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

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION DEL CANTON YANTZAZA

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

Autor:

Paulina Villalba Ramírez.

Director:

Dr. Max González M. Mg.Sc.

LOJA – ECUADOR
2013-2014

CERTIFICACIÓN

Dr.
Max González M.
DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA HUMANA DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA DE LA U.N.L

CERTIFICA:

Que luego de haber revisado la tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico con el tema: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRAFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION DEL CANTON YANTZAZA ,de autoría de **Paulina Janina Villalba Ramírez**, puedo manifestar que el presente trabajo cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, por lo que autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa pública.

Loja, 24 de Octubre del 2013

.....
Dr. Max González M.
DIRECTOR DE TESIS.

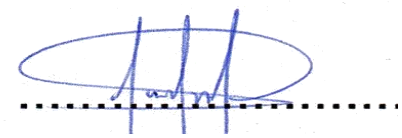
.....
Paulina Villalba
AUTORA.

AUTORIA

Yo, Paulina Janina Villalba Ramírez, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y 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 tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Paulina Janina Villalba Ramírez.



C.I. 190072087-9

Loja, 24 de octubre del 2013.

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, **PAULINA JANINA VILLALBA RAMÍREZ**, declaro ser autora de la tesis titulada **"ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION DEL CANTON YANTZAZA",** como requisito para optar al grado de **Licenciada en Laboratorio Clínico**; autorizo 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 en su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los Usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDL, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tengan convenio la Universidad.

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

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 23 de días del mes de octubre de dos mil trece, firma autor.

.....

Autora: Paulina Janina Villalba Ramírez

Cédula: 1900720879

Dirección: Ciudadela Zamora calle Guachanama.

Correo Electrónico: lina_23mayo@hotmail.com

Teléfono: 2571185- 2300145 **Celular**: 0994766362

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de tesis: Dr. Max González.

Tribunal de grado:

Presidenta: Dr. Richard Jiménez.

Vocal: Dra. Elsa Ramírez.

Vocal: Dra. Susana González.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a Dios, porque está presente conmigo en cada paso que doy, cuidándome, guiándome y dándome fortaleza. A mis padres Rafael Villalba y Jannina Ramírez, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación, siendo mí apoyo en todo momento, depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba. A mis hermanos (a) y familiares, quienes han sido mi aliento para continuar, a mis amigas que siempre me apoyaron en los buenos y malos momentos. A mi hijo Matias quien ha sido la luz de mi vida, que con su presencia me ha dado la fortaleza de seguir adelante sin decaer ni un solo instante, y alcanzar mis metas anhelos y propósitos.

La autora.

AGRADECIMIENTO

A la **Universidad Nacional de Loja,** a su Área de la Salud Humana y en especial a la Carrera de Laboratorio Clínico por haberme acogido en mi formación profesional y así poder ser útil a la sociedad y a la patria como profesional de la salud.

A mi Director de Tesis**, Dr. Max González,** ya que se tomó parte de su valioso tiempo, esfuerzo, paciencia y dedicación para el asesoramiento y la finalización este trabajo.

Al Laboratorio Clínico Biolab por su ayuda desinteresada en la ejecución de esta investigación.

Al Dr. Leonardo Paredes y a la Lic. Melania Cueva, ya que me ayudaron para que el personal de hospitalización me colabore para llevar a cabo este estudio. Sin su colaboración no hubiese sido posible la realización del mismo.

A todos los que fueron mis docentes, por brindarme sus enseñanzas y conocimientos durante el trayecto de mi vida estudiantil.

La autora.

1. TÍTULO

“ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION DEL CANTON YANTZAZA”.

2. RESUMEN

La detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en heces permite el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* así como la evaluación posterior al tratamiento. (1) Para su detección han sido aplicados en el presente estudio dos métodos: el Inmunocromatográfico y el método de Elisa, ambos se realizaron en materia fecal utilizando un anticuerpo monoclonal *anti-H. Pylori*. El presente trabajo investigativo pretende, identificar cuál de los dos métodos es más eficaz, a qué edad y género afecta en mayor proporción dicha bacteria, reconocer los factores de riesgo modificables, y de qué manera estos influyen; el mismo que se realizó mediante un estudio de tipo descriptivo comparativo, cuya muestra la conformaron 51 personas que trabajan en el Área de Hospitalización del Hospital Básico de Yantzaza. Se procedió a la detección de Prueba Rápida Inmunocromatográfica para la detección de la bacteria y ELISA para la determinación cuantitativa de la misma utilizando la técnica HP AG. Al comparar los resultados obtenidos mediante las dos técnicas se pudo apreciar que aun teniendo como diferencia que el método Inmunocromatografico es cualitativo y el método ELISA es cuantitativo, ambos arrojaron los mismos resultados. De los 51 pacientes (41 positivos y 10 negativos para *Helicobacter Pylori*). Se obtuvo que un 80.39% está presente el *Helicobacter Pylori*, el 75,7% son mujeres y 92,9% hombres, de las cuales el 29,27% se encontraban entre las edades de 51–65 años. Además se difundieron los resultados obtenidos al personal que labora en el área de hospitalización.

Palabras clave: *Helicobacter pylori,* Inmunocromatográfico, Elisa, Antígeno

SUMMARY

Detecting Helicobacter pylori antigen in feces allows the diagnosis of Helicobacter pylori infection also the post treatment evaluation.(1) For their detection have been applied in the present study two methods: The Immunochromatographic and Elisa method, both were made in fecal material using a monoclonal antibody *anti -H. Pylori.*

The present investigative work aims to identify which of the two methods is more effective, at what gender and age affects in great proportion this bacteria, recognize modifiable risk factors, and how these influence, the same that was made through a cross sectional comparative study, whose sample consisted 51 people that work at hospitalization Area of Yantzaza Basic Hospital . We Proceeded with Immunochromatographic rapid proof for the detection of bacteria and ELISA for the quantitative determination of the same, using the technique HP AG. To Compare the results obtained by the two techniques, we could appreciate that even taking as the difference that immunochromatographic method is qualitative and ELISA is a quantitative method, both gave the same results. Of the 51 patients (41 positives and 10 negatives). We obtained that a 80.39 % have Helicobacter pylori present, the 75.7 % were women and 92.9 % were men, of which that a 29.27% are between 51-65 years old. In addition the results were diffused to the people that work at hospitalization Area.

Keywords: Helicobacter pylori , Immunochromatographic , Elisa , Antige

3. INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerofílico que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano, posee una morfología espiral en forma de sacacorchos, sus dimensiones van de 0,5 a 1,0 µm de ancho y de 3 µm de largo. Es la bacteria responsable de la mayoría de las úlceras y muchos casos de inflamación del estómago (gastritis crónica). (1)

La infección por *Helicobacter pylori* es una de las más comunes en el hombre y aunque ocurre en todo el mundo, es más frecuente en los países en desarrollo y la prevalencia disminuye cuando aumenta el nivel socioeconómico. Los factores que incrementan el riesgo para la adquisición de *Helicobacter Pylori* abarcan: Respuesta inmunitaria anormal en el estómago y ciertos hábitos del estilo de vida, como tomar café, fumar y el consumo de alcohol. (2)

Estudios recientes han demostrado que la infección por *Helicobacter pylori* en países en vías de desarrollo la prevalencia de infección es alta, llegando al alcanzar el 90%. En los países desarrollados la prevalencia se incrementa con la edad, siendo en promedio de 35% en la edades comprendidas entre 25-34 años y de 62% entre 55 y 64 años. (3) A nivel nacional se encuentra en Ecuador 257 entre jóvenes y mayores de edad con un reporte de 63% positivo. Muchos estudios sugieren que la tasa de infección es similar en los hombres y en las mujeres y por lo tanto el sexo no parece ser un factor de riesgo para la infección. La mayoría de los estudios sobre *H. Pylori* han sido realizados en pacientes que asisten a consultas por presentar síntomas gástricos y son pocos y puntuales los estudios realizados a nivel de la comunidad. (4)

Si bien, se dispone actualmente de una variedad de test para el diagnóstico de infección por *H. pylori,* en este trabajo se realizó un estudio comparativo de dos métodos: Inmunocromatográfico y el método de Elisa ambos en heces. Para identificar cuál de los dos métodos es más eficaz, a qué edad y género afecta en mayor proporción dicha bacteria, reconocer los factores de riesgo modificables, y de qué manera estos influyen en el personal que trabaja en Hospitalización es necesario mencionar que se escogió esta población en estudio porque se encuentra más vulnerable debido a los malos estilos de vida,

al contacto directo de los trabajadores del personal con los pacientes que acuden a dicho hospital y al estrés excesivo por su trabajo diario.

El método inmunocromatográfico, es una prueba rápida en heces que permite el diagnostico no invasivo de la infección ha sido desarrollado para la detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal utilizando un anticuerpo monoclonal anti-*Helicobacter pylori*. (5)

En la Universidad Nacional de Chimborazo en el año 2008 se estudiaron a 100 pacientes que trabajan en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba, en el que 33% presentaron positivo con *Helicobacter Pylori* y el 67% fueron negativos. (6)

El método de Elisa, se utiliza tanto en el diagnóstico inicial como en el seguimiento y erradicación pos-tratamiento de la infección de *Helicobacter pylori.* Es un método de diagnóstico no invasivo particularmente útil para verificar la erradicación de la infección en 6 a 8 semanas después de completar el tratamiento. (7)

Con un estudio de 80 pacientes que acudieron al Servicio de Gastroenterología del Hospital Vargas de Caracas en el año 2001, durante la revisión y análisis de resultados se encontró que de los 80 pacientes, el 64 % presentaban positivo y el 16% negativo.(8)

La escasez de estadísticas a nivel local sobre la presencia de la infección de *Helicobacter pylori*, debido principalmente al factor socioeconómico, razón por lo cual se desconocería la existencia de esta infección y por consiguiente cual método sería más eficaz para diagnosticar la bacteria constituyendo así un problema alarmante de salud, , es por ello que ha sido de mi interés realizar el presente estudio denominado : “ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION DEL CANTON YANTZAZA”, en el cual he creído conveniente y útil para el desarrollo de este trabajo investigativo comparar : los dos métodos de laboratorio en muestra de heces, con la finalidad de determinar la frecuencia de *Helicobacter pylori*, e identificar a qué

edad y género afecta en mayor proporción dicha bacteria; y cuáles son los factores predisponentes para la adquisición de la misma y así contribuir a un diagnóstico oportuno que permita el tratamiento adecuado.

Una vez finalizado el estudio se logró evidenciar que ambos métodos arrojaron resultados similares en los 51 pacientes (41 positivos y 10 negativos para Helicobacter pylori). Sin embargo, la facilidad de uso, rapidez de la respuesta y el bajo costo de la prueba inmunocromatográfica permiten utilizarlo, como prueba inicial no invasiva. Así mismo demostró que de los casos (positivos y negativos) hay una coincidencia en los resultados obtenidos tanto por la prueba inmunocromatográfica como por la de Elisa. Se obtuvo que un 80.39% está presente el Helicobacter Pylori, dentro de estos el 75,7% son mujeres y 92,9% hombres.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

HELICOBACTER PYLORI

Helicobacter pylori es un bacilo gram negativo, curvado que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano asociado a diferentes enfermedades digestivas. (9)

En 1983 se aislaron microorganismos con forma espiral parecidos a Campylobacter, a partir del estómago de seres humanos, estos microorganismos se denominaron *Campylobacter pylori*. Luego en 1989 se estableció el género *Helicobacter* y *Campilobacter pylori*, a quienes se los renombró *Helicobacter pylori.* (1)
En la actualidad se incluyen 22 especies de este género, la mayoría de las cuales colonizan el estómago y el intestino de los mamíferos.

Las especies encontradas en el hombre son *Helicobacter pylori*, *H.cinaedi, H.fenelliae, H.heilmannii (antes conocido como Gastrospirillum hominis), H.westmeadii, H.canis, H.canadienses*, *H.pullorum* y *H.rappini* (antes conocido como Flexispira rappini). Siendo especies patógenas para el hombre el *Helicobacter pylori*, *H. cinaedi y H. fennelliae (9)*

La implicación de estas bacterias en la gastritis crónica activa, su asociación con la úlcera gastroduodenal y su inclusión por parte de la IARC en 1994 (grupo de estudio del cáncer, perteneciente a la Organización Mundial de la Salud) entre los agentes carcinógenos tipo 1, las ha convertido en uno de los microorganismos de mayor interés en patología humana. (10)

CARACTERISTICAS GENERALES

Helicobacter pylori tiene una morfología espiral en forma de sacacorchos cuando se encuentra en la mucosa gástrica y menos espiral cuando crece en medios artificiales. Presenta unas dimensiones de 0,5 a 1,0 µm de ancho y de 3 µm de largo y las características estructurales típicas de los bacilos gram negativos, con una membrana externa. (11)

Tiene de 4 a 6 flagelos polares, fundamentales para su movilidad, y que están recubiertos por una vaina de estructura lipídica, similar que la membrana externa, que parece tener la misión de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido. Su característica bioquímica más importante es la ureasa, considerablemente más potente que la de otras bacterias. Tiene otras dos enzimas muy útiles para su identificación cuando crece en medios de cultivo que son la oxidasa y la catalasa. (9)

EPIDEMIOLOGIA

Se estima que más de dos tercios de la población mundial se encuentran infectados por esta bacteria. La proporción de infección varía de nación a nación. En el mundo occidental (Oeste de Europa, Norteamérica y Australia), la proporción es de alrededor de un 25 por ciento de la población, siendo mucho mayor en el tercer mundo. En este último caso, es común, probablemente por las malas condiciones sanitarias, encontrar infecciones en niños. En los Estados Unidos, la infección se da principalmente en personas de edad avanzada (más del 50 por ciento de éstas ocurren en personas de más de 60 años, frente a un 20 por ciento que se presentan en personas de menos de 40) y en los sectores más pobres.(12)

Estas discrepancias se atribuyen a una mayor higiene y al mayor uso de antibióticos en países más ricos. De cualquier forma, en los últimos años están apareciendo cepas de *H. pylori* que presentan resistencia a antibióticos. (13)

PATOLOGÍA

Una vez que esta bacteria ingresa a nuestro organismo va a colonizar el estómago, localizándose en el epitelio del mismo secretando ureasa y bicarbonato, que permite que este órgano tenga un pH acido, también secreta lipasa, fosforilaza A y peptidasa lo que hace que penetre en la capa protectora del estómago causando lesión o inflamación del tejido de este órgano. (14)

Este microorganismo puede mantenerse muchos años desde la edad infantil pero con el tiempo se va generando una gastritis crónica u ulceras duodenales

o gástricas y en casos extremos puede llegar a producir carcinoma o cáncer al estómago. (15)

INFECCIÓN

La presencia de la infección por *Helicobacter pylori* en el estómago produce una serie de cambios en el funcionamiento de este órgano que tiene gran importancia en el desarrollo de enfermedades. Se ha podido determinar, diversos efectos sobre las personas infectadas:

- Mayor concentración de amoníaco en el moco gástrico, unas cuatro veces más de lo normal; éste lesiona directamente la mucosa del estómago, y altera la viscosidad del moco que la recubre y protege, lo cual la hace más vulnerable al efecto del ácido con el que está en contacto permanente.

- Por otro lado también la infección del *Helicobacter pylori* puede producir una elevación anormal de la gastrina, molécula que se encarga de regular la cantidad de ácido gástrico que se libera al estómago; normalmente, la cantidad de gastrina se regula dependiendo del alimento ingerido.(16)

- La infección por *H. pylori* puede ser sintomática o asintomática (sin efectos visibles en el enfermo); se estima que más del 70% de las infecciones son asintomáticas. En ausencia de un tratamiento basado en antibióticos, una infección por *H. pylori* persiste aparentemente durante toda la vida. El sistema inmune humano es incapaz de erradicarla. (9)

VÍA DE INFECCION

La bacteria ha sido aislada de las heces, de la saliva y de la placa dental de los pacientes infectados, lo cual sugiere una ruta gastro-oral o fecal-oral como posible vía de transmisión. Otros medios de infección son ingerir agua y

alimentos contaminados o incluso el traspase de fluidos de forma oral con una persona contaminada. (17)

La bacteria que habita en cuerpos de agua contaminada, desde donde se propaga a la tierra y por medio de los alimentos se esparce a la población general, existiendo con más frecuente en comunidades que tienen incorrecta infraestructura de drenaje sanitario y/o carecen de agua potable. No es raro que un individuo infectado contamine a otros por inadecuada higiene personal, pero nunca transmitirá el germen por contacto sexual. (17)

Es importante recalcar que una vez dentro del organismo humano, *Helicobacter pylori* coloniza en las paredes del estómago y permanece entre las células del revestimiento gástrico durante muchos años, y a veces toda su vida, sin producir síntomas en el infectado, quien permanentemente la expulsará a través de las heces fecales.

"La explicación de que *Helicobacter Pylori* logre sobrevivir por años a la alta acidez que caracteriza a la mucosa gástrica humana, es que produce una sustancia (enzima) que la hace resistente y le brinda protección, ninguna otra bacteria que se aloje en el estómago cuenta con esa cualidad". (12)

FACTORES DE RIESGO PARA INFECCION POR *HELICOBACTER PYLORI*

La forma de transmisión de la infección por H. pylori no está completamente dilucidada.

Existen diferentes mecanismos de transmisión de la bacteria, el contacto directo de individuo a individuo se ha sugerido como la vía primaria de infección, también se considera de gran importancia la infección vía fecal–oral u oral–oral. (18) Factores como el consumo de agua contaminada, el hacinamiento en la vivienda, compartir las camas y la ausencia de agua tratada y las prácticas higiénicas inadecuadas, también se han asociado a la infección de H. pylori. (18) Adicionalmente, varios estudios epidemiológicos reportan que el nivel socioeconómico bajo y el escaso nivel educativo son

factores de riesgo significativo para la adquisición de la infección, asociado a las condiciones inadecuadas de la vivienda.(19,18)

La prevalencia de la infección en relación a la edad es igual para ambos sexos; sin embargo, en algunos países desarrollados, existe una mayor prevalencia de infección en hombres que en mujeres. (20) La niñez se caracteriza por ser el periodo crítico para adquirir la infección.(21) Además, se consideran factores de riesgo, los antecedentes familiares (padres) de enfermedad ulcerosa y cáncer gástrico.(20)

El tipo de profesión, como enfermería, odontología y médicos, se han asociado con un mayor riesgo para la adquisición de la infección, ya que están en contacto con los pacientes que acuden al hospital. (20)

RESPUESTA INMUNOLOGICA

Toda respuesta inmunitaria es una serie compleja e intrincadamente usual de procesos que afectan varios tipos celulares.

Los seis componentes del sistema inmunológico intervienen como un todo para desarrollar una respuesta inmunitaria eficaz. La investigación ha logrado demostrar cómo suceden muchas de las etapas de este proceso; otras fases aún son imaginativas y están siendo investigadas. (22)

Sin embargo, el proceso básico es el siguiente: cuando un antígeno patógeno, por ejemplo una bacteria, alcanza superar la primera línea de defensa del cuerpo, por ejemplo la piel, se encuentra en primer lugar con los granulocitos y los monocitos, y es neutralizado en parte por anticuerpos preexistentes y por las proteínas del complemento. (22)

Después, los linfocitos y los macrófagos interaccionan en el lugar donde ha entrado la bacteria, ampliando la respuesta inmunológica; se sintetizan anticuerpos más específicos y poderosos, debido a la memoria inmunológica generada por la bacteria invasora. En los ganglios linfáticos más próximos puede tener lugar una amplificación similar de la respuesta inmunológica, así como en lugares más distantes, tales como el bazo y la médula ósea, donde también se sintetizan linfocitos. (22)

Y si todo procede bien, el sistema inmunológico puede supera a la bacteria, de modo que la enfermedad está ya bajo control. Al instante se ponen en funcionamiento mecanismos autorreguladores supresores que detienen la respuesta inmunológica; las citoquinas asumen una gran importancia en este proceso supresor. Si el sistema inmunológico no está autorregulado de una manera adecuada, se pueden originar otras enfermedades de entorno inmunopatológica. (22)

Una vez que el antígeno es destruido mediante esta combinación de acciones, el sistema inmunológico está dispuesto para responder de una manera más eficaz si el mismo tipo de microorganismo invadiera de nuevo el cuerpo. Si dicha preparación es adecuada para neutralizar totalmente a una bacteria específica antes de que ésta produzca la enfermedad, se dice entonces que existe inmunidad frente a dicha bacteria.

ANTIGENO – ANTICUERPO.

El antígeno es cualquier molécula capaz de provocar la producción de anticuerpos específicos y la activación de linfocitos T, también precisos.

Se entiende como antígeno (Ag) a cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cada uno de los componentes del sistema inmunológico. (23)

Los anticuerpos (Ac), también conocidos como inmunoglobulinas, son un grupo de moléculas séricas que producen los linfocitos B. Los diferentes tipos de anticuerpos tienen una estructura básica común a todos ellos, pero el sitio por el que se unen al antígeno es específico de cada uno; la parte de la molécula que se une al antígeno se denomina región Fab, mientras que la zona que interactúa con otros elementos del sistema inmunológico se denomina región Fc. (22)

Los linfocitos B y T están programados genéticamente para codificar y reconocer un receptor de superficie específico de un determinado antígeno, aun antes de haber entrado en contacto con él, tras lo cual se multiplican y se diferencian en células plasmáticas que producen los anticuerpos. (22)

Cuando se produce el contacto entre el linfocito y el antígeno, los linfocitos que son capaces de reconocerlo empiezan un proceso de proliferación, llamado selección clonal, que conduce en pocos días a la existencia de un número suficiente como para ocasionar una respuesta inmunitaria que permita la eliminación de esta sustancia.

Una vez ocurrido el contacto inicial con un antígeno determinado, los sucesivos encuentros con el mismo antígeno se van a caracterizar por obtener una respuesta mucho más rápida y enérgica que la inicial, debido a que esta da lugar a la producción de linfocitos T y B de memoria. (23)

REACCION ANTIGENO ANTICUERPO

La reacción Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) es una parte estratégica para la respuesta inmunológica del cuerpo humano. El concepto se refiere al momento cuando un anticuerpo se une a un antígeno para inhibir o privar su toxicidad dentro del cuerpo. El acoplamiento estructural entre las macromoléculas está dado por varias fuerzas débiles que disminuyen con la distancia, como los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van Der Waals, las interacciones electrostáticas y las hidrofóbicas. El reconocimiento Ag-Ac es una reacción de complementariedad, por lo que se efectúa a través de múltiples enlaces no covalentes entre una parte del antígeno y los aminoácidos del sitio de unión del anticuerpo. La reacción se caracteriza por su especificidad, rapidez, espontaneidad y reversibilidad. (22)

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN DEL HELICOBACTER PYLORI

1. PRUEBAS INVASIVAS

Estas pruebas son generalmente útiles para la identificación de la bacteria ya que permiten detectarla directamente, es decir que tienen una alta especificidad, pero su sensibilidad puede estar relacionada con la diseminación de la bacteria en el estómago por lo que puede llevar a

obtener resultados falsos positivos; dentro de este conjunto de pruebas se encuentra:

- **Endoscopia**

Es el método más sensible y específico para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*. Esta técnica permite visualizar la mucosa gástrica, cuyo aspecto puede variar desde leve eritema a una nodularidad intensa, característica de infección por *Helicobacter pylori*, mucho más frecuente en niños que en adultos, y además, hace posible la toma de muestras de biopsia para diferentes estudios. En determinados casos, el hallazgo endoscópico corresponde a una úlcera duodenal y, con menos frecuencia, cáncer gástrico. (15)

- **El test rápido de la ureasa**

La introducción de la biopsia en un medio rico en urea permite detectar la presencia de la enzima ureasa en la muestra. Es el método de elección entre los métodos invasivos, y presenta una sensibilidad y especificidad altas (sensibilidad del 92-97% y especificidad del 90-95%).

En el caso de una úlcera sangrante, la precisión de la prueba disminuye, por lo que en ese caso estaría indicado un método no invasivo. Si se usa para comprobar la erradicación, es aconsejable complementarlo con un estudio histológico. (24)

- **Histología**

Presenta una sensibilidad y especificidad elevadas, pero dependen en parte del número y localización de las biopsias y de la experiencia del patólogo. La identificación del bacilo se obtiene mediante la tinción de Giemsa. (7)

- **Cultivo**

Presenta una sensibilidad variable, y es un método laborioso, por lo que no se utiliza de forma rutinaria. Su principal utilidad radica en el estudio de las resistencias bacterianas ante un fracaso terapéutico inicial.(13)

2. PRUEBAS NO INVASIVAS

La aplicación de estas pruebas son de alta sensibilidad y está basada en la serología, mediante esta se logra la detección de anticuerpos IgG de la bacteria, la única limitación de su uso, es que no especifica o no diferencia si la infección se encuentra produciéndose o si su positividad es producida por la presencia de infecciones anteriores.(7)

- **Prueba del aliento**

La prueba del aliento urea C13 es el test diagnóstico de referencia en este grupo de métodos no invasivos. El paciente en ayunas ingiere una cápsula que contiene pequeñas cantidades de urea marcada con carbono. Esta urea es metabolizada por la enzima ureasa que contiene la bacteria, desprendiéndose el carbono marcado junto el CO2 de la respiración. El paciente respira en un recipiente, siendo el resultado positivo cuando el nivel de CO2 marcado excede de un determinado dintel entre el resultado y la pos ingesta. Esta prueba presenta una sensibilidad y una especificidad constante por encima del 95%, y se considera la prueba de elección de los métodos no invasivos.(25)

- **Pruebas serológicas**

La serología detecta la presencia de IgG en sangre venosa en respuesta a la infección por el *Helicobacter pylori*. Tres revisiones sistemáticas sobre los diversos tipos de test ELISA encontraron valores que oscilan en torno a una sensibilidad alta (85-92%) y una especificidad más baja (79-89,5%).

Estas diferencias se explican porque este test presenta variaciones importantes entre las distintas marcas y para que sean útiles han de estar validados en el medio en que se han de aplicar.

Así mismo, existen los denominados test de serología rápida, que pueden realizarse en la propia consulta. Estos test, obtenidos a partir de una muestra de sangre capilar, a pesar de su comodidad, han mostrado valores inferiores de sensibilidad y especificidad que el resto de pruebas disponibles, por lo que su utilización actualmente no está justificada. (15)

- **Antígenos en heces**

Examen en placa de Un Paso

El Antígeno de *H. pylori* (Heces) es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de *H. pylori* en muestras de heces humanas. La membrana es precubierta con un antígeno anti-*H pylori* en la banda de la región de la prueba.

Durante la prueba el espécimen reacciona con partículas cubiertas con anticuerpos anti-*H pylori.* La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo de la prueba y genera una línea coloreada. (24)

La presencia de una línea coloreada en la banda de la región de la prueba indica un resultado positivo mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Como control del procedimiento una línea coloreada siempre aparecerá en la banda de control, indicando que un volumen apropiado del espécimen ha sido incubado y que la reacción de la membrana ha ocurrido.

Esta técnica contiene partículas recubiertas de anticuerpo anti-*H pylori* y anticuerpos de *H. pylori* recubierto en la membrana.(24)

Su sensibilidad es del 99,9% al igual que la especificidad que es 99,9%.

Técnica de Elisa para determinación de antígenos de *H. pylori* en heces.

En función de los estudios actualmente disponibles, el sistema más recomendable es el sistema de EIA con anticuerpos monoclonales por sus mejores resultados en cuanto a sensibilidad de la técnica y por la buena reproducibilidad. (25)

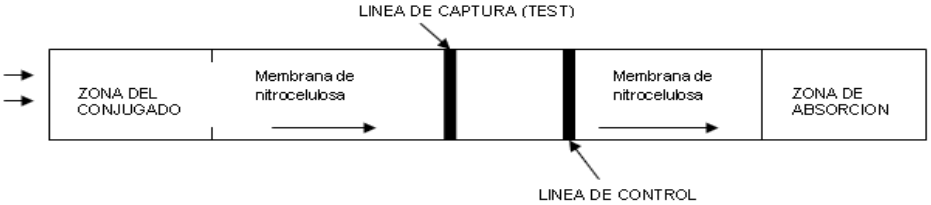
Las muestras para la determinación de HP Ag, provienen de las heces de los pacientes. Las microplacas están recubiertas con anticuerpos monoclonales de ratón, purificados por cromatografía de afinidad y dirigidos contra los antígenos principales de *H. pylori*. Durante la 1ra incubación, la fase solida se trata con la muestra, extraída previamente de las heces fecales, y simultáneamente con una mezcla de anticuerpos monoclonales de HP conjugados con Peroxidasa (HPR). Después del lavado quedan eliminados los restos de los componentes de la muestra, en la 2da incubación, la enzima combinada con la fase sólida

genera una señal óptica proporcional a la cantidad de antígeno de *H.pylori* presente en la muestra. (12) su sensibilidad es cerca del 98% y su especificidad es del 96%.

PRUEBAS UTILIZADAS PARA ESTE ESTUDIO COMPARATIVO

Método Inmunocromatográfico

Es una de las técnicas de inmunodiagnóstico más modernas cuyas principales ventajas son la sencillez y rapidez del test. Cada vez son más las aplicaciones de esta técnica, como test de campo debido a que no es necesario reactivos ni instrumentación adicional, como en el campo clínico. El ejemplo más conocido son los test de embarazo de las farmacias. (15)



En el siguiente esquema se resume el fundamento del método:

1. La muestra se pone en contacto con la zona del conjugado. Esta lleva impregnada un conjugado formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítopos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno a detectar, éste se unirá al conjugado formando un complejo y empezarán a migrar a través de la membrana de nitrocelulosa. Si no, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse. (6)
2. La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítpo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). Si la muestra no contenía el antígeno, el segundo anticuerpo no captura nada y la línea queda trasparente (muestras negativas).(6)

3. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control inmunocromatografico de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas. (6)

Enzimoinmunoanalisis Elisa.

También se lo puede llamar **EIA**, es una técnica usada principalmente en la inmunología para detectar la presencia del anticuerpo o antígeno en una muestra. La técnica ELISA (ensayos de inmunoabsorbancia ligada a enzimas) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción marcada enzimáticamente cuyo producto, puede ser medido espectrofotométricamente. La cantidad de antígeno se determina comparando la curva estándar generada con cantidades conocidas del antígeno. (7)

Los anticuerpos utilizados en el método ELISA son de origen monoclonal o policlonal que se suministran como antisuero no fraccionado o fracciones de inmunoglobulina purificada, pueden ser solubles o estar inmóviles en un soporte sólido, son empleados como conjugados no marcados o enzimáticos y por ultimo reaccionan con determinante antigénico específico de un antígeno o de un anticuerpo ligando-específico (anticuerpo primario) según el protocolo de análisis.
Los antígenos se purifican o se producen con tecnología recombinante, y al igual que los anticuerpos se utilizan como conjugados marcados o enzimáticos y son inmóviles o solubles, dependiendo del protocolo de análisis. (7)

Las combinaciones de enzima y sustrato que se emplean en los diversos métodos ELISA incluyen:
1) La peroxidasa de rábano que produce un producto color amarillo-naranja o verde;

2) La galactosidasa beta que se transforma en un producto amarillento, y
3) La fosfatas alcalina que puede presentar un color amarillo, azul, purpura, o rojo. (7)

Las Fases de un ensayo ELISA

Las 4 fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

1. Conjugación del anticuerpo o del antígeno con un enzima (peroxidasa, fosfatasaalcalina). El anticuerpo conjugado al enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, etc.
2. Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos. La unión de anticuerpos o antígenos se realiza con facilidad a la superficie de plásticos tratados que tienen gran afinidad por proteínas. (25)
3. Formación de una o más capas de inmunocomplejos. En el caso del antígeno unido a la placa se puede detectar mediante un anticuerpo anti-antígeno marcado (ELISAdirecto) o empleando un anticuerpo primario anti-antígeno y un secundario anti primario marcado (ELISA indirecto). Este segundo método permite la amplificación de la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. (25)
4. Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todos las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. (25)

Tipos de ensayos ELISA

Ensayo directo: (Ensayo ELISA simple de dos capas).
La modalidad más frecuente del método ELISA para la determinación de Ags es el modelo ELISA "Sandwich" o directo. En este modelo, el Ac específico para el Ag de interés, se encuentra adsorbido en un soporte sólido , sobre el que se añadirá la muestra biológica. En el caso de que en dicha muestra se encuentre el Ag, quedará capturado en la placa y será puesto en evidencia tras la adición de otro Ac específico conjugado con la enzima. Por último, se añade

el substrato sustrato incoloro que, por acción de la enzima, dará un producto coloreado que producirá un color observable a simple vista y cuantificable mediante un espectrofotómetro. (7)

Ensayo indirecto: Las placas ELISA se preparan de la misma forma a la anterior. Los controles positivos y negativos son los mismos. El sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primario. La detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal debida a la unión de dos o más anticuerpos secundarios por cada primario. Es el ensayo más popular, como lo es la inmunofluorescencia indirecta, pues un mismo secundario marcado y un mismo sistema enzimático permite cuantificar una gran variedad de antígenos, por eso es un método más polivalente y barato, aunque se pierda algo de precisión por tener un eslabón más con respecto al método directo. La dilución de la solución que contiene el anticuerpo primario (por ejemplo: suero sanguíneo) es un factor muy importante a tener en cuenta para evitar la aparición de falsos negativos, ya que si la muestra está muy diluida no saldrá positiva si la titulación de anticuerpos es muy baja. Es decir, aunque los anticuerpos están presentes, la prueba no da positivo porque la concentración de anticuerpos específicos contra el antígeno que está pegado en el fondo del pocillo no es suficiente como para dar una señal detectable. (26)

5. MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO METODOLÓGICO

- **TIPO DE ESTUDIO**

La presente investigación es de tipo Descriptivo Comparativo que se realizó a todas las personas que trabajan en el Hospital Básico de Yantzaza.

- **UNIVERSO**

Personal que trabaja en el Hospital Básico de Yantzaza Área # 2

- **MUESTRA**

51 personas que laboran en hospitalización del hospital básico de Yantzaza.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Personas que trabajen en el área de hospitalización del Hospital Básico de Yantzaza
- Personas que trabajen en el área de hospitalización de ambos sexos, de cualquier condición socio – económica, peso, talla y que habiten en el Cantón Yantzaza.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Personas que no acepten ser parte del estudio.
- Se excluirán personas que tomaron algún tipo de medicación días antes.

LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN O LUGAR DE PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

- Laboratorio Clínico Biolab.

MÉTODOS, TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.

El presente trabajo investigativo se lo realizó por fases en las cuales se desarrollaron las siguientes actividades:

Fase pre-analítica

- Solicitud dirigida a la Directora del Hospital Básico de Yanzatza, solicitándole el permiso respectivo para realizarle los exámenes al personal de Hospitalización para llevar acabo la presente investigación. **(Anexo 1).**
- Registro inicial de pacientes **(Anexo 2)**
- Consentimiento Informado **(Anexo 3)**
- Aplicación de la Encuesta **(Anexo 4)**
- Protocolo para la preparación del paciente **(Anexo 5)**

Fase analítica

- Procedimiento de recogida de las muestras en heces **(Anexo 6)**
- Determinación de *Helicobacter Pylori*, mediante el método Inmunocromatográfico en heces. **(Anexo 7)**
- Determinación de *Helicobacter Pylori*, mediante el método de Elisa en heces. **(Anexo 8)**

Fase post –analítica

- Elaboración del registro de resultados **(Anexo 9)**
- Reporte y entrega de resultados **(Anexo 10)**
- Control interno de calidad **(Anexo 11)**

PLAN DE TABULACIÓN

Se tabulo los datos obtenidos de los exámenes de laboratorio para *Helicobacter Pylori* con el (método Inmunocromatografico y Elisa) de manera numérica y en porcentajes con los cuales se realizó tablas y gráficos.

ANÁLISIS DE DATOS.

Se procedió al análisis de los datos empleando el sistema de Microsoft Excel 2010, utilizando los datos de los resultados obtenidos.

6. RESULTADOS

TABLA N^0 1

VALORES DEL METODO INMUNOCROMATOGRAFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACION DE *H. PYLORI* EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION

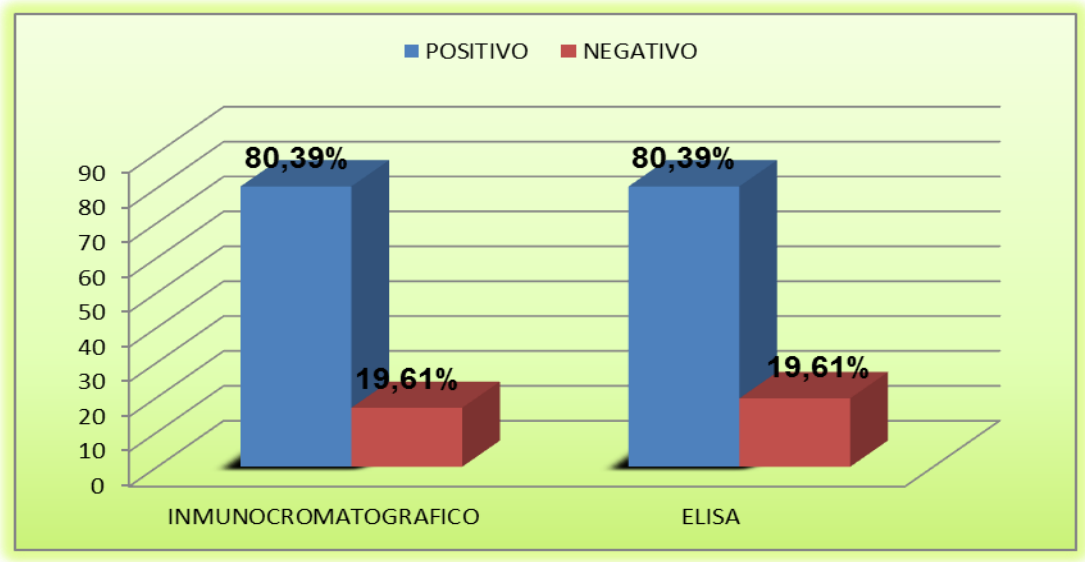
H. PYLORI	INMUNOCROMATOGRAFICO		ELISA	
	FRECUENCIA	PORCENTAJE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
POSITIVO	41	80.39%	41	80.39%
NEGATIVO	10	19.61%	10	19.61%
TOTAL	**51**	**100%**	**51**	**100%**

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba

GRAFICO N^0 1

VALORES DEL METODO INMUNOCROMATOGRAFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACION DE *H. PYLORI* EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba

INTERPRETACIÓN:

Se realizó el análisis a 51 personas que trabajan en hospitalización que representan el 100%, de las cuales un 80.39% (que corresponden a 41 pacientes) obtuvieron positivo con el método Inmunocromatografico. Y del 100

% de la misma población analizada con el método de Elisa se determinó que el 80,39% que equivale a 41 personas resultaron positivos (ug/ml).

TABLA N^0 2

FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN COMPARACION CON LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE H. PILORY MEDIANTE LOS METODOS INMUNOCROMATOGRAFICO—ELISA

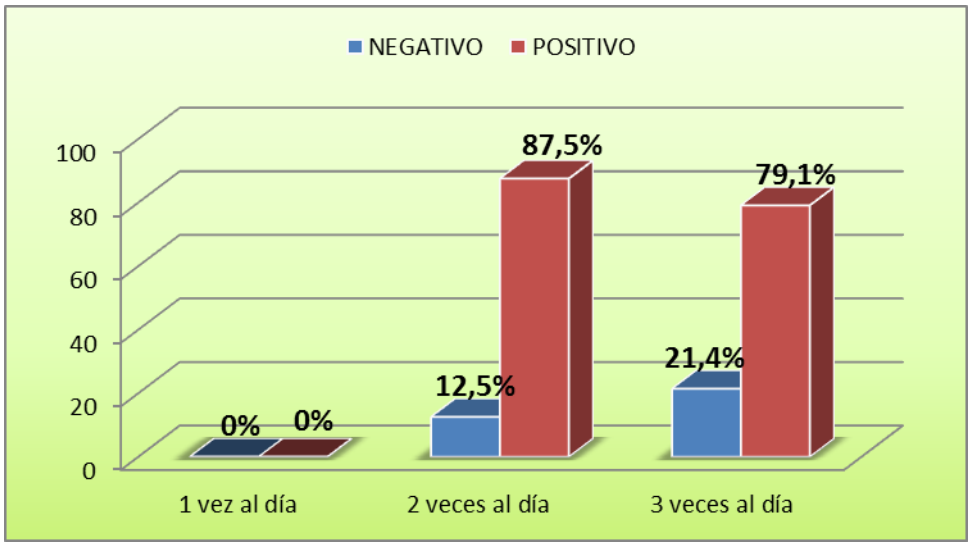
RESULTADO	1vez al día		2 veces al día		3 veces al día	
	F	%	F	%	F	%
NEGATIVO	0	0%	1	12,5%	9	21,4%
POSITIVO	0	0%	7	87,5%	34	79,1%
TOTAL	0	100%	8	100%	43	100%

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba.

Grafico N^0 2

FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN COMPARACION CON LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE H. PILORY MEDIANTE LOS METODOS INMUNOCROMATOGRAFICO—ELISA



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba.

INTERPRETACION

No existe ninguna persona que ingiere una sola vez al día alimentos; de las 8 personas que ingieren dos comidas diarias el 87,5% que corresponde a 7 personas presentaron resultados positivos de *H. pylori*, Mientras que de las 43

personas que ingieren tres comidas diarias, de las cuales existen 34 personas que equivale al 79,1% con resultados positivos (ug/ml).

TABLA N^0 3

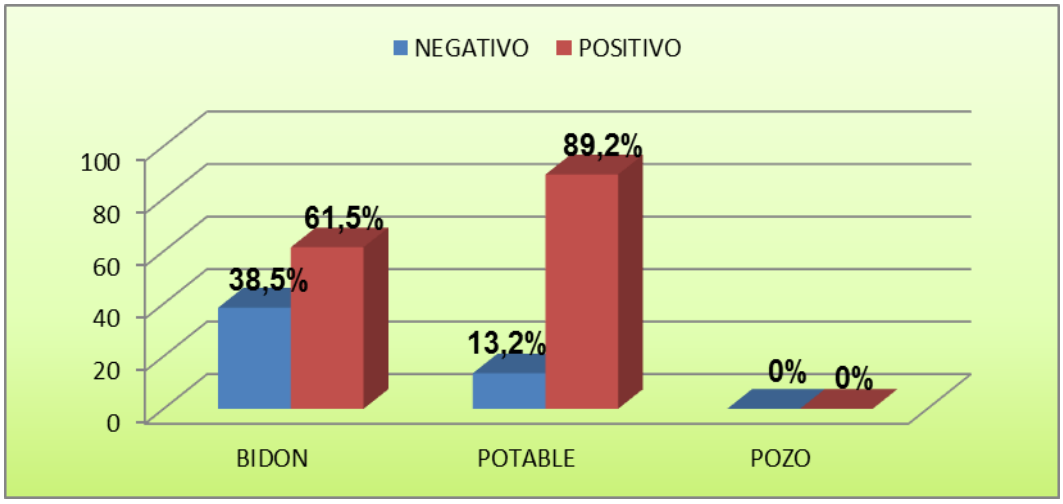
FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN COMPARACION A LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE H. PYLORI MEDIANTE LOS METODOS INMUNOCROMATOGRAFICO—ELISA

RESULTADO	BIDON		POTABLE		POZO	
	F	%	F	%	F	%
NEGATIVO	5	38,5%	5	13,2%	0	0%
POSITIVO	8	61,5%	33	89,2%	0	0%
TOTAL	13	100%	38	100%	0	100%

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.
Autora: Paulina Janina Villalba

GRAFICO N^0 3

FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN COMPARACION A LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE H. PYLORI MEDIANTE LOS METODOS INMUNOCROMATOGRAFICO—ELISA



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.
Autora: Paulina Janina Villalba.

INTERPRETACION:

Del 100% de la población analizada, se determinó que de las 13 personas que consumían agua de bidón el 61,5% presentaron resultados positivos para *H.*

pylori. De las 38 personas que bebían agua potable, 33 personas representaron el 89,2% también muestran resultados positivos (ug/ml). Finalmente ninguna persona tomaba agua de pozo.

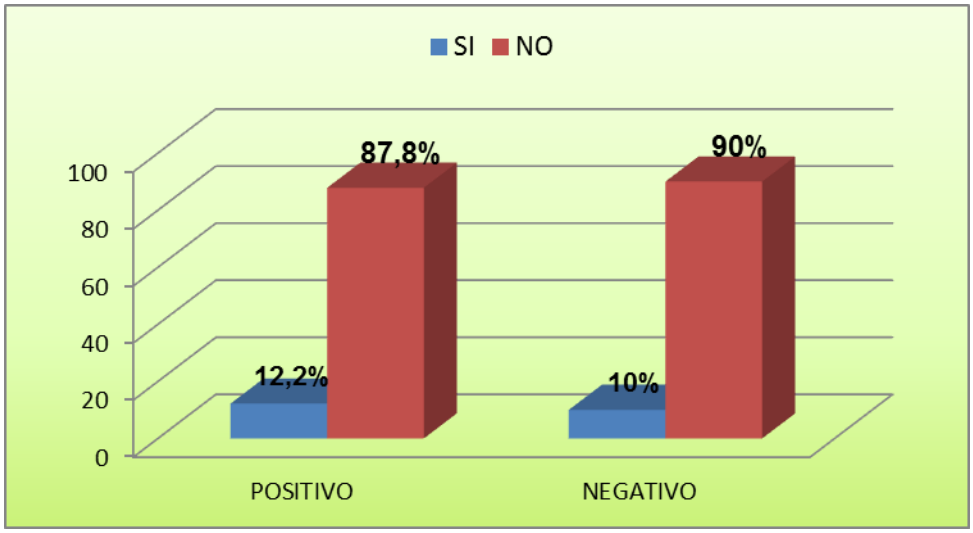
TABLA N^0 4

FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN RELACION A LOS RESULTADOS INMUNOCROMATOGRAFICO- ELISA

FUMA	POSITIVO		NEGATIVO	
	FRECUENCIA	PORCENTAJE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
SI	5	12,2%	1	10,0%
NO	36	87.8%	9	90,0%
TOTAL	41	100%	10	100%

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.
Autora: Paulina Janina Villalba.

GRAFICO N^0 4
FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN RELACION A LOS RESULTADOS INMUNOCROMATOGRAFICO- ELISA



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.
Autora: Paulina Janina Villalba.

INTERPRETACION

Tenemos un total de 41 pacientes con resultados positivos (ug/ml) que representan el 100%. De los cuales el 87.80% no fuma y tan solo el 12.20% si fuma, mientras que en los 10 pacientes que presentaron resultados negativos

que representan el 100%, el 90% no fuman, seguido de un 10% que si tienen el habito de fumar.

TABLA N^0 5

FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN RELACION A LOS RESULTADOS INMUNOCROMATOGRAFICO- ELISA

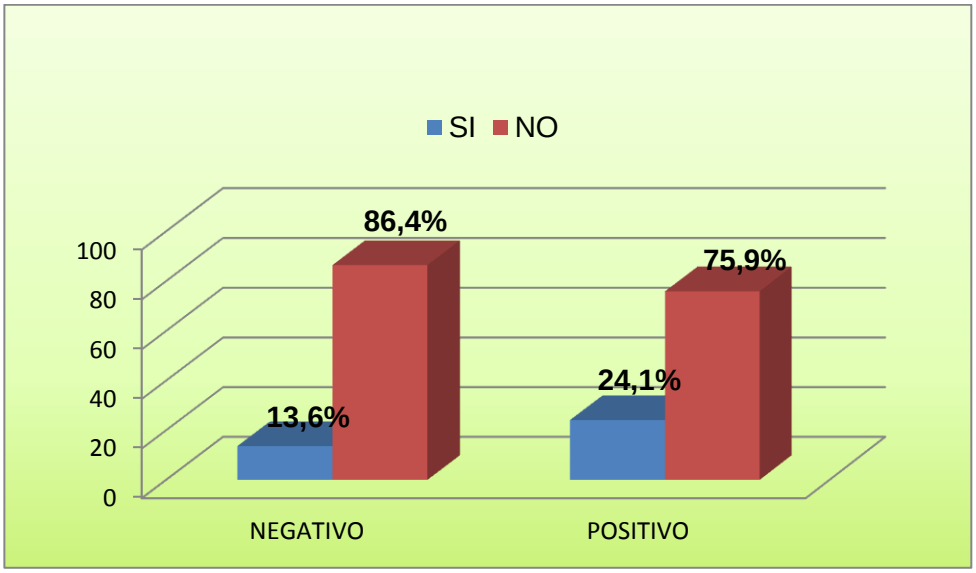
Consumo de bebidas alcohólicas	Negativo		Positivo	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
SI	3	13,6%	7	24,1%
NO	7	86,4%	34	75,9%
TOTAL	10	100%	41	100%

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba

GRAFICO N^0 5

FACTORES DE RIESGO MODIFICABLES EN RELACION A LOS RESULTADOS INMUNOCROMATOGRAFICO- ELISA



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba

INTERPRETACION

De las 41 pacientes con resultados positivos (ug/ml) para *H. pylori* que representan el 100%. De los cuales el 75,9% no consume bebidas alcohólicas y tan solo el 24.1% si consume bebidas alcohólicas, mientras que en los 10 pacientes que presentaron resultados negativos representan el 100%, el 86,4% no ingiere bebidas alcohólicas, seguido de un 13,6% que si ingiere bebidas alcohólicas.

TABLA N^0 6

FRECUENCIA DE *H. PYLORI* SEGÚN LA EDAD. MÉTODO ELISA Y MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO.

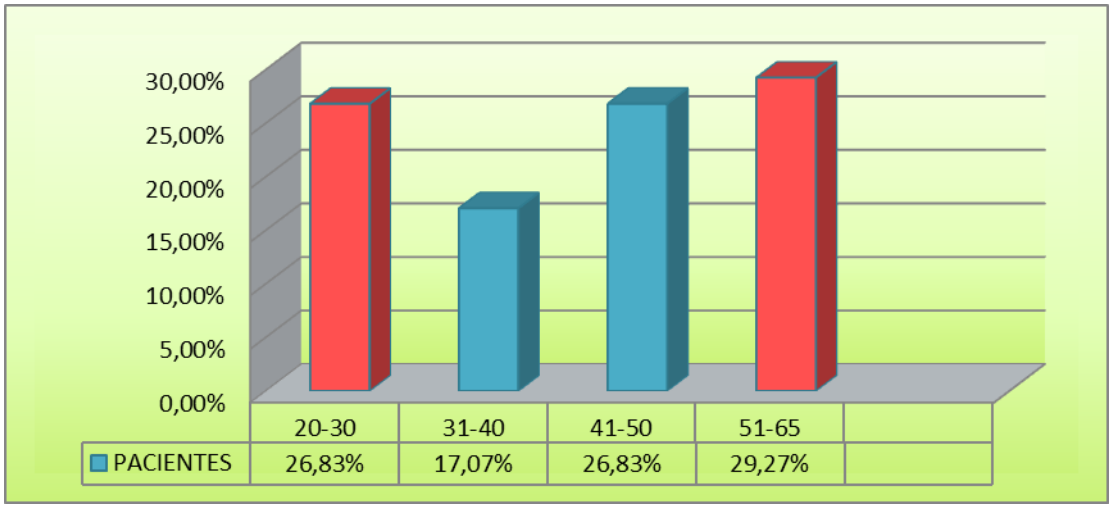
RANGOS DE EDAD	PACIENTES	
	FRECUENCIA	PORCENTAJE
20- 30	11	26,83%
31- 40	7	17,07%
41-50	11	26,83%
51-65	12	29,27%
TOTAL	41	100%

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba

GRAFICO N^{0}6

FRECUENCIA DE *H. PYLORI* SEGÚN LA EDAD. MÉTODO ELISA Y MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.

Autora: Paulina Janina Villalba

INTERPRETACION:

En la población estudiada tenemos a 41 pacientes con resultados positivos que representan el 100% de los cuales se presentan con mayor frecuencia en personas de 51 a 65 años en un 29,27%; seguido de un 26,83% que corresponde al grupo de personas de 41-50 años y también al grupo de 20 a 30 años.

TABLA N^0 7

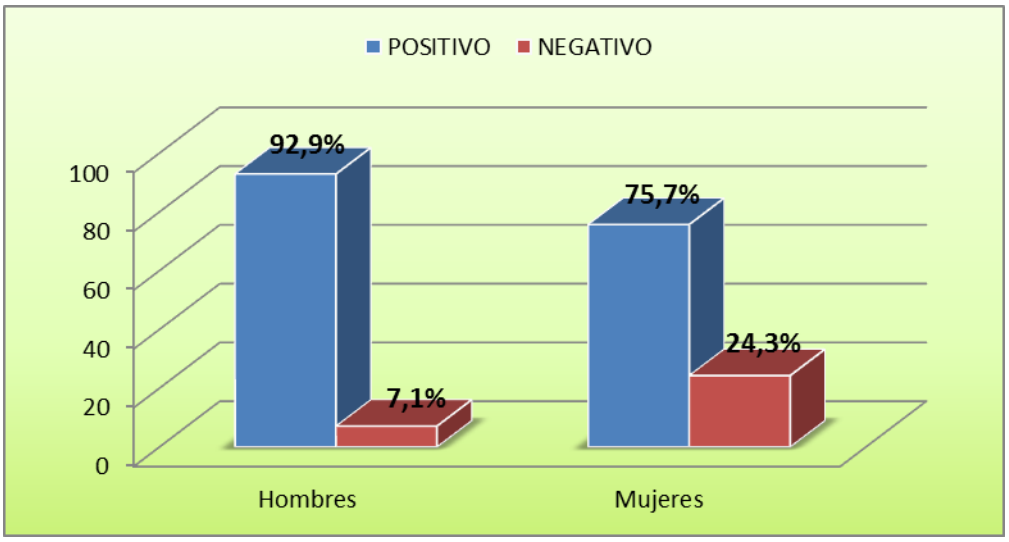
FRECUENCIA DE *H. PYLORI* POR GÉNERO. MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y MÉTODO DE ELISA.

INMUNOCROMATOGRAFIA ELISA	Hombres		Mujeres	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
POSITIVO	13	92.9%	28	75.7%
NEGATIVO	1	7.1%	9	24.3%
TOTAL	14	100%	37	100%

Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.
Autora: Paulina Janina Villalba

GRAFICO N^{0}7

FRECUENCIA DE *H. PYLORI* POR GÉNERO. MÉTODO INMUNOCROMATOGRÁFICO Y MÉTODO DE ELISA.



Fuente: Resultados de los análisis del Personal de Hospitalización del Cantón Yantzaza.
Autora: Paulina Janina Villalba

INTERPRETACION:

En la población masculina existen 14 personas que representan el 100%, de los cuales 13 hombres que equivale al 92,9%, presentaron resultados positivos para *H. pylori* , en cambio la población femenina estaba constituida por 37 personas que representan el 100%, de los cuales 28 mujeres así mismo presentan resultados positivos que equivale a 75.7%.

7 .DISCUSIÓN

El presente estudio fue realizado a 51 pacientes que trabajan en el área de hospitalización del centro de salud Básico de Yanzatza para la determinación de *Helicobacter Pylori* en heces por medio del método Inmunocromatografico y ELISA. Mediante la aplicación del método Inmunocromatografico se determinó que el 80,4% se encontraron positivos y el 19,6 % negativos; al igual con el método de Elisa se determinó que el 80,4% eran casos positivos frente a la bacteria según los valores obtenidos, seguido del 19,6% de los pacientes que se presentaron negativos , puestos a investigación en este trabajo.

En la Universidad Nacional de Chimborazo en el año 2008 se estudiaron a 100 pacientes que trabajan en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba, en el que 33% presentaron positivo con *Helicobacter Pylori* y el 67% fueron negativos. (6)En otro estudio realizado en la Universidad de Manabí en el año 2011 a 64 pacientes del hospital IESS Chone, se obtuvo un 35,38% positivo y un 64,62% negativo. (3)Al comparar estos estudios con los datos obtenidos en la presente investigación utilizando el método Inmunocromatografico se podría argumentar que los porcentajes varían en los tres estudios, esto puede deberse a importantes diferencias metodológicas, a la utilización de distintas técnicas de análisis y a las características de los grupos de estudio. Como es en el caso de mi población estudiada que El personal de Hospitalización, tienen una vida muy estresada y un contacto con los pacientes que acuden al hospital, lo cual puede influir en los resultados en comparación con el estudio de la Universidad de Chimborazo, en el que se realizó a personas que trabajan en el mercado mayorista se pudo observar que la mayoría de personas consumen alimentos preparados en la calle, consumen agua hervida, consumen alimentos irritantes como el ají, no fuman.

En lo referente al método de Elisa con la misma población se observó que el 80,4% presentaron positivo seguido de un 19,6% negativo. Al contrastar con un estudio de 80 pacientes que acudieron al Servicio de Gastroenterología del Hospital Vargas de Caracas en el año 2001, durante la revisión y análisis de resultados se encontró que de los 80 pacientes, el 64 % presentaban positivo y el 16% negativo. (8)En tanto que un estudio realizado en Chile a 104 personas, el 83% presentaron positivo, y el porcentaje restante como es el 21% fueron

negativos. (27) La presente investigación nos demuestra que los resultados de estos tres estudios casi son similares, comprobando asi la alta especificidad y sensibilidad del método de Elisa para la determinación de H. pylori.

Al evaluar los resultados encontrados nos demuestra que en ambos métodos aplicados en este estudio son efectivos para la detección de Helicobacter pylori a diferencia de su sensibilidad y especificidad, ya que el Inmunocromatografico tiene una sensibilidad 99,9% y una especificidad del 98,9%, mientras que en el de Elisa tiene la sensibilidad del 99,6% y una especificidad del 96,2%. Cabe recalcar que el método que más se utiliza es el Inmunocromatografico debido a que es rápido, sencillo y de bajo costo.

El presente trabajo de investigación se enfocó al estudio de 41 pacientes positivos con *H. pylori* de ambos sexos, que trabajan en hospitalización del Hospital Básico de Yantzaza , de los cuales 28 pacientes (75,7%) fueron mujeres y 13 pacientes (92,9%) fueron hombres de ahí el predominio de la presencia de *H. Pylori* fue en pacientes del sexo masculino. En lo que se refiere a la edad podemos argumentar que la aparición del *Helicobacter Pylori* se presentó con mayor frecuencia en personas en edades comprendidas de de 51- 65 años en un 29,27 %en ambos métodos.

En el estudio realizado a 80 pacientes atendidos en el Hospital Vargas de Caracas en el año 2001 indican que la mayoría de casos donde se presentaron la bacteria fueron en las edades comprendidas de 46 a 60 años, con el 66.6% corresponden al sexo femenino y el 20% al sexo masculino. (8) En ambos estudios los hallazgos confirman que el sexo femenino es mas afectado, y al tener mayor edad hay mayor riesgo de presentar infecciones por *Helicobacter pylori.*

Los factores predisponentes establecidos en el presente trabajo investigativo: numero de ingestas de comidas diarias, tipo de agua que consumen, consumo de bebidas alcohólicas y fumar, no influyen directamente en los resultados para la determinación de H. Pylori ya que no se encontraron resultados significativos en comparación con otros estudios internacionales, se atribuye que los resultados pueden deberse al estrés y por su tipo de profesión por el contacto que tienen con sus pacientes diariamente.

8. CONCLUSIONES

1. En la presente investigación se pudo identificar que tanto el método Inmunocromatografico y ELISA son eficaces para demostrar un resultado positivo o negativo de *Helicobacter Pylori* en Heces, mientras que en lo que se refiere a un resultado cuantitativo se contempla que el más eficaz es el método de ELISA

2. En la investigación se reconoció cuatro factores de riesgo como son: Las bebidas Alcohólicas, fuma, si toma agua potable y si ingieren las 3 comidas diarias, luego de contemplar estos datos podemos determinar que los cuatro factores de riesgo identificados no afectan a los resultados obtenidos.

3. En el trabajo se determinó que de acuerdo al grupo etario encontramos que el grupo de 51-65 años de edad conformo el 92,27% del total de la población con resultado positivo para Helicobacter Pylori en Heces; entretanto en lo que se refiere al resultado por genero se revelo que el Género Femenino representa el 75,7% del grupo con resultado positivo.

4. En la finalización del trabajo, difundimos los resultados obtenidos a las respectivas autoridades del plantel con lo cual también se adjuntó la recomendación de poder someterse a un adecuado tratamiento y llevar el seguimiento del caso.

9. RECOMENDACIONES

1. Concientizar a la población adulta en los siguientes aspectos: la importancia de la realización de exámenes clínicos de laboratorio en forma periódica ya sea por el método inmunocromatografico o Elisa lo cual permitirá prevenir *Helicobacter pylori* y así las complicaciones que puedan comprometer su salud, y al control y seguimiento a través de la consulta médica.

2. Incentivar la modificación de los hábitos y costumbres de vida en nuestras familias y comunidad promocionando el ejercicio físico (caminatas), la recreación y una alimentación saludable para mejores formas de vivir.

3. Incentivar a los estudiantes a realizar estudios con el objeto de conocer cifras reales en nuestro medio sobre que métodos pueden ser más eficaz para la determinación de *Helicobacter pylori*, para esta manera estar al tanto de la dimensión de este problema y plantear estrategias para la prevención de dicha enfermedad.

10. BIBLIOGRAFÍA

1.- Tortora G; et al. Introducción a la Microbiología. 11va edición. Panamericana S.A. 2008 Argentina. Capítulo 4 págs. 760-762

2.- Murray, P. Microbiología Médica. 6ta. Ed. Elsevir. 2009. España. Capítulo 5 Págs.282-287.

3.-.-Universidad De Manabí. (http://repositorio.utm.edu.ec/bitstream/123456789/398/1/TESIS.pdf) Consultado 5 Noviembre del 2012.

4.- INEC 2010. (Instituciones.msp.gob.ec/misalud/index.php?option=com_content&view=article&id=259:el-cancer-de-estomago-afecta-a-mas-hombres-que-mujeres-en-el-ecuador&catid=52:edusalud&Itemid=244) Consultado el 15 de diciembre.

5.- Baley y Scott. Diagnostico microbiológico. 12ª. Ed. Médica panamericana Madrid- España.2009. Cap. 2. Pags. 23-24, 109, 421

6.- Universidad Nacional del Chimborazo http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/123456789/263/1/CS-ELC-30A006.pdf Consultado 18 de Octubre del 2013

7.- Catherime A.Ingranam. Introducción de la Microbiología. 3ra. Ed. Editorial Reverte Barcelona.2008. Cap. 19. Pags. 457-458.

8.- Gonzalez Pedro http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol15_1_01/ali07101.htm Consultado 10 de Octubre del 2013

9.- Carranza R., Helicobacter pylori 3ª Edición. Vademécum. 2009 México pags 160-161.

10.-FERATO:(http://www.ferato.com/wiki/index.php/Helicobacter_pylori) Consultado el 15 de Octubre del 2012.

11.- Martinez Nuria http://helicobacpylori.blogspot.com/2010/10/caracteristicas-y-estructura-de-la.html. Consultado 18 de Octubre del 2012.

12.- Garcia, R. Prevalencia de la infección por H. pylori en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudio de factores de riesgo asociados. 1ra. Ed. Universidad Santiago de Compostela chile. 2008. Pags.34-45, 50-54.

13.- talley N. et al. Manual clínico de gastroenterología y hepatología.. 1ra. Ed. España. Elsevier C.L. 2010.Cap. 4. Pags. 47.

14.-Rubin Ferber. Patología. 3ra Ed. Editorial Panamericana S.A. 2008. Cap. 4. Pags. 120-121.

15.- Koneman. Diagnostico Microbiológico. 6ta.Ed. Argentina. Panamericana. S. A. 2008. Cap. 386-388

16.-Restrepo, A. etal. Enfermedades infecciosas. 10ma. Ed. España Editorial Panamericana. S.A. 2008. Cap. 5y6. Pags 53-56.

17.- Colegio Técnico Daniel Álvarez (http://www.slideshare.net/riascosdaniel/h-pylori#btnNext) Consultado el 4 de enero del 2013

18.-Go MF. Review article: natural history and epidemiology of Helicobacter pylori infection. Aliment Pharmacol Ther 2008; 16 Suppl 1:3-15.

19.- Bravo, L. E, Cortés, A, Carrascal, E, Jaramillo, R, García, L. S, and Bravo, P.

E. Helicobacter pylori: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia.

Colombia Medica 34, 124-131. 2008.

20.-Martel C, Parsonnet J. Helicobacter pylori Infection and Gender: A Meta-Analysis of Population-Based Prevalence Surveys. Dig Dis Sci 2009

21.-Przybyszewska K, Bielanski W, Fyderek K. Frequency of Helicobacter pylori

infection in children under 4 years of age. J Physiol Pharmacol 2008;57 Suppl

3:113-122.

22.-Oscar Rojas-Espinoza. Inmunología. 3ra Ed. Editorial Panamericana. 2009. Madrid. Cap. 5,7,8. Pags. 113-115, 179-180,211-212.

23.- Gerad J. Tortora, Berdell R. Introducción a la Microbiología. 9na. Ed. Editorial Panamericana. 2008. Pags. 508- 511.

24.- Prats, G. microbiología. 1ra. Ed. Editorial medica panamericana Madrid.2008. Cap. 3. Pags. 41-43

25.- Henrry T. http://elisahcastillo.blogspot.com/2011/11/fases-de-un-ensayo-elisa.html Consultado 20 de Julio del 2013

26.- Macarulla, J. Et al. Bioquímica 6ta edición. Edición Española. España 2008. Pags 87-88

27.-Antonio Morales B, Carmen Hurtado H, Ana María Madrid S http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872002000100008&script=sci_arttext Consultado 10 de Octubre del 2013

11. ANEXOS

ANEXO N.-1

Yantzaza, 03 de Diciembre del 2012

Lic.

Silvia Morocho

DIRECTOR DEL HOSPITAL BASICO DE YANZATZA DEL AREA Nº2

De mis consideraciones:

Yo, **PAULINA JANINE VILLALBA RAMIREZ** me dirijo a usted para expresarle un cordial y afectuoso saludo deseándole éxitos en las funciones a usted encomendadas, y a la vez solicitarle muy comedidamente me permita realizar una parte de mi proyecto de tesis que es de "TEMA **ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO INMUNOCROMATOGRAFICO Y ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI EN HECES EN EL PERSONAL DE HOSPITALIZACION DEL CANTON YANTZAZA** " dentro del personal que labora en el área de Hospitalización

Por la atención que se sirva dar a la presente desde ya le antelo mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente,

Srta. Paulina Janina Villalba Ramírez

C.I. 1900720879

ANEXO N.-2

REGISTRO INICIAL DE LOS PACIENTES					
Nº	**APELLIDOS Y NOMBRES**	**C.I.**	**Edad**	**Sexo**	**Ocupación**

ANEXOS N.-3

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL REPRESENTANTE LEGAL Y CONSENTIMIENTO DEL/ LA PACIENTE.

La presente investigación es conducida por **Paulina Villalba Ramírez**, del área de la salud Humana de la Universidad Nacional de Loja. Carrera de laboratorio clínico

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

Por medio de esta carta, Yo (el paciente debe escribir su propio nombre)……

Otorgo mi consentimiento informado para participar en el estudio.

Estudio comparativo entre el método Inmunocromatografico y Elisa para la determinación de Helicobacter pylori en heces en el personal de hospitalización del cantón Yantzaza

A usted se le pide que participe en este estudio de investigación debido a que cumple funciones en el servicio de hospitalización del Hospital básico de Yantzaza.

El encuestador…… me ha explicado los procedimientos y objetivos del estudio. Entiendo que estoy participando en este protocolo de investigación de forma voluntaria. He leído y comprendo la información dada en las hojas que constituyen este documento que ahora estoy firmando.

Desde ya le agradecemos su participación.

Firma del Participante

ANEXO N.-4

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

AREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

Encuesta

Dirigidos al personal de hospitalización

Marque con una x el literal que considera el más acertado según su criterio. Hágalo con toda sinceridad, porque su aporte nos permitirá obtener importantes conclusiones.

Nombre y Apellidos:.....C.I:.....

Edad: ……Fecha:……..

Lugar de procedencia:……

¿Qué tipo de agua utiliza?

Potable ( ) Pozo ( ) Bidón ( )

¿Cuántas comidas digiere al día?

3 veces al día ( ) 2 veces al día ( ) 1 vez al día ( )

¿Presenta algún síntoma estomacal?

Ardor estomacal ( ) se llena de gases ( ) ninguno ( )

¿Tiene familiares que han tenido gastritis?

Si ( ) No ( )

¿Conoce usted qué es el Helicobacter pylori?

Si ( ) No ( )

¿Cuál de los siguientes malos hábitos de vida realiza usted?

Fuma	Si ( )	No ( )	A veces ( )
Bebe alcohol etílico	Si ( )	No ( )	A veces ( )

Gracias por su colaboración

.....

Firma

ANEXO N.-5

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

INDICACIONES PARA LA PREPARACION DEL PACIENTE

- No haber recibido aceite mineral, supositorios o rayos X con bario, dentro de cuatro días previos a la prueba.

- si el paciente presenta problemas de estreñimiento, a continuación una lista de laxantes que pueden ser usados sin alterar el resultado de los análisis:

    - leche de Magnesio
    - citrato de Magnesio
    - fibras naturales.

- Los laxantes deberán ser tomados 24 horas antes de la toma de muestra.

- Las heces deben guardarse en recipientes apropidos de plásticos limpio y secos, con tapa rosca, y luego de recoger la muestra lavarse las manos.

- No debe utilizarse para la recogida papel higiénico, porque suelen tener sales de bario que inhiben algunas bacterias.

ANEXO N.-6

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

INDICACIONES PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Manual para la recogida de la muestra

- La muestra la recoge la propia persona.
- Coger en una vasenilla limpia.
- Evitar la presencia de orina en las muestra de heces.
- Con una cucharilla de plástico desechable, recogerá una parte del espécimen.
- Luego pasarla a un recipiente de plástico de boca ancha y con tapón de rosca para evitar que la muestra no se contamine.
- Alcanzará con un volumen similar al de un maní (20 ml).
- Una vez recogida la muestra de heces el paciente deberá entregar el envase cerrado lo antes posible y en plazo máximo de 24 horas en el centro en el cual ha sido solicitado el estudio para desde allí ser enviada a analizar a un laboratorio especializado.

ANEXO N.-7

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACION DE HELICOBACTER PYLORI CON EL METODO INMUNOCROMATOGRAFICO EN HECES

Principio

Este es un inmunoensayo cromatográfico. Durante la prueba, la muestra diluida de heces reacciona con el conjugado coloreado (anticuerpos monoclonales anti-antígeno-partículas de látex coloreadas) secado previamente en la membrana de la tira de reacción. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana. Para dar el resultado como positivo, una línea de color rojo aparecerá en la zona de resultado de la membrana. La ausencia de esta línea roja sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no de antígenos de *Helicobacter pylori*, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color rojo (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y 2) que el flujo ha sido apropiado; y 3) como control interno de los reactivos.

Reactivo

El examen contiene partículas recubiertas de anticuerpos de anti-*H. pylori*y anticuerpos de anti-*H. pylori* recubierto en la membrana.

Conservación y Estabilidad

Conservar el kit a temperatura ambiente 2-30ºC. Cada placa puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se conservan, sin abrir, en el envase original. No congelar.

Toma de Muestra

Las muestras (no utilizar muestras acuosas o diarreicas) deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se pueden conservar, hasta el momento de utilizarlas,

1 ó 2 días a 2-4 ºc. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a –20ºc. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra:

- Con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces.
- Se introduce el palito en el tampón de extracción, para dilución de la muestra, cerrando el tubo.
- Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.

Precauciones

1.-Para Diagnostico profesional i*n vitro* únicamente. No usar la prueba después de la fecha de expiración.

2.-La prueba debe permanecer en el sobre sellado hasta su uso.

3.-No coma, beba o fume en el área donde el espécimen o los kits son manipulados.

4.-No utilizar la prueba si el sobre esta deteriorado.

5.-Maneje los especímenes como si contuviesen agentes infecciosos.

6.-La prueba, una vez utilizada, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.

7.-La humedad y temperatura pueden afectar los resultados adversamente.

PROCEDIMIENTO

1. Atemperar (15-30ºC) la muestra y los otros materiales necesarios para el test, incluidos los dispositivos, antes realizar el ensayo.

2. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Identificar cada uno con los datos de la muestra.

3. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión.

4. Romper el extremo superior del tubo.

5. Extraer el dispositivo de reacción de su envase para utilizarlo inmediatamente.

6. Depositar 5 gotas o 150 µL del líquido de extracción en la ventana circular del dispositivo marcada con una flecha o una S, evitando añadir partículas sólidas con el líquido.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas en la ventana circular, retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que se vea avanzar al líquido (zona de reacción y de control**).**

7. Leer el resultado del test a los 10 minutos tras la adición de la muestra.

Interpretación de resultados

NEGATIVO: Una sola línea de color ROJO aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control ROJO, también aparece una línea ROJA (línea de resultado) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

INVÁLIDO: Si la línea de control no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de resultado. Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

Notas

La intensidad de la línea roja en la zona de resultado puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

Control de Calidad interno

El test contiene un control de calidad interno, la línea roja que aparece en la zona de control (C). La presencia de esta línea indica que se ha usado un

volumen correcto de muestra y el procedimiento seguido ha sido el adecuado. La claridad del fondo de la ventana es también un control interno. Si el test funciona correctamente, este fondo estará claro y no interferirá con la lectura del resultado.

Control de Calidad externo

Se recomiendan controles externos, positivos y negativos, para controlar el desarrollo del ensayo.

LIMITACIONES

1. El test es sólo para diagnóstico in vitro profesional.
2. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
3. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
4. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control rojo.
5. Esta prueba diagnóstica la presencia de la bacteria Helicobacter pylori, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas

ANEXO N.-8

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACION DE HELICOBACTER PYLORI CON EL METODO DE ELISA EN HECES

Principio.

Las muestras para la determinación de HP Ag, provienen de las heces de los pacientes. Las microplacas están recubiertas con anticuerpos monoclonales de ratón, purificados por cromatografía de afinidad y dirigidos contra los antígenos principales de *H. pylori*. Durante la 1ra incubación, la fase solida se trata con la muestra, extraída previamente de las heces fecales, y simultáneamente con una mezcla de anticuerpos monoclonales de HP conjugados con Peroxidasa (HPR). Después del lavado quedan eliminados los restos de los componentes de la muestra, en la 2da incubación, la enzima combinada con la fase sólida genera una señal óptica proporcional a la cantidad de antígeno de *H.pylori* presente en la muestra.

Materiales necesarios no Suministrados.

- Micropipetas calibradas (1000ml y 200ml) y puntas plásticas desechables.
- Agua de calidad EIA (bidestilada o desionizada, tratada con carbón para remover químicos oxidantes usados como desinfectantes).
- Timer con un rango de 60 minutos como mínimo.
- Papel absorbente.
- Incubador termostático de microplacas ELISA, calibrado (en seco o húmedo) fijo a 37ºC.
- Lector calibrado de microplacas de ELISA con filtros de 450nm (lectura) y posibilidad de 620-630 nm.
- Lavador calibrado de microplacas ELISA.
- Vórtex o similar.
- Contenedor plástico desechable para la colección de la muestra (disponible por solicitud en Dia.Pro s.r.l.).

Advertencias y Precauciones.

1. El kit debe ser utilizado por personal técnico adecuadamente entrenado, bajo la supervisión de un doctor responsable del laboratorio.

2. Todas las personas encargadas de la realización de las pruebas deben llevar las ropas protectoras adecuadas de laboratorio, guantes y gafas. Evitar el uso de objetos cortantes (cuchillas) o punzantes (agujas). El personal debe ser entrenado en procedimientos de bioseguridad, según lo recomendado por el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos, y publicado por el Instituto Nacional de Salud: "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", ed.1984.

3. Se debe controlar el ambiente del laboratorio para evitar la contaminación de los componentes con polvo o agentes microbianos cuando se abran los kits, así como durante la realización de las pruebas. Evitar la exposición del substrato a la luz y las vibraciones de la mesa de trabajo durante las pruebas.

4. Conservar el kit a temperaturas entre 2-8 ºC, en un refrigerador con temperatura regulada o en cámara fría.

5. No intercambiar los componentes entre diferentes lotes de los kits; Tambièn se recomienda que los componentes de dos kits del mismo loto no deben ser intercambiados

MANEJO DE LA MUESTRA

Las heces deberían ser recibidas en un contenedor y almacenadas a 2-8°C hasta ser procesadas. Las muestras deberían ser procesadas tan pronto como fuera posible, pero como máximo dentro de 72 horas. De lo contrario deben ser congeladas inmediatamente y permanecer así (-20°C a -80°C) hasta ser testadas.

NOTA: Las heces en medio de transporte, isopos o conservantes son inapropiados para su procesamiento.

PREPARACIÓN DE MUESTRA

1. Añadir 200 µl de diluyente de muestra un tubo de ensayo.

2. Voltear las heces y tomar con un palillo la muestra suficiente, si las heces son pastosas. Si fuesen líquidas se toman 100 µl con una pipeta Pasteur desechable. De ser sólidas, tan solo 5-6 mm.

3. Dejar los palillos o las pipetas con la muestra, en el diluyente de la muestra. Voltear 15 segundos los tubos.

PROCEDIMIENTO

1. Separar el número de micropocillos necesarios, uno por muestra más uno para el control positivo y otro para el negativo. Situarlos en el soporte de la placa y marcarlos.

2. Añadir 50 µl del sobrenadante del vorteado de cada muestra en su respectivo pocillo.

3. Poner una gota del control positivo (tapón amarillo) y del negativo (tapón azul) en sus respectivos micropocillos.

4. Añadir una gota del Enzima conjugado (tapón rojo) a cada pocillo. Agitar 30 segundos. Tapar con el film adhesivo y dejar incubar durante 120 minutos dentro la incubadora.

5. Hacer de 5 a 7 lavados con tampón de lavado. Deben quedar los micropocillos con el fondo transparente. Secar golpeando sobre papel absorbente.

6. Añadir dos gotas de substrato (tapón azul) a cada pocillo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente en un lugar oscuro.

7. Añadir una gota de solución de parada y leer; con lector de Elisa sin necesidad de blanco.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

El CAL 0.2 ug/ml se emplea para la interpretación clínica de los resultados, la cual se realiza mediante la razón entre el valor de DO450nm de la muestra (M) y el valor de corte (Co), según seindica en la siguiente tabla:

M/Co	**Interpretación**
< 1.0	Negativo
1.0 – 1.1	Equivoco
> 1.1	Positivo

CARACTERISTICAS DEL FUNCIONAMENTO.

La evaluación del los funzionamentos ha sido realizada examinando muestras positivas y negativas, en un centro clínico externo.

1. **Límite de Detección**.

El límite de detección del ensayo ha sido calculado mediante el análisis de diluciones seriadas de antígeno HP en Diluente de Muestra. Los resultados del control de calidad demuestran que la sensibilidad analítica del análisis es mejor de 0.05 ug/ml cuando el límite de la dilusión se considera OD450nm CAL 0 ug/ml + 5SD.

2. **Sensibilidad diagnóstica**:

La sensibilidad de diagnóstico se ha probado en paneles de muestras clasificó el positivo por un kit aprobado FDA de los E.E.U.U. basado en la “prueba de la respiración”, considerada por la literatura médica el Gold Standard para la determinación HP AG. Las muestras que se examinarán en el kit fueron preparadas de los mismos especímenes y extraídas con el dispositivo de extracción proveído por Dia.Pro srl. Una sensibilidad de el cerca de 98% fue encontrada para n = 55. La sensibilidad de diagnóstico también fue examinada por la comparación a un ELISA comercial, producido en los E.E.U.U. Las muestras que se examinarán en el kit fueron preparadas de los mismos especímenes y extraídas con el dispositivo de extracción proveído por Dia.Pro srl..Una sensibilidad de el cerca de 95% fue encontrada para n = 64

3. **Especificidad diagnòstica:**

La especificidad clínica ha sido determinada utilizando paneles de muestras, clasificadas como negativas mediante un kit de referencia US FDA basado en “la prueba de respiración”, considerada por la literatura médica como el Gold Standard para la determinación de antígenos de HP. Las muestras a examinar

en el kit han sido preparadas utilizando el dispositivo de extracción suministrado por Dia.Pro srl. Para n = 25 la especificidad resultó del 96%. La especificidad de diagnòstico ha sido evaluada además, con un ELISA comercial producido en Estados Unidos. Las muestras a examinar en el kit han sido preparadas utilizando el dispositivo de extracción suministrado por Dia.Pro srl.
Para n = 20 la especificidad resultó del 80%. No se ha observado reacción cruzada con especies de *Campylobacter*

ANEXO N.-9

REGISTRO DE RESULTADOS

Fecha……..

Nº	Nombres y Apellidos	Nº C.I	Ocupación	INMUNOCROMATOGRFICO EN HECES		ELISAEN HECES	
				Positivo	Negativo		

Firma del Responsable del Laboratorio…

ANEXO N.-10

REPORTE DE RESULTADOS

Nombre y Apellido……..

Edad……..

Fecha……..

Examen Solicitado: *Helicobacter pylori* en Heces

INMUNOCROMATOGRAFICO

Determinación	**Resultado**
Helicobacter pylori en heces	

ELISA

Determinación	**Resultado**	**Valor de Referencia**
Helicobacter pylori en heces		

……

Firma de Responsable del laboratorio

ANEXO.- 11

CONTROL INTERNO DE CALIDAD.

Un proceso de control de calidad está incluido en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la banda de la región de control (c) es considerada un procedimiento de control interno. Confirma el uso de volumen suficiente de espécimen, y una adecuada reacción de la membrana y técnicas procesales correctas.

Estándares de control no son proporcionados con este kit, sin embargo se recomienda controles positivos y negativos para ser usados con la prueba como una buena práctica de laboratorio y para verificar un buen rendimiento de ella.

Se realiza un grupo de pruebas con los controles/calibradores cada vez que se usa el kit para verificar si los valores de DO450nm o M/Co son los esperados.

Parámetro	**Requisitos**
Pocillo Blanco	**< 0.100 DO450nm**
CAL 0 ug/ml	**< 0.200 DO450nm valor medio después de leer el blanco**
CAL 0.1 ug/ml	**DO450nm > DO450nm CAL 0 ug/ml+0.100**
CAL 1 ug/ml	**> 1.000 DO450nm**

ANEXO.-12

SERVICIO A DOMICILIO
ATENCIÓN 24 HORAS

BIOLAB
LABORATORIO CLÍNICO
Su Laboratorio de Confianza
Control de calidad externo internacional

MLE
Medical Laboratory Evaluation

Yantzaza, 20 de Marzo del 2013

CERTIFICADO

Que la Srta. Paulina Janina Villalba Ramírez con CI. 1900720879 egresada en Laboratorio Clínico realizó los exámenes correspondientes a su tesis que lleva por título "Estudio comparativo entre el método Inmunocromatográfico y ELISA para la determinación de *Helicobacter pylori*, en el personal de Hospitalización del Hospital Básico Yantzaza" durante el Mes de Marzo de 2013.

Es todo en cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando al interesado hacer uso del presente documento a su conveniencia.

Atentamente
Lcdo. Diego Cruz Calle
LABORATORISTA CLÍNICO

BIOLAB
LABORATORIO CLINICO
RUC: 1900698992001

Lcdo. Diego Cruz Calle
LABORATORISTA CLÍNICO

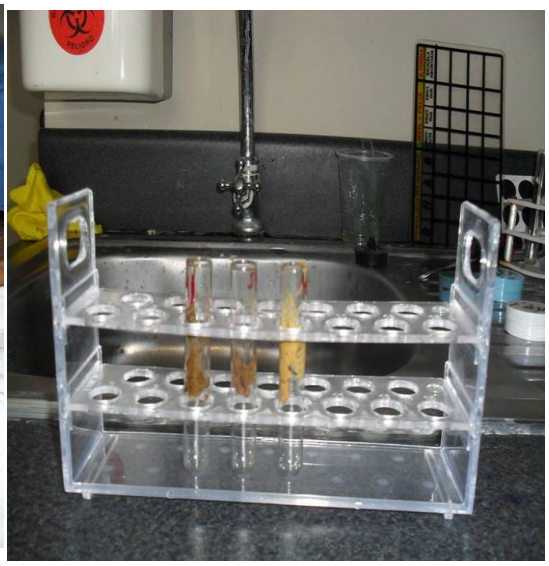
Dir: Calle 26 de Febrero entre Av. Iván Riofrío y José Arcentales (Diagonal a la entrada de Emergencia del Hospital)
Tlf. 2301 – 303 / Cel. 0990832384 Email: egodecruz@hotmail.com
YANTZAZA – ZAMORA CH. - ECUADOR

ANEXO.- 13

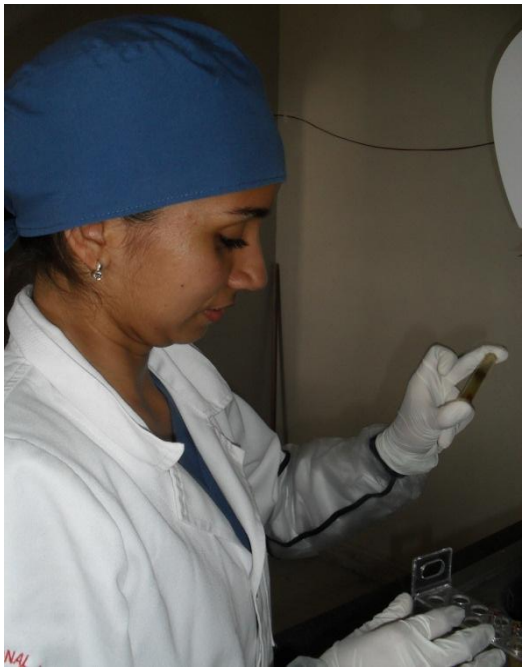
Recogida de la muestra **Etiquetando la muestra**

DETERMINACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI CON EL MÉTODO DE ELISA

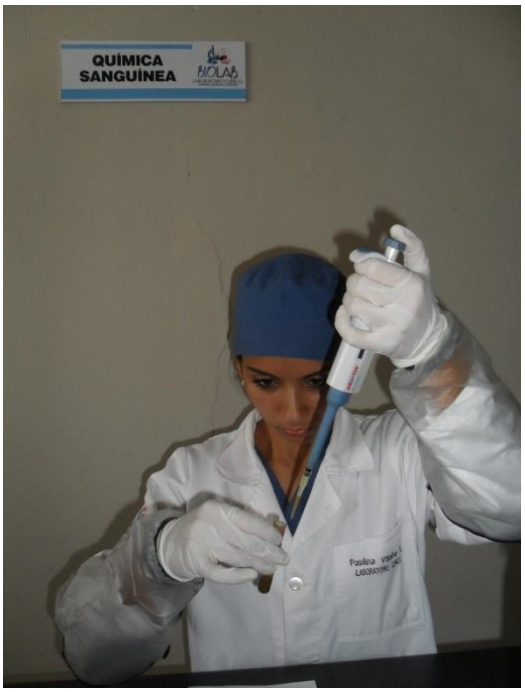
Colocando la muestra en el tubo **Muestras**



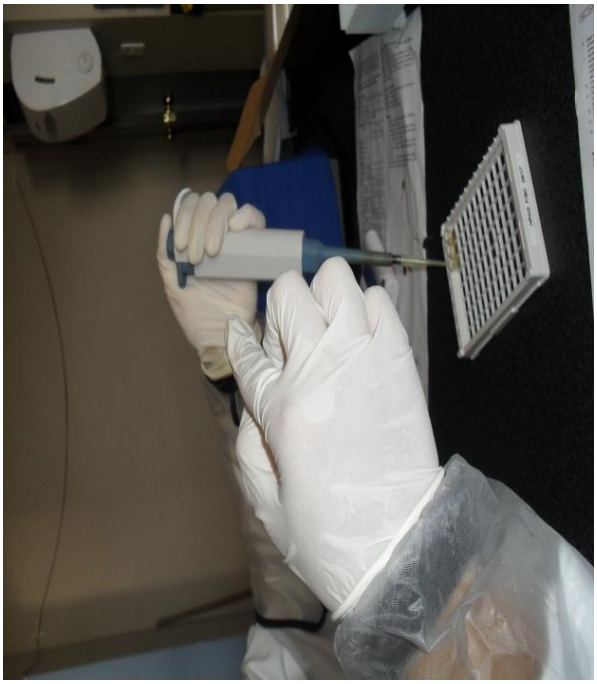
Colocar Diluyente **Mezclar**



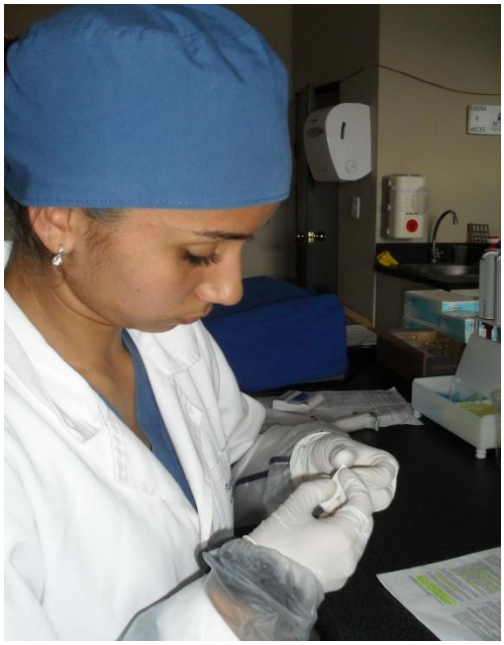
Muestra **Sobrenadante de la muestra**



Colocar en el pocillo **Reactivo Enzima Conjugada**



Mezclar la muestra **Tapar con el film adhesivo**



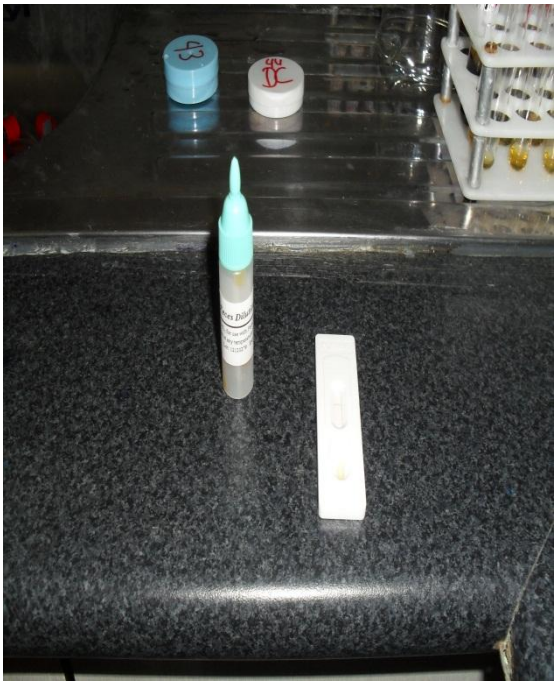
Incubar durante 120 minutos **Lavado**

Substrato **Incubar durante 30 minutos**

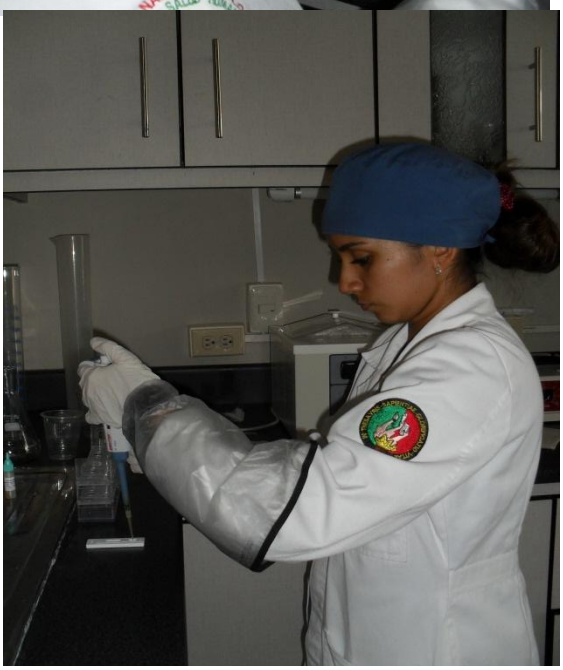
Aplicación de solución STOP **Lectura de las Muestras**

DETERMINACION DE HELICOBACTER PYLORI CON EL METODO INMUNOCROMATOGRAFICO

Test de reactivo **Muestra**



Dilución de la muestra **Depositar la muestra**



Entrega de Resultados

HOSPITALIZACION

12.ÍNDICE

CARATULA……. **I**

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR…….. **Ii**

AUTORÍA…… **iii**

CARTA DE AUTORIZACIÓN…….. **iv**

DEDICATORIA…….. **v**

AGRADECIMIENTO…….. **vi**

TITULO…… **7**

RESUMEN…….. **9**

SUMARY……. **11**

INTRODUCCIÓN…….. **12**

REVISIÓN DE LITERATURA…….. **16**

MATERIALES Y MÉTODOS……. **31**

RESULTADOS…… **35**

DISCUSIÓN……. **43**

CONCLUSIONES…….. **46**

RECOMENDACIONES……... **48**

BIBLIOGRAFÍA…….. **50**

ANEXOS……. **54**

INDICE……. **81**