscencia. Mientras que el 22% fue de los pacientes fue positivo para la detección de anticuerpos IgM de Helicobacter pylori en sangre; con el método de quimioluminiscencia.

TABLA # 5

**ESPECIFICIDAD DE LOS METODOS DE DIAGNOSTICO DEL
HELICOBACTER PILORY.**

	QUIMIOLUMINISENCIA	MICRO ELISA
POSITIVO	43	43
NEGATIVO	57	57
TOTAL	100%	100%



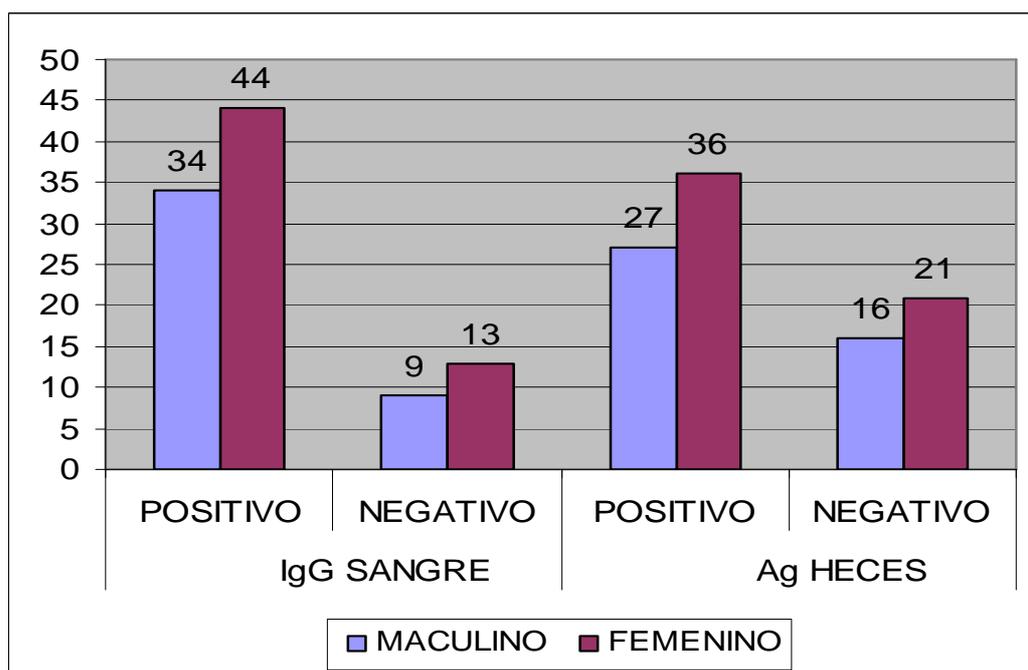
FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.
AUTOR: Wilter Macías Mendoza

ANALISIS E INTERPRETACION: cómo se puede observar en las barras el estudio de la especificidad de los métodos en estudio en Quimioluminiscencia y Micro Elisa, Ambos métodos presentan un 43% positivo mientras que el 57% fue negativo. Demostrando que poseen una igual especificidad antigénica.

TABLA # 6

**CUADRO COMPARATIVO PARA AISLAMIENTO DE
HELICOBACTER PYLORI DE ACUERDO AL SEXO.**

	IgG SANGRE		Ag HECES	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
MACULINO	34%	9%	27%	16%
FEMENINO	44%	13%	36%	21%
TOTAL	100%		100%	



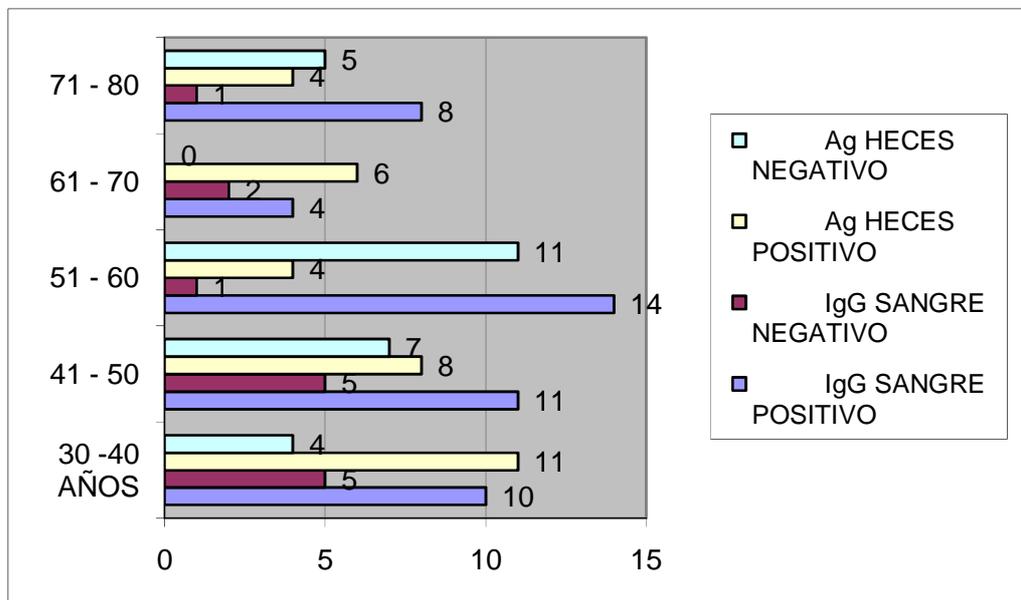
FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.
AUTOR: Wilter Macías Mendoza.

ANALISIS E INTERPRETACION: Se puede observar en el estudio de laboratorio clínico que la detección de anticuerpos IgG de *Helicobacter pylori* en sangre en cuanto al sexo masculino fue de 34% positivo y 9% negativo. Mientras que en el sexo femenino el 44% fue positivo y el 13% negativo. La detección de Ag de *Helicobacter pylori* en heces fue del 27% positivos y 16% negativo para el sexo masculino. El sexo femenino obtuvo un 36% fue positivo y el 21% negativo. El estudio en cuestión demuestra que el género bacteriano está presente en hombre y mujeres con mayor predominio en esta, motivo de preocupación con atención urgente para la salud pública.

TABLA # 7

ASLAMIENTOS DE HELICOBACTER PYLORI DE ACUERDO A LA EDAD EN EL SEXO FEMENINO.

	IgG SANGRE		Ag HECES	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
30 -40 AÑOS	10	5	11	4
41 - 50	11	4	8	7
51 - 60	14	1	4	11
61 - 70	4	2	6	0
71 - 80	8	1	4	5
TOTAL	60		60	



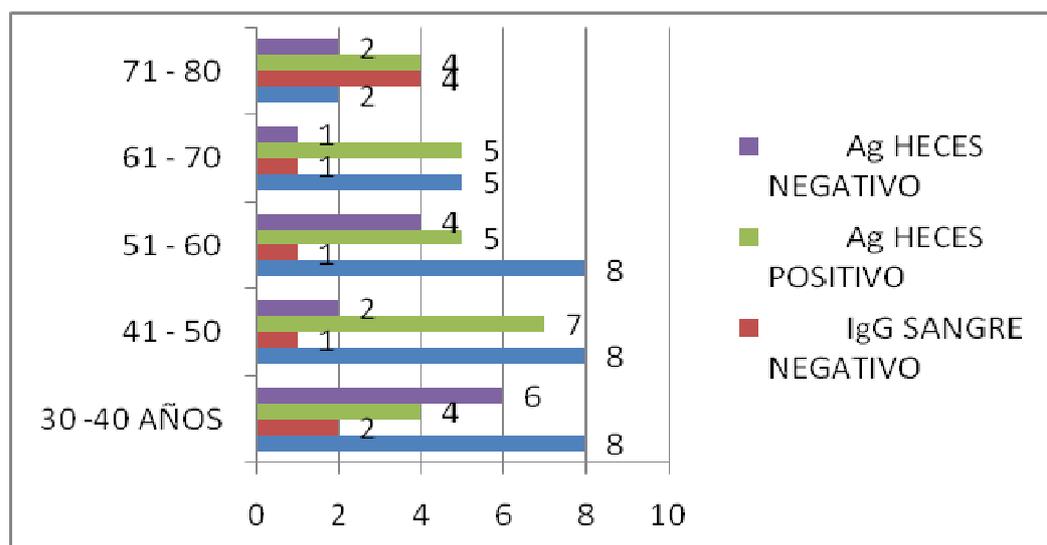
FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.
AUTOR: Wilter Macías Mendoza.

ANALISIS E INTERPRETACION: La investigación bacteriológica realizada indica que el grupo más afectado por *Helicobacter pylori* y donde se logró detectar tanto en sangre como fracciones IgM / IgG y en antígenos en heces es el grupo comprendido entre 51-60 años en el sexo femenino, motivo de atención inmediata de parte de la salud pública.

TABLA # 8

AISLAMIENTOS DE HELICOBACTER PYLORI POR EDAD EN EL SEXO MASCULINO.

	IgG SANGRE		Ag HECES	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
30 -40 AÑOS	8	2	4	6
41 - 50	8	1	7	2
51 - 60	8	1	5	4
61 - 70	5	1	5	1
71 - 80	2	4	4	2
TOTAL	40		40	



FUENTE: Laboratorio clínico "Palacio Alcívar", Portoviejo- Ecuador.
AUTOR: Wilter Macías Mendoza

ANALISIS E INTERPRETACION: El presente trabajo determina que el grupo más afectado por *Helicobacter pylori* en el sexo masculino y donde se logró detectar tanto en sangre como fracciones IgM / IgG y en antígenos en heces es el grupo comprendido entre 41-50 años. Omitiendo atención inmediata en su salud, de parte de la salud pública.

XIII. COMPROBACION DE HIPOTESIS.

De acuerdo a las hipótesis una vez obtenidos los resultados de las 100 muestras de sangre y heces para el diagnóstico del *Helicobacter pylori* de las personas entre 30 a 80 años atendidas en el Laboratorio Clínico "Palacio Alcívar" de la ciudad de Portoviejo entre Mayo a Noviembre del 2007.

Esta comprobado mediante el estudio comparativo de los métodos de Quimioluminiscencia y Micro Elisa, que a través de los parámetro pre-analíticos y analíticos establecidos por la institución y aplicados por el personal de laboratorio nos permite tener la seguridad de contar con resultados confiables y seguros, para así detectar la bacteria de *Helicobacter Pylori* causantes de gastritis, cáncer gástrico y úlceras péptidas duodenales, lo que permite a los pacientes recibir un tratamiento adecuado.

Según los datos estadísticos que se obtuvieron en la investigación, logre determinar que la fracción de anticuerpo IgG (Sangre, método de Quimioluminiscencia) y la detección de antígenos (Heces, método de Micro Elisa) son de igual especificidad, con un 43% casos positivos en ambos métodos; lo demostramos en la tabla N° 5.

La comprobación de la hipótesis alternativa se demostró que la mayor incidencia de detección de *Helicobacter Pylori* está dada en mujeres mayores de 50 años, con un 42% de los casos, que corresponde al 26% detectado por el método de Quimioluminiscencia (anticuerpos IgG en sangre) y el 16% corresponde a los detectados por el método de Micro Elisa (antígeno en heces). En cuanto al sexo masculino mayor de 50 años, está dado con 24% de los casos, que corresponde al 15% por el método de Quimioluminiscencia y el 9% por el método de Micro Elisa; lo cual lo podemos verificar revisando la tabla N° 7 y 8 referente al aislamiento del *Helicobacter Pylori* en edad y sexo.

XIV. COMPROBACION DE VARIABLES Y OBJETIVOS.

Mediantes el estudio de campo se logro comprobar las variables permitiendo establecer que los métodos de Quimioluminiscencia en sangre y Micro Elisa en heces, tienen una igual especificidad para la detección de Helicobacter Pylori. Además logre medir y comprobar la incidencia de la infección del Helicobacter Pylori en mujeres mayores de 50 años.

En lo que respecta a los objetivos planteados para la realización de esta investigación se considera que se han cumplido a cabalidad, toda vez que se ha llevado un procedimiento sistemático y ordenado. Utilizando los métodos y técnicas apropiadas en cada una de las etapas del trabajo.

Lo que permitió detectar mediante métodos de Quimioluminiscencia y Micro Elisa la presencia de anticuerpos (IgG e IgM) y antígeno en muestras de sangre y heces respectivamente; demostrando que existe una igual especificidad entre estos dos métodos para la detección de Helicobacter Pylori.

Dentro de la población de estudio se puede determinar que las personas más afectadas son las mujeres mayores de 50 años de edad, atendidas en el Laboratorio Clínico “Palacio Alcívar” de la ciudad de Portoviejo.

Siendo más vulnerable este grupo de personas mayores de 50 años, debido a que la adquisición de la infección del Helicobacter Pylori ocurre con mayor frecuencia en la edad infantil, y una vez establecida la infección persiste durante toda la vida, presentando su manifestación clínica en la edad adulta. Pero también existen una serie de factores externos que contribuyen en poner en riesgo a este grupo de la población de contraer o manifestar clínicamente la infección, como; el estrato social, el nivel de educación, la mala infraestructura sanitaria y sobre todo una mala higiene personal.

XV. INFORME EJECUTIVO CON IMPACTO SOCIAL.

Las investigaciones realizadas acerca de la enfermedad ulcerosa, la gastritis crónica y el cáncer gástrico se creían anteriormente que eran causadas por factores como el alcohol, el tabaco, comidas muy cominentadas, pero principalmente por el stress. En 1983 Warren y Marshall describieron un bacilo Gramnegativo corto, curvado, helicoidal, con múltiples flagelos y microaerófilo y asociado con la mucosa gástrica en casos de gastritis crónica, dando la posibilidad de que fuera un microorganismo, el Helicobacter Pylori.

El Helicobacter pylori Coloniza las capas profundas del moco de recubrimiento gástrico y duodenal, y se adhiere a las células epiteliales superficiales de la mucosa del estómago y duodeno, sin invadir la pared. La bacteria segrega amoníaco, alcalinizando el medio; así se protege de la acción acídica del ácido clorhídrico del jugo gástrico (pH 3), siendo el único organismo conocido que puede subsistir en un ambiente tan extremadamente ácido.

El Helicobacter Pylori tiene amplia distribución en muchos países, siendo mucho mayor en países del tercer mundo. Se estima que más de dos tercios de la población mundial se encuentran infectados por esta bacteria. Esta bacteria se difunde ampliamente en hombres, se ha encontrado que las infecciones pueden ser transmitidas directamente por contacto de los fluidos biológicos contaminados (saliva, heces, las secreciones del cuerpo) y también de la comida y bebidas contaminadas.

La etiología del Helicobacter pylori puede variar dependiendo del área geográfica, del sexo y edad del paciente, de la existencia o no de factores complicantes de la infección y de los tratamiento previos con antimicrobianos y en menor medida, del ámbito de adquisición de la infección.

La infección por Helicobacter pylori, es sin lugar a duda un problema que ocasionalmente afecta a muchas personas en nuestro país. Aunque se contrae la infección durante la infancia son las personas adultas las más afectadas dentro del total de la población. Lo que

conlleva a un desmejoramiento en la calidad de su salud, en su economía, y en su ámbito laboral y familiar.

De la misma manera se resalta que existen factores externos que contribuyen en poner en riesgo a este grupo de la población como son el nivel de instrucción y el estrato social. En este último caso, es común, probablemente por las malas infraestructuras sanitarias, carecía de agua potable, cañerías de aguas servidas y sobre todo una mala higiene personal.

Factores como la carencia de recursos económicos para acceder a servicios de salud está sirviendo como un caldo de cultivo para que esta patología se presente cada vez en mayor medida. Dada esta problemática existente, vi la posibilidad de aportar con un estudio que le permita aportar al pacientes con un método de diagnóstico no invasivos, económico y menos doloroso, como son los métodos de Quimioluminiscencia y Micro Elisa para determinar la presencia de anticuerpos IgG e IgM y antígeno en muestras de sangre y heces; para así contribuir con datos actuales y en menor tiempo, que sirvan para un adecuado tratamiento a sus pacientes.

XVI. CONCLUSIONES

- ❖ De las 100 muestras de sangre y heces recibidas de pacientes de 30 a 80 años atendidas en el Laboratorio Clínico “Palacio Alcívar” de la ciudad de Portoviejo durante el periodo de Mayo a Noviembre del 2007, encontré que 78% de casos de por el método Quimioluminiscencia fueron positivo. Al contrario que por el método de Micro Elisa 57% de los casos fueron positivos. Además demostré que estos dos métodos de acuerdo a los datos obtenidos en la presente investigación se logro determinar que ambos métodos de Quimioluminiscencia y Micro Elisa son de igual especificidad.

- ❖ En cuanto a la distribución por edades, encontré que el sexo femenino mayor de 50 años es el más afectado con el 42% de los casos. A contrario en el sexo masculino la incidencia fue mucho mejor con el 24% de los casos.

- ❖ En cuanto a las condiciones socio-económico se ve una estrecha relación entre el nivel de preparación académica y el nivel social, debido a que más bajo el nivel social mayor probabilidades de contraer la infección por Helicobacter Pylori. En los actuales momentos los malos hábitos alimenticios, la falta de higiene personal y carencia de servicios básicos como alcantarillado y agua potable, están sirviendo de plataforma para que la infección por Helicobacter Pylori se presente cada vez más con mayor fuerza.

- ❖ La importancia de comparar las técnicas de Quimioluminiscencia y Micro Elisa, permitió establecer que ambos métodos son de igual especificidad; permitiendo al paciente acceder a métodos de laboratorio más económicos y menos invasivos y dolorosos.

- ❖ Este estudio abre nuevas posibilidades que requiere una continua investigación de la búsqueda de métodos rápidos y efectivos para evaluar la resistencia de antibióticos o bien evaluar antígenos bacterianos con la posibilidad de ser evaluados como vacunas contra las gastritis y las úlceras pépticas duodenales.

XVII. RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS.

Se considera muy importante dar las siguientes recomendaciones para evitar así contraer la infección por Helicobacter Pylori:

- ❖ No consuma alimentos, ni bebidas que irriten el estomago (café, refresco de cola, chocolate y alimentos condimentados), sobre todo si empieza a sentir síntomas de una infección por Helicobacter Pylori.
- ❖ No ingerir una alimentación que contenga grandes cantidades de alimentos ahumados, pescado y carnes saladas y preservadas y vegetales conservados en vinagre.
- ❖ Limitar el consumo de carnes rojas y procesadas.
- ❖ Limitar el consumo de comidas enlatadas y de carnes molidas.
- ❖ Visitar a su médico en caso de presentar dolor estomacal para su respectivo diagnostico.
- ❖ No fumar ni ver bebidas alcohólicas.
- ❖ Lavar todos los vegetales y las frutas antes de ingerirlas.
- ❖ Utilizar agua purificadas y hervirla si es posible antes de beberla y preparar los alimentos.
- ❖ Por otra parte, consumir frutas, verduras y vegetales frescos que contengan vitaminas antioxidantes (tal como vitaminas A y C).
- ❖ La mejor fórmula de prevenir la infección por Helicobacter Pylori es mantener condiciones Higiénico-Sanitarias adecuadas. Esto es casi seguro si no disponen de agua potable y servicios higiénicos, es decir si consumen agua de tanquero o pozo, no hierve el agua y carecen de conocimiento sobre el aseo personal y manejo de excretas.

- ❖ Las áreas tropicales empobrecidas deben basarse en objetivos que tengan posibilidades del éxito. Se deben tener metas de control de la infección con ayudas adicionales para mejorar el estado sanitario.
- ❖ Las nuevas estrategias estarán determinadas sin dudas por nuevas medidas diagnosticas terapéuticas y preventivas para controlar mejor las consecuencias de las infecciones por *Helicobacter pylori*
- ❖ En otros países se trabaja en la obtención de una vacuna, pero aun no está disponible.

XVIII. PROPUESTA PARA LA COMPARACION DE LA ESPECIFICIDAD DEL HELICOBACTER PYLORI EN MUESTRA DE SANGRE Y HECES, ATENDIDA EN EL LABORATORIO “PALACIO ALCIVAR” DE LA CIUDAD DE PORTOVIEJO.

INTRODUCCION.

El Helicobacter Pylori es una infección muy frecuente; Se estima que más de dos tercios de la población mundial se encuentra infectada por esta bacteria, esta patología se presenta en niños pero principalmente en adultos, la infección se da principalmente en personas de edad avanzada cerca del 50% de los adultos mayores de 50 años se encuentran infectados, frente a un 20% que se presentan en personas de menos de 40 años y en los sectores más pobres aunque aumenta su incidencia en mujeres adultas.

Tremendo retos tienen los sistemas mundiales de salud en general y los ecuatorianos no somos la excepción con la aumentada proliferación de la infección por Helicobacter Pylori, ya que cerca del 80% de la población adulta contaminada.

JUSTIFICACION.

El presente trabajo se encuentra sobre la base de una investigación que responde a la necesidad de conocer cuál de los métodos investigados como son la Quimioluminiscencia y Micro Elisa, tienen mayor especificidad para de esta forma el médico pueda enviar a sus paciente un método económico, rápido y de alta especificidad.

Definido el problema social que representa a este fenómeno es necesario reflexionar en torno a las causas y a la falta de respuesta efectiva de los servicios de salud frente a la problemática planteada.

Este estudio está orientado a lograr metas con conocimiento apropiado, con elevada conciencia social, alto grado de educación y con énfasis en promover en las personas un interés en su salud para así conseguir en ellos una mejor calidad de vida.

OBJETIVO GENERAL.

Aportar desde el laboratorio con métodos específicos para la detección y así contrarrestar la infección de Helicobacter Pylori, a efecto de limitar esta patología que recupere satisfactoriamente, el estilo de vida y calidad de salud de la población.

ACTIVIDADES A EMPRENDER Y CUMPLIR.

Educar de manera urgente a la población, de forma clara y precisa a través de folletos, conferencia, e ilustraciones que permitan que las personas adquirir conocimientos básicos de cómo evitar contraer una infección por Helicobacter Pylori o buscar asistencia médica de ser el caso.

Concienciar a las respectivas autoridades de salud y hacer énfasis en la implementación de normas de higiene adecuada. De esta manera se podría de mejorar la calidad de vida y los estratos socioeconómicos bajos.

Proponer un programa a las autoridades de salud sobre el manejo inadecuado de productos “automedicación” para contrarrestar la resistencia a los antibióticos y de esta manera evitar ineficacia en el tratamiento y el desperdicio de recursos tanto del estado como de los pacientes.

IXX. BIBLIOGRAFIA

- Gilberto Ángel & Mauricio Ángel. *Interpretación Clínica de Laboratorio – 6 ediciones*. Pág. 265 – 266. (2000)
- ❖ Elmer Konemer, Stephen Allen, William Janda. *Diagnostica Microbiológica – Quinta Edición*, Pág. 329 – 334. (1999).
- ❖ Fordes, Sahm, Bailey & Scout., *Diagnostico Microbiológico – 11 edición*. Pág. 499 – 500 (Junio 2004).
- ❖ Feldman M, Cryer B, Lee E... Role of seroconversion in confirming cure of Helicobacter Pylori infection. Pag. 280, 363. (1998).
- ❖ Martin J. Blaser. Helicobacter Pylori and gastric diseases, BMJ. Pag, 1507 – 1510. (1998).
- ❖ John Telford, Rino Rappuoli & Paolo Ghiana. *Inmunobiology of Helicobacter Pylori infection*. Pag. 498 – 503. (1997).
- ❖ Bruce Dunn & Martin J. Blaser. *Helicobacter Pylori*. Pag.720 – 741. (1997).
- ❖ INMULITE. *Automated Immunoassay System Operator Manual*. (Mayo 2005).
- ❖ Chem Well. *Manual del Sistema Operativo*. (Marzo 2006).
- ❖ WWW.Helicobacterspain.com

XX.

A N E X O S

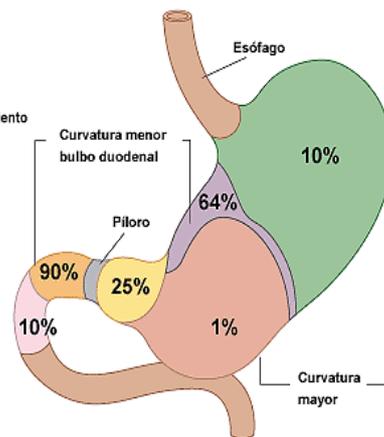
ANEXOS # 1

ULCERAS PÉPTICAS Y LOCALIZACION



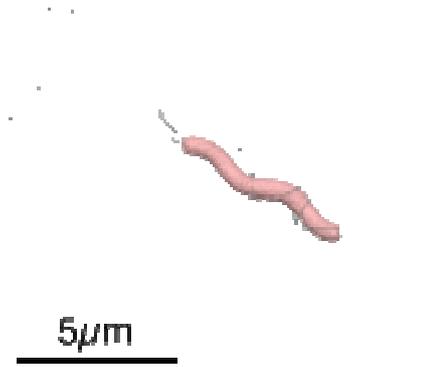
Lugares de las úlceras pépticas

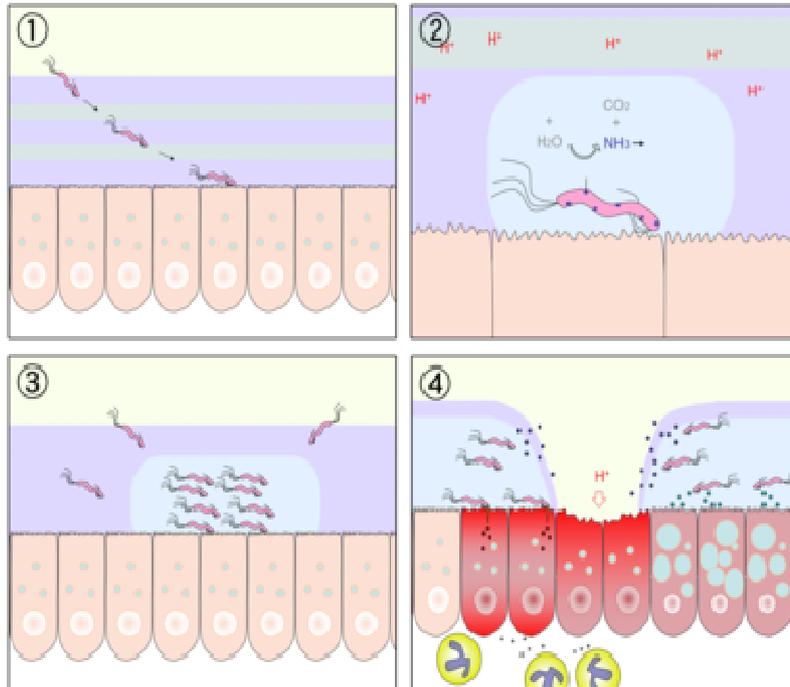
Las úlceras se producen cuando la barrera de mucus protector se descompone y el jugo estomacal entra en contacto con las células del recubrimiento



ANEXOS # 2

EL HELICOBACTER PYLORI Y MODO DE INFECCION





ANEXOS # 3

DIAGNOSTICO DEL HELICOBACTER PYLORI METODO INVASIVO



LA ENDOSCOPIA



CULTIVO

ANEXOS # 4

EQUIPOS PARA EL DIAGNOSTICO DEL HELICOBACTER PYLORI – METODO NO INVASIVO



INMULITE 1000



CHEM WEELL