



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUARÉZ DE MÉXICO



**IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori* MEDIANTE DIFERENTES
TECNICAS HISTOLOGICAS Y SU CORRELACIÓN CON LA
TECNICA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA.**

TESIS PARA OBTENER DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN

ANATOMÍA PATOLÓGICA

DRA. MARÍA LUISA MARTÍNEZ LUNA

DIRECTOR DE TESIS: DR EN C. ENOC MARIANO CORTÉS MALAGÓN

ASESOR DE TESIS: JOSÉ RAFAEL PEÑAVERA HERNÁNDEZ

México, DF. Julio 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACIÓN DE TESIS:

Dr. Carlos Viveros Contreras
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ENSEÑANZA
Hospital Juárez de México

Dr. José Rafael Peñavera Hernández
Profesor Titular del Curso de Anatomía Patológica
Hospital Juárez de México

Número de registro de tesis: HJM2338/14R

Director de Tesis

Dr. en C. Enoc Mariano Cortés Malagón

Asesor de Tesis:

Dr. José Rafael Peñavera Hernández

AGRADECIMIENTOS

A MIS TUTORES:

Gracias por el apoyo incondicional, sus enseñanzas y su ayuda para la realización de este trabajo.

A MI FAMILIA:

Por estar siempre a mi lado, por el impulso a crecer y por todo el cariño recibido.

A MIS MAESTROS

Por todo el conocimiento recibido y por el tiempo dedicado.

A MIS COMPAÑEROS

Por compartir nuestras locuras, por todo el apoyo, por el tiempo compartido y hacer increíble e inolvidable la residencia.

CONTENIDO

I ABREVIATURAS	i
II RESUMEN.....	ii
III. INTRODUCCIÓN.....	- 1 -
3.1. Aspectos generales de <i>Helicobacter pylori</i>	- 1 -
3.2. Genoma de <i>Helicobacter pylori</i>	- 2 -
3.3. Factores virulencia	- 3 -
3.4. Epidemiología	- 3 -
3.5. Enfermedades asociadas a H. Pylori.....	- 4 -
3.6. Métodos diagnósticos	- 5 -
IV. ANTECEDENTES	- 6 -
V. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	- 8 -
VI. JUSTIFICACIÓN	- 9 -
VII. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	- 10 -
VIII. HIPÓTESIS	- 10 -
IX. OBJETIVOS	- 10 -
X. METODOLOGÍA.....	- 11 -
XI. RESULTADOS	- 14 -
XII. DISCUSIÓN	- 16 -
XIII BIBLIOGRAFIA	- 18 -
XIV. ANEXOS.....	- 21 -

I ABREVIATURAS

H pylori *Helicobacter Pylori*

HyE *Hematoxilina y Eosina*

WS *Warthin Starry*

VPP *Valor Predictivo Positivo*

VPN *Valor Predictivo Negativo*

II RESUMEN

ANTECEDENTES. Debido a que la causa principal de múltiples patologías gástricas se asocia con la infección por *Helicobacter pylori*, es importante hacer el diagnóstico oportuno para tratamiento y prevención de éstas. Diferentes métodos diagnósticos han sido usados ampliamente para la detección de *H pylori*, como la prueba de aliento de la urea, análisis serológicos, métodos histopatológicos y métodos moleculares.

Debido al bajo costo de las pruebas histopatológicas, diversos estudios han evaluado su sensibilidad y especificidad para la detección de *H Pylori*; por ejemplo Kenneth P. y cols., demostraron que la técnica de Hematoxilina y Eosina (H&E) puede tener una sensibilidad del 100%, cuando se toman múltiples biopsias y no se encuentra una patología severa de base. Por otra parte, se han usado tinciones especiales [Giemsa y Wharthin Starry (WS)], para aumentar su sensibilidad y especificidad; sin embargo, existen variabilidad entre ellas. También, se ha observado que la combinación de tinciones como H&E y WS pueden tener una sensibilidad y especificidad similar a la de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en especial cuando se realizan múltiples tomas de muestras.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA y JUSTIFICACIÓN: El diagnóstico de *H pylori*, comprende una gran variedad de pruebas, para elegir la más útil debe tomarse en cuenta el escenario clínico, la certeza diagnóstica, el costo/beneficio y la accesibilidad de la prueba. Las técnicas de histopatología ofrecen grandes ventajas con respecto a otros métodos diagnósticos, entre ellas están: que son de fácil acceso, de bajo costo, aparte de que ofrecen un panorama histológico de la mucosa gástrica, pueden detectar infección activa y cantidad de bacilos, y en la mayoría de los casos utilizando una sola tinción es suficiente para diagnosticar la infección.

OBJETIVOS. Determinar la efectividad diagnóstica de algunos métodos de tinción histológica (H&E, WS y Giemsa) para detectar la infección con *H pylori* comparados contra la PCR punto final y PCR *in situ*.

METODOLOGÍA Es un estudio retrospectivo, observacional, comparativo. Se estudiarán 54 biopsias gástricas de antro y cuerpo provenientes del departamento

de patología del Hospital Juárez de México, las cuales se tiñeron inicialmente con H&E para diagnóstico; posteriormente se realizarán tinciones de WS y Giemsa para una segunda evaluación, y los resultados se compararán con el diagnóstico de la técnica de PCR. La sensibilidad, la especificidad, y los valores predictivos positivos y negativos para las técnicas histopatológicas se analizarán en comparación al criterio verdadero positivo (PCR punto final y PCR *in situ*). Se usará la prueba de chi-cuadrada para el análisis estadístico y se considerará una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Resultados: Se captaron 54 biopsias gástricas provenientes del servicio de Endoscopía y Patología del Hospital Juárez de México, de las cuales se excluyeron 7 casos, 2 por material insuficiente para PCR, 2 por contar con PCR pero sin diagnóstico histopatológico y 3 por no contar con el material biológico en el servicio. Finalmente; se trabajaron 47 casos, de los cuales 32 fueron mujeres y 15 fueron hombres, con un rango de edad de 19 a 75 años con una media de (52.6 años). A todo el grupo de trabajo se le realizó reacción en cadena de la polimerasa y posteriormente se tiñeron con HyE, Warthin y Giemsa. Al analizar el número de biopsias, a las cuales se les hizo la detección de H Pylori usando PCR, nosotros obtuvimos que el 80.8% (38/47) fueron positivos y 19.1% (9/47) fueron negativos. Al realizar el análisis de las tinciones histológicas, nosotros encontramos que para HyE, la detección de H pylori fue del 85.1%(40/47); para Giemsa fue del 82.9% (39/47) y para Warthín fue de 82.9% (39/47).

Nosotros también analizamos la sensibilidad y especificidad de las técnicas histológicas tomando como Gold Estándar a la PCR. Para HyE obtuvimos una sensibilidad y especificidad del 94% y 77% respectivamente; para Giemsa se obtiene una sensibilidad del 100% y una especificidad de 88%; para Warthin se obtiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 88%. También obtuvimos un valor predictivo positivo (VPP), para HyE, del 94% y un valor predictivo negativo (VPN) del 77%; para Giemsa el VPP fue del 97% y el VPN fue del 100%; para Warthin el VPP fue del 97% y VPN fue del 100%. Todos los datos fueron estadísticamente significativos con una $p < 0.05$.

Conclusiones: En este estudio demostramos que las técnicas histológicas (HyE, Giemsa y Warthin) son de gran utilidad en la detección de la infección por H. pylori, ya que tienen una sensibilidad y especificidad similar a la PCR. Este estudio apoya el uso contínuo de las técnicas histológicas, ya que son rentables para tamizaje en la detección de la infección por H Pylori en el Hospital Juárez de México.

III. INTRODUCCIÓN

3.1. Aspectos generales de *Helicobacter pylori*

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) sigue siendo, desde su descubrimiento por los médicos australianos Barry Marshall y Robin Warren en 1982, uno de los fenómenos científicos de mayor importancia en la literatura biomédica mundial; y hoy en día es reconocido como principal agente etiológico de la gastritis en humanos (Kusters J. G., 1997). Se considera el agente causal de al menos el 50% de las gastritis crónicas (Mitchell H. M., 1999) y se asocia como factor predisponente a úlcera péptica duodenal y gástrica, carcinoma gástrico y linfoma de células B asociado a mucosa gástrica; con una incidencia similar en hombres y mujeres, en países en desarrollo; con mayor incidencia durante la niñez y prevalencia en la población general. (Kusters J. G., 1997).

El género de *Helicobacter* consta de 20 especies reconocidas, es considerada una bacteria microaerófila, crecen a 37 °C y a una tensión de 5% de CO₂, 90% de N₂, 5% de H₂ y la mayoría de sus especies son catalasa y oxidasa positivo; son Gram negativas, que colonizan principalmente la mucosa gástrica (Nedenskov, 2006); es de crecimiento lento, de 2 a 4 µm largo y 0.5 a 1 µm ancho, se presentan una forma espiral o helicoidal, que proporciona una morfología ventajosa en un ambiente viscoso y puede encontrarse en formas cocoides después de antibioterapia (Kusters J. G., 2006). Presenta de 2 a 6 flagelos envainados de aproximadamente 3 µm de longitud, que confieren motilidad, permiten el movimiento rápido en soluciones viscosas la estructura de los flagelos que consiste en un gancho y un filamento conectado a un cuerpo basal, de los discos situados en la membrana externa, conocidos como flagelos polares; (O' Rourke, 1992). Posee al menos 9 cepas capaces de colonizar el aparato digestivo en humanos y se dividen principalmente en especies gástricas y especies entero-hepáticas, con alta especificidad al órgano afectado. (Kusters J. G., 2006). Las cepas de *Helicobacter* de tipo gástrico se han adaptado a las condiciones inhóspitas que se encuentran en el estómago. Todas las especies gástricas de *Helicobacter* conocidos son ureasa positiva (Peter, 1994), (Kusters J. G., 1997).

Las cepas entero-hepáticas que colonizan el tracto intestinal bajo, principalmente afectan íleon, colon y árbol biliar, se asocia con inflamación crónica e hiperproliferación de las células endoteliales que pueden transformarse en neoplásicas, estas difieren de las especies gástricas en la morfología y la ultra estructura y condiciones de crecimiento, pueden ser ureasa positiva o negativa. (Fox J. G., 2002)

3.2. Genoma de *Helicobacter pylori*

H. pylori posee una gran diversidad genética, ésta pueden ser detectada por el análisis de los secuencias de nucleótidos. La diversidad alélica se puede deber a múltiples factores como mutaciones y recombinación genética entre las especies y la evolución de la bacteria. *H. Pylori* posee del 92-99% de secuencia nucleótidos idénticas, pero hay algunos genes que presentan gran diversidad. (Mark S McClain1, 2009).

El tamaño de las dos secuencias del genomas del *H. pylori* es de aproximadamente 1,7 Mbp. La cepa 26695 consiste en un genoma circular con un tamaño de 1667867 pb y 1590 secuencias codificables; dos de ellas contienen una o más copias de inserción en secuencia de IS605 y están flaqueados por un 5S rRNA (Tomb, 1997). Se han identificado al menos 1237 genes presentes en todos las cepas de *H pylori*. Las diferencias de las secuencias de aminoácidos, la comparación de las proteínas codificadas indican niveles de variación entre 65% de los aminoácidos. (Tomb JF1, 1997).

Una región que contiene aproximadamente 45% de marcos de lectura, denominada la zona de plasticidad, está presente en los cromosomas. Los genes implicados en la supervivencia ácida, toxina de vacuolación, la isla de patogenicidad cag, la motilidad, la unión a las células epiteliales, transformación natural, y la biosíntesis de lipopolisacáridos han aumentado considerablemente nuestra comprensión de la base genética molecular para la patogénesis de *H. pylori*. Las extensiones de nucleótidos homopoliméricas y repeticiones de dinucleótidos, a menudo se encuentran en los genes que codifican las proteínas de la membrana externa, en las enzimas para la síntesis de

lipopolisacáridos, estos genes pueden estar involucrados en la interacción huésped-*H. pylori* (Ge Z, 1999).

3.3. Factores virulencia

Dentro de los factores de virulencia del *H. pylori*, los principales, implicados en el proceso de virulencia son el gen *cagA*; que se ha visto asociado a desarrollo de carcinoma gástrico, y *vac A*, que se secretan e influyen en el desarrollo de enfermedad; ambas toxinas son considerados como factores de virulencia con diferente polimorfismo y son implicadas en las vías de patogenia celular.

El gen *cagA* es el factor de virulencia mejor estudiado de *H. pylori*; secreta una proteína de 40 kDa, muestra un alto impacto en la producción de la enfermedad y en el desarrollo de cáncer gástrico, se presenta en 70% de las cepas con mayor incidencia en ciudades del occidente; esta proteína se localiza en la membrana plasmática e interactúa en la unión intercelular y polaridad célula; así como en la proliferación y diferenciación celular, e induce la respuesta inflamatoria. (Kathleen R. Jones, 2010).

El gen *vacA* produce una citotoxina A vacuolizante que se ha visto que posee un impacto en la virulencia de *H. pylori*, ésta se produce y secreta por casi la mayoría de las cepas de *H. pylori*, en la membrana citoplasmática forma canales aniónicos específicos, reduciendo su resistencia eléctrica y aumentando su permeabilidad, también tiene la capacidad de crear vacuolas intracitoplasmáticas con marcadores para endosomas y lisosomas que ayudan a inducción de apoptosis celular. (Kathleen R. Jones, 2010).

3.4. Epidemiología

Desde su descubrimiento hace 100 años, el humano ha sido considerado su principal hospedero y reservorio; posee una transmisión directa hombre a hombre, se ha encontrado en jugo gástrico, en cavidad oral, placa dental y materia fecal. Coloniza al menos al 50% de la población en el mundo. (Kathleen R. Jones, 2010) Se localiza en la mucosa gástrica, puede colonizar cardias, cuerpo y antro gástrico así como zonas con metaplasia, su incidencia depende primordialmente de la

edad, género y nivel socioeconómico. En México se ha encontrado una incidencia del 66% de la población general. Se considera que la infancia es la etapa de mayor incidencia, con un porcentaje de 8% en 1-3 a los tres años y 24% a los 18-23 años. Dentro de los factores que influyen para su transmisión; se considera el estado socioeconómico, debido a la higiene, la sanidad, la densidad de educación de vida y la educación (Mitchell H. , 2002). La prevalencia general es alta en los países en desarrollo y dentro de un mismo país puede haber una variación amplia de la prevalencia entre las poblaciones urbanas de mayor nivel económico y las poblaciones rurales. (Mitchell H. , 2002). (Fox J. G., 2002).

3.5. Enfermedades asociadas a *H. Pylori*

La infección por *H. pylori* induce una gastritis en sujetos infectados, solo un pequeño grupo desarrolla signos clínicos, y confiere un 10 a 20% de riesgo de desarrollar úlcera gástrica y 1 a 2% desarrolla carcinoma gástrico (Kusters J. G., 2006).

La gastritis aguda y crónica se observa asociada a la colonización por *H. pylori*, donde se produce una infiltración en la mucosa gástrica (cuerpo y antro) por células mononucleares y neutrófilos, cuando la infección se vuelve persistente. En la evaluación de las biopsias generalmente se encuentra una inflamación inactiva crónica, con reducción de la secreción ácida y disminución de las células parietales, que causa atrofia.

La úlcera péptica; puede ser gástrica o duodenal y se define como un defecto de la mucosa con un diámetro menor a 0.5cm, que penetra a través de la muscular de la mucosa, y se ha encontrado asociado a la presencia de *H. pylori*, esto incrementa el riesgo de 3:1 del desarrollo de éstas, donde se encuentra presente el *H. pylori* en 95% de úlceras duodenales y 85% en úlceras gástricas. (Kathleen R. Jones, 2010).

La atrofia gástrica, la metaplasia intestinal y el carcinoma gástrico son ocasionadas por la inflamación crónica, debida a infección por *H. pylori*, lo cual puede conducir a pérdida de la arquitectura, con la destrucción de las glándulas, produciendo fibrosis y metaplasia intestinal. Este fenómeno se ocasiona en 50%

pacientes colonizados por *H. pylori* y se ha asociado a un riesgo 10 veces de producir cáncer.

3.6. Métodos diagnósticos

Dentro de los métodos utilizados para el diagnóstico de infección por *H. pylori* se encuentran los métodos invasivos y no invasivos, dentro de los métodos no invasivos, la prueba aliento de urea y las reacciones serológicas que detectan anticuerpos contra *H. pylori* evaluado en saliva, orina, heces fecales; por medio de detección de anticuerpos IgA, IgM e IgG, con la desventaja de que la presencia de IgG se puede mantener presente por 21 días posterior a la erradicación de la infección, con adecuada sensibilidad de hasta 85% y especificidad hasta del 79% con un bajo nivel serológico (Nimish Vakil, 2005). Se ha documentado que los cambios morfológicos de la mucosa gástrica tienen una correlación directa con la severidad de la infección de *H. pylori* (Shailaja Shukla, 2012).

Los métodos invasivos requieren endoscopia y toma de biopsia y evaluación de la morfológica de la mucosa gástrica se utiliza la clasificación de Sydney. La detección de bacilos de *H. pylori* en hematoxilina y eosina es de baja sensibilidad de aproximadamente del 66% (Nuno Lunet, 2009); pero puede llegar hasta 96% dependiendo de la experiencia del observador (H. J. L. Brooksa, 2004). La utilización de la histoquímica puede ayudar a facilitar la visualización de los bacilos en microscopia de luz, por medio de tinciones especiales como: Warthin Starry, Giemsa, Azul Alcian, Amarillo de Toluidine, Genta (Manxhuka-Kerliu Suzana, 2009), que mejoran la sensibilidad en un 80 al 96% (Shailaja Shukla, 2012) con respecto del diagnóstico hecho por hematoxilina y eosina, sobre todo cuando hay baja densidad de bacilos en las muestra.

La utilización de inmunohistoquímica, en la cual se utilizan anticuerpos policlonales anti-*H. pylori*, se usan criterios para gradificación, en base a la cantidad de bacterias observadas por campo de aceite de inmersión (Agnese Sudraba1, 2011), lo que proporciona menor variabilidad interobservador (Raziye Tajalli, 2013). Se ha encontrado que posee una alta sensibilidad en muestras con

presencia de gastritis atrófica en la cual es difícil la visualización de los bacilos. (Agnese Sudraba¹, 2011).

La reacción de la cadena de polimerasa, recientemente utilizada en la detección de *H. pylori*, es considerada con sensibilidad de 91 a 99% y especificidad de 85 a 100%, ya que el DNA detecta una secuencia específica (Ching-Chu Lo, 2005); así como el potencial de detección de mayor número de casos por la alta sensibilidad (H. J. L. Brooks, 2004). La amplificación se da por un termo-ciclo por un proceso estandarizado, por medio de PRIMERS HSP1 y HSP2 (Shrutkirti Mishra, 2008) (Tamer Essawi, 2013).

IV. ANTECEDENTES

Debido a que la causa principal de la gastritis antral crónica activa, úlcera péptica, linfoma de tipo MALT y el carcinoma gástrico, se asocia principalmente a la infección por *H. pylori*, es importante determinar el diagnóstico de la infección para tratar y prevenir el desarrollo de enfermedades asociadas a esta infección. Diferentes métodos de diagnóstico han sido ampliamente usados para la detección de *H. pylori*, entre ellos se incluyen la prueba de aliento de la urea, análisis serológicos, métodos de tinción y métodos moleculares. Debido al bajo costo, las tinciones basadas en Giemsa y plata han sido ampliamente usadas para demostrar la presencia del microorganismo en biopsias gástricas. Se ha visto que la sensibilidad y la especificidad de las técnicas de tinción histopatológica para la detección de *H. pylori* depende no solo del número de biopsias sino también del sitio, la técnica de la tinción y la experiencia del patólogo, este método se dificulta en casos con atrofia intestinal y metaplasia así como en procesos de malignidad. (Catherine de Martel¹, 2010).

La examinación por Hematoxilina y Eosina para la detección de *H. pylori* puede tener una sensibilidad hasta del 100% en algunos estudios; se recomienda el uso de técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica en situaciones específicas: sitio de toma de biopsia, tamaño de la muestra, antecedentes de tratamiento con inhibidores de la bomba de protones. Para mejorar el efecto en la

visualización del *H. pylori* es recomendable aplicar tinciones especiales de histoquímica. (Kenneth P Batts MD, 2013).

Las muestras de biopsias antrales para histología es una alternativa fácil y rentable para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, sin embargo múltiples tinciones especiales de histoquímica: como Wright, Giemsa, Azul Toluidina, Warthin Starry, Azul Alcian, han demostrado mayor facilidad para la detección de *H. pylori*, aunque su especificidad y sensibilidad entre estas es variable; la tinción de plata ha demostrado ser de mayor utilidad para la detección de la bacteria, a veces es complicado identificar *H. pylori* porque puede dar falsos positivos debido al aspecto granular de los precipitados (Eshun JK1, 2002).

Es interesante notar que a pesar del bajo costo de la examinación por histología, se obtiene una especificidad del 80% y una sensibilidad del 90% similarmente a la prueba de PCR, en la cual la sensibilidad es de 96% y una especificidad de casi 100%. (R Fabre, 1994). El resultado más discordante entre la PCR y la histopatología es cuando se compara en biopsias con lesiones severas gástricas, sobre todo en pacientes con metaplasia intestinal o displasia, o cuando el diagnóstico se realiza en una sola muestra, en estos casos se ha observado una detección de la bacteria significativamente mayor en la PCR (Catherine de Martel1, 2010). También se ha observado que la PCR es un método rápido y de mayor sensibilidad en casos que han sido previamente tratados o en casos donde la cantidad de bacilos es muy baja y se ha encontrado una disminución en los falsos negativos comparados con las tinciones de histoquímica usuales; aunque también se han encontrado falsos positivos cuando el método de PCR ha sido contaminado; por eso lo ideal es la realización de algún método de histoquímica acompañado de una PCR. (Ozgul Kisaa, 2001). La desventaja principal de la PCR es que es un método caro y usualmente no es usado de rutina y no deja asentada la morfología de la biopsia (Kenneth P Batts MD, 2013).

Por otra parte, en múltiples estudios se ha visto que la combinación de tinciones, como Hematoxilina y Eosina junto con Warthin Starry para la detección de *H. pylori*, pueden tener una sensibilidad y especificidad casi igual a la de la PCR, en especial cuando se realizan múltiples tomas de muestras; principalmente

se sugiere tomas no solo del antro gástrico sino también del cuerpo y la incisura gástrica lo que ha aumentado la sensibilidad hasta en un 98% (Catherine de Martel¹, 2010; Pandya HB, 2013; Hsi-Chang Lee, 2013).

V. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

El diagnóstico de *H. pylori* comprende una gran variedad de pruebas diagnósticas, de las cuales para elegir la prueba más útil debe tomarse en cuenta el escenario clínico (necesidad o no de un estudio endoscópico), la certeza diagnóstica de cada prueba, el costo y la accesibilidad de la prueba. Un aspecto importante a considerar es la frecuencia de la enfermedad en la población general; este aspecto incide directamente sobre los valores de predicción positiva y negativa de las pruebas.

El diagnóstico de *H. pylori* en biopsias, por medio de estudios de histoquímica (Giemsa y Warthin Starry) son muy sensibles con respecto a Hematoxilina y eosina, debido a la marcación de los bacilos específica. La

tinción de Warthin Starry y Giemsa son tinciones simples, de uso común, con un bajo costo con respecto a las técnicas moleculares; y no necesitan una capacitación especial a los técnicos histopatólogos; además poseen alto valor de sensibilidad y especificidad, de manera similar a la PCR.

VI. JUSTIFICACIÓN

La infección con *H. pylori* es una de las infecciones más ampliamente distribuida a nivel mundial, se estima que más del 50% de la población tiene la infección. En México, la infección con *H. pylori* alcanza hasta el 80% en adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad. La bacteria ha sido considerada como un carcinógeno tipo I ya que la infección en el estómago está altamente asociada al desarrollo de cáncer gástrico. En México, el cáncer de estómago ocupa el quinto lugar en incidencia y el segundo lugar en mortalidad por cáncer (se diagnostican aproximadamente 7859 casos y se reportan 6751 muertes anualmente). Por lo cual ha sido de suma importancia un adecuado diagnóstico de la infección de *H. pylori* y disminución del riesgo de cáncer gástrico.

El diagnóstico de la infección con *H. pylori* se hace a través de diferentes métodos, entre los cuales el más utilizado es la pan endoscopía con toma de biopsia para examinación histopatológica, esta última da un diagnóstico del estado de la mucosa gástrica así como la presencia o ausencia de los bacilos de *H. pylori*. Con el desarrollo de varias técnicas especiales de histoquímica, que marcan el bacilo, han permitido una mejor detección de éstos con una adecuada sensibilidad y especificidad. Con el desarrollo de las pruebas moleculares, especialmente la reacción en cadena de la polimerasa, el diagnóstico de infecciones es más rápido, sensible y altamente específico. Esto ha ocasionado gran discordancia entre el uso de la histopatología con la ventaja de ofrecer un panorama del aspecto histológico del paciente, contra la especificidad de la reacción de la cadena de la polimerasa a partir de biopsia gástrica ya que permite detectar la presencia del DNA de *H. pylori* directamente de la biopsia gástrica pero también de otras muestras como heces, saliva o agua.

Dentro de las ventajas de la histología, es que tiene un fácil acceso y un costo menor, en la mayoría de los casos se puede visualizar el bacilo desde una tinción de Hematoxilina y eosina; dentro de sus desventajas está que en pacientes con cambios histológicos importantes pueden dificultar su visualización; en estos

casos se puede complementar el diagnóstico con técnicas de histoquímica especiales como Warthin Starry, para mejorar la visualización del bacilo y que tienen un acceso más fácil que las pruebas moleculares y un costo menor con una alta sensibilidad y adecuada especificidad.

VII. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la utilidad diagnóstica para detección de *Helicobacter pylori* con el uso de la tinción de Hematoxilina y Eosina y de la tinción de Warthin Starry y Giemsa comparadas con la PCR?

VIII. HIPÓTESIS

Al usar técnicas de histoquímica para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, se obtiene una alta sensibilidad y especificidad comparable con el uso de la PCR.

IX. OBJETIVOS

General

- Determinar la efectividad diagnóstica de algunos métodos de tinción histológica para detectar *Helicobacter pylori* comparados contra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Específicos

- Determinar la sensibilidad y especificidad de los métodos de Warthin, Giemsa y Hematoxilina y Eosina comparadas contra PCR.
- Determinar el valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo de los métodos de Warthin, Giemsa y Hematoxilina y Eosina comparadas contra PCR.

X. METODOLOGÍA

Tipo de estudio: Es un estudio observacional, retrospectivo y comparativo.

Población: Pacientes del Hospital Juárez de México con toma de biopsias gástricas, de diciembre 2012 a abril del 2014

Tamaño de muestra: 54 pacientes.

Análisis estadístico: Chi ²

Variables:

Independientes

Cuantitativas

- Edad
- Sexo
- HyE
- Warthin
- Giemsa
- PCR

Dependientes

- Presencia bacilos
- Ausencia de bacilos

Criterios de inclusión

- Biopsias endoscópicas gástricas que se recibieron en el servicio de anatomía patológica del Hospital Juárez de México, de diciembre del 2012 a abril del 2014, que cuentan con bloques de parafina
- Pacientes que no hayan recibido tratamiento médico a base de antibióticos.

Criterios de exclusión.

- Biopsias endoscópicas gástricas sin toma de muestra previa para estudio molecular.
- Biopsias endoscópicas sin bloque de parafina en el archivo.

Materiales y métodos

Biopsias gástricas: El material biológico será obtenido del servicio de Endoscopia del HJM y serán tomadas dos biopsias (una de la región anatómica del antro gástrico y otra de la región anatómica del cuerpo gástrico por medio de una endoscopia) y sumergidas en RNA later.

Extracción de ácidos nucleicos. Las biopsias se macerarán en un mortero con nitrógeno líquido. La extracción del ADN se realizará utilizando el método de Trizol (Invitrogene) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La purificación del ADN se realizará con el High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche) de acuerdo a las instrucciones del fabricante Después de esto se procede a cuantificar el DNA por medio del espectrofotómetro (Thermo Scientific).

PCR para la detección de Helicobacter pylori. Para la detección de la infección con H. pylori se realizará una PCR dirigida contra el gen 16S rRNA. Brevemente: La mezcla de reacción consistirá en un volumen de 25 μ l que contienen 100 ng de ADN, $MgCl_2$ 1.5 mM, dNTP's 0.4 μ M, 0.8 μ M de cada primer (F-CTGGAGAGACTAAGCCCTCC y R-ATTACTGACGCTGATTGTGC) y 1 U de Taq Pol. Serán usadas las siguientes condiciones de ciclos térmicos: Una desnaturalización inicial de 95 °C por 5 min; 40 ciclos de 95 °C por 1 min, 58 °C por 1 min y 72 °C por 1 min; y una extensión final de 72 °C por 5 min. El fragmento resultante del gen 16S rRNA (109 pb) será visualizado después de la electroforesis en un gel de agarosa 1.5% teñido con bromuro de etidio.

Hematoxilina y eosina. Se realiza proceso de fijación de tejido en formol al 10%, se realizan cortes en parafina del tejido a 5micras; el tejido se des parafina en un horno a 80°C por 30 min, se hidrata por medio de alcoholes a diversos porcentajes, se realiza lavado con agua corriente y se coloca la muestra en hematoxilina de Harris 5min, posteriormente se realiza lavado con agua corriente y se coloca en alcohol acido (220ml de alcohol absoluto, 180 ml de agua corriente, 4 ml de ácido clorhídrico concentrado), se realiza lavado con agua corriente y se coloca en carbonato de litio (agua corriente saturada de carbonato de litio) para

virar el tejido por medio de baños, se realiza lavado en agua corriente posteriormente se coloca 30 segundos en alcohol al 96°, se coloca el tejido en eosina acida(220ml de alcohol absoluto, 1g de eosina amarillenta y 180 ml de agua corriente) por 6 baños, se realiza lavado con agua corriente y se procede a deshidratar en alcohol de 96%, alcohol absoluto, alcohol-xilol y se aclara en xilol y se monta con entellan.

Warthin. Se realiza proceso de fijación de tejido en formol al 10%, se realizan cortes en parafina del tejido a 5micras; el tejido se des parafina en un horno a 80°C por 30 min, se hidrata por medio de alcoholes a diversos porcentajes, y se enjuaga con agua destilada se impregna con solución de Nitrato de plata al 1% (se realiza con nitrato de plata 1g y agua acidulada 100ml)por 30 min en un baño de flotación a 43°C; se coloca en solución reveladora (solución de nitrado de plata al 2%, 1.5ml; gelatina al 5%, 4ml; y solución de hidroquinona al 0.15%, 2 ml) a 43°C hasta que el tejido tome un color café-amarillo, se lava bien con agua destilada a 43°C y posteriormente se deshidrata en alcohol de 96%, alcohol absoluto y se aclara en xilol y se monta con entellan.

Giemsa. Se realiza proceso de fijación de tejido en formol al 10%, se realizan cortes en parafina del tejido a 5micras; el tejido se des parafina en un horno a 80°C por 30 min, se hidrata por medio de alcoholes a diversos porcentajes, y se enjuaga con agua destilada Se sumerge en solución de Giemsa por 20 min. (Constituido por una mezcla de azul de metileno, eosina y varios azures en dilución acuosa) y posteriormente se deshidrata en alcohol de 96%, alcohol absoluto y se aclara en xilol y se monta con entellan.

XI. RESULTADOS

Se captaron 54 biopsias gástricas provenientes del servicio de Endoscopía y Patología del Hospital Juárez de México, de las cuales se excluyeron 7 casos: 2 por material insuficiente para PCR, 2 por contar con PCR pero sin diagnóstico histopatológico y 3 por no contar con el material biológico en el servicio. Finalmente; se trabajaron 47 casos, de los cuales 32 fueron mujeres y 15 fueron hombres con un rango de edad de 19 a 75 años con una media de (52.6 años) (Figura 1).

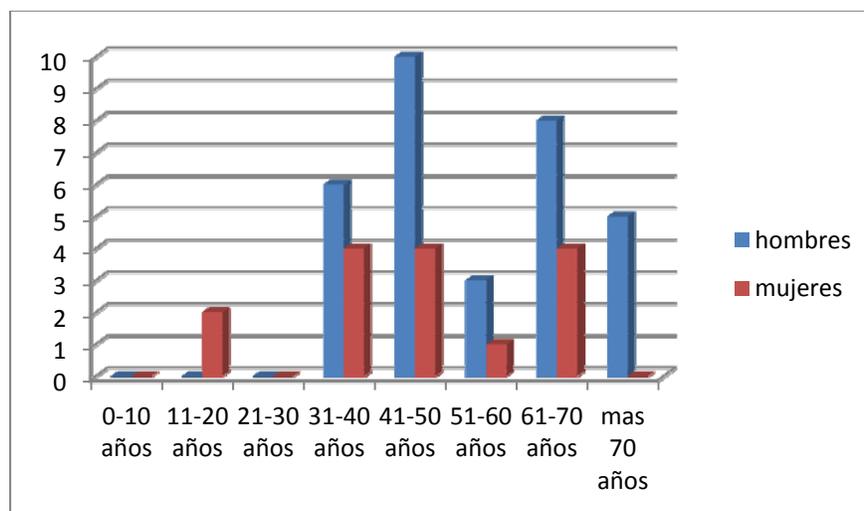


Figura 1. Frecuencia de hombre y mujeres de la muestra en estudio.

A todo el grupo de trabajo se le realizó reacción en cadena de la polimerasa (Figura 2) y posteriormente se tiñeron con HyE, Warthin y Giemsa (Figura 3).

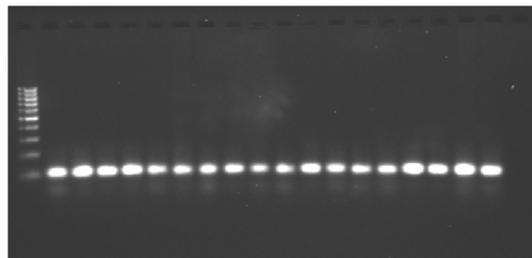


Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa para la detección del producto de PCR de 109 pb del gen 16S rRNA de *H. pylori*.

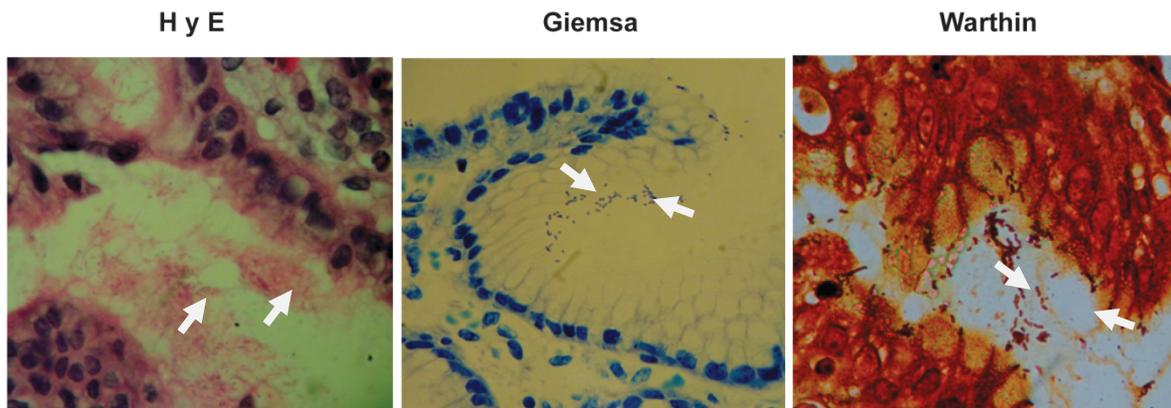


Figura 3. Diferentes técnicas histológicas para la detección de *H. pylori*. Los bacilos se observan en forma de comas. H y E (hematoxilina y Eosina). Aumentos de 100X.

Al analizar el número de biopsias, a las cuales se les hizo la detección de H Pylori usando PCR, nosotros obtuvimos que el 80.8% (38/47) fueron positivos y 19.1% (9/47) fueron negativos. Al realizar el análisis de las tinciones histológicas, nosotros encontramos que para HyE, la detección de H pylori fue del 85.1%(40/47); para Giemsa fue del 82.9% (39/47) y para Warthín fue de 82.9% (39/47) (Tabla 1). Todos los datos fueron estadísticamente significativos con una $p < 0.05$ (Anexos)

Tabla 1. Utilidad diagnóstica de las diferentes pruebas histológicas para la detección de *H. pylori* comparadas contra PCR. VPP (valor predictivo positivo) y VPN (valor predictivo negativo).

Prueba	Positivos	Negativos	sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
HyE	40	7	94%	77%	94%	77%
Giemsa	39	8	100%	88%	97%	100%
Warthin	39	8	100%	88%	97%	100%

XII. DISCUSIÓN

Debido a que no existe un método diagnóstico que sea considerado como estándar; ya que para que sea considerado como tal, la prueba de elección debiera ser siempre capaz de indicar la presencia o ausencia de la bacteria; dentro de los factores a considerar están la disponibilidad de cada test, la prevalencia de la infección, la historia y circunstancias clínicas de cada paciente (Paul Harris D.1, 2005).

Desde hace mucho tiempo la histología había sido considerada la prueba de oro (Kathleen MB Vinette1, 2004); sin embargo, el advenimiento de la PCR, ha habido una gran controversia en el uso de técnicas invasivas para diagnóstico de *H pylori*. Se han hecho múltiples comparaciones entre las pruebas de histología y PCR, donde se han encontrado controversias entre la sensibilidad y la especificidad (Paul Harris D.1, 2005).

Para este estudio se toma como prueba de referencial de criterio la PCR para ser nuestro punto de comparación con diferentes técnicas histológicas utilizadas para el diagnóstico de *H. pylori*. Se observa que la variabilidad entre sensibilidad y especificidad es la similar a la encontrada en la literatura se considera que la hematoxilina y eosina es una prueba adecuada para la identificación del bacilo con una sensibilidad que va del 93 al 98% y una especificidad del 95 al 98% dependiendo de la serie revisada; en nuestro estudio se encontró una sensibilidad del 94% y especificidad del 77% lo que concuerda con lo visto en la literatura , lo que muestra que un adecuado método para identificar la presencia de bacilos; de las pruebas de histoquímica se observó en nuestro estudio que las pruebas de histoquímica tuvieron la misma sensibilidad y especificidad en comparación con otras la literatura los cuales muestran que poseen mayor especificidad en Giemsa, donde se encuentra una sensibilidad de 93% y una especificidad de 99% para Warthin y una sensibilidad 100% y una especificidad del 88% para Giemsa.

Se observó que la histoquímica posee alta sensibilidad y especificidad para la localización del bacilo de *H pylori*, esto apoya nuestra teoría de que la histoquímica puede ser una buena prueba de diagnóstico para el estudio de *H*

Pylori, con la ventaja de que el sistema histopatológico hace una evaluación semicualitativa de la densidad del *H pylori*, lo es un parámetro para el tratamiento y un factor predictivo del éxito de este, sería importante en un posterior estudio evaluar la concordancia para la densidad de los bacilos entre PCR e Histoquímica ya que este parámetro es útil para predecir la respuesta del paciente al tratamiento, así como ayudar a asociar la infección con las diversas enfermedades gástricas. (D. Kobayashi, 2002). Como conclusión tenemos que en el Hospital las tinciones de histología tienen una sensibilidad y especificidad similar al PCR, en cuanto a la detección del bacilo para el diagnóstico de la infección.

XIII BIBLIOGRAFIA

- Agnese Sudraba¹, Z. I. (2011). Performance of Routine Helicobacter pylori Tests in Patients. *J Gastrointestin Liver Disease*, 349-354.
- Armelle Marais, G. (1999). Metabolism and Genetics of Helicobacter pylori: the Genome Era. *Microbiology And Molecular Biology Reviews.*, p. 642–674.
- Baker, L. M. (2001). Essential Thioredoxin-Dependent Peroxiredoxin System from. *Journal of bacteriology*, pp 1961–1973.
- Catherine de Martel¹, M. P.-J. (2010). Comparison of polymerase chain reaction and histopathology. *International Journal of Cancer*, 1992-1996.
- Ching-Chu Lo, K.-H. L.-H. (2005). Polymerase Chain Reaction: A Sensitive Method For Detecting Helicobacter pylori Infection In Bleeding Peptic Ulcers. *World Journal Of Gastroenterology*, 3909-3914.
- D. Kobayashi, Y. E. (2002). Gastric mucosal density of Helicobacter pylori estimated by real-time PCR compared with results. *Journal Medic Microbiology*, 305-311.
- Eshun JK1, B. D.-M. (2002). Comparison of immunohistochemistry and silver stain for the diagnosis of pediatric Helicobacter pylori infection in urease-negative gastric biopsies. *Pediatric Development Pathology*, 82-88.
- Fox, J. G. (2002). The non-H pylori helicobacters: their expanding role in. *GUT*, pp273-283.
- Fox, J. G. (2002). The non-H pylori helicobacters: their expanding role in. 273-283.
- Garcia, E. C. (2004). Helicobacter Pylori e infecciones asociadas.
- Ge Z, T. D. (1999). Contributions of genome sequencing to understanding the biology of Helicobacter pylori. *Annu Rev Microbiology*.
- H. J. L. Brooksa, D. A. (2004). Diagnosis of Helicobacter pylori infection by polymerase chain. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 1-5.
- Hsi-Chang Lee, T.-C.-L.-Y.-K.-C. (2013). Performance of Routine Helicobacter pylori Invasive Tests in Patients with Dyspepsia. *Gastroenterology Research and Practice*.
- José Ignacio Moncayo Ortiz, M. e. (2011). Evaluación de diferentes pruebas para el diagnóstico de H pylori. *Investigaciones andina* .
- Kathleen MB Vinette¹, K. M. (2004). Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing H. pylori infection in pediatric patients. *Microbiology*.

- Kathleen R. Jones, J. M. (2010). A tale of two toxins: Helicobacter pylori CagA and VacA modulate host pathways that impact disease. *Frontiers In Microbiology*.
- Kenneth P Batts MD, S. K. (2013). Appropriate Use of Special Stains for Identifying Helicobacter pylori: Recommendations from the Roger C. Haggitt Gastrointestinal Pathology. *American Journal Pathology*, 12-22.
- Kusters, J. G. (1997). Coccoid Forms of Helicobacter pylori Are the Morphologic. *Infection and Immunity*, p. 3672–3679.
- Kusters, J. G. (2006). Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. *Clinical Microbiology Review*, p. 449–490.
- M.F. Alhomsi. (1996). Grading Helicobacter pylori gastritis in dyspeptic patients. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 147-154.
- Manxhuka-Kerliu Suzana, T. S.-D. (2009). Helicobacter pylori Gastritis Updated Sydney Clasification Applied In Our Material. *Biological Medical science*, 45-60.
- Mark S McClain¹, C. L. (2009). Genome sequence analysis of Helicobacter pylori strains associated. *BMC Genomics*.
- Mitchell, H. (2002). Epidemiology and diagnostic of Helicobacter pilory infection. *Helicobacter*, pp8-16.
- Mitchell, H. M. (1999). The Epidemiology of Helicobacter pilory. *Gastroduodenal Disease and Helicobacter pylori*.
- Nedenskov, e. c. (2006). Nutritional Requirements for Growth of Helicobacter pylori. *Infection and Immunity*, P. 3450-3453.
- Nimish Vakil, A. M. (2005). How to test for H pylori in 2005. *Cleveland Clinic And Journal Of Medicine*, 5-13.
- Nuno Lunet, B. P. (2009). Sensitivity not an intrinsic property of a diagnostic test: empirical evidence from histological diagnosis of Helicobacter pylori infection. *BMC Gastroenterology*, 1-6.
- O' Rourke, A. L. (1992). An ultrastructural study of Helicobacter mustelae and. *J. Med. Microbiology*, 420-427.
- Ozgul Kisaa, A. A. (2001). The evaluation of diagnostic methods for the detection of H pylori in gastric biopsy specimens. *Bacterology*, 251-255.
- Pandya HB, P. H. (2013). Identification of Helicobacter pylori by different conventional staining techniques and its comparison with polymerase chain reaction. *Saudi Medical Journal*, 942-948.

- Paul Harris D.1, C. S. (2005). Utilidad del diagnóstico serológico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Revista chilena Pediatría*.
- Peter, N. (1994). Nutritional Requirements for Growth of *H. pylori*. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 3450-3453.
- R Fabre, I. S.-P. (1994). Polymerase chain reaction assay for the detection. *Gut*, 905-908.
- Raziye Tajalli, M. N. (2013). The Immunohistochemistry And Toluidine Blue Roles For *Helicobacter pylori* Detection In Patients With Gastritis. *Iran Biomedic Journal*, 36-41.
- Shailaja Shukla, M. P. (2012). Correlation Of Serology With Morphological Changes In Gastric Biopsy In *Helicobacter pylori* Infection And Evaluation Of Immunohistochemistry For *H. pylori* Identifications. *Saudi J Gastroenterology*, 369-374.
- Shrutkirti Mishra, V. S. (2008). Detection Of *Helicobacter pylori* In Stool Specimens: Comparative Evaluation Of Nested PCR And Antigen Detection. *Journal Infect Developing Countries*, 206-210.
- Tamer Essawi, W. H. (2013). Determination Of *Helicobacter pylori* Virulence Genes In Gastric Biopsies By PCR. *Isrn Gastroenterology*.
- Tomb JF1, W. O. (1997). The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*.
- Tomb, J.-F. (1997). The complete genome sequence. *Nature*.
- Wabinga, H. R. (2002). Comparison of immunohistochemical and modified Giemsa. *African Health Sciences*, 52-55.

XIV. ANEXOS

ANEXO I

CASO	SEXO	EDAD	EXPEDENTE	N BIOPSIA	PCR	HyE	Warthin	Giemsa
1	F.	58	57013	bj7229-12	P	P	P	P
2	F.	70	147627	BJ 1180-13	P	P	P	P
3	F.	45	913514	BJ 1830-13	N	N	N	N
4	M.	54	910608	Bj1987-13	N	N	P	N
5	M.	19	899195	BJ7896-12-1	N	N	N	N
6	M.	19	899195	BJ7896-12-2	N	N	N	N
7	F.	70	S EXP	BJ1401-13	N	P	N	N
8	F	46	886725	BJ 2466-13	P	P	P	P
9	M	65	923737	BJ5230-13	P	P	P	P
11	F	56	736389	BJ1149-14	P	P	P	P
13	M	38	839937	BJ 1150-14	P	P	P	P
14	F	71	936256	BJ1152-14	P	P	P	P
15	F	44	940714	BJ1153-14	P	P	P	P
18	M	69	937472	BJ1195-14	P	P	P	P
19	F	32	EXT	BJ1194-14	P	P	P	P
20	M	68	941517	BJ1285-14	P	P	P	P
21	F	32	SEXP	BJ1249-14	P	N	N	P
22	M	37	SEXP	BJ1286-14	P	P	P	P
23	F	56	782183	BJ1288-14	P	P	P	P
24	M	47	944089	BJ1337-14	P	P	P	P
25	M	45	941581	BJ2178-14	P	P	P	P
26	M	56	944392	BJ1338-14	P	P	P	P
27	M	69	923259	BJ1287-14	P	P	P	P
28	M	36	FORANEO	BJ1522-14	P	P	P	P
29	F	66	943282	BJ1376-14	P	P	P	P
30	F	72	947437	BJ2322-14	P	P	P	N
32	F	68	943311	BJ1592-14	P	P	P	P
33	F	40	940196	BJ1593-14	P	P	P	P
34	F	66	942404	BJ1617-14	P	P	P	P
35	F	38	916308	BJ1692-14	P	N	P	P
36	M	46	FORANEO	BJ2602-14	N	P	P	P
37	F	40	939418	BJ1649-14	P	N	N	P
38	F	48	115771	BJ2175-14	P	P	P	N
39	F	35	842415	BJ1804-14	P	P	N	P
40	F	46	926658	BJ1952-14	N	P	N	P

41	F	62	837453	BJ1951-14	P	P	P	P
42	F	75	899667	BJ2282-14	P	P	P	P
43	F	57	934668	BJ2321-14	P	P	P	P
44	F	48	913487	BJ2014-14	N	P	P	P
45	F	75	945292	BJ1985-14	N	P	P	P
46	F	46	949242	BJ2600-14	P	P	P	P
47	F	46	947987	BJ2524-14	P	P	P	P
48	F	69	947537	BJ2523-14	P	P	P	N
49	F	40	SEXP	BJ2815-14	P	P	P	P
51	F	66	659778	1803-14	P	P	P	P
53	F	72	895973	2176-14	P	P	P	P
54	M	55	429322	BJ 841-14	P	P	P	P

ANEXO II

	REPORTE HISTOPATOLÓGICO
1	GASTRITIS CRONICA CON ACTIVA ASOCIADA A H PYLORI 3/4
2	GASTRITIS CRONICA CON ACTIVIDAD LEVE. NO SE OBSERVAN MICROORGANISMOS COMPATIBLES CON H PYLORI, GASTROPATIA REACTIVA Y METAPLASIA INTESTINAL
3	GASTRITIS CRONICA LEVE ASOCIADA A H PYLORI 1/4
4	POLIPO FUNDICO FRAGMENTADO NEGATIVO A MALIGNIDAD
5	GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL CON ACTIVIDAD LEVE
6	GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL CON ACTIVIDAD LEVE
7	GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL CON METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA FOCAL
8	GASTRITIS CRONICA MODERADA CON ACTIVIDAD LEVE, ASOCIADO A H PYLORI ESCASOS
9	GASTRITIS CRONICA INESPECIFICA CON ACTIVIDAD LEVE, BORDE DE ULCERA
11	GASTRITIS CRONICA ACTIVA, ASOCIADA A H PYLORI 1/4
13	GASTROPATIA REACTIVA
14	GASTROPATIA REACTIVA
15	GASTRITIS CRONICA ACTIVA, ASOCIADA A H PYLORI 2/4
18	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD LEVE, ASOCIADA A H PYLORI 1/4; METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA, NO SE IDENTIFICA DISPLASIA
19	CUERPO: GASTRITIS CRONICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD LEVE ASOCIADA A H PYLORI 1/4; ANTRO HIPERPLASIA FOVEOLAR
20	GASTRITIS CRÓNICA REACTIVA, GASTRITIS ATROFICA CON DISPLASIA DE BAJO GRADO EN 1/3 FRAGMENTOS
21	GASTROPATÍA REACTIVA, NO SE OBSERVA H PYLORI
22	GASTRITIS CRONICA ACTIVA ASOCIADA A H PYLORI 1/4
23	GASTROPATIA REACTIVA

24	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR ACTIVA MODERADA, H PYLORI 1/4
25	GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL ACTIVA , ASOCIADA A H PYLORI 1/4, NO SE OBSERVA ATROFIA, METAPLASIA
26	GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL LEVE ASOCIADA A H PYLORI 1/4
27	GASTROPATIA REACTIVA
28	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR ACTIVA, ASOCIADA A H PYLORI 1/4 CON HEMORRAGIA RECIENTE, NO SE IDENTIFICCA MEETAPLASIA INTESTINAL, ATROFIA NI HIPERPLASIA FOVEOLAR
29	GASTROPATIA REACTIVA
30	GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL, SE IDENTIFICA H PYLORI 1/4, ULCERADA
32	GASTRITIS CRÓNICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD MODERADA ASOCIADA A H pylori 1/4; METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA EN 1/5 FRAG; NO SE OBSERVA ATROFIA
33	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR ACTIVA ASOCIADA A H PYLORI; NO SE OBSERVA METAPLASIA INTESTINAL NI ATRÓFIA
34	GASTRITIS CRONICA CON ACTIVIDAD LEVE Y AGREGADOS LINFOIDES ASOCIADOS A INFECCIÓN POR H PYLORI 2/4; HIPERPLASIA FOVEOLAR, NO SE OBSERVA METAPLASIA INTESTINAL NI ATRÓFIA
35	FRAGMENTOS DE MUCOSA GASTRICA SIN ALTERACIONES HISTOLOGICAS, NO SE OBSERVA H PYLORI
36	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD INTENSA ASOCIADA A H PYLORI 1/4, METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA
37	HEMORRAGIA RECIENTE, MUCOSA SIN ALTERACIONES
38	GASTRITIS FOVEOLAR ASOCIADA A H PYLORI 1/4, NO SE OBSERVA ACTIVIDAD, METAPLASIA INTESTINAL, NI ATROFIA
39	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD LEVE, ASOCIADA A H PYLORI 1/4; NO SE OBSERVA ATROFIA NI METAPLASIA INTESTINAL
40	GASTRITIS CRONICA CON AGREGADOS LINFOIDES, ACTIVA, ASOCIADA A H PYLORI 3/4, NO SE OBSERVA METAPLASIA NI ATROFIA
41	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD MODERADA ASOCIADA A H PYLORI 1/4; METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA EN 3/4 FRAGMENTOS, NO SE OBSERVA ATROFIA
42	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR, ASOCIADA A INFECCION POR H PYLORI 1/4, METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA
43	GASTROPATIA REACTIVA
44	GASTRITIS CRONICA CON AGREGADOS LINFOIDES, ASOCIADA A H PYLORI 1/4 , NO SE OBSERVA ATROFIA NI METAPLASIA INTESTINAL
45	GASTRITIS CRONICA ACTIVA CON AGREGADOS LINFOIDES, ASOCIADA A INFECCIÓN POR H PYLORI 1/4; ATROFIA EN 1 DE 55 FRAG, METAPLASIA INTESTINAL EN 1 DE 5 FRAG
46	GASTRITIS CRONICA CON ACTIVIDAD MODERADA ASOCIADA A INFECCION POR H PYLORI 2/4
47	GATRITIS CRONICA FOLICULAR, CON ACTIVIDAD LEVE , ASOCIADA A INFECCION POR H PYLORI1/4, METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA EN 1/4 FRAGMENTOS
48	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR ACTIVA , NO SE OBSERVA METAPLASIA INTESTINAL NI DISPLASIA, SE OBSERVAN ESCASOS BACILOS COMPATIBLES CON H PYLORI

49	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR ASOCIADA A H PYLORI 3/4 METAPLASIA INTESTINAL INCOMPLETA DISPLASIA DE BAJO GRADO EN MUCOSA ANTRAL
51	GASTRITIS CRONICA FOLICULAR CON ACTIVIDAD LEVE , ASOCIADO A H PYLORI 1/4; HIPERPLASIA FOVEOLAR, NO SE OBSERVA METAPLASIA INTESTINAL, NI ATROFIA
53	GASTRITIS CRÓNICA SUPERFICIAL ACTIVA, ASOCIADA A H PYLORI 1/4 , NO SE OBSERVA ATROFIA, NO SE OBSRVA METPLASIA INTESTINAL
54	GASTROPATIA REACTIVA

ANEXO III

PCR+ * HyE+

Crosstab

			HyE+		Total
			0	1	
PCR+	0	Count	4	5	9
		Expected Count	1,3	7,7	9,0
	1	Count	3	35	38
		Expected Count	5,7	32,3	38,0
Total		Count	7	40	47
		Expected Count	7,0	40,0	47,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7,669 ^a	1	,006		
Continuity Correction ^b	5,056	1	,025		
Likelihood Ratio	6,205	1	,013		
Fisher's Exact Test				,018	,018
Linear-by-Linear Association	7,506	1	,006		
N of Valid Cases	47				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,34.

b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

	Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal Contingency Coefficient	,375	,006
N of Valid Cases	47	

PCR+ * Giemsa+

Crosstab

		Giemsa+		Total
		0	1	
PCR+ 0	Count	5	4	9
	Expected Count	1,5	7,5	9,0
1	Count	3	35	38
	Expected Count	6,5	31,5	38,0
Total	Count	8	39	47
	Expected Count	8,0	39,0	47,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	11,703 ^a	1	,001		
Continuity Correction ^b	8,572	1	,003		
Likelihood Ratio	9,529	1	,002		
Fisher's Exact Test				,004	,004
Linear-by-Linear Association	11,454	1	,001		
N of Valid Cases	47				

PCR+ * Warthin +**Crosstab**

		Warthin +		Total
		0	1	
PCR+ 0	Count	4	5	9
	Expected Count	1,5	7,5	9,0
1	Count	4	34	38
	Expected Count	6,5	31,5	38,0
Total	Count	8	39	47
	Expected Count	8,0	39,0	47,0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5,927 ^a	1	,015		
Continuity Correction ^b	3,769	1	,052		
Likelihood Ratio	4,946	1	,026		
Fisher's Exact Test				,033	,033
Linear-by-Linear Association	5,801	1	,016		
N of Valid Cases	47				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,53.

b. Computed only for a 2x2 table

Symmetric Measures

		Value	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	,335	,015
N of Valid Cases		47	