



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

Evaluación de la eficiencia de las tinciones histoquímicas para la detección de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia 2013 - 2018

AUTOR:

Antonio José Espinoza Medina

ASESOR:

Dr. Jaime Cok García

LIMA – PERÚ
2020

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN.....	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. OBJETIVOS	6
III. MATERIAL Y MÉTODOS	7
IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	11
V. PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA	13
VI. ANEXOS	15

RESUMEN

Objetivo: Determinar la eficiencia de las tinciones especiales de histoquímica para detectar *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia, 2013-2018.

Tipo y diseño de estudio: Se trata de una propuesta de estudio observacional y transversal. La población estará conformada por todas las biopsias gástricas de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia, evaluadas mediante tinción de hematoxilina-eosina durante el periodo de enero de 2013 a diciembre de 2018 con diagnóstico histopatológico de gastritis crónica y ausencia de *Helicobacter pylori*, a pesar de presentar signos de “actividad inflamatoria”, es decir, presencia de neutrófilos y/o presencia de folículos linfoides, ya que estos signos son predictores de la presencia de *H. Pylori*. Motivo por el cual se realiza este estudio, ya que, a pesar de presentar este cuadro inflamatorio de fondo, en la biopsia no se encuentra el *H. pylori* con la coloración de H-E., tinción que se utiliza rutinariamente, por lo que se empleará otras tinciones para tratar de mejorar la detección

Se empleará la técnica documental ya que se recurrirá a fuentes de información secundaria como los reportes histopatológicos, de la cual se obtendrá datos requeridos para el estudio y el número del bloque de parafina para su reprocesamiento con las tinciones especiales de histoquímica (H-E, Warthin Starry, Giemsa, Genta) e inmunohistoquímica para su posterior interpretación y análisis.

Palabras clave: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), Histoquímica, Inmuno-histoquímica.

I. INTRODUCCION

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es un patógeno humano microaerofílico. La bacteria se ha implicado en enfermedades pépticas ácidas del estómago y el duodeno y la neoplasia del estómago [1]. *H. pylori* se ha detectado en individuos de todas las edades en todo el mundo y su prevalencia oscila entre el 20% y el 80% [2]. El descubrimiento incidental de esta bacteria por Marshall y Warren [3] en 1983, condujo a un cambio fundamental en nuestra comprensión de las enfermedades pépticas ácidas. Más tarde, en 2005, fueron galardonados con el “Premio Nobel de Medicina o Fisiología” por el descubrimiento de *H. pylori*. Esta bacteria es el principal factor etiológico para el desarrollo de la gastritis crónica, la úlcera péptica y el adenocarcinoma gástrico y se estima que infecta a casi la mitad de la población mundial [4].

H. pylori es la única bacteria que infecta la mucosa gástrica (con normoclorhidria o hiperclorhidria), no se comporta como un patógeno bacteriano clásico, debido a que el desarrollo de la enfermedad depende de una relación compleja entre patógeno, huésped y factores ambientales [5]. En las personas infectadas esta bacteria produce gastritis crónica; sin embargo, en la mayoría de casos la enfermedad cursa de modo asintomático. En menos del 20% de los casos con la infección, habrá manifestaciones clínicas, dadas por enfermedad ulcero-péptica (15%-18%) y en menor proporción, cáncer gástrico y linfoma MALT gástrico, 2%-3% y menos del 1% de los casos, respectivamente [6-7]. Su presencia en la mucosa gástrica es un factor de riesgo independiente para el desarrollo del cáncer gástrico. Estudios epidemiológicos han estimado que, en su ausencia, el 75% de los cánceres gástricos no existirían [7], siendo entonces considerado el agente causante más común de cáncer atribuible a infección y responsable del 5,5% de todos los cánceres a nivel mundial [8]. También se encuentra relacionada con patologías extra-gástricas, como enfermedades hematológicas, neurodegenerativas, hepáticas y coronarias [9-10]. Incluso, recientemente se ha afirmado acerca de su relación con la aparición de pólipos adenomatosos y cáncer de colon [11]. Por su participación en la etiología de diversos padecimientos clínicos, genera considerable morbimortalidad, causando impacto en la calidad de vida y en los sistemas de salud de la población, haciendo que su diagnóstico oportuno y tratamiento sean importantes tanto para atenuar la severidad de la enfermedad como para la prevención de cáncer gástrico [12].

Los métodos de diagnóstico son importantes por la necesidad de alcanzar la mayor certeza y el menor costo para la identificación y terapia de sujetos *H. pylori* -positivos por el riesgo que tienen de desarrollar cáncer gástrico.

Los métodos de diagnóstico de la infección por *H. pylori*, se clasifican en dos grupos: técnicas invasivas (prueba rápida de la ureasa, tinciones histológicas, cultivo y la reacción en cadena de la polimerasa) y técnicas no invasivas (la prueba del aliento, serología y detección de antígenos en heces fecales) [13]. 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 a obtener resultados falsos negativos. Por otra parte, 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 [14].

Tradicionalmente el diagnóstico se ha realizado a partir de la combinación de pruebas, tanto invasivas como no invasivas. Considerando el amplio espectro de métodos diagnósticos, en la práctica clínica bajo ciertas circunstancias se deberían utilizar aquellas pruebas con gran precisión diagnóstica con sensibilidad y especificidad mayores al 90%. [15].

El examen histopatológico es una de las pruebas de mayor utilidad y es considerado por algunos como el estándar de oro para la detección de *H. pylori*, es importante no sólo para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, sino fundamentalmente para determinar el nivel de daño hístico. Este examen brinda información sobre la presencia de polimorfonucleares y diagnostica la gravedad de la gastritis, metaplasia y/o de atrofia en el tejido analizado [16]. Así también *H. pylori* se considera como uno de los factores de riesgo más importante, en la patogenia de la gastritis crónica con hiperplasia folicular. Este tipo de gastritis produce una fuerte reacción inflamatoria, caracterizada por un denso infiltrado de células mononucleares principalmente monocitos y la formación de agregados o folículos linfoides con centro germinal. Estudios recientes sugieren que la inflamación persistente ocasionada por este tipo de gastritis puede incrementar el riesgo de desarrollar adenocarcinoma y linfomas del tejido linfoide asociado a las mucosas MALT (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue*). [17,18]

Las principales variables en el la detección del *H. pylori* son la experiencia del patólogo y el tipo de tinción que se emplee. Por otro lado, existen algunos factores específicos que disminuyen su sensibilidad, como son: la baja densidad de microorganismos y la desigual distribución de la bacteria en el estómago, esto último afecta por igual a todos los métodos directos de detección y, por tanto, se recomienda tomar varias biopsias para aumentar la sensibilidad de la técnica que se esté empleando [19].

La distribución de *H. pylori* en un mismo individuo a nivel gástrico puede variar debido a su capacidad de migrar dentro del estómago y adaptarse a cambios bioquímicos, influenciada por numerosos factores, entre ellos el uso de medicamentos moduladores de la bioquímica gástrica, principalmente los IBP (inhibidores de bomba de protones), por lo cual se recomienda discontinuarlos dos semanas antes de realizar endoscopia y tomar biopsia tanto de antro como cuerpo gástrico [20]. Para mayor precisión diagnóstica se recomienda la obtención de un mínimo de 3 biopsias a partir de 2 localizaciones diferentes a nivel gástrico, que incluyan al menos el antro y el cuerpo, las localizaciones específicas de estas tres serían a nivel de la curvatura mayor del cuerpo, a nivel de la curvatura mayor a nivel del antro y a nivel de la incisura angularis [21]. En un estudio canadiense, evaluaron pacientes respecto a localización de toma de biopsia gástrica y el uso de inhibidores de bomba de protones a la endoscopia, siendo 150 casos con biopsias tomadas tanto de antro como cuerpo gástrico, estos fueron seleccionados al azar para revisión patológica con tinciones especiales, se tomaron muestras de distintas regiones gástricas y se valoró la distribución de *H. pylori* y la influencia de factores clínicos en la interpretación patológica, confirmándose que el uso de IBP durante la realización de endoscopia contribuye a un diagnóstico falso negativo y que tomar biopsias gástricas de una sola región, aumenta la posibilidad de pasar por alto a la infección activa en por lo menos un 15% de los casos.[22]

Desde el descubrimiento de *H. pylori* los patólogos han utilizado distintas técnicas diagnósticas, que incluyen los métodos inmunohistoquímicos y las tinciones especiales, como Giemsa, Warthin-Starry y Genta dependiendo de la institución o laboratorio y con sensibilidades y especificidades variables para identificar a *H. pylori*. Sin embargo, la necesidad de usar tinciones especiales o métodos inmunohistoquímicos ha sido debatida en años recientes. Wang *et al.* Recientemente confirmaron que las tinciones especiales, específicamente las inmunohistoquímicas, no son costo-efectivas o necesarias [23]. Por otro lado, Smith y cols. Hace unos años, en un estudio retrospectivo en el cual se tuvo en cuenta 200 muestras de mucosa gástrica tomadas de forma consecutiva, corroboraron que *H. pylori* es fácilmente observado en la mayoría de casos en que se utiliza hematoxilina-eosina (Sensibilidad 91% y Especificidad 100%), permaneciendo como la más conveniente y menos costosa para

identificar a *H. pylori* en biopsias gástricas [24]. Por último, hay que considerar la coloración de Giemsa convencional es uno de los métodos más ampliamente utilizados. Las técnicas inmunohistoquímicas aumentan tanto la especificidad como la sensibilidad en el diagnóstico de la infección [25].

La coloración convencional del tejido con hematoxilina y eosina es la más ampliamente usada y recomendada para la detección de *H. pylori*, pero no ofrece muchas garantías, ya que a veces aparece muy tenue debido a la misma coloración o al moco y detritos circundantes. Por otro lado, *H. pylori* se identifica con facilidad gracias al procedimiento de coloración de Warthin Starry, que tiene la capacidad de resaltar las bacterias ocultas en el moco gástrico, debido al contraste de tonalidades (fondo amarillo parduzco), asimismo la coloración de Giemsa identifica fácilmente las bacterias debido a que tiñe de un azul uniforme frente al azul débil de fondo. Siendo esta última tinción considerada la más simple, rápida y de bajo costo según algunos estudios [26]. Otros estudios concluyen que la tinción con hematoxilina y eosina es un método barato de detección de *H. pylori*, pero con características de rendimiento de la prueba inferior a la de Giemsa, Genta, Warthin Starry e Inmunohistoquímica.

En el Hospital Cayetano Heredia se realiza la detección de *H. pylori* y sus lesiones asociadas por medio de análisis histológico obteniendo biopsias gástricas a través de endoscopia digestiva alta en el Servicio de Gastroenterología del Hospital. Las biopsias a su vez son procesadas en el servicio de anatomía patológica utilizando rutinariamente la tinción con hematoxilina-eosina, situación que se repite en la mayoría de servicios de patología en todo el país.

Razones por las cuales se ha decidido realizar este estudio es que, a pesar de presentar un cuadro inflamatorio de fondo que se asocia frecuentemente con la presencia de esta bacteria, en la biopsia no se encuentra el *H. pylori*, por lo que se empleará otras tinciones para tratar de mejorar la detección.

Por todo lo expuesto el presente estudio tiene una gran relevancia para detectar los resultados falsos negativos obtenidos con la coloración de H-E. Asimismo, se justifica en la práctica porque con el conocimiento adecuado, se podrán establecer protocolos de atención correctamente enfocados que beneficiarán a los pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia; porque si bien el *H. pylori* se presenta en todos los estratos sociales, los beneficiarios de sus resultados serán principalmente los sectores de bajos recursos económicos, porque se requiere establecer el costo beneficio de los métodos.

II. OBJETIVOS

Formulación del problema:

¿Cuál es la eficiencia de las tinciones histoquímicas para la detección de *H. pylori* en biopsias gástricas con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori* procedentes de pacientes del Hospital Cayetano Heredia, 2013 – 2018?

Objetivo General:

- Determinar la eficiencia de las tinciones histoquímicas para la detección de *H. pylori* en biopsias gástricas con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori* procedentes de pacientes del Hospital Cayetano Heredia, 2013 – 2018.

Objetivos Específicos:

- Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de las tinciones histoquímicas (H-E, Warthin-Starry, Giemsa, Genta) en las biopsias gástricas con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori*.
- Determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la inmunohistoquímica en biopsias gástricas con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori*.
- Determinar la probabilidad de que la identificación de *H. pylori* mediante H-E sea extrapolable, en comparación con la prueba de Warthin Starry, Giemsa, Genta e Inmunohistoquímica.
- Determinar la prevalencia de *H. pylori* según ciertas características demográficas como son grupos de edad, sexo.
- Determinar la prevalencia de *H. pylori* según la localización anatómica de la biopsia de estómago (incisura, antro, cuerpo)

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio:

El presente estudio será de tipo observacional, ya que el investigador no manipulará las variables, por el contrario, se limitará a observar y luego detectar la presencia de *H. pylori* con las diferentes tinciones histoquímicas (Hematoxilina – eosina, Warthin-Starry, Giemsa, Genta) e inmunohistoquímica en una determinada población. Asimismo, el estudio presentará un diseño descriptivo, retrospectivo y transversal.

Población: Biopsias gástricas con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori*, a pesar de presentar signos de “actividad inflamatoria”, es decir, presencia de neutrófilos y/o presencia de folículos linfoides, evaluadas mediante tinción de hematoxilina-eosina, procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia durante el periodo 2013-2018.

Unidad de Estudio: Muestra gástrica con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori*, a pesar de presentar signos de “actividad inflamatoria”, es decir, presencia de neutrófilos y/o presencia de folículos linfoides, evaluada mediante tinción de hematoxilina-eosina procedente de paciente atendido en el Hospital Cayetano Heredia durante el año 2013 al 2018.

Criterio de inclusión:

- Muestra gástrica proveniente de pacientes de cualquier edad.
- Muestra gástrica analizada en el Servicio de Anatomía Patológica del HCH.
- Muestra gástrica analizada en el periodo de enero de 2013 a diciembre de 2018.
- Muestra gástrica con diagnóstico de gastritis crónica y ausencia de *H. pylori* con signos de “actividad inflamatoria”, es decir, presencia de neutrófilos y/o presencia de folículos linfoides.

Criterios de exclusión

- Se excluirán todos aquellos informes anatomopatológicos inaccesibles o incompletos, así como aquellas muestras anatomopatológicas que fueron recolectadas y almacenadas de forma incorrecta en el periodo de estudio propuesto.

Tipo y técnica de muestreo:

El tipo de muestreo será probabilístico y la técnica de muestreo será el muestreo aleatorio simple.

Tamaño de la Muestra:

Según reportes del Hospital Cayetano Heredia aproximadamente al día existen 2 muestras, por lo que para el periodo de estudio se contará con un total de 3600 muestras, dato que será tomado como referencia para el presente estudio.

Para lo cual se realizó el cálculo mediante la fórmula del tamaño de muestra de población conocida. Resultando un tamaño de muestra de 144 casos para el periodo de estudio (Ver anexo 3).

Procedimientos

De la presentación y registro: en primer lugar, el protocolo de investigación será presentado a la oficina de recepción de la Facultad de Medicina de la UPCH. Posterior a ello será presentado a la Oficina de Apoyo a la Docencia e Investigación y así obtener la aprobación del proyecto y permisos necesarios para realizar la ejecución del estudio.

De la ejecución de la investigación: Se coordinará con el área de Archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Cayetano Heredia para la obtención de los informes anatomopatológicos de los pacientes cuyas biopsias gástricas hayan sido analizadas con diagnóstico de gastritis crónica negativa para *H. pylori*, a pesar de presentar signos de “actividad inflamatoria”, es decir, presencia de neutrófilos y/o presencia de folículos linfoides, durante el periodo de enero del 2013 a diciembre de 2018. Posterior a ello, se iniciará el proceso de recolección de datos, el cual estará a cargo del investigador, garantizando así la veracidad de la información obtenida. Luego se procederá con el acopio de información registrada en la ficha de recolección de datos y a la búsqueda de los bloques de parafina para su reprocesamiento el que consistirá en la extracción de cortes histológicos para la aplicación de las tinciones de histoquímica (Hematoxilina-eosina, Warthin-Starry, Giemsa, Genta) e Inmunohistoquímica para su posterior interpretación y análisis.

Técnica e instrumento:

La técnica de recolección de datos será la documentación (revisión de fuentes secundarias) y la herramienta a emplearse será la ficha de recolección de datos basada en los objetivos de estudio, la operacionalización de variables y los antecedentes bibliográficos. Esta ficha estará conformada por 2 secciones, las cuales contienen:

1. Características generales: se registrará la edad del paciente, sexo, antecedente de infección por *H. pylori* y la procedencia de la biopsia gástrica.
2. Características histopatológicas: contiene las variables principales de estudio, estas son: inflamación crónica, folículos linfoides, metaplasia, identificación de *H. pylori*.

Plan de análisis:

En el análisis estadístico se consideraron medidas descriptivas como la frecuencia relativa y la absoluta, así como medidas de tendencia central y de dispersión. Además de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo de cada test diagnóstico de *H. pylori*.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	CRITERIOS DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS
Características generales	Edad	Cantidad de años que un ser vivo ha vivido desde su nacimiento.	Encuesta	Cuantitativa	Discreta	--	Años
	Sexo	Condición biológica que distingue a las personas en hombres y mujeres.	Encuesta	Cualitativa	Nominal	--	Femenino Masculino
Características histopatológicas	Inflamación crónica	Infiltración de células mononucleares: linfocitos, células plasmáticas	Resultado de la observación microscópica de la muestra gástrica	Cualitativa	Nominal	Leve, Moderado, Severo	Si (presencia) No (ausencia)
	Actividad	Infiltración de células inflamatorias agudas: polimorfonucleares	Resultado de la observación microscópica de la muestra gástrica.	Cualitativa	Nominal	Leve, moderado Severo.	Si (presencia) No (ausencia)
	Folículos Linfoides	Presencia de Acúmulos linfoides con o sin centro germinal.	Resultado de la observación microscópica de la muestra gástrica.	Cualitativa	Nominal	Folículo primario, folículo secundario.	Si (presencia) No (ausencia)
	Metaplasia	Presencia de epitelio de tipo intestinal en las biopsias de mucosa gástrica. De tipo completo o incompleto de acuerdo a la presencia o no de chapa estriada.	Resultado de la observación microscópica de la muestra gástrica	Cualitativa	Nominal	Completa (Intestinal) y/o Incompleta (colónica).	Si (presencia) No (ausencia)
	Identificación de <i>H. pylori</i>	Bacteria espiralada, gram negativa, microaerófila	Resultado de la observación microscópica de la muestra gástrica	Cuantitativa	discreta	Una cruz (+), dos cruces (++) , tres cruces (+++) *	Si (presencia) No (ausencia)

*Estudio Dr. Cok et al. Definiciones operacionales para determinar la densidad de *Helicobacter pylori*. [27]

Aspectos Éticos

Para el desarrollo de la investigación se tomarán en cuenta los siguientes aspectos éticos:

- El diseño retrospectivo del estudio no requiere la participación directa de los pacientes, ya que la técnica de recolección se basará en la revisión de reportes histopatológicos de cada paciente y la manipulación de los bloques correspondientes de dichas biopsias para ser nuevamente reprocesadas, esto implica realizar nuevos cortes para realizar las coloraciones de histoquímica correspondiente, así como la tinción de inmunohistoquímica. Para lo cual no será necesaria la firma de un consentimiento informado.
- Para salvaguardar la confidencialidad de la información, no se registran datos personales (nombres, apellidos), la identificación de cada paciente será a través de códigos.
- Por último, de llegar a una fase de publicación en una revista o medio electrónico, nadie ajeno a la investigación tendrá acceso a la información recolectada.

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 2007 Aug; 133(2):659-672.
2. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiol Rev*. 1991;13:42–59.
3. Parsonnet J. Clinician-discoverers--Marshall, Warren, and *H. pylori*. *N Engl J Med* 2005; 353: 2421-2423 .
4. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983;1:1273–1275.
5. Dorer MS, Talarico S, Salama NR. *Helicobacter pylori*'s unconventional role in health and disease. *PLoS Pathog*. 2009;5(10):e1000544.
6. Otero W, Gómez M, Castro D. Carcinogénesis gástrica. *Rev Col Gastroenterol*. 2009;24(3):314-329.
7. Herrera V, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(11):971-976.
8. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005;55(2):74-108.
9. Ekström P. Non-gastric effects of *H. pylori* infection: a literature review with respect to non-gastric diseases which might be associated with *H. pylori* infection. *Eur J Surg* 1998;164(582):32-34.
10. Papagiannakis P, Michalopoulos C, Papalexi F, Dalampoura D, Diamantidis MD. The role of *Helicobacter pylori* infection in hematological disorders. *Eur J Intern Med*.2013;24(8):685-690.
11. 8. Sonnenberg A, Genta RM. *Helicobacter pylori* is a risk for colonic neoplasms. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(2):208-215.
12. Lu H, Xiao SD. New ideas for future studies of *Helicobacter 2pylori*. *J Dig Dis*. 2014;15(1):1-4.
13. Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Vaira D. Non-invasive techniques for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2003; 9:489-496.
14. Bayerdorffer E, Oertel H, Lehn N, Kasper G, Mannes GA, Sauerbruch T et al. Topographic association between active gastritis and *Campylobacter pylori* colonisation. *J Clin Pathol*. 1989; 42:834-839.
15. Lopes AI, Vale FF, Oleastro M. *Helicobacter pylori* infection—recent developments in diagnosis. *World J Gastroenterol*.2014;20(28):9299-313.
16. Faigel DO, Furth EE, Childs M, Goin J, Metz DC. Histological predictors of active *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci*. 1996; 41:937-43.
17. Garg B, Sandhu V, Sood N, Sood A, Malhotra V. Histopathological analysis of chronic gastritis and correlation of pathological features with each other and with endoscopic findings. *Pol J Pathol*. 2012;63(3):172-8. <https://doi.org/10.5114/pjp.2012.31501>.
18. -Ramírez A, Sánchez R. *Helicobacter Pylori* y Cáncer Gástrico. *Rev Gastroenterol Perú*. 2008;28:258-266
19. Fawcett PT, Vinette KM, Gibney KM, Proujansky R. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC Microbiol*. 2004; 4:5-10.
20. Kanna S, Maradey-Romero C, Fass R. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Endosc News*.2013;11(Special edition):51-8.
21. El-Zimaity HM. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori* with biopsy. *Gastroenterol Clin North Am*. 2000;29(4):863-9.

22. El-Zimaity H, Serra S, Szentgyorgyi E, Vajpeyi R, Samani A. Gastric biopsies: the gap between evidence-based medicine and daily practice in the management of gastric *Helicobacter pylori* infection. *Can J Gastroenterol*. 2013;27(10): e25-30.
23. Wang XI, Zhang S, Abreo F, Thomas J. The role of routine immunohistochemistry for *Helicobacter pylori* in gastric biopsy. *Ann Diagn Pathol*. 2010;14(4):256-9.
24. Smith SB, Snow AN, Perry RL, Qasem SA. *Helicobacter pylori*: to stain or not to stain? *Am J Clin Pathol*. 2012;137(5):733-8.
25. Tonkic A, Tonkic M, Lehours P, Mégraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2012;17(Suppl. 1):1-8.
26. Kolts BE, Joseph B, Achem SR, Bianchi T, Monteiro C. *Helicobacter pylori* detection: a quality and cost analysis. *Am J Gastroenterol*. 1993; 88:650-5.
27. Ana M., Jaime Cok Garcia. Alejandro B. *Helicobacter Pylori* en niños atendidos en el hospital Cayetano Heredia durante los años 2003 al 2006, *Revista de Gastroenterología del Peru* Jun 2008. Vol 28.

V. PRESUPUESTO Y CRONOGRAMA

Presupuesto

Recursos	Materiales	Cantidad	Costo/unidad	Costo total
BIENES	Papel bond A4	1 millares	S/. 20.00	S/. 20.00
	Fólderes	4 unidades	S/. 0.70	S/. 2.00
	Lápiz	1 cajas	S/. 10.00	S/. 10.00
	Archivador	2 archivadores	S/. 7.50	S/. 15.00
	Tablero	2 unidades	S/. 6.50	S/. 13.00
	Otros bienes	-	-	-
SERVICIOS	Movilidad local	-	-	S/. 300.00
	Telefonía celular	-	-	S/. 100.00
	Fotocopias e Impresiones	-	-	S/. 150.00
	Tinción histoquímica x 4	144	S/. 20.00	S/. 11,520.00
	Inmunohistoquímica	144	S/. 90.00	S/. 12,960.00
HONORARIOS DEL PERSONAL	Estadístico	-	S/. 900.00	S/. 900.00
	Recolector de datos	-	S/. 350.00	S/. 350.00
	Digitador	1 mes	S/. 250.00	S/. 250.00
	Tecnólogo médico	1mes	S/.900,00	S/. 900.00
			TOTAL	S/. 27,590.00

- El reprocesamiento y corte de las muestras se realizará mediante financiamiento externo (fondo concursable) ya que se requiere el uso de facilidades de un laboratorio que cuente con los equipos y reactivos adecuados.

Cronograma

N°	ACTIVIDADES	2019											
		ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC
1	Revisión bibliográfica	X											
2	Elaboración del proyecto	X											
3	Revisión del proyecto	X											
4	Presentación de autoridades	X											
5	Búsqueda de financiamiento		X	X	X								
6	Preparación del material de trabajo		X	X	X								
7	Selección de la muestra			X	X	X	X						
8	Recolección de datos			X	X	X	X	X					
9	Verificación de información					X	X	X					
10	Evaluación de la ejecución						X	X					
11	Procesamiento de inmuno-histoquímica							X	X				
12	Tabulación de datos							X	X	X			
13	Codificación y preparación de datos para análisis.										X		
14	Análisis e interpretación										X		
15	Redacción informe final											X	X
16	Impresión y presentación de informe final												X

ANEXO 1
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Evaluación de la eficiencia de las tinciones de histoquímica para la detección de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia 2013-2018.

Fecha: ___/___/___

ID: _____

1. Características generales:

- Fecha de nacimiento: Día
Mes
Año

- Edad del paciente: _____ años cumplidos.

- Sexo: Hombre
Mujer

- Antecedente de Infección por *H. pylori*: Si
No

- N° de Biopsia Gástrica:

- Biopsia Gástrica de: Antro Incisura
Cuerpo

- Informe anatomopatológico previo:

ANEXO 2
FICHA DE REGISTRO DE OBSERVACION

Evaluación de la eficiencia de las tinciones de histoquímica para la detección de Helicobacter pylori en biopsias gástricas procedentes de pacientes atendidos en el Hospital Cayetano Heredia 2013-2018.

Fecha: ____/____/____

ID: _____

1.- Características Histopatológicas:

- Inflamación crónica: Leve_____ Moderada _____ Severa _____
- Actividad (neutrófilo): Leve_____ Moderada_____ Severa_____
- Metaplasia: Completa_____ %
Incompleta_____ %
- Folículos Linfoides (1arios, 2darios, #):

2.-Tinciones:

Helicobacter pylori	Negativo	+	++	+++
Hematoxilina Eosina				
Warthin Starry				
Giemsa				
Genta				
Inmunohistoquímica				

ANEXO 3

Formula para el cálculo de la muestra con población conocida

Formula:

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

Dónde:

Tamaño de Población:	N=3600
Nivel de Confianza (95%):	Z _α =1.96
Prevalencia de la enfermedad:	p=0.5
Prevalencia sin enfermedad:	q=0.5
Error de precisión:	d=0.08
Tamaño de la Muestra	n = 144