

# “MÉTODO DE COLORACIÓN GIEMSA Y WARTHIN STARRY PARA IDENTIFICAR HELICOBACTER PYLORI EN BIOPSIAS GÁSTRICAS”

## " GIEMSA AND WARTHIN STARRY COLORING METHOD TO IDENTIFY HELICOBACTER PYLORI IN GASTRIC BIOPSIES "

Vásconez. N Diana \*; Lozada. N Janet†

\*†Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias de la Salud Ambato, Ecuador,  
diana\_vazn@hotmail.com

**Resumen:** El objetivo de la investigación fue comparar los resultados obtenidos entre los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry en la identificación de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsias gástricas en el Hospital IESS Ambato. Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo con una modalidad transversal y de campo con 50 muestras de biopsias gástricas de pacientes menores a 65 años que acudieron al área de gastroenterología en el período Enero-Junio del 2016, teniendo como resultados que de las 30 pruebas confirmadas con *Helicobacter pylori*, el 60% fueron identificadas por el método de coloración Giemsa, mientras que el 100% se identificaron con el método de coloración Warthin Starry. Se realizó la comprobación de la hipótesis, por medio de Chi Cuadrado, dando como resultado 57.21 y una significancia de 0.01, por lo cual se acepta la hipótesis alterna: “Existe concordancia entre los resultados obtenidos por el método de coloración Giemsa y Warthin Starry en la identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias de muestras gástricas”. Se estableció al método de coloración Warthin Starry como el más confiable y como el método de coloración de rutina para la identificación de este microorganismo. Palabras clave: *Helicobacter pylori*, Biopsia, Método de Coloración Giemsa, Método de Coloración Warthin Starry.

**Abstract:** The objective of the research was to compare the results obtained between the Giemsa and Warthin Starry staining methods in the identification of *Helicobacter pylori* in samples of gastric biopsies at the IESS Ambato Hospital. A retrospective, descriptive study with a cross-sectional and field study was carried out with 50 samples of gastric biopsies from patients under 65 years old who went to the gastroenterology area in the period January-June 2016, with the results of 30 confirmed tests With *Helicobacter pylori*, 60% were identified by the Giemsa staining method, while 100% were identified with the Warthin Starry staining method. We checked the hypothesis by means of Chi Square, resulting in 57.21 and a significance of 0.01, for which the alternative hypothesis is accepted: "There is concordance between the results obtained by the Giemsa and Warthin Starry coloration method in The identification of *Helicobacter pylori* in biopsies of gastric samples ". The Warthin Starry coloring method was established as the most reliable and as the routine coloring method for the identification of this microorganism. Key words: *Helicobacter pylori*, Biopsy, Giemsa Coloring Method, Warthin Starry Coloring Method.

## 1. INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* es una bacteria patógena gram negativa de forma espiral y móvil. Su estudio inició desde 1983 por Warren y Marshall en muestras de biopsias de antro en agar chocolate e incubado a condiciones microaerofílicas. [1]

Es importante reconocer que la presencia de *Helicobacter pylori* en el tracto gastrointestinal se encuentra relacionado con diferentes patologías gastrointestinales. Es el principal causante de daño gástrico y duodenal progresivo. [2]

Estudios realizados por la OMS indican que más del 50% de la población mundial presenta una infección por este microorganismo. En Ecuador la infección por *Helicobacter pylori* es un problema de salud importante, ya que de acuerdo con el INEC su prevalencia es de más del 50% de la población. [3]

Dentro de la Provincia de Tungurahua no existen estadísticas totales sobre los casos de infección por *Helicobacter pylori*, sin embargo se encuentra en el segundo lugar en cuanto al cáncer gástrico de acuerdo a SOLCA Tungurahua. [4]

Los métodos utilizados para la detección de *Helicobacter pylori* son invasivos y no invasivos. Dentro de los invasivos se encuentra el estudio Histopatológico en muestras de biopsias gástricas, existen numerosas coloraciones propuestas para el estudio de este microorganismo: Giemsa, Hematoxilina-Eosina, Alcian Blue, PAS y Warthin Starry. [5]

El Método de coloración Giemsa permite diferenciar zonas con un alto contenido de ADN, por tal motivo se puede distinguir perfectamente con el microscopio óptico el núcleo celular, los cromosomas durante la mitosis, y en algunos casos, el ADN mitocondrial. [6]

Warthin Starry es un método de coloración basado en nitrato de plata y utilizado para la identificación de Espiroquetas y microsporidias. Se puede observar al *Helicobacter pylori* como un bacilo curvo de color negro con un fondo amarillo que corresponde a las células del epitelio gástrico. El propósito del presente proyecto además de facilitar y aumentar la precisión del trabajo del médico patólogo la visualización e identificación del microorganismo, quiere

también disminuir el tiempo promedio de espera de los pacientes con respecto a la entrega de sus resultados. [7]

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 Nivel y Tipo de Investigación

Es una investigación retrospectiva con una modalidad transversal, porque se realizó en muestras de biopsias gástricas que se encuentran archivadas en el Servicio de Patología del Hospital IESS Ambato, referentes al periodo Enero-Junio del 2016, presentó un enfoque predominantemente cualitativo, debido a que durante el proceso riguroso y sistémico de investigación, se confirmó la infección por *Helicobacter pylori*, el tipo de investigación fue descriptiva porque se detallaron los datos y características de los dos métodos de coloración.

De campo, porque la información se obtuvo directamente de las Historias Clínicas y de los archivos del Laboratorio de Patología para obtener resultados que ayudaran a solucionar el problema de la investigación.

Documental-bibliográfica por que se utilizó información científica de libros, artículos, revistas y publicaciones con el propósito de ampliar y profundizar las diferentes teorías, enfoques y conceptualizaciones del tema de investigación.

### 2.2 Población

La población considerada fue de 50 muestras de biopsias gástricas de pacientes que acudieron al servicio de gastroenterología del Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social Ambato, para la realización de endoscopias altas, y que fueron enviadas al Laboratorio de Patología de la misma institución, en el periodo Enero-Junio del 2016.

#### *Criterios de Inclusión:*

- Muestras de biopsias gástricas de pacientes menores a 64 años, que resultaron positivas y negativas a la identificación de *Helicobacter pylori* con el método de coloración Giemsa.
- Muestras de biopsias gástricas de pacientes menores a 64 años, que resultaron positivas y negativas, y que se realizaron *Helicobacter pylori* en heces para confirmar.
- Muestras de biopsias gástricas, que fueron diagnosticadas con Gastritis atrófica activa folicular, Metaplasia Intestinal Completa e Incompleta.

*Criterios de Exclusión:*

- Muestras de biopsias gástricas de pacientes con antecedentes de cáncer gástrico o intestinal.
- Muestras de biopsias gástricas mal codificadas o con información incompleta.
- Muestras de biopsias gástricas de pacientes mayores de 65 años, debido que a esa edad el *Helicobacter pylori* usualmente migra hacia el fondo del estómago lugar a donde no llega la endoscopia digestiva para la obtención de la muestra.

*2.3 Muestra*

El tipo de muestreo que se utilizó en el proyecto de investigación fue probabilístico; la muestra estudiada es finita de 50 pacientes que corresponde al objeto de estudio.

*2.4 Procedimiento*

*Coloración Warthin Starry:*

1. Precalear los reactivos a 50°C
2. Mezclar en un tubo 2 mL de la solución 1 y 2 mL de la solución 2
3. Colocar las placas desparafinizadas en una canastilla.
4. Llevar la canastilla a Neoclear (1) por 5 minutos.
5. Llevar la canastilla a Neoclear (2) por 5 minutos.
6. Llevar la canastilla a Neoclear (3) por 5 minutos.
7. Poner en el Alcohol de 100° y sacudir 20 veces.
8. Poner en el Alcohol de 96° y sacudir 20 veces.
9. Poner en el Alcohol de 75° y sacudir 20 veces.
10. Hidratar los cortes con agua destilada
11. Colocar 2 mL de la mezcla de la solución preparada y colocar en una caja Petri durante 2 horas en la estufa a 60°C.
12. Eliminar un poco de la solución de las placas y colocar 2 mL de la solución 3 precalentada y esparcirla uniformemente por toda la placa para que se revele la coloración.
13. Lavar las placas en agua destilada.
14. Colocar las placas en la canastilla y poner en el alcohol de 90 grados por 5 minutos.
15. Llevar la canastilla a Neoclear por 5 minutos.
16. Dejar secar las placas.
17. Realizar el montaje de las placas, con precaución de que no quede burbujas.

*Coloración Giemsa:*

1. Colocar las placas desparafinizadas en una canastilla
2. Llevar la canastilla a Neoclear (1) por 5 minutos.
3. Llevar la canastilla a Neoclear (2) por 5 minutos.
4. Llevar la canastilla a Neoclear (3) por 5 minutos.
5. Poner en el Alcohol de 100° y sacudir 20 veces.
6. Poner en el Alcohol de 96° y sacudir 20 veces.
7. Poner en el Alcohol de 75° y sacudir 20 veces.
8. Lavar las placas en agua destilada
9. Colocar las placas en una bandeja y colocar el reactivo Giemsa (dos gotas en cada placa). Esperar 5 minutos.
10. Lavar con agua corriente hasta que el agua salga clara.
11. Colocar las placas en la canastilla y poner en el alcohol de 90 grados por 5 minutos.
12. Llevar la canastilla a Neoclear (4) por 5 minutos.
13. Llevar la canastilla a Neoclear (5) por 5 minutos.
14. Llevar la canastilla a Neoclear (6) por 5 minutos.
15. Dejar secar las placas.
16. Realizar el montaje de las placas, con precaución de que no quede burbujas.

**3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El *Helicobacter pylori* es el agente etiológico de ciertas patologías, que pueden causar infecciones persistentes en el tracto gastrointestinal. Se han realizado varias investigaciones en relación a su diagnóstico histopatológico en las que se han empleado métodos de coloraciones diferentes. [8]

Marín, Rita y cols. En un estudio publicado en la revista médica de Costa Rica y Centroamérica: "Identificación histológica de *Helicobacter pylori* por los métodos de tinción de Warthin Starry y Giménez en biopsias gástricas", señala que el objetivo fue comparar la especificidad y la sensibilidad de dos tinciones histológicas diferentes (Warthin-Starry y Giménez), en pacientes que asistieron al servicio de Gastroenterología del Hospital Max Peralta de Cartago por presentar síntomas dispépticos. Los métodos utilizados para la detección de *H. pylori* se basan en la identificación de los microorganismos con

apropiada morfología, localización y características de tinción en las muestras de mucosa gástrica, el cuál concluye: en biopsias gástricas teñidas con hematoxilina-eosina y gram, la bacteria se observa muy borrosa y puede ser enmascarada por la presencia de moco superficial, siendo menos sensible, por lo que la visualización microscópica no es fiable para dar un diagnóstico. [9] En la tinción Giménez es un método que utiliza fucsina carbónica con verde de malaquita como tinción de contraste, las bacterias se tiñeron de color fucsia contra un fondo azul verdoso y la sensibilidad obtenida fue un 97% y una especificidad de 78%. Por el otro lado, con la tinción Warthin Starry se observan bacilos curvos de color negro contra un fondo amarillo. Los microorganismos parecen más largos que con las otras tinciones y pueden ser vistos a baja magnificación, además de presentar una sensibilidad de 97% y una especificidad de 85%, útil para la detección del microorganismo. [10]

Gisbert, Javier en su artículo publicado en Madrid: “Infección por *Helicobacter pylori*: Tratamiento y Erradicación”, describe que esta bacteria es la principal causante de la enfermedad ulcerosa gastroduodenal, además de ser un cofactor importante en el desarrollo de adenocarcinoma y linfoma gástrico, por lo que su identificación es necesaria para su posterior tratamiento. Clasifica los métodos de detección en directos e indirectos. Los directos se basan en la visualización directa del microorganismo mediante el estudio (Histopatológico, cultivo y test rápido de ureasa) en muestras de biopsias gástricas, mientras que los métodos indirectos se basan en el estudio de las características producidas por la bacteria (Test de urea en el aliento y serología). [11]

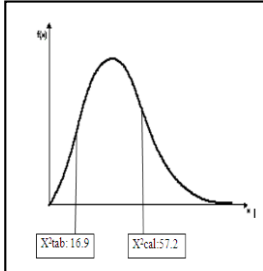
En esta investigación de las 30 pruebas confirmadas de presentar *Helicobacter pylori*, el 60% fueron identificadas por el método de coloración Giemsa, mientras que el 100% de las muestras fueron identificadas, utilizando el método de coloración Warthin Starry que coincide con la investigación “Comparación de coloraciones histológicas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*”, realizada por Giugni Cristina y cols. En la que menciona: Las patologías gastroduodenales más prevalentes que se asocian a una infección por *Helicobacter pylori*, son la úlcera péptica y gastritis crónica, por lo que su correcta

identificación es de gran importancia. Los resultados de la investigación demuestran que las tinciones Hematoxilina-Eosina, Alcian Blue, Gram, PAS y Brown-Hopps presentan una buena sensibilidad, sin embargo se observa a la bacteria coloreada débilmente, mientras que con la tinción Warthin Starry la bacteria se observa de una forma clara y bien definida, debido a que la plata, componente principal de la tinción, precipita sobre la membrana de la bacteria, dándole una apariencia más gruesa y más fácil de identificar, gracias al claro contraste entre el ennegrecimiento de los bacilos y la mucina y las células epiteliales amarillo-doradas, presentando un 98% de sensibilidad y especificidad. [12]

Con los datos obtenidos de este proyecto de investigación se determinó que la relación que existe entre los dos métodos de coloración (Giemsa y Warthin Starry) es significativa, ya que realizados los cálculos respectivos se obtuvo un Chi cuadrado tabular crítico de 16,9, p a un nivel de significancia del 0.05 y un Chi Cuadrado calculado de 57.21, rechazándose la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alterna que señala: Existe concordancia entre los resultados obtenidos por el método de coloración Giemsa y Warthin Starry en la identificación de *Helicobacter pylori* en biopsias de muestras gástricas.

TABLA 1: Test Chi Cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (2 caras)
Chi-cuadrado de Pearson	57,212	9	,000
Razón de verosimilitud	60,725	9	,000
Asociación lineal por lineal	35,400	1	,000
N de casos válidos	50		



#### 4. CONCLUSIONES

- Se comparó los resultados obtenidos en la identificación de *Helicobacter pylori* entre el método de coloración Giemsa y Warthin Starry y se propuso como método de coloración de rutina para la identificación de *Helicobacter pylori* al método de coloración Warthin Starry,

debido a que este método de coloración identificó el 100% de las muestras confirmadas de presentar una infección por esta bacteria, mientras que el método de coloración Giemsa identificó el 60%, sin embargo se estableció a este método como un método de coloración complementario para el estudio de muestras histopatológica porque además de identificar al microorganismo, permite identificar características celulares de la mucosa gástrica.

- Se evaluó los procedimientos y resultados en la aplicación de los métodos de coloración Giemsa y Warthin Starry de acuerdo con las técnicas MK y SM respectivamente, además del cumplimiento de los aspectos de la lista de cotejo, donde se describe la adecuada temperatura para el almacenamiento de los reactivos, la desinfección del área de trabajo, la correcta codificación y conservación de las muestras, el cumplimiento con la técnica establecida según la casa comercial y la adecuada codificación de las placas, logrando facilitar la identificación de *Helicobacter pylori*, en menor tiempo y entregar los resultados de manera oportuna para su posterior tratamiento y erradicación.

## 5. REFERENCIAS

- [1] Alba R. HELICOBACTER PYLORI: Clínica, Diagnóstico y Tratamiento. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 29. Available from: [http://med.unne.edu.ar/revista/revista158/3\\_158.htm](http://med.unne.edu.ar/revista/revista158/3_158.htm).
- [2] Ávilla C, Basurto G, García E, Reyes Adriana. Scielo. [Online].; 2011 [cited 2016 Diciembre 23. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v43n2/a07v43n2.pdf>.
- [3] Bartel JS, Evereff D. Ncbi.nlm. [Online].; 2012 [cited 2017 Enero 22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2406850>.
- [4] Cáncer Gástrico. Reporte. Quito-Ecuador: Sociedad Oncológica de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA), Departamento de Gastroenterología. [Online].; 2012 [cited 2017 Enero 16. Available from: <http://www.solcaquito.org.ec/index.php/publicaciones/epidemiologia/cancer-en-quito-2006-2010>.
- [5] Castro M, Vargas J. Scielo. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 27. Available from: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082009001100001&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1130-01082009001100001&script=sci_arttext&tlng=es).
- [6] Camacho J. Úlcera Péptica. Gastroenterología. Revista Medica de Costa Rica y Centroamerica. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 28. Available from: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/609/art21.pdf>.
- [7] Contreras R. Tinción Giemsa. [Online].; 2015 [cited 2017 Enero 29. Available from: <http://biologia.laguia2000.com/tecnicas-en-biologia/tincion-giemsa>.
- [8] De Argilia C, Boixeda D. Elsevier. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 25. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-consideraciones-practicas-el-diagnostico-infeccion-13019298>.
- [9] Gisbert J. Aegastro. [Online].; 2014 [cited 2017 Enero 22. Available from: [http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/19\\_Infeccion\\_por\\_Helicobacter\\_pylori.pdf](http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/19_Infeccion_por_Helicobacter_pylori.pdf).
- [10] Guigni C, Graciani, Jiménez F, Roldán J. Revista FABICID. [Online]. 2010 [cited 2016 Diciembre 23. Available from: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FABICIB/article/viewFile/611/763>.
- [11] Hernández F, Rivera P, Sigarán M. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Scielo. [Online].; 2013 [cited 2017 Enero 26. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46651991000100015](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651991000100015).
- [12] Ortega J. Scielo. [Online].; 2015 [cited 2017 Diciembre 22. Available from: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=>

[sci\\_arttext&pid=S0034-98872010000500001.](#)