



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFÍA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN LOS MESES DE MAYO Y JUNIO DE 2015”.

Tesis previa a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

ESTUDIANTE:

Andrea Carolina Jiménez Jiménez

DIRECTORA:

Lic. María del Cisne Lojan González, Mg. Sc.

LOJA - ECUADOR

2016

AUTORIZACIÓN.

Lic. María del Cisne Lojan González, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS.

CERTIFICO:

Que la presente tesis titulada “**DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFÍA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN LOS MESES DE MAYO Y JUNIO DE 2015**” desarrollada por la señorita Andrea Carolina Jiménez Jiménez, ha sido elaborada bajo mi dirección y cumple con los requisitos de fondo y de forma que exigen los respectivos reglamentos e instructivos.

Por ello autorizo su presentación y sustentación.

Loja, 06 de diciembre del 2016.

Atentamente:


Lic. María del Cisne Lojan González, Mg. Sc.
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, Andrea Carolina Jiménez Jiménez declaro ser autora del presente trabajo de titulación y excuso expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional Biblioteca Virtual.



Autor: Srta. Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

C.I. 1900706407

Loja, 06 de diciembre del 2016

CARTA DE AUTORIZACIÓN.

Yo, Andrea Carolina Jiménez Jiménez, declaro ser autora, de la tesis titulada **“DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFIA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN LOS MESES DE MAYO Y JUNIO DE 2015”**, como requisito para optar al grado de: Licenciatura en Laboratorio Clínico, autorizó al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Digital Institucional, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para la constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, 06 de diciembre del 2016.

Srta. Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

Dirección: Zamora, Barrio La Alvernia, calle Sucumbíos y ciudad de Loyola.

Correo. jandreacarol@yahoo.es

Teléfono: (2) 605859

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora de tesis: Lic. María del Cisne Lojan González, Mg. Sc.

TRIBUNAL DE GRADO

Presidenta del tribunal: Dra. Diana Alexandra Montaña Peralta, Mg. Sc.

Miembro del tribunal: Dr. Luis Alberto Morocho Yaguana, Mg. Sc.

Miembro del tribunal: Dra. Maricela del Rosario López Morocho, Mg. Sc.

DEDICATORIA

A Dios por regalarme la vida y ofrecerme día a día salud y fuerzas para seguir adelante, y cumplir mi sueño.

A mi cuñada Ruth, que, aunque ya no se encuentra aquí, vive en lo más profundo de nuestros corazones, por su apoyo y por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mis padres quienes son mis amigos, mentores y son mi refugio, ya que han velado por mi bienestar y educación, siendo mí apoyo incondicional, que con su ejemplo de sacrificio y superación inculcaron en mí el valor de las cosas cuando se consigue con sus propios méritos y esfuerzos.

A mi amado esposo Jorge, mi compañero que a pesar de las adversidades y el tiempo no deja de ser el hombre detallista, cómplice de mis penas y alegrías, a mis dos grandes amores Camila y Samantha cuya emoción es mi fortaleza y son la inspiración más grande de mi vida.

A mi familia por ser aquellas personas que me alentaron para poder llegar a la meta que el día de hoy gracias a Dios la he alcanzado.

Andrea Carolina Jiménez Jiménez

AGRADECIMIENTO

Es muy largo el camino que he recorrido hasta el momento, es por esto que expreso mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, al Área de la Salud Humana, a sus docentes por todas las enseñanzas brindadas durante mi formación profesional, a cada una de sus autoridades y de manera muy especial a la Lic. María del Cisne Lojan, Mg .Sc. por su valiosa y acertada orientación en la realización y culminación de este trabajo de investigación.

Agradezco de manera muy especial a la Directora del Hospital Julius Dophener al igual que al personal de salud que labora en el laboratorio de dicha institución, quienes me apoyaron arduamente para que realice mi investigación.

Asimismo, todos los pacientes que acudieron al Laboratorio Clínico del Hospital, cuya colaboración y predisposición fueron la base y sustento de este trabajo, a mis compañeros y amigos de aulas con los cuales aprendí de la vida y a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de este trabajo.

Un agradecimiento sincero a toda mi familia, y especialmente a mis padres y a mi esposo Jorge, pues ellos me han brindado el incentivo y algunas veces el consuelo durante estos años de estudio que ahora terminan.

Todo lo alcanzado hasta ahora no podría ser sin la voluntad y bendición de Dios, gracias de todo corazón por permitirme elegir este camino que me ha enseñado tanto y que aún me queda mucho por recorrer.

Con especial cariño y gratitud.

ÍNDICE

Carátula.....	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Índice.....	vii
1. Título.....	1
2. Resumen.....	2
3. Summary.....	3
4. Introducción.....	4
5. Revisión literaria.....	8
6. <i>Helicobacter pylori</i>	7
7. Historia.....	7
8. Estructura.....	8
8.1 Formas cocoides.....	9
8.2 Pared celular.....	9
8.2.1 Membrana externa.....	9
8.2.2 Membrana interna.....	11
8.3 Respiración y metabolismo.....	11
9. Epidemiología.....	11
10. Factores de riesgo.....	13
11. Modo de transmisión.....	13
11.1 Transmisión fecal-oral.....	13
11.2 Transmisión oral-oral.....	14
11.3 Transmisión oral-gástrica.....	14
12. Factores de virulencia.....	14
12.1 Ureasa.....	15

12.2	Motilidad y Adhesión bacteriana.....	15
12.3	Hemoaglutininas.....	16
12.4	Proteína codificada por el gen A asociado a la citotoxina (CagA).....	16
12.5	Citotoxinavacuolizante (VacA).....	17
12.6	Gen babA.....	17
12.7	Gen sabA.....	17
13.	Patogenia.....	18
14.	Patologías:.....	19
14.1	Gastritis.....	19
14.2	Úlcera péptica.....	20
14.3	Hemorragia digestiva alta.....	20
14.4	Adenocarcinoma gástrico.....	20
15.	Diagnóstico de laboratorio.....	21
15.1	Técnicas invasivas.....	22
15.1.1	Biopsia (Endoscopia).....	22
15.1.2	Histología.....	23
15.1.3	Cultivo.....	23
15.1.4	Urea rápida.....	24
15.1.5	PCR.....	24
15.2	Técnicas no invasivas.....	24
15.2.1	Prueba de aliento.....	24
15.2.2	Pruebas Serológicas.....	25
15.2.3	Detección de antígenos en heces fecales.....	26
16.	Sensibilidad.....	34
17.	Especificidad.....	36
18.	Chi cuadrado χ^2 de Pearson para comparación de la prueba de ELISA e Inmunocromatografía.....	37

19. Metodología.....	41
20. Resultados.....	45
21. Discusión.....	55
22. Conclusiones.....	58
23. Recomendaciones.....	69
24. Anexos.....	70

1.- TÍTULO

“DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFÍA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN LOS MESES DE MAYO Y JUNIO DE 2015”.

2.- RESUMEN

El *Helicobacter pylori* se ha convertido en uno de los problemas más serios e importantes en la actualidad, ocasionando enfermedades como gastritis y úlceras, llegando muchas veces a producir cáncer, por ello y ante la escases de estudios en nuestra ciudad acerca de la determinación de técnicas diagnósticas no invasivas para su detección, se realizó el presente trabajo de investigación ya que no se cuenta con datos concretos de qué técnica presenta mayor sensibilidad y especificidad en la determinación de *Helicobacter pylori*. El objetivo del presente estudio fue determinar la sensibilidad y especificidad entre los métodos de inmunocromatografía y ELISA en heces para la detección *Helicobacter pylori* en pacientes que acuden al Hospital Julius Dophner por consulta externa. El estudio fue de tipo correlacional, y de corte transversal, en 75 pacientes, quienes participaron voluntariamente. En la prueba inmunocromatográfica se obtuvo de sensibilidad el 56% y especificidad 100%, y en la prueba de ELISA sensibilidad el 100% y especificidad el 94%. De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la prueba de Chi Cuadrado se puede deducir que el método de ELISA es altamente sensible y el método Inmunocromatográfico mucho más específico para la determinación de *Helicobacter pylori* en heces, siendo pruebas suficientemente válidas y con alta confiabilidad.

PALABRAS CLAVES: *H. pylori*, inmunocromatografía, ELISA, sensibilidad, especificidad.

3. SUMMARY

Helicobacter pylori has become one of the most serious and important problems currently, causing diseases such as gastritis and ulcers, coming often to cause cancer, for this reason and due to the lack of studies in our city about the determination of non-invasive diagnostic techniques for its detection, the present investigation was carried out since there is no concrete data of which technique presents greater sensitivity and specificity in the determination of *Helicobacter pylori*. The aim of this study was to determine the sensitivity and specificity between immunochromatography and ELISA methods for detecting fecal *Helicobacter pylori* in patients attending the Hospital outpatient service Dophner Julius. The study was correlational and cross-sectional in 75 patients who participated voluntarily. In the immunoassay sensitivity it was obtained 56% and 100% specificity, and the ELISA test sensitivity 100% and specificity 94%. According to the results obtained by Chi Square test can be deduced that the method is highly sensitive ELISA and immunochromatographic much more specific for the determination of *Helicobacter pylori* in faeces and valid method being sufficiently high driveability tests.

KEYWORDS: *H. pylori*, immunochromatography, ELISA, sensitivity, specificity.

4.- INTRODUCCIÓN

El *H. pylori* es un bacilo gramnegativo, dotado de seis flagelos que facilitan su rápido desplazamiento en el moco gástrico, vive exclusivamente en el estómago humano, siendo el microorganismo conocido que puede subsistir en un ambiente extremadamente ácido(De la Torre Montejo & Pelayo González - Posada, 2008, pág. 1465).

Como resultado de su interferencia con la secreción de ácido del estómago, esta bacteria es capaz de generar deficiencias en la absorción de nutrientes que pueden comprometer el estado nutricional de los individuos afectados y vincularse con la aparición de manifestaciones carenciales o como agente causal de enfermedades crónicas(Hernández Triana, 2001, pág. 42).

Es considerado el agente causal en un 100% de la gastritis crónica activa, alrededor de un 10% ulcera péptica (gástrica o duodenal) y menos del 1%, de cáncer gástrico (adenocarcinoma o linfoma gástrico). Afecta al 50% de la población mundial y hasta el 90% en países subdesarrollado(González, Gutiérrez , Rojas, Tirado, & González, 2012).

En el Ecuador, el 90% de la población podría encontrarse infectada por este microorganismo; en el año 2012, se realizó un estudio de la presencia de anticuerpos para la bacteria encontrando positivo en la región Sierra 71,7%, la región Costa 68,6%, la región Oriente el 52.3%, la región Insular el 20%; debido a la elevada prevalencia de infección en nuestro país, el cáncer gástrico se ha convertido en un serio problema de salud pública, con una prevalencia de 29 casos por cien mil habitantes, y que la tendencia a desarrollar esta neoplasia este aumentando(Gómez, Salvador, Vargas, Zapatier, & Álvarez, 2003, pág. 231).

En el 2015 en la ciudad de Loja se realizó un estudio en 114 estudiantes utilizando la técnica inmunocromatográfica en la cual obtuvieron que el 52% de la población estudiada presente resultados positivos para *H. pylori*(Correa, 2015).

En Zamora Chinchipe, en el 2015 se realizó un estudio en 61 estudiantes para la determinación del antígeno de *H. pylori* mediante la técnica inmunocromatográfica, donde se obtuvieron el 41% de muestras positivas(Guaya, 2015).

Igualmente en el cantón Yanzatza en el 2010 se realizó un estudio en niños para determinar la incidencia de *Helicobacter pylori* detectando un alto porcentaje de afección siendo 115 los afectados con un 71%(Jiménez Cuenca, 2010, pág. 29).

Actualmente se dispone de una variedad de test para el diagnóstico de infección por *H. pylori*, como son los métodos invasivos en los que se encuentran la endoscopia, prueba rápida de ureasa, biopsias de mucosa gástrica para estudios histológicos convencionales o muy complejos (inmuno-histoquímica) y cultivo de biopsias, que se toman de preferencia del antro gástrico y citología por cepillado. Estos métodos tienen la indicación precisa en pacientes con enfermedad ácido-péptica con fuerte base clínica y ante casos que implica la necesidad de una endoscopia, como ante la presencia de sintomatología de alarma que obligue a pensar en un proceso neoplásico. Es decir, que los métodos invasivos, no tienen lugar en estudios de prevalencia que incluyen a individuos asintomáticos(Gaona, Ramírez, Ramos, & Sánchez, 2016).

También se cuenta con las pruebas no invasivas, llamadas indirectas o no endoscópicas, ya que sólo requieren de una muestra de sangre, de aire espirado, saliva, heces u orina, con la ventaja de que son pruebas más accesibles, que se aplican en situaciones en que no sea fácil una endoscopia en adultos y sobre todo en niños, teniendo su máxima utilización en pacientes tratados y se desea demostrar una erradicación efectiva; en pediatría para

estudiar niños con síndrome de dolor abdominal crónico y en estudios de muestreo en poblaciones muy específicas (Torres Valadez, García Menéndez, & Zárate Osorno, 2008).

En nuestra sociedad contamos con escasos estudios de *H. pylori* donde se demuestre que método no invasivo presenta mayor sensibilidad y especificidad, encaminando al médico a la utilización de métodos invasivos para la detección de esta bacteria, en virtud de lo cual, se procedió a realizar la presente investigación, que ayude a determinar la sensibilidad y especificidad entre los métodos de Inmunocromatografía y ELISA en la detección de *Helicobacter pylori* en heces en pacientes que acuden por consulta externa al Hospital Julius Dophner de la ciudad de Zamora, debido a que son pruebas de bajo costo en el caso de la inmunocromatográfica, no son invasivas y ofrecen al médico una pauta en el diagnóstico de alguna dolencia relacionada con el *Helicobacter pylori*, o para vigilar algún tratamiento.

El presente estudio es de tipo correlacional y de corte transversal. Se analizaron 75 muestras de heces de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y firmaron el consentimiento informado para ser partícipes de este estudio, las muestras se analizaron mediante 2 métodos: la técnica inmunocromatográfica y ELISA. Seguidamente se procedió a calcular la sensibilidad y especificidad, de lo cual se obtuvo los siguientes resultados: la técnica de ELISA en heces presenta una sensibilidad del 100% y especificidad del 94% en comparación con la técnica inmunocromatográfica que es de 56% de sensibilidad y 100% de especificidad, a continuación, se procedió a comparar ambos métodos por medio del Chi cuadrado.

De acuerdo a los resultados obtenidos por medio de la estadística de Chi Cuadrado se deduce que el método de ELISA es altamente sensible y el método inmunocromatográfico mucho más específico en lo que respecta a la determinación de *H. pylori* en heces.

5.- REVISIÓN DE LITERATURA

25. *Helicobacter pylori*

Descripción.

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una especie acidófila, de forma helicoidal, gramnegativa, que coloniza la mucosa gástrica en humanos. Esta bacteria se adapta bien a ambientes muy ácidos, característicos del estómago. *H. pylori* produce una infección crónica que puede permanecer asintomática o dar lugar a úlceras que incluso perforan el estómago, además de aumentar el riesgo de sufrir cáncer gástrico y linfoma de tipo MALT(Calvo, 2015).

26. Historia

Robín Warren y Barry Marshall, patólogo y gastroenterólogo del Hospital Royal Perth de Australia, identificaron y reportaron la presencia de bacilos curvados en el estómago de pacientes con úlcera gástrica a los cuales denominaron *Campylobacterpyloridis*; su descubrimiento fue galardonado con el premio Nobel de fisiología en el año 2005. Sin embargo, el primer reporte de bacterias de morfología espiral localizadas en estómagos humanos se realizó en 1906 y en 1915 se identificaron bacilos espirales en tejidos provenientes de úlceras gástricas y duodenales, pero se creyó que su presencia era debida a contaminación proveniente de la boca. Antes del descubrimiento de *H. pylori*, las espiroquetas fueron detectadas en el estómago y en 37% de los casos con úlcera o cáncer gástrico; sin embargo, la asociación entre bacterias y gastritis crónica fue establecida hasta 1975. Warren y Marshall ya habían observado bacterias en el tejido gástrico de pacientes con úlcera gástrica o duodenal pero no habían podido cultivarlas mediante las técnicas convencionalmente utilizadas para detectar *Campylobacter*; pero cuando un plato de cultivo de tejido con úlcera gástrica fue dejado inadvertidamente en incubación

durante cinco días los médicos lograron observar e identificar bacilos espirales a los cuales denominaron *Campylobacterpyloridis*, por su sitio de localización de la úlcera. Un lustro después, diferencias en el contenido de ácidos grasos, carencia de menaquinonametilada, distinta susceptibilidad antimicrobiana y secuencia del ácido ribonucleico entre el nuevo bacilo y los miembros de la familia *Campylobacter* justificaron cambiar su nombre a *H. pylori*. En 1994, *H. pylori* fue reconocido por la International Agency for Research on Cancer y la Organización Mundial para la Salud (OMS) como un carcinógeno categoría I, por lo que fue recomendado que todos los pacientes con úlceras en quienes se detectara el microorganismo deberían recibir terapia de erradicación. Aunque fue identificado y tipificado hace 28 años es posible considerar que este bacilo ha convivido con los seres humanos desde hace cientos de años, como lo han sugerido hallazgos surgidos de investigaciones realizadas por Castillo, Rojas, et al, quienes aislaron un fragmento [9 pares de bases] del DNA del bacilo, mediante reacción en cadena de la polimerasa, en momias mexicanas precolombinas que datan del año 1.350 DC(Serrano A. , Hernández, De la Garza, & Herrera, 2009).

27. Estructura

El *H. pylori* es un bacilo Gram negativo, corto, espiral o en forma de "S", con una longitud de 2.5 a 4.0 μm y de 0,5 a 1.0 de ancho, en los cultivos son menos espirales y aparecen más como bacilos curvados. Son microorganismos móviles que presentan de 4 a 6 flagelos polares envainados de 30 a 2.5 nanómetros de grosor, cada uno insertado en el cuerpo de la bacteria mediante un disco de 90 nanómetros. La vaina protege al flagelo de la despolimerización por acción del ácido gástrico.

La flagelina, proteína mayoritaria de los flagelos, de 53KD, es similar a la de *Campylobacter*. Estudios acerca de la superficie externa de *H. pylori* usando ácido

tánico, han revelado que presenta una estructura de glicocàlix de unos 40 nm de grosor y pilli de 2nm, que permiten la adherencia a las microvellosidades del epitelio gástrico. La pared celular posee un número variable de proteínas de membrana, con tamaños que oscilan entre márgenes estrechos según la técnica utilizada para su extracción y visualización(Macennle García, 2010).

8.1 Formas cocoides.

El *H. pylori* puede presentar dos formas, una forma espiralada y una forma cocoide; ambas pueden encontrarse en el estómago y en el duodeno, por lo general la morfología bacilar espiralada es la más común. La forma cocoide del *H. pylori* no se adhiere al epitelio y no induce a la formación de interleucinas.

La conversión de forma bacilar espiralada a la forma cocoide se ha visto en especies que han sido cultivadas bajo condiciones adversas, como anaerobiosis, temperaturas altas, incubación prolongada, entre otras. Esta forma cocoide se comportaría como una forma de resistencia capaz de soportar las condiciones adversas que se encontraría el *H. pylori* en el medio ambiente (Costa, y otros, 1999, págs. 3710-3715).

8.2 Pared celular

Como bacteria gramnegativa, *H. pylori* se caracteriza por la presencia de doble membrana celular asimétrica, con fosfolípidos en la monocapa interna y lipopolisacáridos (LPS) en la membrana externa, en torno a una pared celular delgada.

8.2.1 Membrana externa.

Está compuesta por adhesinas, lipopolisacáridos y porinas.

Adhesinas. - Las proteínas de membrana externa (PME) tienen la función de adherirse al epitelio gástrico, y constituyen un factor importante para la virulencia por *H. pylori*, ya que con estas se asegura la unión a las células del hospedero. La adhesión es fundamental, debido a que confiere los mecanismos de protección frente a la acidez gástrica y minimiza la probabilidad de ser eliminado por factores de limpieza, como el flujo permanente de líquido, los movimientos peristálticos, el vaciado gástrico o el desprendimiento de la capa mucosa por regeneración.

Porinas. -Son un grupo de proteínas que permiten el paso de nutrientes de bajo peso molecular y agua a la célula bacteriana. A diferencia de otras bacterias, las porinas de *H. pylori* son expresadas en forma reducida. Actualmente se han documentado HopA (48 kDa), HopB (49 kDa), HopC (50 kDa), HopD (67 kDa), HopH, HopF, HopG y HopJ (Barragán, Gutiérrez, & Castiblanco, 2015).

Lipopolisacáridos (LPS).- Implicados en la interacción entre la bacteria y su huésped, compuesto por tres partes: lípido A hidrofóbico (responsable de las propiedades inmunológicas y endotóxicas), región antigénica O polisacárida e hidrofílica y núcleo polisacárido que conecta las otras dos (Marais, Mendz, Hazell, & Mégraud, 1999).

Diversas enzimas como (ureasa, proteasa, lipasa, fosfolipasa y otras) atacan la capa de moco y el epitelio gástrico; con mayor importancia tiene la actividad de la ureasa que cataliza la degradación de urea, con formación de ion amonio alcalino y dióxido de carbono. El amonio neutraliza el pH ácido del estómago para poder mantener un pH neutro en el “microambiente” de las células del epitelio y así el microorganismo se protege del ambiente bactericida del estómago y se favorece la descomposición de la capa de moco, facilitando la retrodifusión de ácido y la ulterior colonización por la bacteria (Mendoza, Cabalé, & Fernández, 2003).

8.2.2 Membrana interna

La membrana interna está compuesta por una red estructurada de fosfolípidos anclados por peptidoglicanos, dentro de los que se incluyen la mureína y las proteínas de unión a penicilina (PBP). Inicialmente 4 PBP fueron descritas, pero en recientes estudios realizados se han determinado 8 PBP. Aunque estos peptidoglicanos son similares a los de otras bacterias, se cree que su estructura y organización son propios de *H. pylori*.

Además de proteínas simples, se han logrado identificar en la membrana de *H. pylori* complejos de proteínas heterooligoméricas relacionadas con la actividad ureasa, así como el complejo de proteínas de la fumarato reductasa y proteínas involucradas en la expresión coordinada de genes flagelares (Barragán Vidal, Gutiérrez Escobar, & Castiblanco Robayo, 2014).

8.3 Respiración y metabolismo.

El *H. pylori* utiliza carbohidratos siguiendo la vía fermentativa y oxidativa, en la que se ha identificado a las enzimas pertenecientes al ciclo pentosa fosfato, por ese motivo el *H. pylori* es capaz de catabolizar la D-glucosa. Además mencionamos que el *H. pylori* presenta gránulos de reserva energética los cuales le servirán en el momento que la bacteria se asocia a un epitelio degenerado donde el aporte de energía está marcadamente disminuido (Chávez Bonifaz, 2014).

9 Epidemiología.

H. pylori, al estar presente en más del 50% de los estómagos de la población mundial, se constituye en la infección más frecuente de la especie humana, con una marcada diferencia entre los países desarrollados, en donde la prevalencia oscila entre el 30% y el

50%, y los países en vía de desarrollo, en donde oscila entre el 80% y el 90% (Campuzano Maya, 2014, pág. 212).

Las diferencias en la prevalencia de la infección se relacionan directamente con los niveles de saneamiento ambiental, el hacinamiento y el nivel socioeconómico, los cuales son los principales determinantes del riesgo de contraer la infección (Suárez, Almaguer, & Martínez, 2013).

Además, dentro de un mismo país puede haber una variación igualmente amplia de la prevalencia entre las poblaciones urbanas de mayor nivel económico y las poblaciones rurales. La transmisión de *H.pylori* tiene lugar fundamentalmente por las vías oral-oral o fecal-oral. Son muchos los factores que intervienen en la prevalencia general de la infección, como la falta de una adecuada higiene, agua potable segura, higiene básica, dietas pobres y superpoblación (Hunt, y otros, 2010).

La Sociedad Interamericana de Gastroenterología, afirma que el 70% de la población ecuatoriana tiene la bacteria *H. pylori*, causante directa de la gastritis. Cifras del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) en 2006, revelan que el 60% de los pacientes hospitalizados por gastritis son mujeres y de estas, el 51,4% son de la Sierra. Las mujeres de la Costa ocupan el segundo lugar en la hospitalización (40,9%) (Robles, La República, 2015).

Estadísticas del Área de Gastroenterología del Hospital Abel Gilbert Pontón de Guayaquil, indica que por cada 30 pacientes que ingresan a esa casa de salud, 20 tienen síndrome dispéptico (ardores previos a la gastritis) y de esa cifra, 14 padecen de gastritis comprobada (Angulo, 2012).

Estudios realizados en Ecuador demuestran que la prevalencia de infección en pacientes adultos aparentemente asintomáticos es alta y que grupos de edad jóvenes están más

frecuentemente infectados. Así mismo *H. pylori* esta positivamente asociado con lesiones inflamatorias y premalignas, siendo esta asociación mayor conforme avanza la edad(Vásquez Buitrón, 2013).

El IECED (Instituto Ecuatoriano de Enfermedades Digestivas) explica que en Ecuador esta enfermedad es común y que lamentablemente en general se produce por los malos hábitos alimenticios, o por la infección por medio de la bacteria *H. Pylori*(Robles, y otros, 2015).

10 Factores de riesgo

Las más comunes son:

- a) Alcohol y Tabaquismo.
- b) Erosión (pérdida) de la capa protectora del revestimiento del estómago.
- c) Infección del estómago con la bacteria *H. pylori*.
- d) Medicamentos como el ácido acetilsalicílico (aspirina) y los antiinflamatorios no esteroides (AINES) (Blázquez, 2011).

11 Modo de transmisión

Se ha postulado que la infección con *H. pylori* se adquiere temprano en la vida. La infección se asocia con mecanismos de transmisión directa o indirectamente relacionados con la higiene ambiental (Rivas Traverso & Hernández, 2000).

11.1 Transmisión fecal-oral

Cuando la transmisión es por vía fecal-oral, el agua sería un probable medio de propagación de la bacteria. Adicionalmente, fue sugerido que la contaminación en la

agricultura, por la utilización de aguas contaminadas, a través de consumo de frutas y vegetales no cocidos, puede ser un posible modo de transmisión.(Quiñónez Girón, 2014).

11.2 Transmisión oral-oral.

Existen indicios de que el *H. pylori* pueda permanecer al transitar por el área bucal, en la placa dentaria o en la saliva. Además de ésta, su presencia en el jugo gástrico indica la posibilidad de transmisión oral-oral. Hay evidencias de que el vómito o el reflujo esofágico pudieran ser considerados como un medio de propagación del microorganismo, una vez que la bacteria fuera detectada en el jugo gástrico de pacientes infectados(Northfield, Mendall, & Goggin, 1993).

11.3 Transmisión oral-gástrica.

Esta posibilidad se apoya en la ocurrencia de algunos brotes asociados con manejo y desinfección inadecuada de gastroscopios. Tal posibilidad llevaría también a relacionarle con el vómito, lo que en cierta medida podría explicar las altas tasas de infección en niños, ya que estos vomitan más frecuentemente que los adultos, además de que frecuentemente se llevan objetos a la boca(Galindo Sosa, 2009).

12 Factores de virulencia.

El *H. pylori* posee factores de virulencia que ayudan a la colonización del epitelio superficial, la profundidad de las criptas y el espacio entre las células epiteliales. Estas son enzimas de características bioquímicas que pueden detectarse en el laboratorio y que permiten su identificación(Agudo Pena, 2010).

12.1 Ureasa

La ureasa es uno de los factores de colonización imprescindibles de *H. pylori*, ya que constituye su principal adaptación a un medio tan hostil como es el jugo gástrico. Esta enzima es secretada en elevadas cantidades y representa alrededor de un 6% del peso húmedo de la biomasa bacteriana. La ureasa cataliza la hidrólisis de urea en amonio y dióxido de carbono y la “nube” de iones amonio que se forman alrededor de la bacteria eleva el pH en el microambiente que la rodea (Harrison, 2016).

La actividad ureáica contribuye, además, a la toxicidad celular producida por el amonio, adicionalmente la ureasa actúa como factor quimiotáctico, activando a los macrófagos a producir citosinas proinflamatorias. Por otro lado, se ha establecido nexos entre la acción de la toxina VacA y la ureasa, puesto que la actividad de la citotoxina VacA se incrementa en presencia de elevadas concentraciones de cloruro de amonio (Torres & Rodríguez, 2008).

12.2 Motilidad y Adhesión bacteriana

El *H. pylori* cuenta con 4 a 6 flagelos unipolares de los cuales uno de ellos le permite navegar a través del moco gástrico, mecanismo que es esencial para el proceso de colonización. Además, tiene la capacidad de reconocer receptores en las células del tejido gástrico y adherirse a ellos mediante una familia compleja de adhesinas bacterianas. Este proceso de adhesión altera la morfología y fisiología de las células del epitelio gástrico, al mismo tiempo que activa ciertas funciones bacterianas; siendo bastante tóxica para el tejido epitelial (Valencia González, y otros, 2013).

Aunque el proceso de adhesión no se conoce completamente, tres proteínas han sido implicadas. La primera, HopS (BabA) proteína externa de membrana se adhiere a antígenos glicosilados del grupo sanguíneo Lewis b; la segunda HopH además de

intervenir en procesos de adhesión promueve la inflamación incrementando los niveles de interleukina 8. La proteína HopP, interviene en la adhesión bacteriana a glicoconjugados que contienen ácido siálico(Ramírez Ramos & Sánchez Sánchez, 2009).

12.3 Hemoaglutininas

H. pylori es capaz de aglutinar eritrocitos debido a su interacción con glucosaminas de grupos sanguíneos, algunos de los cuales también se expresan en células epiteliales, lo que indirectamente indica una función adherente.

12.4 Proteína codificada por el gen A asociado a la citotoxina (CagA)

La proteína CagA es el primer antígeno de *H. pylori* que fue asociado a enfermedades gástricas. El gen que codifica para esta proteína (*cagA*) se ubica en el extremo 3' del islote de patogenicidad (*cagPAI*) el que a su vez contiene alrededor de 32 genes que codifican para un conjunto de proteínas que conforman un sistema de secreción tipo IV (T4SS), que introduce la proteína CagA en el citoplasma de las células epiteliales. No todas las cepas de *H. pylori* poseen esta estructura en su genoma, y las que lo portan son consideradas más virulentas(González López & Rodríguez González, 2011).

En el interior de la célula epitelial, la proteína CagA puede ser fosforilada por quinasas celulares, en sitios puntuales denominados EPIYA, por la secuencia aminoacídica que poseen. Una vez fosforilada, CagA interactúa con determinadas proteínas que poseen dominios específicos de unión a tirosinas fosforiladas como la tirosin-fosfatasa SHP-2. Este patrón de interacción activa diferentes cascadas de señalización, cuya alteración puede provocar un desarrollo celular anormal, caracterizado por reordenamiento del citoesqueleto celular, una excesiva proliferación, elongación y motilidad de las células epiteliales, además de promover la apoptosis(Rodríguez Gómez, 2015).

12.5 Citotoxinavacuolizante (VacA)

La proteína VacA es una de las principales toxinas de *H. pylori* y uno de los factores de virulencia que más se ha visto asociado a la incidencia de enfermedades gástricas severas, en conjunto con CagA y BabA. Al interactuar con las células epiteliales esta toxina induce la formación de vacuolas, con lo cual altera las funciones normales que ocurren en la vía endocítica, ya que facilita la liberación de hidrolasas al medio extracelular, lo que a su vez afecta la integridad del epitelio gástrico y la degradación de ligandos exógenos. La VacA también tiene la capacidad de unirse a la membrana interna de las mitocondrias, de esta manera afecta la polarización de la misma, y promueve la liberación del citocromo c (Willhite & Blanke, 2004).

Esta proteína está compuesta por 2 subunidades (p33 y p55) y es codificada por el gen polimórfico *vacA* presente en todas las cepas de *H. pylori* (Cover & Blanke, 2005).

12.6 Gen babA.

Las cepas de *H. pylori*, pueden tener dos grupos del alelo del gen *bab*, uno denominado *babA* y el otro *babB*. Solo la proteína de membrana sintetizada por el gen *babA*, tienen la capacidad de unirse al antígeno de Lewis B, permitiendo la colonización de la mucosa gástrica indemne, al facilitar la unión de la bacteria con el epitelio del hospedero. Además, se ha relacionado *babA*, con la presencia de los genes *vacA* y *cagA* (Barragán Vidal, Gutiérrez Escobar, & Castiblanco Robayo, 2014).

12.7 Gen sabA.

El gen produce una proteína de membrana que le permite al *H. pylori* unirse al antígeno siálico de Lewis, presente en grandes cantidades cuando se desencadena una respuesta inflamatoria. El gen *sabA* y su producto se han encontrado en cepas relacionadas con el

desarrollo de metaplasia intestinal, atrofia gástrica y adenocarcinoma(Suárez Guerrero, Reyes Vera, & Herreros Rosas, 2011).

13 Patogenia.

El *H. pylori* se adapta fuertemente al nicho ecológico de la mucosa gástrica, debido a sus características que le permiten entrar dentro del moco, nadar, atacar a las células epiteliales, evasión de la respuesta inmune y como resultado, la colonización y transmisión persistentes. La supervivencia del germen en la mucosa gástrica se lleva a cabo por una serie de mecanismos que incluyen: adhesinas, que le impiden ser arrastrado por el peristaltismo, la actividad ciliar o el recambio epitelial; enzimas bacterianas, como la ureasa, que transforma la urea en amonio, produciendo un microclima alcalino que lo protege de la acidez gástrica, lipasa y proteasa que propician la desintegración del moco gástrico y la pérdida de la hidrofobicidad de la mucosa disminuyendo la capacidad de las células mucosas para secretar moco, catalasa y superóxidodismutasa como línea de defensa ante polimorfonucleares activados. El *H. pylori* causa una continua inflamación de la mucosa gástrica. La respuesta inflamatoria inicialmente consiste en el reclutamiento de neutrófilos, seguidos por linfocitos T y B, células plasmáticas, y macrófagos. También participan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad que inducen la apoptosis de las células epiteliales. Los genes del *H. pylori* inducen la formación de IL-8 y otras quimiocinas que atraen a los neutrófilos, también está involucrado el factor de necrosis tumoral α y la IL-1 β y el interferón γ incrementan la liberación de gastrina y de este modo inducen la producción de la secreción ácida, y además el factor de necrosis tumoral produce una disminución del número de células antrales. La gastritis crónica se desarrollará en todas las personas persistentemente colonizadas, pero 80 a 90% nunca tendrán síntomas. El curso clínico posterior es altamente variable y depende de factores bacterianos y del huésped. Los pacientes con una secreción ácida elevada son más

propensos de tener gastritis antral preferentemente, que los predispone a las úlceras duodenales. Los pacientes con una secreción ácida disminuida, generalmente desarrollan gastritis en el cuerpo del estómago, que los predispone a la úlcera gástrica y puede iniciar una secuencia de eventos que, en casos raros, conducen al carcinoma gástrico. La infección de *H. pylori* induce la formación del tejido linfoide mucosa-asociado (MALT) en la mucosa gástrica (Alba Posse, Toledo, & Viana Cabral, 2006).

14 Patologías:

Una vez que la bacteria coloniza al estómago del huésped susceptible, es capaz de inducir una respuesta inflamatoria gracias a su capacidad de estimular la síntesis de interleucinas, el reclutamiento de PMN, provoca cambios en la morfología normal de las células del epitelio gástrico, provoca daños al ADN celular, es capaz de invadir a las células epiteliales, induce la síntesis de sustancias reactivas al oxígeno (ROIs), etc., induciendo un proceso inflamatorio crónico que a largo plazo puede generar daño (Romo González & Coria Jiménez, 2010).

14.1 Gastritis

Después que se origina la infección por *H. pylori* puede desarrollarse sin manifestaciones o bien originar la expresión clínica propia de gastritis aguda (dolor epigástrico, náuseas y vómitos). La gastritis aguda por *H. pylori* es un diagnóstico poco frecuente, su curso es de 7 a 10 días y puede evolucionar a la eliminación espontánea de *H. pylori* o, más frecuente, a su cronicidad (Chumpitaz Conde, y otros, 2006).

Durante este período tiene lugar un prolongado proceso pre-canceroso representado por una cascada de eventos, histopatológicamente secuenciales: gastritis crónica activa no atrófica; gastritis atrófica multifocal; metaplasia intestinal (completa y luego incompleta); displasia y carcinoma invasivo (Bernaola Paredes, 2012).

14.2 Úlcera péptica.

Es una lesión en la mucosa gastrointestinal (estómago o duodeno) que se extiende más allá de la muscularismucosae y que permanece como consecuencia de la actividad de la secreción ácida del jugo gástrico. La prevalencia actual se estima entre el 5 y el 10 % de la población general. El sexo masculino resulta más afectado que el femenino, aunque en los últimos años se ha incrementado la frecuencia de úlceras gástricas en mujeres, con la aparición de úlceras duodenales en edades más tempranas, alrededor de los 45 años. Las complicaciones más frecuentes son: hemorragia digestiva, perforación y obstrucción intestinal (Vázquez Anovega, y otros, 2014).

14.3 Hemorragia digestiva alta

La hemorragia digestiva alta se define como la pérdida hemática proximal al ángulo de Treitz. Se manifiesta generalmente en forma de hematemesis o melenas, aunque ocasionalmente puede presentarse en forma de rectorragia. Constituye una urgencia potencialmente grave y sigue siendo una de las causas más frecuentes de hospitalización en patología digestiva. En nuestro medio, más del 95% de las úlceras están asociadas a la toma de fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINE) y/o a la presencia de *H. pylori* (Calvet Calvo & Almela Notari, 2011).

14.4 Adenocarcinoma gástrico.

El cáncer gástrico es la segunda causa de muerte por cáncer. Más del 90% de los CG son adenocarcinomas y el principal agente etiológico es *H. pylori* y aunque este es necesario, no es suficiente ya que solo 1-2% de los infectados desarrolla cáncer gástrico. Su origen es multifactorial, e involucra factores genéticos del individuo, factores medioambientales y la infección por *H. pylori*.

La infección por *H. pylori* ha sido vinculada a la forma intestinal de adenocarcinoma gástrico a través de una cadena de eventos que comienza con la inducción de gastritis aguda y progresa a gastritis crónica, metaplasma intestinal, displasia y eventualmente, a la formación de cáncer (Serrano A. , Hernández, De la Garza Salazar, & Herrera, 2009).

15 Diagnóstico de laboratorio

Las estrategias diagnósticas de *H. pylori* se han desarrollado en dos líneas. La primera implica la detección directa del organismo siendo invasiva. La segunda, no invasiva implica la detección de anticuerpos frente a la bacteria o por detección de la actividad de la ureasa del organismo (Coso, Deval, Pascual, Aguirre, & Grosson, 2015).

Tabla N° 2.- Comparación de las pruebas diagnósticas para detectar la infección por *HP*.

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Comentarios
Prueba rápida de ureasa	>98%	99%	99%	Rápida y barata. Menor sensibilidad después del tratamiento.
Histología	>95%	>95%		La detección mejora por el uso de tinciones especiales, como Warthin Starry, tinción de plata; o se puede usar la tinción más barata de Hematoxilina y Eosina (H y E) o el Protocolo de tinción de Giemsa.
Cultivo				Altamente específico, mala sensibilidad si no se dispone de medios de transporte adecuados. Requiere de experiencia y pericia. Caro; a menudo no disponible.
PCR				Sensible y específica. No normalizada. Considerada experimental.
Serología ELISA	85 – 92%	79 – 83%	64%	Menos exacta y no identifica infección activa.

				Predicador confiable de infección en países en desarrollo (de alta prevalencia) No recomendada después del tratamiento. Costosa y difícil de obtener.
Prueba de aliento con urea C¹⁴ y C¹³ radiactivo	95%	96%	88%	Recomendada para el diagnóstico de <i>H. pylori</i> antes del tratamiento. Prueba preferida para confirmar erradicación. No se realiza dentro de las 2 semanas del tratamiento con IBP ⁺ o dentro de las 4 semanas con terapia antibiótica. Disponibilidad variable.
Antígenos fecales	95%	94%	84%	No se usan con frecuencia a pesar de su alta sensibilidad y especificidad antes y después del tratamiento. Deberían tener un lugar más prominente, ya que son baratos y no invasivos

Fuente. -Hunt, R. (2010). Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología: *Helicobacter pylori* en los países en Desarrollo. Guías p. 6.

15.1 Técnicas invasivas

Las técnicas invasivas son muy útiles porque permiten detectar directamente la bacteria y, por tanto, son altamente específicas, pero su sensibilidad está muchas veces comprometida por la heterogénea distribución de la bacteria en el estómago, lo que conlleva obtener falsos negativos (Cardona Álvarez, Vargas Vilorio, & Perdomo Ayola, 2013).

15.1.1 Biopsia (Endoscopía)

La observación de la mucosa gástrica por endoscopia nos determina atrofia gástrica, el grado de gastritis y gastritis asociadas a *H. pylori* como gastritis folicular.

Este método permite tomar una muestra de biopsia que nos sirve para tres tipos de pruebas.

1. Cultivo del *H. pylori*,
2. El Estudio histopatológico de la mucosa gástrica,
3. La prueba rápida de urea(Sánchez Valle, 2015).

15.1.2 Histología

Permite la observación del microorganismo espiral y el estudio anatomopatológico de la muestra gástrica y los posibles cambios originados (gastritis crónica con nódulos linfoides). Existen diferentes tipos de tinciones que, sin ser específicas para *H. pylori*, permiten su detección como la tinción de hematoxilina-eosina, la tinción de plata Warthin-Starry, la tinción de Giemsa y la más utilizada la tinción de GRAM(Vizcaíno, 2004).

15.1.3 Cultivo

Actualmente no tiene un papel importante en el diagnóstico, debido a su lentitud y a que en muchos laboratorios su sensibilidad es menor que la de la histología, aunque es útil en pacientes en los que el tratamiento no ha logrado erradicación, para evaluar la sensibilidad a los antimicrobianos y orientar la terapia posterior(De la Paz y García, 2015).

El medio de cultivo que se emplea es agar sangre sin antimicrobianos y las placas se incuban a 37°C en un medioambiente microaerófilo y húmedo. En general, el crecimiento se observa en 3 a 5 días. A los cinco días de incubación en una muestra positiva se obtienen colonias pequeñas, grises, translúcidas y débilmente β -hemolíticas. La tinción de Gram pone en evidencia bacterias gramnegativas curvas y de tinción pálida con formas en alas de gaviota y “U” características(Koneman, y otros, 2006).

15.1.4 Urea rápida.

Es útil desde los primeros minutos hasta 24 horas después de poner en contacto el tejido con un gel reactivo, que contiene urea y un indicador de pH. La ureasa del *H. pylori* degrada por hidrólisis la urea del reactivo en amoníaco y bicarbonato con aumento de pH, que se determina por el cambio de color del reactivo de amarillo al rojo. Tiene sensibilidad y especificidad similares a la histología y al cultivo, con un margen de 90 a 95% para la sensibilidad y de 95 al 100% para la especificidad(Campos Campos, 2012).

15.1.5 PCR

El diagnóstico por PCR para detectar directamente *H. pylori* en muestras clínicas provee una sensibilidad tan alta como el cultivo para la detección de la infección. Este método puede ser realizado mediante la amplificación de genes esenciales y de virulencia. Los genes de virulencia definen el grado de patogenicidad de la bacteria de acuerdo al tipo de cepa presente, el gen A asociado a la citotoxina (*cagA*) es el más estudiado como factor de virulencia de *H. pylori*(Abrante, y otros, 2012).

15.2 Técnicas no invasivas.

Las técnicas no invasivas poseen buena sensibilidad, pero es la especificidad la que resulta en ocasiones comprometida, en algunas de ellas se obtienen falsos positivos.

15.2.1 Prueba de aliento.

Entre los estudios no invasivos, se reporta que el test de aliento presenta mayor eficacia diagnóstica para la detección de *H. pylori*.

Esta prueba se basa en la hidrólisis enzimática de urea marcada en el estómago por la ureasa, siendo esta una enzima producida en abundancia por *H. pylori*. En presencia de infección por *H. pylori*, la urea es hidrolizada hacia amonio y dióxido de carbono (CO₂).

Este CO₂ es exhalado y medido por radioactividad. Existen dos tipos de test de aliento, el C13 y C14 de los cuales el C14 es una técnica más sencilla (Cáceres, y otros, 2009).

15.2.2 Pruebas Serológicas.

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* se basan en la detección de anticuerpos séricos de clases IgG o IgA contra antígenos específicos de este microorganismo.

Las técnicas serológicas son generalmente simples, reproducibles y económicas, pero además, son las únicas que permiten realizar estudios epidemiológicos y determinar la prevalencia y la edad de adquisición de la infección por *H. pylori* en diferentes poblaciones.

La limitación principal de la serología es su incapacidad para distinguir entre la infección activa y una infección previa con *H. pylori* (Bermúdez Díaz, Torres Domínguez, & Rodríguez González, 2008). Las determinaciones serológicas incluyen:

➤ **ELISA (titulación de anticuerpos).**

Para determinar la presencia de anticuerpos del tipo IgG o IgA, el método de ELISA es el más sensible y alcanza cifras de sensibilidad del 98%, con una especificidad del 100%. Estas pruebas miden la reacción inmunitaria del hospedador y de esta manera indican la presencia de la bacteria (Campos Campos, 2012).

➤ **Aglutinación por látex.**

El método de aglutinación de látex es un método común de laboratorio en el cual se recubre esferas de látex (que se vuelven visibles, ante la aglutinación) con moléculas de

anticuerpos. Al mezclarse con la muestra del paciente, si ésta contiene un antígeno particular, la aglutinación es evidente (Pagana & Pagana, 2015).

➤ **Pruebas colorimétricas rápidas (cualitativas, es decir, positivo/negativo).**

La prueba rápida de detección de antígenos *H. pylori*. Ensayo inmunocromatográfico es un anticuerpo unido al cromógeno (oro coloidal) para la detección de la presencia de antígenos en heces humanas, la prueba es de detección directa de antígenos en fase activa. La prueba es sencilla y de fácil aplicación y los resultados pueden ser visibles para su interpretación en 15 minutos (MexLab, 2015).

➤ **Inmunoensayos sobre papel de nitrocelulosa (immunoblotting).**

La técnica de inmunoblot es la mejor para identificar y caracterizar bioquímicamente las preparaciones antigénicas y sus variaciones. Esta técnica nos permite conocer también si existen o no proteínas con reacción cruzada en las diferentes preparaciones antigénicas. Es decir, el inmunoblot es una técnica excelente para el control de una preparación antigénica (Lera Omiste, 2011).

15.2.3 Detección de antígenos en heces fecales.

La detección de antígeno de *H. pylori* en heces permite un diagnóstico rápido y fiable de la infección por *H. pylori*. Dado que cada test comercial utiliza anticuerpos contra distintos antígenos de *H. pylori* y la bacteria presenta una gran variabilidad genética, los distintos kits pueden tener una distinta sensibilidad y especificidad. También la fiabilidad puede variar en función de las distintas poblaciones. Una revisión sistemática demuestra que los métodos de detección de antígeno fecal que utilizan anticuerpos monoclonales son claramente más fiables que aquellos que emplean anticuerpos policlonales. Si se utilizan pruebas monoclonales y de laboratorio (ELISA) su fiabilidad es similar o

ligeramente inferior al test del aliento. Puede ser útil en pediatría, geriatría, donde puede resultar difícil la realización de la prueba del aliento(Gisbert, y otros, 2012).

Según la OMS, las pruebas de antígenos fecales no son utilizadas con frecuencia a pesar de su alta sensibilidad y especificidad; debiendo tener un lugar más prominente, por lo poco costosas y no invasivas(Chile, 2013).

Entre las pruebas de antígenos fecales tenemos:

➤ **ELISA en heces (InControl)**

El Juego de Examen del Antígeno *H. pylori* es un inmunoensayo enzimático de fase sólida basado en el principio del sándwich para la detección cualitativa y cuantitativa del antígeno en heces humanas. La placa de micro titulación se cubre con anticuerpos de *H. pylori*. Durante el examen los antígenos son extraídos con la solución extractiva y añadidos a los anticuerpos encubiertos en la placa de micro titulación con los anticuerpos a *H. pylori* del conjugado – enzimático y luego se incuban. Si la muestra contiene antígenos de *H. pylori*, se unirán a los anticuerpos encubiertos en la placa de micro titulación y simultáneamente se unirán al conjugado para formar complejos antígeno-conjugado de anticuerpos inmovilizados de *H. pylori*. Si las muestras no contienen antígenos *H. pylori*, no se formarán los complejos. Después de la incubación inicial, se lava la placa de micro titulación para retirar los materiales que no se ha unido. Se añaden los sustratos A y B y luego se incuban para que produzcan un color azul como indicador de la cantidad de antígenos de *H. pylori* presentes en la muestra. Se añade solución de ácido sulfúrico las placas de micro titulación para detenerla reacción produciéndose un cambio de color azul a amarillo. La intensidad del color, que corresponde a la cantidad de antígenos de *H. pylori* presentes en las muestras, se mide mediante un lector de micro placas a 450/630- 700 nm.

Desarrollo del ELISA en heces:

1. Los reactivos y las muestras deben encontrarse a temperatura ambiente (15- 30°C) antes del examen.
2. Se prepara la solución de trabajo del buffer de lavado diluyendo el buffer de lavado concentrado 1:25. Poner el contenido de la botella de buffer de lavado concentrado en un cilindro graduado y llenarlo con agua destilada o desionizada a 1000mL para 96 pozos/placa de prueba, o 500 mL para 48 pozos/ placa de prueba. Esta solución es estable por 2 semanas a 15- 30°C.

Si se muestra que el buffer de lavado concentrado contiene cristales se debe calentar a 37°C hasta su disolución.

3. Transferir 1 mL de la solución de extracción al tubo de colector de la muestra.

Destornille la tapa el tubo de extracción de la muestra, luego transfiera 30 mg de excremento sólido de la muestra (equivale a ¼ de guisante) o 2 gotas (aproximadamente 50µL) al tubo de extracción de la muestra. Mezcle y agite vigorosamente.

4. A1 es micro pozo del Blanco.
5. Añada 50µL del Calibrador 1 en pozos B1 y C1. (reactivo amarillo)
6. Añada 50µL del Calibrador 2 en pozos D1 y E1. (reactivo azul)
7. Añada 50µL del Calibrador 3 en pozos F1 y G1. (reactivo azul)
8. Añada 50µL del Calibrador 4 en pozos H1 y A2. (reactivo azul)
9. Romper la punta del tubo de extracción de la muestra y transfiera 2 gotas de la solución extractora de la muestra (aprox. 50µL) a los pozos designados comenzando con el B2.
10. Añada 50µL del conjugado (reactivo rojo) a cada pozo excepto al pozo del blanco.
11. Retire y almacene las tiras que no se han usado a 2 – 8°C.

12. Mezcle suavemente la placa de micro titulación durante 30 segundos y cubra la placa de con el sellador, e incube a temperatura ambiente (20- 30°C), en un baño maría a 20 -30°C por 30 minutos \pm 5 minutos.
13. Remueva le sellador plástico y lave cada micro pozo 5 veces con 350 μ L de la solución de trabajo del buffer de lavado y remueva el líquido enseguida.
14. Voltee la placa y colóquela sobre un papel absorbente durante varios segundos. Cerciórese que todos los micro pozos queden totalmente secos. Un lavado insuficiente puede causar falsos positivos.
15. Agregue 50 μ L del sustrato A (reactivo claro) a cada micro pozo.
16. Después agregue 50 μ L de sustrato B (reactivo claro) a cada micro pozo. Un color azul debe desarrollarse en las celdas que contenga muestras positivas.
17. Mezcle suavemente luego cubra la placa de micro titulación con el sellador e incube a temperatura ambiente (20 -30°C) por 10 minutos.
18. Remueva el sellador plástico y agregue 50 μ L de la solución de parada (reactivo claro) a cada micro pozo para detener la reacción de color.
19. Lea la absorbancia en 450/630 – 700 nm dentro de los 30 minutos.

Requerimientos de Validación y Control de Calidad

1.- Calcule la absorbancia promedia de los calibradores 1-4 observando la tabla de abajo.

Ejemplo: cálculo del calibrador 2.

Ítem	Absorbancia
Calibrador 2: pozo D1	0.469
Calibrador 2: pozo E1	0.507
Absorbancia total de calibrador 2	0.976
Absorbancia promedia del calibrador 2	0.488

2.- Compruebe los requerimientos de validación de abajo para determinar si los resultados del examen son válidos:

Ítem	Requerimientos de Validación.
Pozo del blanco.	La absorbancia del Blanco debe ser $< 0,050$ si se lee a 450/630 – 700 nm. Nota: debe ser $< 0,100$ si se lee a 450nm
Calibrador 1	La absorbancia promedio después de la resta de la absorbancia del Blanco debe ser $< 0,100$
Calibrador 2	La absorbancia promedio después de la resta de la absorbancia del Blanco debe ser $> 0,150$
Calibrador 3	La absorbancia promedio después de la resta de la absorbancia del Blanco debe ser $> 0,500$
Calibrador 4	La absorbancia promedio después de la resta de la absorbancia del Blanco debe ser $> 1,000$

Nota: los resultados del examen son considerados inválidos si los requerimientos de validación de arriba no se dan. Repita la prueba o consulte con su distribuidor.

Interpretación de Resultados.

Cualitativo.

1.- Calcular el VALOR DEL ÍNDICE. - Es el resultado de la división de la absorbancia de la muestra entre el valor de corte, que nos permite obtener los resultados cualitativos de la muestra.

Si el examen es válido, obtenga los valores del punto de corte restando la absorbancia del Blanco de la absorbancia promedio de $\frac{1}{2} \times (\text{Calibrador 2} + \text{Calibrador 1})$. Ejemplo del valor del corte.

Ítem	Absorbancia.
Absorbancia del Blanco: pozo A1	0,011
Valor de Corte: $\frac{1}{2} \times (\text{Absorbancia promedio del Calibrador 2} - \text{Absorbancia promedio del Calibrador 1}) - \text{Absorbancia del Blanco}$.	$\frac{1}{2} \times (0,488 + 0,012) - 0,011 = 0,239$

2.- Calcule el Valor del Índice, luego lea los resultados siguiendo la interpretación de resultados de la tabla de abajo.

Ítem	Absorbancia
Muestra: pozo F2	0,968
Absorbancia del Blanco: pozo A1	0,011
Valor del Corte	0,239
Valor del Índice de la muestra: Muestra/Valor de Corte.	$(0,968 - 0,011)/0,239 = 4,0$

Cuantitativo.

1.- Dibuje la curva de calibración y obtenga los resultados cuantitativos de la muestra.

2.- Reste la absorbancia del Blanco de la absorbancia promedio de cada calibrador, luego tabúlelos en el eje- Y contra su concentración en el eje X y dibuje la curva de calibración.

3.- Obtenga los resultados cuantitativos de las muestras de su absorbancia usando la curva de calibración.

Las muestras que tengan una absorbancia mayor al calibrador 4 deben diluirse previamente usando la solución de extracción y volverse a examinar. La concentración debe multiplicarse por el factor de dilución.

Interpretación de resultados: Cualitativo y Cuantitativo.

Resultados	Cualitativo	Cuantitativo
	Valor del Índice	Concentración.
Negativo	<0,9	<0,045 µg/ml
Positivo	>1,1	>0,055 µg/ml
Ambiguo	$\geq 0,9$ and $\leq 1,1$	0,045 – 0,055 µg/ml

Cuando se dan resultados ambiguos, la muestra debe ser analizada nuevamente.

Sensibilidad y Especificidad.- El juego de Examen del Antígeno *H. pylori* muestra una sensibilidad de 98,6% y la especificidad de 95,4% (Laboratorios, 2011)

➤ **Prueba Rápida en Cassete OnSite *H. pylori* Ag (Muestra Fecal)**

La prueba rápida OnSite *H. pylori* Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral tipo sándwich. La cinta de prueba contiene:

1) Una almohadilla de conjugado de color borgoña con anticuerpo monoclonal anti- *H. pylori* conjugado con oro coloidal (conjugados anti- *H. pylori*).

2) Una tira de membrana de nitrocelulosa con una banda de prueba (banda T) y un grupo control (grupo C). La banda T está pre- recubierta con otro anticuerpo monoclonal anti- *H. pylori*, y la banda C está pre- recubierta con anticuerpo de cabra anti- IgG de conejo.

Cuando se dispensa una cantidad adecuada de muestra en la cavidad para muestras del cassette de prueba, la muestra migra por acción capilar a través de éste. Si se presentan antígenos de *H. pylori* en la muestra, éstos se unen a los conjugados anti- *H. pylori*. Luego el inmunocomplejo es capturado en la membrana por el anticuerpo pre – recubiertos, formando una banda T de color borgoña, indicando un resultado positivo para *H. pylori*. La ausencia de la banda T sugiere que la concentración de *H. pylori* en la muestra es menor al nivel detectable, indicando un resultado negativo.

La ausencia de la banda T sugiere un resultado negativo. La prueba contiene un control interno (banda C) que debe exhibir una banda de color borgoña independientemente de la presencia de la banda T. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra debe ser analizada de nuevo con otro dispositivo.

Recolección de la muestra y manipulación

1. Se recoge una muestra de materia fecal al azar en un recipiente limpio y seco.
2. Abra el dispositivo de recogida de heces destornillando la tapa, si la muestra de heces es sólida utilizar el palo recolector y perforar al azar la muestra en al menos

cinco sitios diferentes, y si la muestra es acuosa dispensar 2 gotas en el dispositivo de recogida de heces.

3. Vuelva a colocar el palo recolector y apriete bien para cerrar el dispositivo de recogida de heces.
4. Agitar el dispositivo de recogida de heces vigorosamente.
5. La muestra está lista para el examen, el transporte o el almacenamiento (2 – 8°C por 3 días)

Procesamiento:

1. Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados.
2. Abra la bolsa por la muesca y retire el dispositivo. Coloque el dispositivo de prueba en una superficie limpia y plana.
3. Agite el tubo de recolección de muestras vigorosamente con el fin de asegurar una completa suspensión líquida.
4. Mantenga el tubo boca arriba, gire la tapa. Sujetando el dispositivo de recogida de heces verticalmente, dispensar 2 gotas de la solución en el pocillo de muestra del dispositivo de ensayo. No sobrecargue la muestra.
5. Programe el cronómetro
6. Los resultados pueden leerse en el transcurso de 15 minutos. Los resultados positivos son visibles en un tiempo de 1 minuto.
7. No realice la lectura del resultado después de 20 minutos. Para evitar confusiones, deseche el dispositivo de prueba después de interpretar su resultado.

Interpretación de resultados.

1. **Resultado negativo.** - Si solo aparece la banda C, la prueba indica que no hay presencia de antígeno detectable para *H. pylori* en la muestra. En este caso el resultado es negativo.



2. **Resultado positivo.** - Si aparece las bandas C y T, la prueba indica que hay presencia de antígeno para *H. pylori* en la muestra. En este caso el resultado es positivo.



3. **Resultado invalidado.** - Si no se genera una banda C, el ensayo no es válido sin importar que se haya creado una línea de color en la banda T. El análisis se debe repetir con un nuevo dispositivo. Si se obtiene este resultado a causa de la sobrecarga en la cantidad de muestra fecal recolectada, repita la prueba (Ctk Biotech, 2014)



16 Sensibilidad.

La sensibilidad es el porcentaje de verdaderos positivos o la probabilidad de que la prueba sea positiva si la enfermedad está presente; los falsos negativos son sujetos enfermos diagnosticados como sanos (Pita Fernández & Pértegas Díaz, 2010).

Puede definirse también en términos probabilísticos como la probabilidad de tener un resultado positivo dado que se está enfermo.

A los resultados negativos en este grupo, se los llama falsos negativos. Puede verse como una prueba muy sensible si tiene pocos falsos negativos y viceversa, una prueba con baja sensibilidad (poca capacidad para detectar al enfermo como enfermo) tendrá una alta tasa de resultados falsos negativos.

La sensibilidad se puede calcular a partir de la siguiente relación:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

Donde **VP** es verdaderos positivos y **FN** falsos negativos.

Por eso a la sensibilidad también se la conoce como la fracción *de verdaderos positivos* (*FVP*)(Ruiz Morales & Morillo Zárate, 2009).

Verdaderos Positivos (VP). - Son el número de pacientes enfermos en los que la prueba dio positiva (diagnóstico correcto). Primeramente, se estima el total de enfermos, de este total se calcula los verdaderos positivos mediante el porcentaje de S que tiene la prueba o dicho de otra manera la S nos permite calcular la proporción de enfermos con prueba positiva.

Falsos negativos (FN). -Son el número de pacientes enfermos en los que la prueba dio negativa (diagnóstico incorrecto). Los FN surgen de restar al total de enfermos los verdaderos positivos (Bravo & Cruz, 2015).

$$\text{Falsos negativos} = \text{Total de enfermos} - \text{Verdaderos positivos.}$$

17 Especificidad

La especificidad de una prueba es la probabilidad de que un sujeto sano tenga un resultado negativo en la prueba. La especificidad es el porcentaje de verdaderos negativos o la probabilidad de que la prueba sea negativa si la enfermedad no está presente. Los falsos positivos son sujetos sanos diagnosticados como enfermos.

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

Donde *VN*, serían los verdaderos negativos; y *FP*, los falsos positivos.

Por eso a la especificidad también se le denomina *fracción de verdaderos negativos* (*FVN*). Con la especificidad lo que se detecta son los individuos sanos (Cuevas Renaud & Alejo Martínez, 2010).

Verdaderos Negativos (VN): Son el número de pacientes sanos en los que la prueba dio negativa (diagnóstico correcto).

Falso positivos (FP): Son el número de pacientes sanos en los que la prueba dió positiva (diagnóstico incorrecto). Los falsos positivos se calculan restando al total de sanos los verdaderos negativos (Ruiz, 2010).

$$\text{Falsos positivos} = \text{Total de sanos} - \text{Verdaderos negativos.}$$

18 Chi cuadrado χ^2 de Pearson para comparación de la prueba de ELISA e Inmunocromatografía.

La prueba de Chi-cuadrado, χ^2 es el procedimiento de elección para el contraste de hipótesis. Esta prueba estadística se emplea en el análisis de dos o más grupos y de dos o más variables.

En las ciencias de la salud, en ocasiones se trabaja con variables de tipo cualitativo tales como sexo, grado de desnutrición, nivel socioeconómico, por lo que en este caso nos referiremos a variables cualitativas. Es decir, que sus valores representan categorías o grupos en una variable. (Hernández Arroyo, 2006)

- Como sacar el Chi Cuadrado.
 1. En primer lugar, se debe plantear las hipótesis: Ho (Hipótesis nula) y Hi (Hipótesis alternativa)
 2. En segundo lugar, se debe calcular las frecuencias esperadas, correspondientes a cada frecuencia observada.
 3. Determinar los grados de libertad (gl) en función de numero de categorías: $gl=K - 1$.
 4. Calcular el valor del Chi Cuadrado con la siguiente fórmula:

$$\chi^2 = \frac{\sum(f - ft)^2}{ft}$$

5. Compara el estadístico χ^2 con los valores de la distribución de Chi Cuadrada en la tabla (Anexo 12).
6. Concluir se acepta o rechaza la hipótesis nula o alternativa.(Castellar & Zapata, 2009)

19 METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO:

El presente estudio es de tipo correlacional y de corte transversal.

ÁREA DE ESTUDIO

La presente investigación se la realizó en el Laboratorio Clínico del Hospital Julius Dophner de Zamora Chinchipe.

UNIVERSO:

Pacientes que acudieron al Hospital Julius Dophner por consulta externa.

MUESTRA:

75 pacientes que acudieron al laboratorio clínico del Hospital Julius Dophner en los meses de mayo y junio, con orden médica para realizarse el examen de *H. pylori* en heces.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes que acudieron con orden de pedido de *H. pylori* al laboratorio clínico del H. Julius Dophner de Zamora Chinchipe.
- Pacientes de ambos géneros que aceptaron ser parte del estudio y que firmaron el consentimiento informado.
- Pacientes que en condiciones óptimas recogieron las muestras de heces.
- Pacientes con sintomatología o con diagnóstico de gastritis, úlcera gástrica, etc.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que estuvieron con tratamiento para *H. pylori*.

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Para la elaboración del presente trabajo de investigación se adoptó una secuencia lógica general que se resume en las siguientes 3 etapas:

DESARROLLO DE LA FASE PREANALÍTICA:

- Oficio dirigido a la Dra. Ruth Sigüenza (Directora del Hospital Julius Dophner) y a la Lcda. Diana Martínez (Líder de Laboratorio Clínico del Hospital Julius Dophner) para que se autorice la realización del análisis de las muestras y se proporcione el espacio físico y los equipos de laboratorio clínico en dicho hospital, a su vez se autorice la revisión de las historias clínicas de los pacientes cuyas muestras sean analizadas (**ANEXO 1**).
- **Guía de instrucciones:** Mediante esta se indicó en términos claros y sencillos al paciente las condiciones bajo las cuales debe recoger las muestras (**ANEXO 2**).
- **Consentimiento Informado:** Se elaboró y se aplicó el consentimiento informado (**ANEXO 3**).
- Registro de los pacientes (**ANEXO 4**).
- Recepción de muestras de heces.

DESARROLLO DE LA FASE ANALÍTICA

- Se utilizaron dos procedimientos diferentes para el análisis de las muestras:
 - Primeramente, se aplicó la determinación de *H. pylori* mediante el test de inmunocromatografía en heces, y el resultado se lo anotó en el registro correspondiente (**ANEXO 5**).
 - Seguidamente se realizó la determinación de *H. pylori* en heces mediante la técnica de ELISA. Sus resultados se los anotó en el registro correspondiente (**ANEXO 6**).

- Para obtener los resultados cualitativamente por el método de ELISA, se procedió a calcular el valor del índice de las muestras y a su interpretación (**ANEXO 7**).
- Certificado de haber procesado las muestras en el Hospital Julius Dophner (**ANEXO 8**).

DESARROLLO DE LA FASE POST-ANALÍTICA

En esta fase se procedió a realizar:

- Resultados (**ANEXO 9**).
- Entrega de resultados (**ANEXO 10**).
- Revisión de las Historias clínicas, la cual me sirvió como el patrón de oro ya que es un documento válido desde el punto de vista clínico y legal, que recoge información de tipo asistencial, preventivo y social, y junto con las pruebas realizadas se pudo definir a los pacientes enfermos y a los pacientes sanos, lo que nos permitió obtener los verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos para la determinación de la sensibilidad y especificidad.
- Una vez obtenidos los resultados se procedió a calcular la sensibilidad y especificidad con sus respectivas fórmulas (**ANEXO 11**).
- Comparación de los métodos utilizados en el análisis de las muestras, por medio del Chi cuadrado (χ^2) (**ANEXO 12**).
- Certificado de traducción del resumen de tesis (**ANEXO 13**).
- Secuencia fotográfica del trabajo investigativo (**ANEXO 14**).

PLAN DE TABULACIÓN Y ANALISIS DE DATOS

- Una vez procesada las muestras y obtenidos los resultados del análisis que se realizaron a los pacientes para la determinación de *H. pylori*, se elaboró la

clasificación o agrupación de los datos referentes a cada variable, objetivo de estudio y técnica utilizada.

- Luego de validar la información se la introdujo a un formato electrónico, utilizando el programa EXCEL, en el cual se tabuló los datos de los resultados de los análisis, mediante tablas de frecuencia en un solo sentido, la misma que muestra el número de muestras analizadas y además muestra el porcentaje de casos positivos y negativos respectivamente.

REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS RESULTADOS

- Se las representó utilizando el programa EXCEL a través de gráficos de barras rectangulares de longitudes proporcionales al de los valores establecidos.

20. RESULTADOS

TABLA N°1

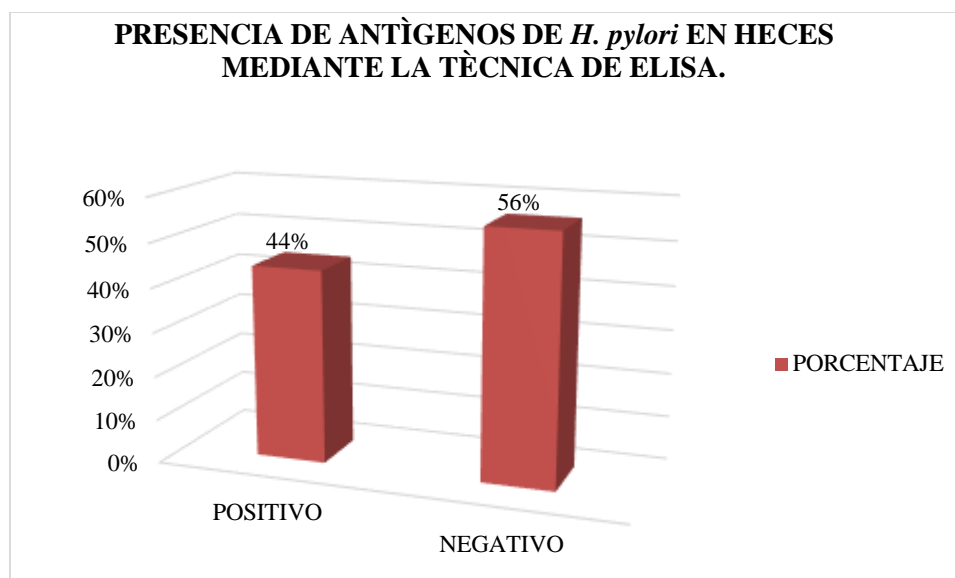
PRESENCIA DE ANTÍGENOS DE *H. pylori* EN HECES MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA.

VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
POSITIVOS	59	64%
NEGATIVOS	16	36%
TOTAL	75	100%

Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.

Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

GRÁFICO N°1



Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.

Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

INTERPRETACIÓN:

De 75 muestras analizadas en el laboratorio del Hospital Julius Dophner de la ciudad de Zamora, en lo que respecta a la presencia de antígenos de *H. pylori* mediante la técnica de ELISA se obtuvo 59 muestras positivas lo que corresponde a un 64% y 16 muestras negativas que corresponde al 36%.

TABLA N°2

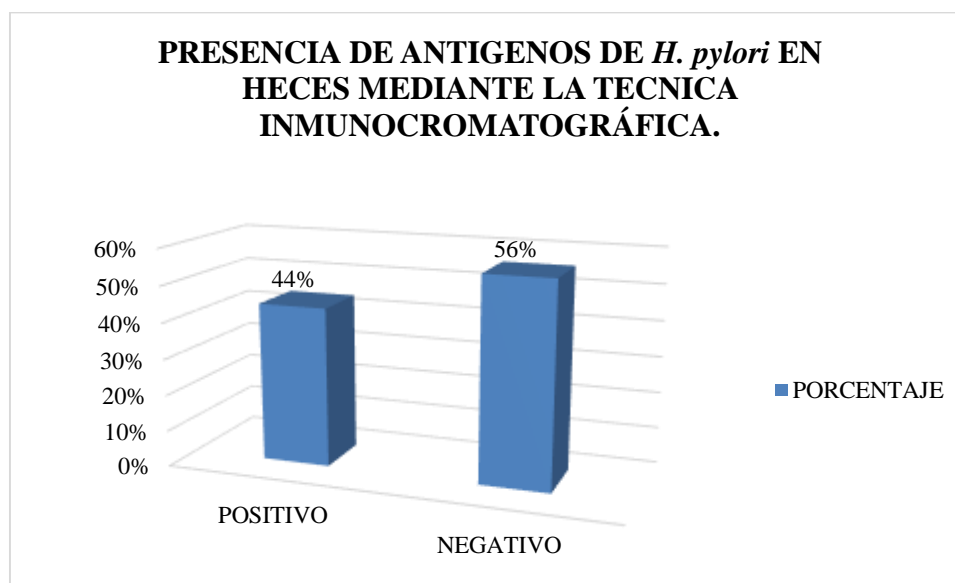
PRESENCIA DE ANTÍGENOS DE *H. pylori* EN HECES MEDIANTE LA TÉCNICA INMUNOCROMATOGRÁFICA.

VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
POSITIVOS	33	44%
NEGATIVOS	42	56%
TOTAL	75	100%

Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.

Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

GRÁFICO N°2



Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.

Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

INTERPRETACIÓN:

En la determinación de antígenos de *H. pylori* mediante la técnica inmunocromatográfica, de 75 muestras analizadas en el laboratorio del Hospital Julius Dophner de la ciudad de Zamora, se obtuvo 33 muestras positivas lo que corresponde a un 44% y 42 muestras negativas que representa el 56%.

TABLA N°3

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO DE ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*

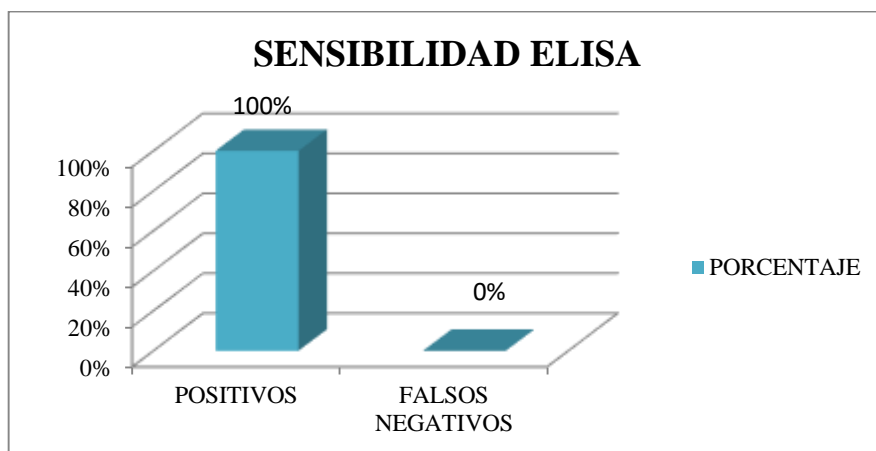
VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
VERDADEROS POSITIVOS	58	100%
FALSOS NEGATIVOS	0	0%
TOTAL	58	100%

Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.

Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

GRÁFICO N°3

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO DE ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*



Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.

Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

INTERPRETACION:

De 75 muestras analizadas en el laboratorio del Hospital Julius Dophner de la ciudad de Zamora, en lo que respecta a la determinación de la sensibilidad por el método de ELISA, se obtuvo 58 muestras verdaderas positivas, y que a su vez presentaban sintomatología lo que representa el 100% de sensibilidad.

TABLA N°4

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO DE INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*

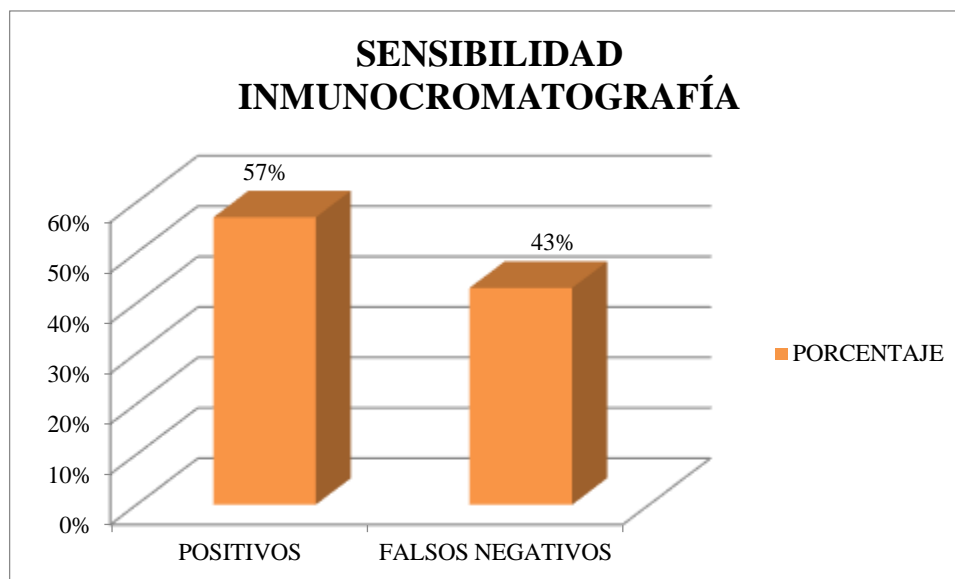
VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
VERDADEROS POSITIVOS	33	57%

FALSOS NEGATIVOS	25	43%
TOTAL	58	100%

Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.
Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

GRÁFICO N°4

SENSIBILIDAD DEL MÉTODO DE INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*



Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.
Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

INTERPRETACIÓN

En la determinación de sensibilidad de la técnica de inmunocromatografía tenemos que, de un total de 75 muestras analizadas, 33 fueron verdaderas positivas, y presentaban sintomatología lo que corresponde a un 57%, y 25 resultados falsos negativos, que representa el 43%; lo que nos da una sensibilidad de un 57%.

TABLA N°5

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO DE ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*.

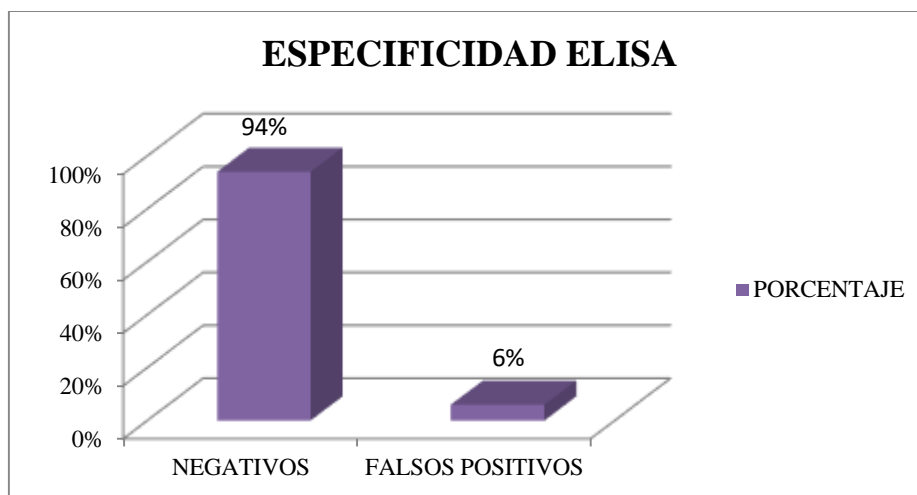
VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
VERDADEROS NEGATIVOS	16	94%
FALSOS POSITIVOS	1	6%

TOTAL	17	100%
--------------	-----------	-------------

Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.
Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

GRÁFICO N°5

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO DE ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*.



Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.
Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

INTERPRETACIÓN

En lo que respecta a la especificidad de ELISA, de un total de 75 muestras analizadas, 16 pacientes obtuvieron resultados verdaderos negativos lo que corresponde a un 94% y 1 falso positivo que corresponde a un 6%; dándonos una especificidad de un 94%.

TABLA N°6

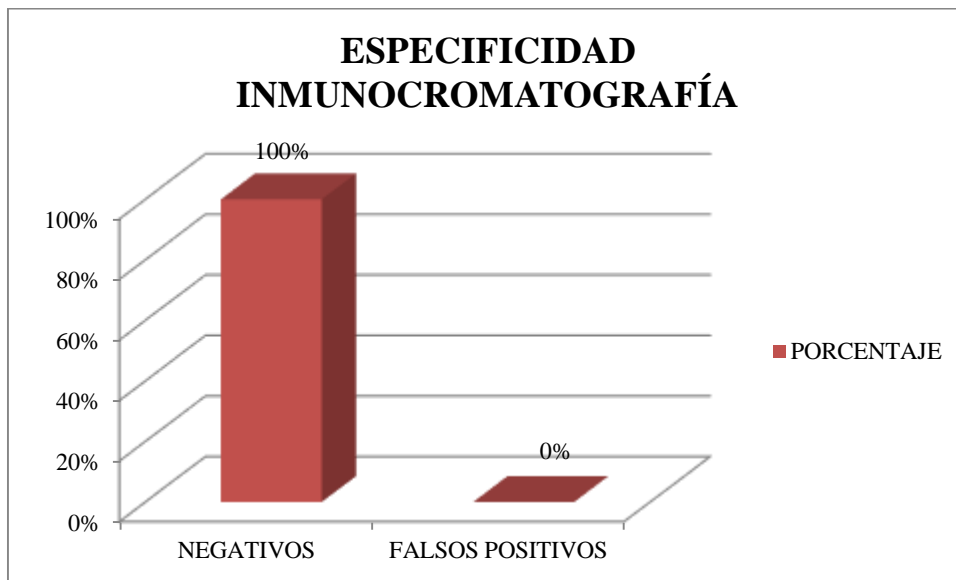
ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO DE INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*.

VARIABLE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
VERDADEROS NEGATIVOS	17	100%
FALSOS POSITIVOS	0	0%
TOTAL	17	100%

Fuente: Datos obtenidos de los análisis realizados en el Laboratorio del Hospital Julius Dophner.
Elaborado por: Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

GRÁFICO N°6

ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO DE INMUNOCROMATOGRAFÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE *H. pylori*.



INTERPRETACIÓN

En lo que representa la determinación de la especificidad del método de inmunocromatografía se puede apreciar que de 75 muestras analizadas 17 fueron verdaderos negativos y los pacientes no presentaron sintomatología y cero pacientes dieron falsos positivos; lo que permite evidenciar una especificidad del 100%.

TABLA N°7

COMPARACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ENTRE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFÍA (ICT).

	ELISA	INMUNOCROMATOGRAFÍA	Total
Verdaderos positivos	58	33	91
Falsos negativos	0	25	25
Total	58	58	116

Ho (Hipótesis nula) = ELISA es más sensible que el método ICM.

Hi (Hipótesis alterna) = ELISA no es más sensibles que el método ICM.

2. Frecuencias Teóricas

Ft = Se calcula a través de la razón entre los marginales o totales de cada frecuencia considerada y el total de datos de la muestra. Ejm:

$$ft = \frac{58 \times 91}{116} = 45.5$$

	ELISA	INMUNOCROMATOGRFÍA
Verdaderos positivos	45,5	45,5
Falsos negativos	12,5	12,5

3. Determinar los grados de libertad.

$$v = (n^{\circ} \text{ filas} - 1) \times (n^{\circ} \text{ columnas} - 1)$$

$$v = (2 - 1) \times (2 - 1) = 1 \times 1 = 1$$

$$v = 1$$

4. Calcular el Chi Cuadrado

$$\chi^2 = \frac{\sum (f - ft)^2}{ft}$$

$$\chi^2 = \frac{(58 - 45,5)^2}{45,5} + \frac{(33 - 45,5)^2}{45,5} + \frac{(0 - 12,5)^2}{12,5} + \frac{(25 - 12,5)^2}{12,5}$$

Valor p= 1,65002E-08

5.- Usar la tabla de distribución Chi Cuadrado y compara el resultado obtenido con la tabla.

ad Regional Mendoza

Tabla D.7: VALORES CRÍTICOS DE LA DISTRIBUCIÓN

g.d.l	0,001	0,005	0,01	0,02	0,025	0,03	0,04	0,05	0,10
1	10,828	7,879	6,635	5,412	5,024	4,709	4,218	3,841	2,706
2	13,816	10,597	9,210	7,824	7,378	7,013	6,438	5,991	4,605
3	16,266	12,838	11,345	9,837	9,348	8,947	8,311	7,815	6,251
4	18,467	14,860	13,277	11,668	11,143	10,712	10,026	9,488	7,779
5	20,515	16,750	15,086	13,388	12,833	12,375	11,644	11,070	9,236
6	22,458	18,548	16,812	15,033	14,449	13,968	13,198	12,592	10,645
7	24,322	20,278	18,475	16,622	16,013	15,509	14,703	14,067	12,017
8	26,124	21,955	20,090	18,168	17,535	17,010	16,171	15,507	13,362
9	27,877	23,589	21,666	19,679	19,023	18,480	17,608	16,919	14,684
10	29,588	25,188	23,209	21,161	20,483	19,922	19,021	18,307	15,987
11	31,264	26,757	24,725	22,618	21,920	21,342	20,412	19,675	17,275
12	32,909	28,300	26,217	24,054	23,337	22,742	21,785	21,026	18,549
13	34,528	29,819	27,688	25,472	24,736	24,125	23,142	22,362	19,812
14	36,123	31,319	29,141	26,873	26,119	25,493	24,485	23,685	21,064
15	37,697	32,801	30,578	28,259	27,488	26,848	25,816	24,996	22,307
16	39,252	34,267	32,000	29,633	28,845	28,191	27,136	26,296	23,542
17	40,790	35,718	33,409	30,995	30,191	29,523	28,445	27,587	24,769
18	42,312	37,156	34,805	32,346	31,526	30,845	29,745	28,869	25,989
19	43,820	38,582	36,191	33,687	32,852	32,158	31,037	30,144	27,204
20	45,315	39,997	37,566	35,020	34,170	33,462	32,321	31,410	28,412

Comparar los valores según la teoría:

X^2 calculado $>$ X^2 tabla = Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa.

X^2 calculado $<$ X^2 tabla = Se rechaza la hipótesis alternativa (H_1) y se acepta la hipótesis nula.

$$X^2 \text{ calculado} = 1,65 < X^2 \text{ tabla} = 3,841$$

Interpretación: Se acepta la hipótesis nula, es decir que en 75 muestras analizadas en lo que respecta a la sensibilidad el método de ELISA resultó ser más sensible con el 100% que el método Inmunocromatográfico con el 56%, según la estadística de Chi cuadrado.

TABLA N°8

**COMPARACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD ENTRE ELISA E
INMUNOCROMATOGRAFÍA (ICT).**

	ELISA	INMUNOCROMATOGRAFÍA	Total
Verdaderos positivos	16	17	33
Falsos negativos	1	0	1
Total	17	17	34

Ho (Hipótesis nula) = El método ICM es más específica que ELISA.

Hi (Hipótesis alterna) = El método ICM es menos específica que ELISA.

2. Frecuencias Teóricas

Ft = Se calcula a través de la razón entre los marginales o totales de cada frecuencia considerada y el total de datos de la muestra. Ejm:

$$ft = \frac{17 \times 33}{34} = 16.5$$

	ELISA	INMUNOCROMATOGRAFÍA
Verdaderos positivos	16,5	16,5
Falsos negativos	0,5	0,5

3. Determinar los grados de libertad.

$$v = (n^{\circ} \text{ filas} - 1) \times (n^{\circ} \text{ columnas} - 1)$$

$$v = (2 - 1) \times (2 - 1) = 1 \times 1 = 1$$

$$v = 1$$

4. Calcular el Chi Cuadrado

$$\chi^2 = \frac{\sum (f - ft)^2}{ft}$$

$$\chi^2 = \frac{(16 - 16,5)^2}{16,5} + \frac{(17 - 16,5)^2}{16,5} + \frac{(1 - 0,5)^2}{0,5} + \frac{(0 - 0,5)^2}{0,5}$$

Valor p= 0,31008751

5.- Usar la tabla de distribución Chi Cuadrado y compara el resultado obtenido con la tabla.

ad Regional Mendoza

Tabla D.7: VALORES CRÍTICOS DE LA DISTRIBUCIÓN

g.d.l	0,001	0,005	0,01	0,02	0,025	0,03	0,04	0,05	0,10
1	10,828	7,879	6,635	5,412	5,024	4,709	4,218	3,841	2,706
2	13,816	10,597	9,210	7,824	7,378	7,013	6,438	5,991	4,605
3	16,266	12,838	11,345	9,837	9,348	8,947	8,311	7,815	6,251
4	18,467	14,860	13,277	11,668	11,143	10,712	10,026	9,488	7,779
5	20,515	16,750	15,086	13,388	12,833	12,375	11,644	11,070	9,236
6	22,458	18,548	16,812	15,033	14,449	13,968	13,198	12,592	10,645
7	24,322	20,278	18,475	16,622	16,013	15,509	14,703	14,067	12,017
8	26,124	21,955	20,090	18,168	17,535	17,010	16,171	15,507	13,362
9	27,877	23,589	21,666	19,679	19,023	18,480	17,608	16,919	14,684
10	29,588	25,188	23,209	21,161	20,483	19,922	19,021	18,307	15,987
11	31,264	26,757	24,725	22,618	21,920	21,342	20,412	19,675	17,275
12	32,909	28,300	26,217	24,054	23,337	22,742	21,785	21,026	18,549
13	34,528	29,819	27,688	25,472	24,736	24,125	23,142	22,362	19,812
14	36,123	31,319	29,141	26,873	26,119	25,493	24,485	23,685	21,064
15	37,697	32,801	30,578	28,259	27,488	26,848	25,816	24,996	22,307
16	39,252	34,267	32,000	29,633	28,845	28,191	27,136	26,296	23,542
17	40,790	35,718	33,409	30,995	30,191	29,523	28,445	27,587	24,769
18	42,312	37,156	34,805	32,346	31,526	30,845	29,745	28,869	25,989
19	43,820	38,582	36,191	33,687	32,852	32,158	31,037	30,144	27,204
20	45,315	39,997	37,566	35,020	34,170	33,462	32,321	31,410	28,412

Comparar los valores según la teoría:

X^2 calculado $>$ X^2 tabla = Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa.

X^2 calculado $<$ X^2 tabla = Se rechaza la hipótesis alternativa (H_1) y se acepta la hipótesis nula.

$$X^2 \text{ calculado} = 0,31 < X^2 \text{ tabla} = 3,841$$

Interpretación: Se acepta la hipótesis nula, es decir que en 75 muestras analizadas en lo que respecta a la especificidad el método Inmunocromatográfico resultó ser más específico con el 100% que el método de ELISA con el 94%, según la estadística de Chi cuadrado.

21. DISCUSIÓN.

La infección por *H.pylori* es una bacteria que habita entre el mucus y la superficie del epitelio gástrico en donde origina un proceso inflamatorio crónico que trae por consecuencia el desarrollo de enfermedades gástricas severas como gastritis crónica, úlcera péptica e incluso llegando a producir cáncer de estómago, afecta a la población mundial y a todas las edades. (López Vidal & Ponce de León, 2006)

Existen en la actualidad métodos para el diagnóstico de infección por *H pylori*, entre estos están las pruebas invasivas, que en forma general se han afianzado gracias a su sensibilidad y especificidad. También existen las pruebas no invasivas; las mismas que al no presentar estudios preliminares que evalúen cuál de estas pruebas resulta más eficaz han sido relegadas a segundo plano a pesar de que han mostrado una alta sensibilidad y especificidad. (Chacón Valdiviezo, 2012)

Las pruebas no invasivas como las basadas en la detección de antígenos *de H. pylori* en heces se las consideran útiles para el diagnóstico, prevención, tratamientos y erradicación de esta bacteria, ya que presentan ciertas ventajas prácticas tales como: la obtención de la muestra es más factibles, en lo que respecta a la prueba Inmunocromatográfica su procedimiento es más rápido al igual que la obtención de sus resultados y no demanda de equipos; con respecto a las pruebas invasivas, siendo un aspecto importante el estudio de la fiabilidad de estas pruebas(Gisbert, Infección por Helicobacter pylori, 2016).

Márquez. en su estudio publicado en 2010, en el cual se estudiaron 85 pacientes, sin distinción de sexo ni edad, a quienes se les determinó la presencia o no de antígenos de *H. pylori* en heces, utilizando la prueba de inmunocromatografía. Los resultados demostraron que 42 (49%) resultaron positivos y 43 (51%) negativos a la prueba de inmunocromatografía, comparado con este estudio que de 75 muestras analizadas se obtuvieron 33 resultados positivos y 42 negativos.

Alarcón y Pasato en el 2013, en su estudio determinación de *H. pylori* por ELISA de 203 pacientes, se obtuvieron 95(46.8%) resultados positivos y 108(53.2%) resultados negativos, comparado con el presente estudio en el cual de 75 muestras, 59(64%) fueron positivas y 16(36%) negativas.

Falsafi, Lavasini y otros, en su estudio sobre la determinación de *H. pylori* en heces por medio de ELISA y otros métodos adicionales y se realizó con una muestra de 58 pacientes entre niños y adultos, dando como resultado una sensibilidad del 97% y especificidad del 98% con el método de ELISA; en comparación con mi estudio que se obtuvo una sensibilidad del 100% y especificidad del 94% en la detección del *H. pylori* por ELISA.

En la revisión bibliográfica realizado por Llano y Ochoa (2011), en la cual se evaluaron seis estudios utilizando pruebas de ELISA en heces, presenta una sensibilidad de 97% y especificidad del 97%, en lo que respecta a las pruebas inmunocromatográficas de seis estudios evaluados se obtuvo una medida resumen de sensibilidad del 88% y especificidad del 93% , ciertamente hay diferencia notoria en el método inmunocromatográfico donde se puede evidenciar que la especificidad del estudio es de 93% en comparación con el 100% de este estudio y la sensibilidad es de 56% versus el 88%. Por el contrario con el método de ELISA hay más similitud en los resultados.

Según Bayona, Gutiérrez y otros (2014), demostró una sensibilidad del 30% y una especificidad del 84,6% por el método inmunocromatográfico. En este estudio los pacientes ya presentan una enfermedad diagnosticada, aun así la sensibilidad y especificidad es baja, al compararlo con este estudio cuyo resultado que es de 56% de sensibilidad y 100% de especificidad.

Calvet, Salceda y otros en su estudio denominado “Evaluación de un nuevo test rápido para la detección de *H. pylori* en heces” (2015), de 68 pacientes evaluados a través de la

prueba inmunocromatográfica, la sensibilidad que obtuvieron oscila entre 89 – 96% y la especificidad entre 60 – 70%, no teniendo similitud con este estudio, ya que en la evaluación inmunocromatográfica de 75 pacientes se obtuvo una sensibilidad de 56% y especificidad de 100%, estando estos valores alejados.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la prueba de Chi Cuadrado se comprueba que el método de ELISA resultó ser más sensible y que el método Inmunocromatográfico más específico para la determinación de *Helicobacter pylori* en heces, siendo pruebas suficientemente válidas y con alta confiabilidad en lo que respecta a sensibilidad y especificidad en cada uno de los casos.

Estas pruebas son útiles para la detección temprana de *H. pylori*, como complemento de diagnóstico, en el control y erradicación de la infección sin imponer las molestias de una endoscopía ya que son métodos no invasivos y a su vez brindan una respuesta rápida, lamentablemente en la actualidad el método de ELISA no es muy utilizado en hospitales, laboratorios, clínicas, etc., por su costo elevado, su poco conocimiento, por la falta de equipos para su desarrollo y porque demanda de más tiempo para su procesamiento, siendo el más utilizado y conocido el método Inmunocromatográfico.

22. CONCLUSIONES

- Se realizó la correcta identificación de los antígenos de *H. pylori* en heces mediante la técnica de ELISA dando un resultado de 59 muestras positivas y 16

negativas; en comparación con la técnica inmunocromatográfica de la cual se obtuvo 33 resultados positivos y 42 resultados negativos.

- Se determinó la sensibilidad de la técnica de ELISA e inmunocromatografía en heces para la detección de *H. pylori* cuyos resultados fueron: ELISA 100% e inmunocromatografía 56% de sensibilidad.
- Se determinó la especificidad de la técnica de ELISA e inmunocromatografía en heces para la detección de *H. pylori* cuyos resultados fueron: ELISA 94% e inmunocromatografía 100%.
- De acuerdo a los resultados obtenidos el método de ELISA es altamente sensible y el método Inmunocromatográfico presenta mayor especificidad en la determinación de *H. pylori* en heces.

23. RECOMENDACIONES

- Se recomienda a los profesionales de la salud utilizar el método de ELISA ya que demostró tener una mayor sensibilidad y el método Inmunocromatográfico una mayor especificidad para la detección de *H. pylori* en heces.
- Con el interés de fortalecer los estudios científicos a nivel local, se sugiere realizar más investigaciones acerca de la sensibilidad y especificidad de otras pruebas en la determinación de *H. pylori*, con el fin de demostrar cual es la más idónea a utilizar y resulte más sencillo su erradicación.
- Se sugiere realizar un seguimiento con la utilización de la prueba de ELISA, para prevención oportuna de enfermedades relacionadas con *H. pylori*, para el control de tratamientos.
- Debido a la facilidad de uso, rapidez de la respuesta y bajo costo de la prueba Inmunocromatográfica, esta podría ser utilizada como uno de los métodos no invasivos, y así tener una posibilidad de detectar la infección sin imponer las molestias de una endoscopia. No obstante, se debería confirmar los resultados con otras pruebas que presenten mayor sensibilidad y especificidad al evaluar la presencia de *H. pylori*, como es la prueba de ELISA.

24. BIBLIOGRAFÍA

Abrante, L., Reyes, N., García Amado, A., Suárez, P., Romero, R., Michelangeli, F., & Contreras, M. (2012). Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* por

- PCR en jugo gástrico y biopsias gastroesofágicas de pacientes dispépticos. Rev. Scielo, 170.
- Agudo Pena, S. (2010). Estudio molecular de los factores de virulencia y de la resistencia a claritromicina en la infección por *Helicobacter pylori*. Rev. Universidad Complutense Madrid, 8 -10. Obtenido de Eprints.
- Alba Posse, R., Toledo, R., & Viana Cabral, M. (2006). *Helicobacter pylori*: Clínica, Diagnóstico y Tratamiento. Revista de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina, 1 - 2.
- Angulo, R. (02 de 09 de 2012). Alimentación Saludable. Obtenido de Alimentación Saludable: <http://blog.espol.edu.ec/roxeangu/2012/09/02/cuales-son-las-verdaderas-causas-de-la-gastritis/>
- Baker, C. (2009). Atlas de enfermedades infecciosas en pediatría. España: Médica Panamericana.
- Barragán Vidal, C., Gutiérrez Escobar, A., & Castiblanco Robayo, L. (2014). Membrana externa de *Helicobacter pylori* y su papel en la adhesión al epitelio gástrico. Rev. Javeriana med, 48.
- Barragán, C., Gutiérrez, A., & Castiblanco, L. (2015). Membrana externa de *Helicobacter pylori* y su papel en la adhesión al epitelio gástrico. Revistas Javeriana, 46-54.
- Bermúdez Díaz, L., Torres Domínguez, L., & Rodríguez González, B. (2008). Métodos para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*. Revistas Med, 8.
- Bernaola Paredes, E. (2012). *Helicobacter pylori* 29 años después (1983-2012): epidemiología, patogenia, diagnóstico y relación con la enfermedad periodontal. Rev. de Especialidades Médico- Quirúrgicas, 85.
- Blázquez, C. (2011). Síndromes digestivos. Fisiopatología Sistémica. México: Editorial Interamericana; McGraw-Hill.
- Bravo, S., & Cruz, J. (2015). Estudios de exactitud diagnòstica: herramientas para su interpretaciòn. Rev. Scielo, 159.
- Cáceres, P., Montijo, E., Bacarreza, D., Zárate, F., Díaz, S., Mora, I., Ramírez, J. (2009). Utilidad de los métodos diagnòsticos para la detección de *Helicobater pylori* en pediatría. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría, 50 - 52.
- Calvet Calvo, X., & Almela Notari, P. (2011). Hemorragia Digestiva Alta. España: Elsevier.
- Calvo, A. (2015). Biología Celular Biomedica. España: S.A . Elseiver España.
- Campos Campos, S. F. (2012). Fisiopatología quirúrgica del aparato digestivo. México: El Manual Moderno.

- Campuzano Maya, G. (2013). *Helicobacter pylori*. De la gastritis al cáncer gástrico. Medellín, Colombia: Médica Colombiana S.A., Edimeco S.A.
- Campuzano Maya, G. (2014). Colombia: Médica Colombiana.
- Cardona Álvarez, J., Vargas Viloria, M., & Perdomo Ayola, S. (2013). Actualización sobre helicobacteriosis. *Rev. Redvet*, 2. Obtenido de Google Academico.
- Castellar, R., & Zapata, F. (11 de Diciembre de 2009). Usalesiana. Obtenido de Usalesiana: <http://virtual.usalesiana.edu.bo/web/conte/archivos/1856.pdf>
- Chacón Valdiviezo, J. E. (2012). Determinación de la sensibilidad entre los métodos de inmunocromatografía y quimioluminiscencia en la detección de *Helicobacter pylori* en pacientes que acuden al laboratorio Medilab. *Rev. dspace UNL*, 34 - 36.
- Chávez Bonifaz, M. (2014). Análisis de la prueba inmunológica para la detección de *Helicobacter Pylori* en pacientes de 20 a 40 años del Hospital Provincial General Docente Riobamba Noviembre 2013 – Enero 2014. DSpace ESPOCH.
- Chile, M. d. (2013). Tratamiento de erradicación de *Helicobacter pylori* en el paciente con úlcera péptica. *Series Guías Clínicas MINSAL*, 22.
- Chumpitaz Conde, J., Gutiérrez Manay, J., Córdova Acosta, R., Sánchez Medina, M., Vásquez Valverde, N., Rivadeira Málaga, C., Valencia Bazalar, E. (2006). Aislamiento de *Helicobacter pylori* en Sarro Dental de pacientes con Gastritis del Policlínico "Angamos". *REV. Gastroenterología de Perú*, 374.
- Correa, L. (2015). *Helicobacter pylori* y su relación con los factores de riesgo en estudiantes del Colegio Hernán Gallardo Moscoso. Repositorio Unl.
- Coso, M. V., Deval, F., Pascual, C., Aguirre, F., & Grosson, F. (12 de 06 de 2015). *Enfervalencia*. Obtenido de *Enfervalencia*: <http://www.enfervalencia.org/ei/antiores/articulos/rev54/artic07.htm>
- Costa, K., Bacher, G., Allmaier, G., Dominguez Bello, M. G., Engstrand, L., Falk, P., García del Portillo, F. (1999). The Morphological Transition of *Helicobacter pylori* Cells from Spiral to Coccoid Is Preceded by a Substantial Modification of the Cell Wall. *Journal of bacteriology*.
- Cover, T. L., & Blanke, S. R. (2005). *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*.
- Ctk Biotech. (2014). Prueba rápida en cassette Onsite *H. pylori* (muestra fecal). Germany: Ctk Biotech, Inc.
- Cuevas Renaud, C., & Alejo Martínez, A. (2010). Validez y fiabilidad de las medidas de exposición y medición. *Rev. UNAM*, 1 - 5.

- De la Paz y García, E. (14 de 10 de 2015). Ropaz. net. Obtenido de Ropaz. net: http://www.ropaz.net/ropaz2/publicaciones/Enfermedades/46a48-_Ester_16.pdf
- De la Torre Montejo, E., & Pelayo González - Posada, E. (2008). *Pediatría*. La Habana: Ciencias Médicas.
- Galindo Sosa, N. C. (2009). Relación de la infección por *Helicobacter pylori* y la baja talla en niños. *Rev. Javeriana*, 13.
- Gaona, L., Ramírez, D., Ramos, U., & Sánchez, V. (26 de Junio de 2016). *Medicina Verano 2016*. Obtenido de *Medicina Verano 2016*: <http://victorbuap.blogspot.com/2016/06/relacion-entre-helicobacter-pylori-y.html>
- Gisbert, J. (2016). Infección por *Helicobacter pylori*. *Asociación Española de Gastroenterología*, 284.
- Gisbert, J., Calvet Calvo, X., Ferrándiz Santos, J., Mascort Roca, J., Coello, P., & Marzo Castillejo, M. (2012). Guía de práctica clínica sobre el manejo del paciente con dispepsia. *Rev. Elsevier*, 44 - 45.
- Gómez, N., Salvador, A., Vargas, P., Zapatier, J., & Álvarez, J. (2003). Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en la población infantil ecuatoriana. *Rev. Gastroenterología de Perú*, 231.
- González López, L., & Rodríguez González, B. L. (2011). Patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*. *Rev. MÈD*.
- González, J., Gutiérrez, P., Rojas, J., Tirado, P., & González, I. (2012). Factores Patogénicos de *Helicobacter pylori* en Cáncer Gástrico. *Rev. Facultad de Medicina UCM*, 3.
- Guaya, D. (2015). Determinación del antígeno *H. pylori* por el método de inmunocromatografía en los estudiantes del Instituto Tecnológico 12 de Febrero de Zamora y su relación con los factores de riesgo. *Dspace UNL*.
- Harrison. (2016). *Principios de Medicina Interna*. España: McGraw-Hill Interamericana.
- Hatakeyama, M. (2008). Linking epithelial polarity and carcinogenesis by multitasking *Helicobacter pylori* virulence factor CagA. *Rev. NCBI*.
- Hernández Arroyo, E. (2006). *Manual de Estadísticas*. Colombia: Universidad Cooperativa de Colombia.
- Hernández Triana, M. (2001). *Helicobacter pylori*. La bacteria que más infecta al ser humano. *Rev. Cubana Alimentación y Nutrición*, 42.

- Hunt, R., Xiao, S., Megraud, F., Leon-Barua, R., Bazzoli, F., Van der Merwe, S., . . . Le Mair, A. (2010). *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología, 166 - 175.
- Jiménez Cuenca, C. (2010). Determinación de la incidencia de *Helicobacter pylori*, mediante el examen de inmunocromatografía en heces, en niños de la escuela Dr. Victor Emilio Uzcátegui, de la ciudad de Yantzaza, provincia de Zamora Chinchipe; Junio - Noviembre 2010". Rev. Dspace UNL, 29.
- Khoury, L. (2013). *Helicobacter pylori*. Plan Salud Banco Central, 3.
- Koneman, E. W., Winn, W. C., Allen, S. D., Procop, G. W., Janda, W. M., Schereckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2006). *Diagnóstico Microbiológico*. Madrid, España: Médica Panamericana S.A.
- Laboratorios, A. (2011). *Antígeno H. pylori Incontrol*. Germany: Hannover.
- Lera Omiste, I. (2011). *Métodos diagnósticos de la infección por Helicobacter pylori en Huesca*. Prensa Universidad de Zaragoza, Zaragoza.
- López Vidal, Y., & Ponce de León, S. (2006). El *Helicobacter pylori*, la úlcera péptica y los paradigmas científicos. Rev. Scielo, 1-2.
- Macenlle García, R. (2010). Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudio de factores de riesgo asociados. Rev. USC.
- Marais, A., Mendz, G., Hazell, S., & Mégraud, F. (1999). Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the genome era. *Microbiol Mol Biol Rev*.
- Mendoza, A., Cabalé, M., & Fernández, M. (2003). *Helicobacter Pylori* y su relación con las lesiones gástricas. Rev. Científica Médica de Holguín.
- MexLab, G. (14 de 11 de 2015). Mexlab. Obtenido de Mexlab: <http://www.grupomexlab.com/pdf/rapidas/3001134.pdf>
- Naranjo Restrepo, D., Suárez Camargo, M., Bayona, M., Gallego, M., Urbina, M., & Rojas, D. P. (2012). Aspectos Históricos, Epidemiológicos y Patológicos de las Helicobacteriosis en Humanos y en Caninos. *Revista Medicina*, 154.
- Northfield, T., Mendall, M., & Goggin, P. (1993). *Helicobacter pylori*. Infection, Pathophysiology, Epidemiology and Management. Manchester: Springer Science.
- Pagana, K., & Pagana, T. (2015). *Laboratorio Clínico. Indicaciones e interpretación de resultados*. México: El Manual Moderno.

- Pagliari , N. (14 de 06 de 2015). OSECAC. Obtenido de OSECAC: http://www.osecac.org.ar/documentos/guias_medicas/GPC%202008/Gastroenterologia/Gastro-4%20Infeccion%20por%20Helicobacter%20Pylori_v0-14.pdf
- Palomino Camargo, C., & Tomé Boschian, E. (2012). *Helicobacter pylori*: Rol del agua y los alimentos en su transmisión. Rev. Scielo.
- Pita Fernández, S., & Pértegas Díaz, S. (12 de Diciembre de 2010). Festerra. Obtenido de Festerra: https://www.fisterra.com/mbe/investiga/pruebas_diagnosticas/pruebas_diagnosticas.asp
- Quiñónez Girón, E. (2014). Detección del *Helicobacter pylori* en pacientes mayores de 20 años con gastritis aguda y crónica en el dispensario San Judas. Repositorio de la Universidad de Guayaquil, 15.
- Ramírez Ramos, A., & Sánchez Sánchez, R. (2009). *Helicobacter pylori* 25 años después (1983 -2008): epidemiología, microbiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento. Revista de Gastroenterología del Perú.
- Rivas Traverso, F., & Hernández, F. (2000). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. Rev Biomed, 190 - 193.
- Robles, C. (20 de 04 de 2015). La República. Obtenido de La República: <http://www.larepublica.ec/blog/vida-estilo/2015/04/20/gastritis-mal-prevenible/>
- Robles, C., Pitanga, H., Soria, M., Robles, C., Alvarado, H., & Valero, M. (2015). La gastritis, un mal prevenible. Rev. IECED.
- Rodríguez Gómez, E. R. (2015). Motivos EPIYA en la proteína CagA en aislamientos Colombianos de *Helicobacter pylori* provenientes de la ciudad de Bogotá. Repositorio Javeriana, 22 - 23.
- Romero Cabello, R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana. México: Médica Panamericana.
- Romo González, C., & Coria Jiménez, V. (2010). *Helicobacter pylori*, un modelo de bacteria carcinogénica. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas, 244 - 251.
- Ruiz Morales, Á., & Morillo Zárate, L. E. (2009). Epidemiología Clínica. Bogotá, Colombia: Médica Panamericana.
- Ruiz, R. (2010). Eficacia de la prueba diagnòstica. España: Jano.
- Sánchez Valle, J. (14 de 10 de 2015). Medicci. Obtenido de Medicci: <http://unidad-gastroenterologia.com/helicobacter.html>
- Serrano, A., Hernández, M., De la Garza Salazar, J., & Herrera, L. (2009). *Helicobacter pylori* y Cáncer Gástrico. México: Instituto Nacional de Cancerología.

- Serrano, A., Hernández, M., De la Garza, J., & Herrera, L. (2009). *Helicobacter pylori* y Cáncer Gástrico. Rev. Incan, 194.
- Suárez Guerrero, J., Reyes Vera, G., & Herreros Rosas, L. (2011). *Helicobacter pylori*: revisión de los aspectos fisiológicos y patológicos. Rev. Scielo, 3.
- Suárez, J., Almaguer, Y., & Martínez, R. (2013). Comportamiento higiénico-sanitario de pacientes con diagnóstico de úlcera gastroduodenal por *Helicobacter pylori*. Revistas Medicas Cubanas.
- Swearingen, P. L. (2008). Manual de Enfermería Médico- Quirúrgica. España: Elsevier.
- Torres Valadez, F., García Menéndez, A., & Zárate Osorno, A. (2008). *Helicobacter pylori*. Rev. Facmed.
- Torres, L., & Rodríguez, B. (2008). Principales factores de patogenia en la infección por *Helicobacter pylori*. Rev. CENIC. Ciencias biológicas, 3.
- Tortora, G., Funke, B. R., & Case, C. L. (2007). Introducción a la Microbiología. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Valencia González, H. D., Marzola Peña, E. J., Trujillo Gómez, J., Cuellar Contreras, O. J., Niño Serna, L. F., & Lopera Sánchez, N. (2013). XXIX Curso de Residentes de Pediatría. Saberes y Argumentos compartidos. Medellín, Colombia: Artes y Letras S.A.S.
- Vásquez Buitrón, P. C. (2013). Prevalencia por infección por *Helicobacter pylori* y asociación con patologías gástricas en pacientes adultos de chequeo ejecutivo desde enero del 2010 hasta septiembre del 2012 del Hospital Metropolitano de Quito-Ecuador. Repositorio USFQ.
- Vázquez Anovega, H., Cruz Carballosa, Y., Cruz Carballosa, Y., Calzadilla Jardínez, I., Rodríguez Zapata, R., & López Sánchez, Y. (2014). Caracterización de úlceras gástricas y duodenales. Revista Enfermería Herediana, 1 - 7.
- Velasco Bénéitez, C. A. (2006). Enfermedades digestivas en niños. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- Vizcaíno, A. (2004). *Helicobacter pylori* y enfermedad gastroduodenal. Bases para el Diagnóstico y Tratamiento. Revista de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina, 1 - 4.
- Willhite, D., & Blanke, S. (2004). *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. Rev. NCBI.
- Zubieta Duran, M., & Quiroga Castro, C. (2010). Manual de toma, conservación, transporte y envío de muestras. La Paz, Bolivia: Herrera.

25. ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Zamora, 06 de mayo del 2015

Dra. Ruth Siguenza.

DIRECTORA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE

Cuidad.-

De mi consideración:

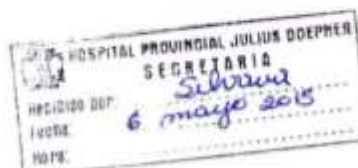
Reciba usted un saludo cordial de mi parte y a la vez deseándole éxitos en sus actividades profesionales, con el propósito en la realización del proyecto de tesis el mismo que se trata de la **"DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFÍA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter Pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN EL MES DE MAYO DEL 2015"** solicito de la manera más comedida se me del permiso correspondiente para la disposición y accesibilidad de los espacios físicos y equipos del laboratorio clínico del hospital, con la finalidad de llevar acabo la realización de los análisis, así mismo que se haga conocer a la jefa de laboratorio Lcda. Diana Martínez para que ella sumille la petición.

Por su favorable atención le anticipo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente

Srta. Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

C.I. 1900706408





Ministerio
de Salud Pública

Coordinación Zonal 7 - Salud
Hospital Provincial General Julius Doepfner – Zamora



Oficio Nro. MSP-CZ7-HPGJDZ-2015-0098-O

Zamora, 11 de mayo de 2015

Asunto: AUTORIZACION PARA REALIZACION DE PROYECTO DE TESIS

Señorita
Andrea Carolina Jimenez Jimenez
Estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
En su Despacho

De mi consideración:

En atención a su comunicación s/n de fecha 6 de mayo del presente año, comunico que se autoriza realizar su proyecto de tesis en el laboratorio clínico de esta Casa de Salud, pero es indispensable que disponga y acuda con todo su material e insumo a utilizar, y la institución le colaborara con el equipo.

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Dra. Ruth Yolanda Sigüenza Orellana
DIRECTORA DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL JULIUS DOEPFNER
(E)

Referencias:
- MSP-CZ7 -HPGJDZ-STC-2015-0098-M

ss

Teléfono: 593 (7) 2-605149
Fax: 593 (7) 2-2607730
E-mail: hospitalezamora@hjd.mspz7.gob.ec



1/1

Zamora, 07 de Julio del 2015

Dra. Ruth Sgüenza

DIRECTORA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE

Cuidad.-

De mi consideración:

Reciba usted un saludo cordial de mi parte y a la vez deseándole éxitos en sus actividades profesionales, con el propósito en la realización del proyecto de tesis el mismo que se trata de la **"DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRAFÍA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter Pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN LOS MESES DE MAYO Y JUNIO DEL 2015"**, solicité de la manera más comedida se me del permiso correspondiente para la disposición y accesibilidad de las historias clínicas con la finalidad de realizarles un seguimiento a los pacientes que se les realizo el examen, así mismo que se haga conocer a la encargada de este departamento para que ella sumille la petición.

Por su favorable atención le anticipo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente



Andrea Carolina Jiménez Jiménez.

C.I. 1900706408



ANEXO 2

GUIA DE INSTRUCCIÓN.

TOMA DE MUESTRA DE HECES

- ❖ Lavarse las manos antes y después de la toma de la muestra, y tener el material necesario.
- ❖ Obtener la muestra fecal en un recipiente aparte (bacinilla) cuidando que la muestra no se mezcle con orina.
- ❖ Tomar una parte de la muestra en un recipiente estéril de boca ancha y tapa rosca. En cuanto a la cantidad se recomienda que para heces sólidas basta un volumen similar al de la pepa de un durazno (5g), en cambio para heces diarreicas basta obtener una cantidad igual al de una cuchara sopera.
- ❖ Rotular el frasco colocando el nombre del paciente, edad y fecha de recolección.
- ❖ Introducir la muestra en una funda plástica y cerrarla evitando que se derrame.
- ❖ Adjuntar los formularios en donde constará nombres y apellidos de los pacientes, procedencia, fecha de toma de la muestra, teléfono del paciente.
- ❖ Transportar las muestras rápidamente, antes de que transcurran 2 horas de su emisión. Luego de ese tiempo la muestra no será útil, se podrá mantener la muestra refrigerada a 4⁰ C hasta 8 a 12 horas.(Zubieta Duran & Quiroga Castro, 2010).



GRACIAS POR SU COLABORACIÓN



ANEXO 3

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

LABORATORIO CLÍNICO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Fecha: Zamora / / / 2015

Yo.....portador de la cédula número..... manifiesto que he recibido información acerca del análisis de *Helicobacter pylori*.

Seguro de que después de realizarme el análisis se me hará la entrega de los resultados obtenidos, para un tratamiento oportuno en caso que lo requiera, en consecuencia, autorizo libre y voluntariamente a la estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico, la Srta. Andrea Jiménez Jiménez a realizar los análisis de la muestras.

Firma:

CC:

ANEXO 4

Formato de Registro de los pacientes.

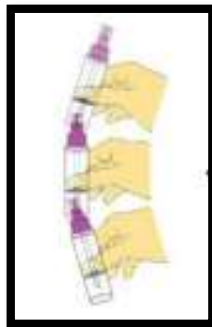
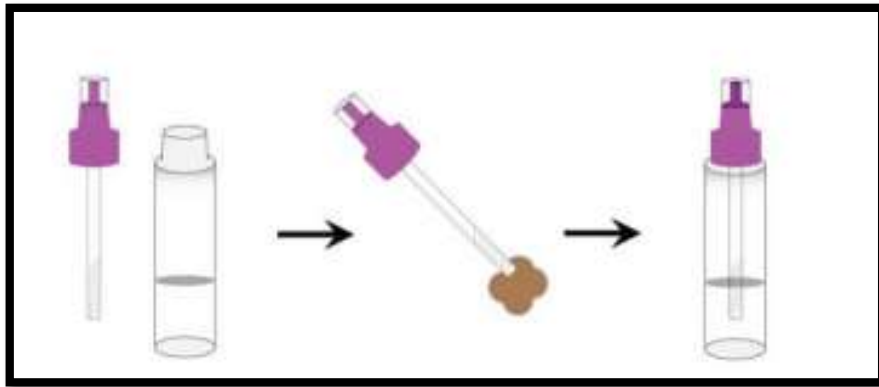
		UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA ÁREA DE LA SALUD HUMANA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO		
REGISTRO DE PACIENTES PARA LA DETERMINACIÓN HELICOBACTER PILORY				
Código de la muestra	Nombre/Apellido	Sexo	Edad	MUESTRA DE HECES (ELISA- inmunocromatografía)

ANEXO 5

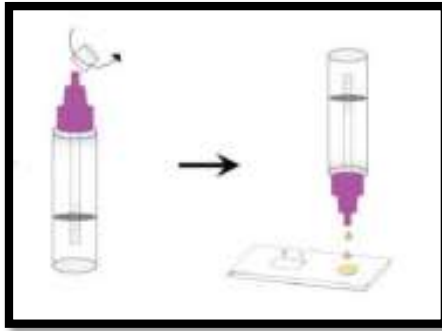
CTK Biotech. Prueba Rápida en Casete OnSite *H. pylori* Ag (Muestra Fecal)

Lote: F0905K9D00

1. Lavarse las manos y colocarse la vestimenta y los guantes requeridos antes del procedimiento.
2. Etiquetar el dispositivo de recogida de heces.
3. Abrir el dispositivo destornillando la tapa y utilizar el palo recolector para introducirlo en la muestra de heces en al menos cinco sitios diferentes, en caso de que la muestra sea acuosa se llena el gotero de plástico con la muestra y dispensar 2 gotas en el dispositivo.
4. Volver a colocar el palo recolector y cerrar el dispositivo de recogida de heces.
5. Agitar el dispositivo de recogida de heces vigorosamente.



6. Abrir la bolsa que contiene el dispositivo casete, etiquetarlo y colocarlo en una superficie limpia y plana
7. Agitar el tubo de recolección de la muestra, luego gire y retire la tapa.
8. Colocar 2 gotas de la solución de la muestra en el casete de ensayo.



9. Poner en marcha el cronometro y leer el resultado a los 15 minutos.
10. Una vez observado y anotado el resultado, se procede a desechar las muestras y el casete utilizado en los desechos infecciosos, luego se realiza la limpieza del lugar.
11. Desechar los guantes y lavarse las manos.

ANEXO 6

Incontrol EIA Test kit *H. pylori* Antigen.

Lote: 1412034

1. Colocarse la vestimenta adecuada, lavarse las manos y usar guantes de látex.
2. Preparar los materiales a utilizar en un mesón limpio y seco. Los reactivos y las muestras deben encontrarse a temperatura ambiente (15- 30°C) antes del examen.
3. Preparar la solución de trabajo del buffer de lavado diluyendo el buffer de lavado concentrado 1:25.
4. Colocar 1 mL de la solución de Extracción al tubo de colector de la muestra.
5. Transferir 30 mg de excremento solido de la muestra (equivale a ¼ de guisante) o 2 gotas (aproximadamente 50µL) al tubo de extracción de la muestra. Mezclar y agitar vigorosamente.
6. A1 es micro pozo del Blanco.
7. Añadir 50µL del Calibrador 1 en pozos B1 y C1; del Calibrador 2 en pozos D1 y E1; del Calibrador 3 en pozos F1 y G1; y del Calibrador 4 en pozos H1 y A2.
8. Añadir 2 gotas de la solución extractora de la muestra (aprox. 50 µL) a los pozos designados comenzando con el B2.
9. Añadir 50µL del Conjugado a cada pozo excepto al pozo del Blanco. Retire y almacene las tiras que no se han usado a 2 – 8°C.
10. Mezclar suavemente la placa de micro titulación durante 30 segundos y cubrirla, e incubar a temperatura ambiente (20- 30°C), en un baño maría a 20 -30°C por 30 minutos.
11. Remover le sellador plástico y lavar cada micro pozo 5 veces con 350 µL de la Solución de Trabajo del Buffer de Lavado.
12. Voltrear la placa y colóquela sobre un papel absorbente
13. Agregar 50µL del Sustrato A en cada micro pozo.

14. Luego añadir 50µL de Sustrato B a cada micro pozo. Un color azul se desarrolla en las celdas que son positivas.
15. Mezclar y cubrir la placa de micro titulación con el sellador e incubar a temperatura ambiente (20 -30°C) por 10 minutos.
16. Remover el sellador plástico y agregar 50µL de la Solución de Parada a cada micro pozo para detener la reacción de color.
17. Leer la absorbancia en 450/630nm dentro de los 30 minutos.
18. Calcular la absorbancia promedio de los calibradores 1 – 4.
19. Validar las absorbancias del blanco y los calibradores de acuerdo a este cuadro,

Ítem	Requerimientos de Validación.
Pozo del blanco.	La absorbancia del Blanco debe ser < 0,050 si se lee a 450/630 – 700 nm. Nota: debe ser < 0,100 si se lee a 450nm
Calibrador 1	La Absorbancia Promedio después de la resta de la Absorbancia del Blanco debe ser <0,100
Calibrador 2	La Absorbancia Promedio después de la resta de la Absorbancia del Blanco debe ser >0,150
Calibrador 3	La Absorbancia Promedio después de la resta de la Absorbancia del Blanco debe ser > 0,500
Calibrador 4	La Absorbancia Promedio después de la resta de la Absorbancia del Blanco debe ser > 1,000

ANEXO 7

Obtención de resultados cualitativamente.

1. Para obtener un resultado cualitativo se procedió primeramente a comprobar si el examen es válido.

2. Obtener los valores del punto de corte.

$$\frac{1}{2} \times (\text{Absorbancia promedio del Calibrador 2} + \text{Absorbancia promedio del Calibrador 1}) - \text{Absorbancia del Blanco.}$$

3. Calcular el valor del índice.

$$\text{Absorbancia de la Muestra} / \text{Valor de corte}$$

4. Leer e interpretar los resultados de acuerdo a la siguiente tabla.

Interpretación de resultados: Cualitativo y Cuantitativo.

Resultados	Cualitativo	Cuantitativo
	Valor del Índice	Concentración.
Negativo	<0,9	<0,045 µg/ml
Positivo	>1,1	>0,055 µg/ml
Ambiguo	≥0,9 and ≤1,1	0,045 – 0,055 µg/ml

Cuando se dan resultados ambiguos, la muestra debe ser analizada nuevamente.

Fórmula para sacar el resultado cualitativo (Valor del Índice) por ELISA.

① 22/Mayo/2015.

Ab. Blanco = 0,007

$$\begin{aligned} C_1 &= 0,101 \\ C_2 &= 0,653 \\ C_3 &= 2,480 \\ C_4 &= 23,00 \end{aligned}$$

$$V. Corte = 1/2 \times 0,653 + 0,101 - 0,007 = \boxed{0,373}$$

$$V. Índice = \frac{\text{Ab. Muestra} - 0,007}{V. C.} = \frac{\text{Resultado cualitativo}}{V. C.}$$

② 25/Mayo/2015.

Ab. Blanco = 0,007.

$$\begin{aligned} C_1 &= 0,101 \\ C_2 &= 0,653 \\ C_3 &= 2,480 \\ C_4 &= 23,061 \end{aligned}$$

$$V. C. = 1/2 \times 0,653 + 0,101 - 0,007 = \boxed{0,373}$$

$$V. I. = \frac{\text{Ab. Muestra} - 0,007}{V. C.} = 0,333 = R.$$

③ 28/Mayo/2015.

Ab. Blanco = 0,007.

$$\begin{aligned} C_1 &= 0,157 \\ C_2 &= 0,330 \\ C_3 &= 1,070 \\ C_4 &= 1,878 \end{aligned}$$

$$V. C. = 1/2 \times 0,330 + 0,157 - 0,007 = \boxed{0,24}$$

$$V. I. = \frac{\text{Ab. Muestra} - 0,007}{V. C.} = 0,24 = R.$$

$$V. Corte = 1/2 \times C_2 + C_1 - B.$$

$$V. Índice = \frac{\text{Ab. Muestra} - B}{V. C.}$$

④ 29/Mayo/2015.

Ab. Blanco = 0,007

$$\begin{aligned} C_1 &= 0,167 \\ C_2 &= 0,323 \\ C_3 &= 1,234 \\ C_4 &= 2,039 \end{aligned}$$

$$V. C. = 1/2 \times 0,323 + 0,167 - 0,007 = \boxed{0,2425}$$

$$V. I. = \frac{\text{Ab. Muestra} - 0,007}{V. C.} = 0,2425 = R.$$

⑤ 05/Junio/2015.

Ab. Blanco 0,006.

$$\begin{aligned} C_1 &= 0,102 \\ C_2 &= 0,311 \\ C_3 &= 1,112 \\ C_4 &= 1,572 \end{aligned}$$

$$V. C. = 1/2 \times 0,311 + 0,102 - 0,006 = \boxed{0,2035}$$

$$V. I. = \frac{\text{Ab. muestra} - 0,006}{V. C.} = 0,2035 = R.$$

⑥ 11/Junio/2015.

Ab. Blanco 0,011.

$$\begin{aligned} C_1 &= 0,086 \\ C_2 &= 0,194 \\ C_3 &= 0,799 \\ C_4 &= 1,585 \end{aligned}$$

$$V. C. = 1/2 \times 0,194 + 0,086 - 0,011 = \boxed{0,1345}$$

$$V. I. = \frac{\text{Ab. muestra} - 0,011}{V. C.} = 0,1345 = R.$$

ANEXO 8

Zamora, 22 de julio de 2015

Lcda. Diana Martínez Lanche
**LIDER DE LABORATORIO DEL HOSPITAL GENERAL JULIUS DOEPFNER DE
ZAMORA CHINCHIPE**

Ciudad

A petición verbal de parte del interesado

CERTIFICO

Que la Srta. **Andrea Carolina Jiménez Jiménez**, con cedula de identidad 1900706407 realizo bajo mi supervisión los análisis de laboratorio para la Tesis denominada **"DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRFÍA EN LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN EL MES DE MAYO Y JUNIO DEL 2015"**

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando a la Srta. Andrea Jiménez Jiménez hacer uso de la presente en lo que considere conveniente.

Atentamente

Lcda. Diana Martínez Lanche.
LIDER DE LABORATORIO DEL HPGJDZ



ANEXO 9

 <p>1859</p>		UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA		
		ÁREA DE LA SALUD HUMANA		
		CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO		
		REGISTRO DE RESULTADOS DE LA DETERMIANCIÓN HELICOBACTER PILORY		
Código de la muestra	Número de historia clínica	Valores de <i>Helicobacter pylori</i> en ELISA	Valores de <i>Helicobacter pylori</i> por inmunocromatografía.	Antecedentes médicos.
1ZJ	41124	Negativo	Negativo	N
2RJ	7422	Negativo	Negativo	N
3MW	21551	Positivo	Positivo	E
4EM	41107	Positivo	Negativo	E
5DM	90109	Negativo	Negativo	N
6GH	50907	Negativo	Negativo	N
7AJ	25860	Positivo	Positivo	E
8MM	39456	Positivo	Negativo	N
9BL	52060	Positivo	Negativo	E
10AE	21001	Negativo	Negativo	N
11GR	6989	Negativo	Negativo	N
12CJ	11105	Negativo	Negativo	N
13SO	4259	Positivo	Positivo	E
14GM	442	Positivo	Positivo	E
15SM	2331	Negativo	Negativo	N
16CI	305	Positivo	Positivo	E
17MM	1233	Positivo	Positivo	E
18ZJ	44191	Negativo	Negativo	N
19AM	382	Positivo	Negativo	E
20CG	2696	Negativo	Negativo	N
21CC	15127	Positivo	Positivo	E
22GJ	10200	Positivo	Positivo	E
23AN	9821	Positivo	Positivo	E
24AA	46496	Positivo	Negativo	E
25CA	494	Positivo	Positivo	E

26ChD	11283	Positivo	Positivo	E
27CA	23151	Positivo	Positivo	E
28SJ	79136	Positivo	Positivo	E
29VL	35184	Positivo	Positivo	E
30NA	22245	Positivo	Positivo	E
31CC	41568	Positivo	Negativo	E
32ME	3584	Positivo	Negativo	E
33AC	565	Positivo	Positivo	E
34JJ	1423	Positivo	Negativo	E
35RL	14007	Negativo	Negativo	N
36PM	8840	Positivo	Negativo	E
37LJ	3	Positivo	Positivo	E
38ChR	56117	Positivo	Positivo	E
39LM	13920	Positivo	Negativo	E
40AZ	2085	Positivo	Negativo	E
41SL	691	Positivo	Positivo	E
42OY	8711	Positivo	Negativo	E
43CO	20474	Positivo	Positivo	E
44GZ	6807	Positivo	Negativo	E
45QB	43000	Positivo	Positivo	E
46IN	42999	Positivo	Positivo	E
47SR	19895	Positivo	Negativo	E
48GS	6098	Negativo	Negativo	N
49GA	38121	Positivo	Negativo	E
50SN	51799	Positivo	Negativo	E
51ChL	9667	Positivo	Negativo	E
52YF	31870	Negativo	Negativo	N
53RK	77114	Positivo	Negativo	E
54MM	21198	Positivo	Negativo	E
55OA	54117	Positivo	Negativo	E
56CM	31753	Positivo	Positivo	E
57LF	147	Positivo	Negativo	E
58VJ	54095	Positivo	Negativo	E
59AM	5494	Positivo	Negativo	E
60MN	264	Positivo	Positivo	E
61GJ	4983	Positivo	Positivo	E
62SG	6500	Positivo	Positivo	E
63OS	44613	Negativo	Negativo	N
64GR	17716	Positivo	Positivo	E
65SL	24108	Negativo	Negativo	N
66VR	47182	Negativo	Negativo	N

67ID	29142	Positivo	Positivo	E
68TE	48305	Positivo	Positivo	E
69SL	3877	Positivo	Positivo	E
70RJ	11662	Positivo	Negativo	E
71ChA	1603	Positivo	Positivo	E
72AM	42964	Positivo	Negativo	E
73AR	1578	Positivo	Positivo	E
74LC	9129	Positivo	Negativo	E
75GS	11381	Positivo	Positivo	E


N= el paciente no presenta enfermedad o sintomatología.

E= El paciente presenta enfermedad o sintomatología.

ANEXO 10

Formato de Entrega de resultados.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO



Paciente:.....
Edad :
Fecha :

Examen Solicitado:

INFORME

ANÁLISIS

RESULTADO

Prueba cualitativa de inmunocromatografía en heces: -----

Prueba Cuantitativa de ELISA en heces: -----

OBSERVACIONES:.....

...

Andrea Jiménez Jiménez
FIRMA DEL RESPONSABLE

1859

ANEXO 11

- **Fórmula para la determinación de la sensibilidad:**

$$\textit{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

Donde VP es verdaderos positivos y FN falsos negativos.

- **Fórmula para la determinación de la especificidad**

$$\textit{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

Donde VN serían los verdaderos negativos; y FP, los falsos positivos.

ANEXO 12

➤ **Fórmula de Chi Cuadrado**

$$\chi^2 = \frac{\sum (f - ft)^2}{ft}$$

➤ **Tabla de Valores Críticos de la Distribución Chi Cuadrada.**

g.d.l		0,001	0,005	0,01	0,02	0,025	0,03	0,04	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30
1		10,828	7,879	6,635	5,412	5,024	4,709	4,218	3,841	2,706	2,072	1,642	1,323	1,074
2		13,816	10,597	9,210	7,824	7,378	7,013	6,438	5,991	4,605	3,794	3,219	2,773	2,408
3		16,266	12,838	11,345	9,837	9,348	8,947	8,311	7,815	6,251	5,317	4,642	4,108	3,665
4		18,467	14,860	13,277	11,668	11,143	10,712	10,026	9,488	7,779	6,745	5,989	5,385	4,878
5		20,515	16,750	15,086	13,388	12,833	12,375	11,644	11,070	9,236	8,115	7,289	6,626	6,064
6		22,458	18,548	16,812	15,033	14,449	13,968	13,198	12,592	10,645	9,446	8,558	7,841	7,231
7		24,322	20,278	18,475	16,622	16,013	15,509	14,703	14,067	12,017	10,748	9,803	9,037	8,383
8		26,124	21,955	20,090	18,168	17,535	17,010	16,171	15,507	13,362	12,027	11,030	10,219	9,524
9		27,877	23,589	21,666	19,679	19,023	18,480	17,608	16,919	14,684	13,288	12,242	11,389	10,656
10		29,588	25,188	23,209	21,161	20,483	19,922	19,021	18,307	15,987	14,534	13,442	12,549	11,781
11		31,264	26,757	24,725	22,618	21,920	21,342	20,412	19,675	17,275	15,767	14,631	13,701	12,899
12		32,909	28,300	26,217	24,054	23,337	22,742	21,785	21,026	18,549	16,989	15,812	14,845	14,011
13		34,528	29,819	27,688	25,472	24,736	24,125	23,142	22,362	19,812	18,202	16,985	15,984	15,119
14		36,123	31,319	29,141	26,873	26,119	25,493	24,485	23,685	21,064	19,406	18,151	17,117	16,222
15		37,697	32,801	30,578	28,259	27,488	26,848	25,816	24,996	22,307	20,603	19,311	18,245	17,322
16		39,252	34,267	32,000	29,633	28,845	28,191	27,136	26,296	23,542	21,793	20,465	19,369	18,418
17		40,790	35,718	33,409	30,995	30,191	29,523	28,445	27,587	24,769	22,977	21,615	20,489	19,511
18		42,312	37,156	34,805	32,346	31,526	30,845	29,745	28,869	25,989	24,155	22,760	21,605	20,601
19		43,820	38,582	36,191	33,687	32,852	32,158	31,037	30,144	27,204	25,329	23,900	22,718	21,689
20		45,315	39,997	37,566	35,020	34,170	33,462	32,321	31,410	28,412	26,498	25,038	23,828	22,775
21		46,797	41,401	38,932	36,343	35,479	34,759	33,597	32,671	29,615	27,662	26,171	24,935	23,858
22		48,268	42,796	40,289	37,659	36,781	36,049	34,867	33,924	30,813	28,822	27,301	26,039	24,939
23		49,728	44,181	41,638	38,968	38,076	37,332	36,131	35,172	32,007	29,979	28,429	27,141	26,018
24		51,179	45,559	42,980	40,270	39,364	38,609	37,389	36,415	33,196	31,132	29,553	28,241	27,096
25		52,620	46,928	44,314	41,566	40,646	39,880	38,642	37,652	34,382	32,282	30,675	29,339	28,172
26		54,052	48,290	45,642	42,856	41,923	41,146	39,889	38,885	35,563	33,429	31,795	30,435	29,246
27		55,476	49,645	46,963	44,140	43,195	42,407	41,132	40,113	36,741	34,574	32,912	31,528	30,319
28		56,892	50,993	48,278	45,419	44,461	43,662	42,370	41,337	37,916	35,715	34,027	32,620	31,391
29		58,301	52,336	49,588	46,693	45,722	44,913	43,604	42,557	39,087	36,854	35,139	33,711	32,461
30		59,703	53,672	50,892	47,962	46,979	46,160	44,834	43,773	40,256	37,990	36,250	34,800	33,530
31		61,098	55,003	52,191	49,226	48,232	47,402	46,059	44,985	41,422	39,124	37,359	35,887	34,598
32		62,487	56,328	53,486	50,487	49,480	48,641	47,282	46,194	42,585	40,256	38,466	36,973	35,665
33		63,870	57,648	54,776	51,743	50,725	49,876	48,500	47,400	43,745	41,386	39,572	38,058	36,731
34		65,247	58,964	56,061	52,995	51,966	51,107	49,716	48,602	44,903	42,514	40,676	39,141	37,795
35		66,619	60,275	57,342	54,244	53,203	52,335	50,928	49,802	46,059	43,640	41,778	40,223	38,859

ANEXO 13

Zamora a, 12 de diciembre de 2016

De conformidad a lo solicitado de forma verbal por parte interesada, como docente de la asignatura de la especialidad de LENGUA EXTRANJERA, para los fines pertinentes,




CERTIFICO:

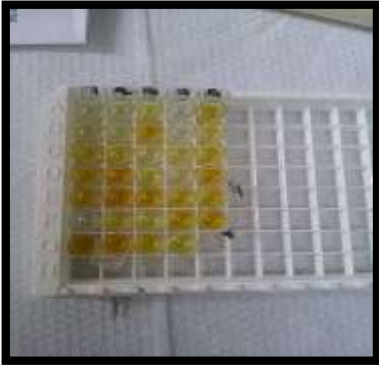


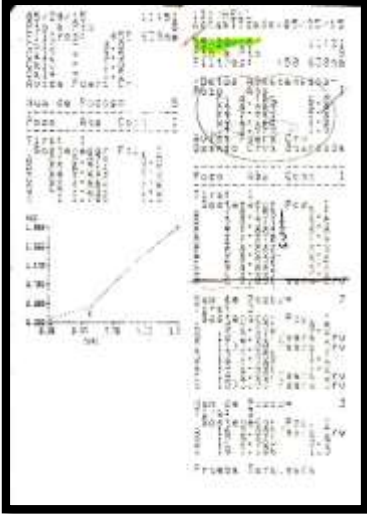


Que, he revisado el RESUMEN de la TESIS, con el tema: " DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD ENTRE LOS MÉTODOS DE ELISA E INMUNOCROMATOGRFÍA EN LA DETECCIÓN DE *ELICOBACTER PYLORI* EN PACIENTES QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL JULIUS DOEPHNER DE ZAMORA CHINCHIPE EN LOS MESES DE MAYO Y JUNIO DE 2015", manifestando su pertinencia.

Es todo cuanto puedo certificar hasta la fecha, autorizando a la interesada hacer uso del presente documento en lo que estime conveniente.


Lic. Rosa Luzuriaga English Teacher,
ENGLISH TEACHER

ANEXO 14

FASE PRE-ANALÍTICA	
Kit de Incontrol ELISA. Lote: 1412034	CTK Biotech. OnSite <i>H.pylori</i> Ag Rapid Test. Lote: F0905K9D00
 	

FASE ANALÍTICA	
Determinación de <i>H. pylori</i> por el método de ELISA.	Determinación de <i>H. pylori</i> por el método Inmuncromatográfico.
   	 

FASE POSTANALÍTICA

Seguimiento de las historias clínicas.



Tabulación de los resultados.

