



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGIA MÉDICA

ESPECIALIDAD LABORATORIO CLINICO E HISTOPATOLOGICO

TITULO DE LA TESINA

**“CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE HELICOBACTER PYLORI ENTRE LOS MÉTODOS DE INMUNOCROMATOGRAFÍA Y ELISA COMO AYUDA DE DIAGNOSTICO DE GASTRITIS EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DEL INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA”**

TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE LICENCIADOS EN LABORATORIO CLINICO E HISTOPATOLOGICO.

AUTORES

EDUARDO PATRICIO HEREDIA HEREDIA

CARLA ESTEFANIA ROMERO GAVINO

TUTORA

DRA. PATRICIA MIÑO

RIOBAMBA, OCTUBRE DEL 2010



**HOJA DE APROBACION**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

ESPECIALIDAD LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

**TEMA: “CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS PRUEBAS DE HELICOBACTER PYLORI ENTRE LOS MÉTODOS DE INMUNOCROMATOGRAFÍA Y ELISA COMO AYUDA DE DIAGNÓSTICO DE GASTRITIS EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DEL INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA”**

**Tesina de grado previo a la obtención del título de licenciados en laboratorio clínico e histopatológico. Aprobada, ratificada y firmada por los miembros del tribunal.**

<b>PRIMER MIEMBRO</b>	<b>NOTA.....</b>	<b>FIRMA.....</b>
<b>SEGUNDO MIEMBRO</b>	<b>NOTA.....</b>	<b>FIRMA.....</b>
<b>TERCER MIEMBRO</b>	<b>NOTA.....</b>	<b>FIRMA.....</b>

.....

**NOTA FINAL**

## **ACEPTACION DEL TUTOR (A)**

Por la presente hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de grado presentado por Eduardo Heredia y Carla Romero para optar al título de Licenciados en Laboratorio Clínico e Histopatológico, y que acepto asesorar a los estudiantes en calidad de tutora, durante la etapa de desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, Octubre del 2010

Dra. Patricia Miño

.....

Nombre y Firma de la Tutora

## **RESUMEN**

Este tema fue seleccionado porque se identificó el problema que es de mucho interés e importancia para los pacientes que sufren de Gastritis o alguna otra patología gastrointestinal causada por el factor principal de este análisis que es *Helicobacter Pylori*, que es una bacteria pequeña de forma espiral que se aloja en la superficie del estomago y duodeno. Luego de la aprobación del respectivo tema a investigar, se procedió a recolectar datos estadísticos del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social realizado por el método de ELISA y también por el método de Inmunocromatografía de modo autofinanciado, para poder correlacionar los dos métodos utilizados. A continuación se elaboro las paginas preliminares, posterior a ello se realizó una investigación de tipo bibliográfico elaborando de esta manera un marco referencial que consta del planteamiento del problema y formulación del problema; la elaboración de los objetivos tanto el general como los específicos y la justificación. Continua con el marco teórico definido, explicando el funcionamiento del aparato digestivo y la forma en la que actúa la bacteria dentro del aparato así también, saber cómo determinar por medio de los dos métodos desde el más simple que es Inmunocromatográfico al más complejo ELISA dando resultados de forma cualitativa y cuantitativa respectivamente. Todo esto en un lugar de investigación privilegiado como es el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social de Riobamba, en relación a los doscientos cuarenta pacientes que se realizaron pruebas ELISA 207 dieron con un resultado cuantitativo positivo que va de 40 U/ml a 120 U/ml, en cambio por el método de Inmunocromatografía de los mismos doscientos cuarenta pacientes dieron positividad 115, por lo tanto sacamos una conclusión importante que el método más efectivo en especificidad del 80.75% y sensibilidad del 92.1% para la detección de *H. Pylori* es ELISA.

## SUMMARY

This theme was selected because it identified the problem that is of great interest and importance to patients suffering from gastritis or other gastrointestinal disease caused by the main factor of this analysis is *Helicobacter pylori*, a spiral-shaped bacteria that small Staying at the surface of the stomach and duodenum. After the approval of the respective issue to investigate, we proceeded to collect statistical data Social Security Institute conducted by the ELISA method and immunochromatographic method for self-funded so in order to correlate the two methods used. The following pages elaborate preliminaries, after it was made a bibliographical research thus developing a reference framework that consists of problem statement and problem formulation, elaboration of the objectives of both the general and the specific and justification. Continuing with the theoretical framework, explaining the functioning of the digestive system and the way in which the bacterium acts inside the device and also how to determine by means of the two methods from the simplest to the most complex is Immunochromatographic paying ELISA qualitatively and quantitatively, respectively. All this in a privileged research such as the Social Security Institute in Riobamba, in relation to the two hundred and forty patients who were tested with ELISA were 207 positive quantitative result is 40 U / ml to 120 U / ml instead by the immunochromatographic method of the same two hundred forty patients were positive for 115, so we get an important conclusion that the most effective in 80.75% and specificity 92.1% sensitivity for the detection of H. Pylori ELISA.

## **DERECHOS DE AUTORIA**

Nosotros EDUARDO PATRICIO HEREDIA HEREDIA y CARLA ESTEFANIA ROMERO GAVINO somos responsables de las ideas, criterios, doctrinas expuestas en la presente investigación y los derechos de autoría pertenecen a la UNACH

## **DEDICATORIA**

Esta tesina de grado, les dedico a mis abuelitos, por ser quienes me han apoyado en mi formación universitaria, ya que con su ejemplo y consejos han sabido fomentar en mí el hábito de estudio y responsabilidad.

## **DEDICATORIA**

Con mucho amor este trabajo lo dedico a Dios quien me ha dado la fuerza para continuar en este camino de mi vida que he elegido, a mi familia que me ha sabido brindar su apoyo pero en especial a mi madre que es la promotora de mi lucha constante de superación profesional y personal.

## **AGRADECIMIENTO**

Mi agradecimiento va en primer lugar a Dios por haber guiado mi vida e iluminado el camino del saber, después agradezco a la UNACH y a sus docentes quienes han impartido sus conocimientos que ahora los voy a poner en práctica en mi vida profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a mi madre por haber sido la el pilar fundamental y mi guía para escoger esta profesión, también a los catedráticos que a lo largo de esta carrera han compartido sus conocimientos para fortalecer mi vida futura.

# ÍNDICE

PÁG.

ACEPTACIÓN DEL TUTOR(A) .....	I
DERECHOS DE AUTORIA.....	II
DEDICATORIAS.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	V
RESUMEN.....	VII
SUMARY.....	VIII
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. PROBLEMATIZACIÓN</b>	
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3 OPBJETIVOS	
1.3.1 Objetivo General.....	3
1.3.2 Objetivos Específicos.....	3
1.4 JUSTIFICACIÓN.....	4
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>2. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	5
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	5
2.2.1 Bases anatómicas, histológicas y fisiológicas del estómago.....	6
2.2.1.1 Anatomía.....	7
2.2.1.2 Irrigación.....	8
2.2.1.3 Histología.....	10
2.2.2 Fisiología del estómago.....	12
2.2.3 Patologías del estómago.....	12

2.2.3.1. Reflujo gastroesofágico.....	13
2.2.3.2. Úlcera gástrica.....	14
2.2.3.3. Gastritis.....	16
2.2.3.4. Gastroenteritis viral.....	17
2.2.3.5. Cáncer de estómago.....	18
2.2.4 Intestino delgado.....	19
2.2.4.1. Anatomía del duodeno.....	20
2.2.4.2. Fisiología del duodeno.....	21
2.2.4.3. Patología del duodeno.....	21
2.2.5 Inmunidad.....	32
2.2.6 Helicobacter Pylori.....	33
2.2.6.1. Origen del Nombre.....	33
2.2.6.2. Estructura de la bacteria.....	34
2.2.6.3. Modo de infección.....	35
2.2.6.4. Producción de Ureasa y motilidad.....	36
2.2.6.5. Importancia de la Infección por H. Pylori.....	36
2.2.6.6. Patogénesis.....	37
2.2.6.7. Epidemiología.....	38
2.2.6.8. Causas, incidencias y factores de riesgo.....	40
2.2.6.9. Síntomas por la infección.....	40
2.2.6.10. Patologías de la mucosa gástrica por infección de H. Pylori.....	41
2.2.6.11. Métodos de Diagnóstico.....	42
2.2.6.12. Tratamiento.....	44
2.2.6.13. Complicaciones.....	44
2.2.6.14. Prevención.....	44
2.2.7 Diagnóstico Serológico.....	45
2.2.8 Elisa.....	48
2.2.8.1. Fundamento de Elisa.....	48
2.2.8.2. Componentes de Elisa.....	50
2.2.8.3. Pasos generales de un Elisa.....	51
2.2.8.4. Fases de un ensayo Elisa.....	53
2.2.8.5. Tipos de un ensayo de Elisa.....	57
2.2.8.6. Control de calidad de la prueba de Elisa.....	58
2.2.8.7. Fundamento del Método.....	59
2.2.8.8. Contenido del Kit.....	69
2.2.9 Inmunocromatografía.....	76

2.3 DEFINICIÓN DE TERMINOS BÁSICOS.....	82
2.4 HIPÓTESIS.....	82
2.5 VARIABLES.....	83
2.6 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	84
<b>3. MARCO METOLOLÓGICO</b>	
3.1. Método.....	84
3.2. Población y muestra.....	84
3.3. Técnicas de Instrumentación.....	85
3.4. Técnicas para el análisis e interpretación de resultados.....	
<b>4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	
4.1. CONCLUSIONES.....	93
4.2. RECOMENDACIONES.....	94
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>95</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

PÁG.

ANEXO N°1	Recopilación de datos.....	102
ANEXO N° 2	Técnicas para la aplicación de las pruebas.....	110
ANEXO N° 3	Esquema de la Patogénesis del H. Pylori.....	111
ANEXO N° 4	Informe Histopatológico y Endoscopia.....	113
ANEXO N° 5	Esquema Elisa Indirecto.....	114

## INTRODUCCIÒN

La presente investigación consta de cuatro capítulos: Capítulo I: Planteamiento del problema, Formulación, Objetivos, mismos que ayudarán a determinar la correlación entre los dos métodos de ELISA e Inmunocromatografía para la identificación de la bacteria *Helicobacter Pylori*.

El Capítulo II: Marco Teórico, en el que se conceptualiza las bases anatómicas, fisiológicas del estómago y duodeno, donde habita la bacteria denominada *Helicobacter Pylori*, en el que se analizarán: su estructura, vectores de infección, motilidad, importancia, patogénesis, inmunidad, causas, incidencias y factores de riesgo; sintomatología, patología de la mucosa gástrica; métodos de diagnóstico, tratamiento, complicaciones, prevención y finalmente aplicar el test de Inmunoserología Correlacionado con la prueba de Inmunocromatografía, con el método de Elisa.

El capítulo III: Marco Metodológico, con la ayuda de métodos de investigación, la muestra utilizada en la investigación y la tabulación de los datos del método cualitativo (Inmunocromatografía) y cuantitativo (Elisa) realizando cuadros comparativos mediante un diseño estadístico.

El Capítulo IV: se encuentra las conclusiones y recomendaciones en relación a resultados de los métodos utilizados para diagnosticar *H. Pylori* realizados en 240 pacientes atendidos en Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social de Riobamba (IESS)

Los datos técnicos de la investigación se respalda en los siguientes anexos: Anexo N°1. Pacientes que se realizaron la prueba *Helicobacter Pylori* en IESS por edad y sexo. Anexo N°2, Técnicas para la aplicación de las pruebas. Anexo N°3, Lámina sobre la patogénesis el *Helicobacter Pylori*. Anexo N° 4 Informe Histopatológico y por último el Anexo N°5. Esquema Elisa Indirecto.

**CAPÍTULO I**  
**PROBLEMATIZACIÓN**

## **CAPITULO I**

### **1. PROBLEMATIZACIÓN**

#### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La gastritis por índices de colonización de *Helicobacter Pylori* aumenta con la edad, alcanzando el 50% en adultos asintomáticos mayores de 50 años y representa la infección gastrointestinal humana más común. El desconocimiento de los individuos referente a los daños que provoca esta bacteria hace que no se tenga especial cuidado al momento de alimentarnos pudiendo llegar a destruir totalmente el estómago es decir desencadenándose un cáncer gástrico.

En pacientes con esta afección el médico sugerirá una endoscopia y pruebas serológicas tanto cualitativas o pruebas rápidas y confirmatorias por pruebas cuantitativas/cualitativas de ELISA, que las micro placas de fase sólida contienen Ag de *Helicobacter Pylori* inactivados que reaccionaran si hay anticuerpos contra *Helicobacter Pylori* en suero y plasma humanos; en las cuales se profundiza el presente trabajo investigativo

#### **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.**

¿Qué importancia tiene la correlación en la determinación de *Helicobacter Pylori*, entre los métodos de Inmunocromatografía y ELISA, como ayuda de diagnóstico de gastritis en pacientes atendidos en el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social de la ciudad de Riobamba; durante el periodo Octubre 2009-Marzo 2010?

### **1.3. OBJETIVOS**

#### **1.3.1. Objetivo general.**

- ✚ Determinar la correlación que existe entre los métodos de Inmunocromatografía y Elisa, para el diagnóstico de gastritis por Helicobacter Pylori.

#### **1.3.2. Objetivos específicos.**

- ✚ Evaluar la sensibilidad y especificidad de los métodos utilizados de Inmunocromatografía y Elisa para determinar Helicobacter Pylori como ayuda de diagnóstico en patologías de gastritis a pacientes de IESS.
- ✚ Establecer parámetros técnicos de diferenciación entre el método de ELISA e Inmunocromatográfica en el diagnóstico de gastritis
- ✚ Determinar la cantidad de anticuerpos del suero del paciente por el método colorimétrico del ensayo de EIA.

#### **1.4. JUSTIFICACIÓN**

La bacteria *Helicobacter Pylori* es un agente de transmisión de cáncer gástrico cuando su presencia rebasa ciertas escalas determinadas por diferentes autores. Siendo la digestión el factor determinante para la nutrición del cuerpo humano y el vehículo de transmisión de ciertas bacterias como *Helicobacter Pylori*, mismas que pueden desencadenar enfermedades relacionadas con la bacteria

Analizado la importancia de la bacteria en investigación y como medida de control y prevención, se pretende investigar la eficiencia en el diagnóstico *Helicobacter Pylori* entre los métodos de Inmunocromatografía y Elisa.

Además la investigación pretende contribuir a que la población utilice un método adecuado, para prevenir posibles afecciones por la bacteria *Helicobacter Pylori* y aportar a los estudiantes de la UNACH con la presente investigación y que más adelante sirva de apoyo para futuras investigaciones en este campo.

**CAPÍTULO II**  
**MARCO TEÓRICO**

## CAPITULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

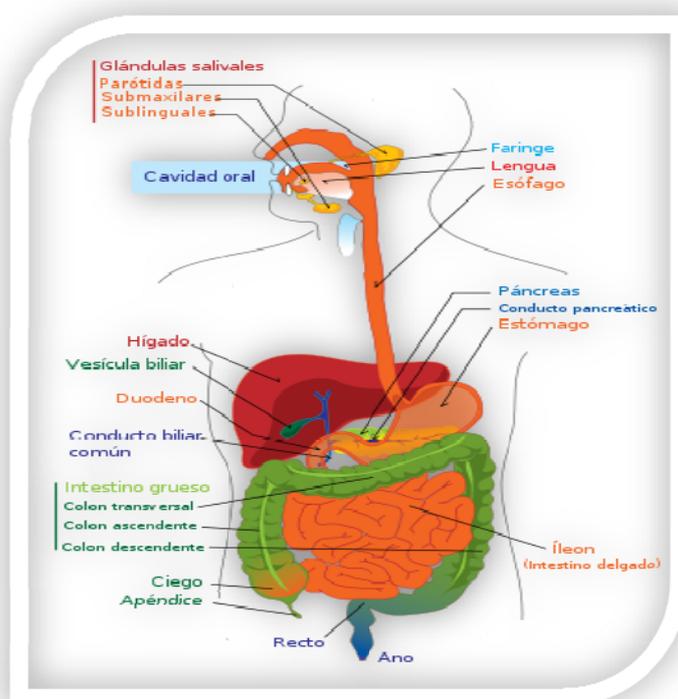
#### 2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL

El presente trabajo investigativo estará constituido sobre la base del pragmatismo como Teoría del Conocimiento.

#### 2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

##### 2.2.1. Bases anatómicas, histológicas y fisiológicas del estómago.

Figura N°1



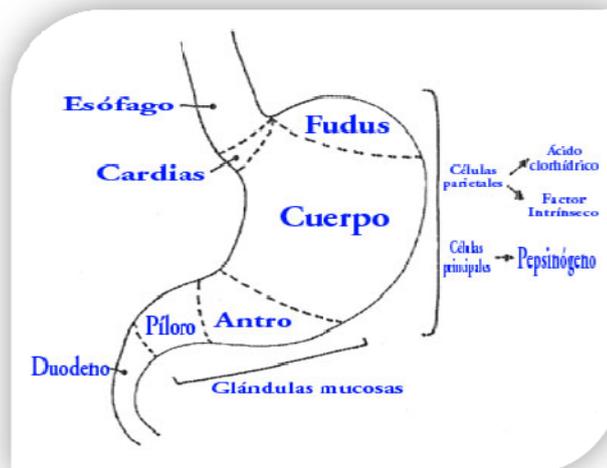
FUENTE: <http://www.google.com.ec/image>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

### 2.2.1.1. Anatomía del estómago

“El estómago es un reservorio muscular que está entre el esófago y duodeno donde se acumulan los alimentos y cuya mucosa segrega un jugo digestivo transformando el alimento en una papilla que de ahí será llamada quimo.

El estómago se localiza en la parte alta del abdomen. Ocupa la mayor parte de la celda sufrénica izquierda. Topografía: Hipocondrio izquierdo y epigastrio. El cardias (extremo por donde penetra el esófago) se localiza a nivel de la vértebra D11, mientras que el píloro lo hace a nivel de L1.

Figura N° 2



FUENTE:<http://enciclopedia.us.es/index.php/Est%C3%B3mago>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

El extremo superior que se une al esófago se llama cardias que sirve de válvula para prevenir el reflujo gastroesofágico. Hacia la izquierda y arriba se extiende el fundus o tuberosidad mayor, que se continúa con el cuerpo, que es la porción más alargada luego continúa la porción pilórica, que consta del antro pilórico y del conducto pilórico cuyo esfínter pilórico lo separa del duodeno. La forma aplanada del estómago en reposo determina la presencia de una cara anterior que mira hacia la

pared abdominal, y una cara posterior que mira a la transcavidad de los epiplones situada detrás. Asimismo, determina la presencia de la curvatura mayor y curvatura menor en la cual llegan los vasos principales del Irrigación arterial del estómago.

### 2.2.1.2. Irrigación arterial del estómago

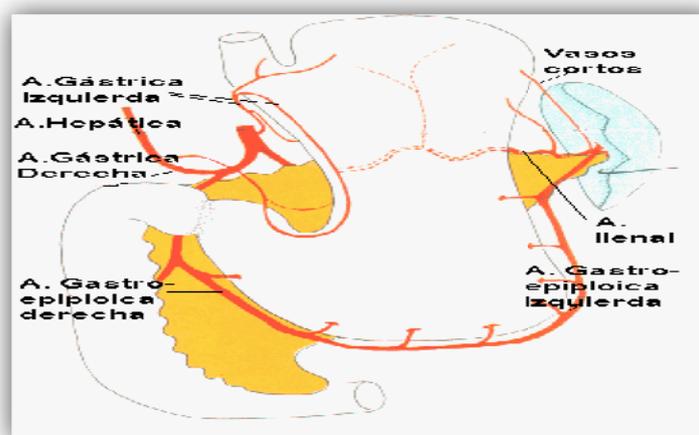
La irrigación del estómago procede de la aorta abdominal, directamente del Tronco celíaco que da 3 ramas:

1. La arteria gástrica izquierda
2. La arteria esplénica
3. La arteria hepática

Pueden nacer separadas procediendo cada una directamente de la aorta abdominal:

1. **La arteria gástrica izquierda** se dirige al borde derecho del estómago y se anastomosa con la arteria gástrica derecha.
2. **La arteria esplénica da:** Los vasos cortos y la gastroepiplóica izquierda
3. **La arteria hepática da** la gástrica derecha y la gastroduodenal.

Figura N° 3



FUENTE: Disposición general de las arterias en el estómago Latarjet pg. 1507  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

### 2.2.1.3. Histología del estómago

La pared del estómago está formada por las capas características de todo el tubo digestivo:

- ✚ La mucosa
- ✚ La Submucosa
- ✚ La muscular
- ✚ La serosa

**La mucosa gástrica:** Presenta a su vez tres capas:

- ✚ El epitelio
- ✚ La lámina propia o corión
- ✚ La muscular de la mucosa

**Epitelio superficial:** Es un epitelio cilíndrico simple en las células aparece una gruesa capa de moco gástrico, que sirve de protección contra las sustancias ingeridas, contra el ácido estomacal y contra las enzimas gástricas.

**Glándulas del cardias:** Están situadas alrededor de la unión gastroesofágica, producen gastrina.

**Glándulas oxínticas, gástricas o fúndicas:** se localizan sobre todo en el fondo y cuerpo del estómago y producen la mayor parte del volumen del jugo gástrico. Se estima que el estómago posee 15 millones de glándulas oxínticas, que están compuestas por cinco tipos de células:

- ✚ Principales o zimógenas: son las células que producen el pepsinógeno (I y II)
- ✚ Oxínticas o parietales: son las células que segregan el ácido clorhídrico.
- ✚ Mucosas del cuello: segregan mucosa alcalina.

✚ Endócrinas: pueden ser células G (liberadoras de gastrina), D (segregan somatostatina), EC (segregan serotonina) o células cebadas (liberadoras de histamina).

✚ Células madre: se supone que generan todos los tipos celulares, excepto las células endócrinas.

**Glándulas pilóricas:** están situadas cerca del píloro. Segregan el mucus para lubricar el interior de la cavidad del estómago, para que el alimento pueda pasar, protegiendo así las paredes del estómago.

**Lámina propia o Corión:** formada por tejido conectivo laxo, posee glándulas secretoras de mucus y enzimas.

**Capa muscular de la mucosa:** que presenta dos capas, poco diferenciadas entre sí.

**Capa Submucosa:** Formada por tejido conjuntivo denso (tejido de sostén que conecta o une las diversas partes del cuerpo), en el cual se encuentran numerosos vasos sanguíneos, linfáticos y terminaciones nerviosas. Esta debajo de la mucosa.

**Capa muscular:** La capa muscular está formada por fibras musculares oblicuas, circulares y longitudinales. La capa muscular gástrica puede considerarse como el *músculo gástrico* porque gracias a sus contracciones, el bolo alimenticio se mezcla con los jugos gástricos y se desplaza hacia el píloro con los movimientos peristálticos.

**Capa serosa:** La capa serosa o peritoneal, constituida por tejido conectivo laxo tapizado por una capa epitelial llamada Mesotelio, envuelve al estómago en toda su extensión.”<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Rouviere, H. (1999). “*Anatomía Humana: descriptiva, topográfica y funcional*”. Editorial Masson

### 2.2.2. Fisiología del estómago.

- ✚ “Almacenamiento del quimo
- ✚ Digestión parcial de proteínas por acción de la pepsina.
- ✚ Por la acidez del jugo gástrico: hay una acción bactericida se convierte el pepsinógeno en pepsina se estimula la secreción de bilis y jugo pancreático.
- ✚ Producción del moco alcalino protector de la mucosa
- ✚ Absorción sólo de agua y alcohol
- ✚ Producción del factor intrínseco necesario para la absorción de la vitamina B12.

El cardias (esfínter) impide que el contenido gástrico vuelva al esófago. Este contenido es fuertemente ácido y posee una gran cantidad de enzimas que podrían dañar el esófago.

Cuando el estómago está lleno se contrae rítmicamente y mezcla los alimentos con los jugos digestivos. Las células que recubren la superficie gástrica secretan diversas sustancias importantes: moco, ácido clorhídrico, pepsinógeno (el precursor de la pepsina, una enzima que fracciona las proteínas) y la hormona llamada gastrina. El moco recubre las paredes del estómago para protegerlas del daño que les podrían causar el ácido y las enzimas. Cualquier alteración de esta capa de moco, debida a una infección por la bacteria *Helicobacter pylori*, por ejemplo, o al daño provocado por la aspirina, puede causar lesiones como la úlcera de estómago. El ácido clorhídrico provee el ambiente fuertemente ácido necesario para que la pepsina fraccione las proteínas.

Esta alta acidez del estómago también actúa como una barrera contra la infección, pues elimina la mayor parte de las bacterias. Los impulsos nerviosos que llegan al estómago estimulan la secreción ácida, la hormona gastrina (secretada por el estómago) y la histamina (sustancia que también libera el estómago).

Los movimientos del estómago: Los múscul

**No hay ninguna fuente en el documento actual.**os del estómago son muy potentes y producen un movimiento ondulatorio que hace que los alimentos se mezclen con los jugos gástricos; así los alimentos que antes eran sólidos se transforman lentamente en una masa líquida y espesa llamada quimo.

Los jugos gástricos secretados por el estómago y ayudados por los movimientos estomacales, desmenuzan los alimentos y los separan en sus elementos más simples, es decir, en azúcares, proteínas, grasas y vitaminas.

Poco a poco se va formando en el estómago el quimo, el cual está formado por una disolución acuosa de azúcares y proteínas junto con las grasas que aún no han sido digeridas del todo.

Los alimentos transformados en quimo, deben pasar luego al intestino delgado a través del píloro.

Existen algunos factores que aceleran el vaciamiento del estómago en el intestino. En particular, la presencia de carne en el estómago (así como la distensión estomacal) producen la liberación de la hormona llamada gastrina, la cual provoca una secreción de jugo gástrico fuertemente ácido. La gastrina también estimula las contracciones del estómago. Otra sustancia secretada por las células de las paredes del estómago es el factor intrínseco, necesario para la absorción de vitamina B12. Por tanto, cuando se destruyen las células del estómago que producen ácido, como suele ocurrir en la gastritis crónica, no sólo se produce falta de ácido clorhídrico, sino también anemia perniciosa, ya que la vitamina B12 es necesaria para la maduración de los glóbulos rojos<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> Guyton, A. (2004). *Fisiología Médica*. Editorial Mc Graw Hill. Interamericana. Séptima edición. Pp. 588-596.

### 2.2.3. Patologías del estómago.

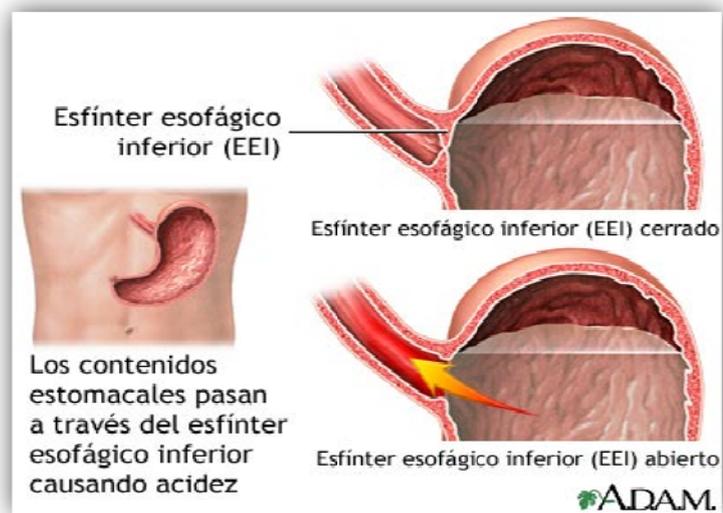
“Alteraciones acido- pépticas son las siguientes:

- + Reflujo gastroesofágico
- + Úlcera gástrica
- + Gastritis
- + Gastroenteritis (viral)
- + Cáncer de estómago

#### 2.2.3.1. Reflujo gastroesofágico

Es un trastorno funcional del aparato digestivo, que consiste en que el contenido del estómago se devuelve o refluye hacia el esófago. Esto debido a que el esfínter no cierra apropiadamente.

Figura N° 4



FUENTE: <http://www.clinicadam.com/salud/6/19609.html>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

SIGNOS Y SINTOMAS	TRATAMIENTO
<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Acidez</li> <li>✚ Dolor bajo el esternón</li> <li>✚ Regurgitamiento del alimento</li> <li>✚ Náuseas y vómitos</li> <li>✚ Ronquera o cambios de voz</li> <li>✚ Irritación de la garganta</li> <li>✚ Dificultad para deglutir</li> <li>✚ Silibancia</li> <li>✚ Hipersalibación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Modificar la dieta</li> <li>✚ Dar al paciente posición fowler durante las comidas y después de estas facilitando el flujo de alimentos hacia abajo.</li> <li>✚ Administrar antiácidos para aliviar la acidez.</li> <li>✚ Administrar medicamentos que reduzcan la secreción de ácidos como el omeprazol, lanzoprasol,</li> <li>✚ Se puede recurrir a intervenciones antirreflujo.</li> </ul>

FUENTE: Recopilación de las bibliografías.  
 ELABORACIÓN: HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

### 2.2.3.2. Úlcera gástrica

Lesiones crónicas, exponen la lesión a los jugos gástricos.

FACTORES DE RIESGO	CAUSAS	SIGNOS Y SINTOMAS	TRATAMIENTO
<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Uso prolongado de aspirinas</li> <li>✚ Tabaquismo</li> <li>✚ Consumo de alcohol</li> <li>✚ Personas que padezcan de gastritis.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Defensas de las mucosas disminuidas</li> <li>✚ Retraso en el vaciado gástrico</li> <li>✚ Reflujo gastroduodenal</li> <li>✚ Infección de la mucosa por Helicobacter Pylori</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Dolor agudo en la región epigástrica (1 a 2hrs. Después de comer)</li> <li>✚ Náuseas</li> <li>✚ Vómito, especialmente vómito sanguinolento</li> <li>✚ Heces sanguinolentas o negras</li> <li>✚ Indigestión abdominal</li> <li>✚ Pérdida involuntaria de peso</li> <li>✚ Fatiga</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Las comidas deben ser pequeñas, y blandas.</li> <li>✚ Mantener hidratación adecuada.</li> <li>✚ Reposo y la Relajación.</li> <li>✚ Administrar omeprazol para disminuir la secreción gástrica de ácido.</li> <li>✚ Proporcionar antiácidos.</li> <li>✚ Utilizar anti colinérgicos.</li> <li>✚ Administrar protectores de la barrera mucosa.</li> <li>✚ Administrar prostaglandinas como <i>cytotec</i>.</li> <li>✚ La cirugía depende de la gravedad de la úlcera.</li> </ul>

FUENTE: Recopilación de las bibliografías  
 ELABORADO POR: HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

FIGURA N° 5

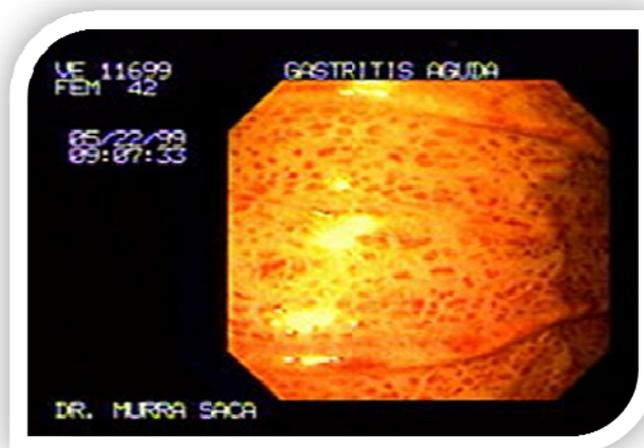


FUENTE: <http://www.google.com.ec/images>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

### 2.2.3.3. Gastritis

Inflamación generalizada de la mucosa gástrica, aguda con infiltración neutrófila, crónica con predominio de linfocitos o células plasmáticas.

FIGURA N° 5



FUENTE: <http://www.google.com.ec/images>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

FACTORES DE RIESGO	CAUSAS	SIGNOS Y SINTOMAS	TRATAMIENTO
<ul style="list-style-type: none"> <li> <b>Uso excesivo de aspirinas</b></li> <li> <b>Tabaquismo</b></li> <li> <b>Ingestión de alcohol</b></li> <li> <b>Imprudencia en la dieta</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li> Infección bacteriana (Helicobacter pylori) o viral, enfermedades auto inmunes o por el reflujo de bilis hacia el estómago</li> <li> Irritación puede ser originada</li> <li> Alcohol</li> <li> Medicamentos (como aspirina y antiinflamatorios)</li> <li> Vomito crónico</li> <li> Exceso de secreción de ácido gástrico (producido por stress)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li> Molestias y dolor abdominal</li> <li> Nauseas y vomito</li> <li> Hipo</li> <li> Aumento de las producción de saliva</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li> Administrar antiácidos para las molestias abdominales</li> <li> Proporcionar antieméticos contra nauseas y vomito.</li> <li> Administrar un medicamento antagonista del receptor H2 d histamina</li> <li> Administrar tratamiento combinado de compuestos de bismuto y antimicrobiana (amoxicilina o metronidazol) para combatir Helicobacter pylori</li> </ul>

**FUENTE:** Recopilación de las bibliografías

**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

**Gastritis Aguda:** Proceso inflamatorio agudo de la mucosa, transitorio, acompañado de hemorragia por la ingestión de ciertos fármacos, el consumo excesivo de alcohol o de alimentos muy condimentados.

**Gastritis Crónica:** Proceso inflamatorio crónico de la mucosa gástrica con atrofia y metaplasia Ejemplo: úlcera péptica, ingestión de alcohol de mucho tiempo, y uso prolongado de fármacos antiinflamatorios no esteroides

#### 2.2.3.4. Gastroenteritis viral

Es la inflamación del estómago y los intestinos causada por una infección viral.

FACTORES DE RIESGO	CAUSAS	SIGNOS Y SINTOMAS	TRATAMIENTO
<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ <b>Uso excesivo de aspirinas</b></li> <li>✚ <b>Tabaquismo</b></li> <li>✚ <b>Ingestión de alcohol</b></li> <li>✚ <b>Imprudencia en la dieta</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Virus más comunes que pueden causar gastroenteritis son :rotavirus y virus Norwalk</li> <li>✚ El rotavirus es la principal causa de gastritis en los niños y pueden darse en adultos expuestos al virus</li> <li>✚ Estos virus se encuentran en el agua potable o en alimentos contaminados y se diseminan por vía oro -fecal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Dolor abdominal</li> <li>✚ Cólicos abdominales</li> <li>✚ Diarrea</li> <li>✚ Nauseas</li> <li>✚ Vómitos</li> <li>✚ Síntomas adicionales</li> <li>✚ Sudoración excesiva</li> <li>✚ Dolor muscular</li> <li>✚ Rigidez de las articulaciones</li> <li>✚ Fiebre</li> <li>✚ escalofríos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ conservar al paciente en estado NPVO en tanto presente vómito</li> <li>✚ Administrar vía intravenosa líquidos y electrolitos para restitución</li> <li>✚ Vigilar peso, ingestión y producción , en especial el volumen de las heces y el vomito y las características de ambos</li> <li>✚ valorar el estado de hidratación</li> <li>✚ Tratar al pacientes con medicamentos apropiados</li> </ul>

FUENTE: Recopilación de las bibliografías  
ELABORADO POR: HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

### 2.2.3.5. Cáncer de estómago

Es una enfermedad en la que se encuentran células cancerosas en los tejidos del estómago.<sup>3</sup>

FACTORES DE RIESGO	CAUSAS	SIGNOS Y SINTOMAS	TRATAMIENTO
<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Dieta rica en carbohidratos y sal, pero baja en grasa animal y verduras de hojas verdes</li> <li>✚ Tabaquismo</li> <li>✚ Alcoholismo</li> <li>✚ Antecedentes de úlcera gástrica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Gastritis crónica</li> <li>✚ Hipoclorhidria: favorece la colonización de Helicobacter Pylori</li> <li>✚ Infección por Helicobacter</li> <li>✚ Gastrectomía parcial</li> <li>✚ Genéticos: riesgo ligeramente aumentado con la sangre del grupo A</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Permanece asintomático hasta la etapas tardías</li> <li>✚ Pérdida de peso</li> <li>✚ Fatiga</li> <li>✚ Anemia</li> <li>✚ Anorexia, nauseas, vómitos e ingestión.</li> <li>✚ Dificultad para deglutir (disfagia)</li> <li>✚ Molestias epigástricas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ Transfusiones sanguíneas para corregir anemia</li> <li>✚ Quimioterapia como terapéutica coadyuvante</li> <li>✚ Recesión quirúrgica del tumor, implica extirpar el estómago lo necesario para eliminar en su totalidad</li> </ul>

**FUENTE:** Recopilación de las bibliografías

**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

<sup>3</sup> Robbins. (2000) *Patología Estructural y Funcional*. Editorial Mc Graw Hill. Interamericana. Quinta Edición. Pp. 850-868

**FIGURA N°6**



FUENTE: <http://www.google.com.ec/images>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

#### **2.2.4. Intestino delgado.**

“Se denomina así al órgano de 4-6 metros de longitud delimitado desde el duodeno hasta la válvula ileocecal. Su principal función es la absorción de nutrientes al mismo tiempo que desplaza los alimentos digeridos hacia el colon. Ocupa el espacio denominado mesogástrio y está enmarcado por el marco cólico (los tres cólonos). Se distinguen dos porciones:

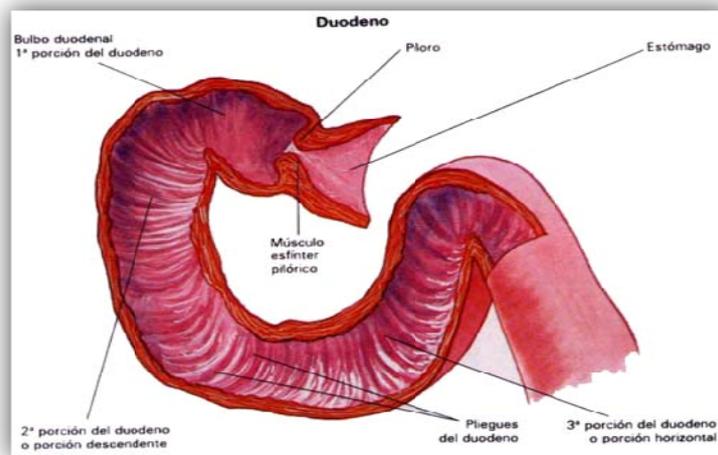
Yeyuno: tiene disposición vertical y es la porción inicial del intestino delgado.

Íleon: con disposición horizontal y es la porción final y termina con la válvula ileocecal.

### 2.2.4.1. Anatomía del duodeno

El duodeno es un órgano de unos 25 cm de longitud, con cuatro porciones y cuatro ángulos.

FIGURA N° 7



FUENTE: <http://hnnbiol.blogspot.com/2008/01/sistema-digestivo-ii.html>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

Está formado por una mucosa digestiva y su composición muscular está formada por una porción circular interna y una oblicua de paso largo externa. En su interior destaca una estructura llamada papila duodenal, lugar en el que desembocan el conducto biliar (colédoco) y el pancreático (wirsung).

**PORCIONES DEL DUODENO:** Comprende cuatro porciones que son:

Primera porción del duodeno: Es una porción horizontal que se dirige hacia la derecha desde el píloro hasta el cuello de la vesícula biliar.

Segunda porción del duodeno: Es una porción vertical que recibe en su parte media e interna, en la ampolla de Váter, el conducto colédoco y Wirsung, más arriba al conducto de Santorini.

Tercera porción del duodeno: Es una porción horizontal que se dirige hacia la izquierda, por debajo de los vasos mesentéricos superiores y la arteria aorta.

Cuarta porción del duodeno: termina en el ángulo duodenoyeyunal, a la izquierda de la columna.”<sup>4</sup>

#### **2.2.4.2. Fisiología del duodeno**

“El duodeno realiza el transporte del quimo gástrico hacia el intestino delgado, al mismo tiempo que basicifica su pH con el bicarbonato que acompaña a la bilis (que con sus ácidos biliares permite digerir las grasas). El Intestino delgado es la parte más importante del aparato digestivo, el cual contiene vellosidades que retienen el resto de los alimentos, que absorbe y transfiere al torrente sanguíneo. Su principal función es la absorción de 9 litros por día.

#### Movimientos

1. Propulsivos.
2. De mezcla.
3. Ondulantes (de la muscularis mucosae).
4. Pendulares (de las asas intestinales; favorecen la mezcla)”<sup>5</sup>

---

<sup>4</sup> Rouviere, H. (1999). “*Anatomía Humana: descriptiva, topográfica y funcional*”. Editorial Masson

<sup>5</sup> <http://es.wikipedia.org/wiki/Est%C3%B3mago>, 2009-10-17 hora 10:53 am.

### 2.2.4.3. Patologías del duodeno

CONGENITA	ADQUIRIDAS	
ATRESIA	VASCULARES	NEOPLASICA
<b>Divertículo de Meckel</b>	Isquemia intestinal aguda y crónica	Tumores benignos
	Invaginación intestinal	Tumores malignos

**FUENTE:** Recopilación de las bibliografías

**ELABORADO POR:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

### 2.2.5. Inmunidad.

“El sistema inmunitario consiste en varios componentes que protegen al individuo contra enfermedades infecciosas. La inmunidad humoral es más eficaz contra infecciones bacterianas y contra algunas fases de infecciones virales que son mediadas por los anticuerpos. La inmunidad celular que protege contra células infectadas por virus, parásitos, células extrañas y células neoplasias están mediadas por las células T la cual son linfocitos que maduran en el timo.”<sup>6</sup>

“La inmunidad puede ser congénita, es decir, hereditaria (y propia de cada especie).

La inmunidad adquirida puede lograrse por vía natural o de una manera artificial. Tanto una como otra pueden dividirse en inmunidad activa e inmunidad pasiva (en la activa el individuo recibe antígenos y fabrica anticuerpos específicos contra esos antígenos: es más duradera; en la pasiva el individuo recibe los anticuerpos por el suero de un individuo ya inmunizado.

<sup>6</sup> [http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter\\_pylori](http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori), 2009-12-14 hora 18:20 pm.

## I. TIPOS DE INMUNIDAD

---

<b>I. <u>Congénita: bases genéticas</u></b>		
<b>II. <u>Adquirida:</u></b>	a) <u>Natural:</u>	 <u>Activa:</u> formación de Ac por haber padecido una enfermedad.  <u>Pasiva:</u> por el paso de Ac a través de la placenta.
	b) <u>Artificial:</u>	 <u>Activa:</u> por vacunaciones.  <u>Pasiva:</u> por administración de Ac preformados.

---

**FUENTE:** Recopilación de las bibliografías

**ELABORADO POR:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

Anatómicamente el sistema inmunitario está formado por el sistema linfoide: linfocitos circulantes y órganos linfáticos. Se considera que el linfocito es la célula básica de la inmunidad. Los linfocitos son células con un diámetro de 8-10  $\mu\text{m}$  cuyo citoplasma está prácticamente ocupado por el núcleo y que circulan por el organismo.

A partir de la célula madre pluripotencial situada en la médula ósea se originan las células progenitoras de los linfocitos y del resto de las células sanguíneas (hematíes, leucocitos y monocitos). Las células progenitoras de los linfocitos invaden los órganos primarios o centrales (timo y bolsa de Fabricio en aves; en mamíferos no hay bolsa de Fabricio y cumplen su función las placas de Peyer, situadas en el intestino), donde son procesados y diferenciados. Los linfocitos que van a parar al timo se transforman en linfocitos timodependientes o linfocitos T. Los que llegan a la bolsa de Fabricio o a las placas de Peyer, en linfocitos bursodependientes o linfocitos B.

La diferencia entre los dos es la "educación inmunológica" que reciben: los linfocitos T son preparados para intervenir de manera directa, atacando al agresor (antígeno)

por su presencia (respuesta inmune de tipo celular), mientras que los linfocitos B actúan sobre los antígenos mediante sustancias de naturaleza proteica (anticuerpos) elaboradas por ellos (respuesta inmune de tipo humoral).

Tanto los linfocitos T como los B, una vez educados en los órganos linfoides primarios (timo, placas de Peyer) pasan a los órganos secundarios o periféricos (ganglios linfáticos, amígdalas, bazo, etc.), y de allí aptos ya para la respuesta inmunológica a la sangre y a la linfa.

## **II. SISTEMA INMUNITARIO**

### **1. Defensas inespecíficas**

-  Barreras externas: piel, mucosas y secreciones.
-  Células Fagocitarias: micrófagos y macrófagos.

### **2. Defensas Específicas**

-  La respuesta humoral
  - Antígeno y anticuerpo
  - La reacción antígeno-anticuerpo
-  La respuesta celular
  - Tipos de células del sistema
  - Mecanismos de acción
  - Comunicación entre células del sistema”<sup>7</sup>

---

<sup>7</sup> <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>,2010-01-7 hora 15:56 pm.

### **III. RESPUESTA INMUNITARIA**

“En primer lugar encontramos los dispositivos mecánicos representados por la piel y las mucosas. Actúan como barreras defensivas impidiendo la entrada de los antígenos en tejidos profundos.

Cuando se produce una herida (ruptura de estas barreras), los microorganismos situados en la superficie de la piel y mucosas pueden penetrar y multiplicarse en los tejidos de nuestro organismo. Además, en la superficie de la piel y mucosas se encuentran ciertas sustancias de naturaleza química (como los ácidos grasos, la lisozima y el moco) que impiden que muchos microorganismos sean capaces de establecerse en esas superficies, ya que tienen capacidad bacteriolítica. Así actúan muchas secreciones: lágrimas, saliva, orina, y secreciones gástrica e intestinales.

En la mucosa bronquial cooperan en la acción defensiva el epitelio ciliado o vibrátil de la mucosa con el manto de moco que la recubre. La secreción ácida del sudor, el HCl del estómago, el pH ácido de la orina y de algunos conductos genitales, tienen también carácter protector por sus propiedades bacterias.

La lisozima presente en las lágrimas, saliva, secreciones bronquiales y digestivas produce la lisis de muchos gérmenes.

Por último, dentro de las primeras barreras defensivas, hay que citar los coliformes presentes en el intestino, que intervienen en la síntesis de algunas vitaminas y evitan la proliferación de microbios patógenos: si por el uso de antibióticos se destruye esa flora favorable, se originan trastornos intestinales y pueden aparecer hongos y otros microbios patógenos.

Los linfocitos T actúan de 3 formas:

- 1) Transformándose en linfocitos cito- tóxicos o asesinos, que destruyen antígenos como células cancerosas o células de tejidos trasplantados.
- 2) Sintetizando el factor activador de los macrófagos (por el que éstos se activan y adquieren la propiedad de fagocitar antígenos como bacterias, protozoos o virus, y digerirlos).
- 3) Sintetizando el interferón: proteína que induce la síntesis de proteínas antivirales en células infectadas por virus (aunque esto forma parte más bien de la respuesta humoral).

Una vez sensibilizados, se distinguen tres clases de linfocitos T según su función: los linfocitos citotóxicos ( $T_c$ ), que al tomar contacto con el antígeno para el que han sido sensibilizados, lo destruyen; los linfocitos  $T_h$ , que activan la respuesta inmune; y los linfocitos  $T_s$ , que inhiben la respuesta inmune

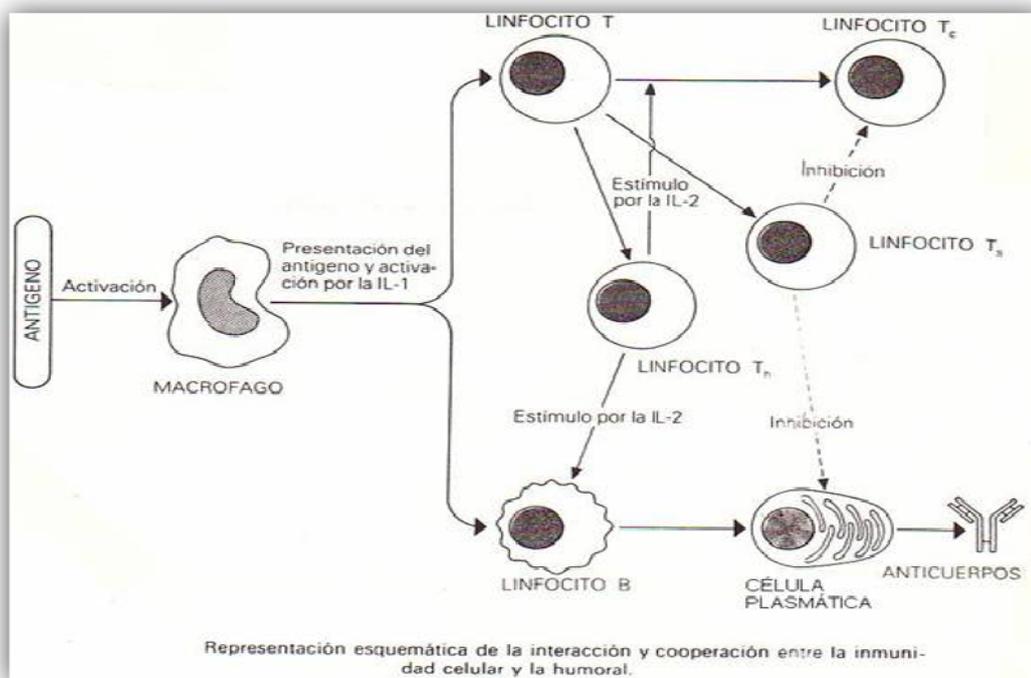
Respuesta humoral. Se caracteriza porque los linfocitos B, al ser estimulados por el antígeno, reaccionan formando anticuerpos. En la formación de anticuerpos, sin embargo, intervienen 3 tipos de células: los linfocitos B, los linfocitos T y los macrófagos. Los macrófagos tienen la función de fagocitar los antígenos y procesarlos de tal manera que se conviertan en antígenos aptos para estimular la respuesta inmunológica cuando son presentados a los linfocitos.

**Resumiendo:**

 Respuesta celular: linfocitos T y macrófagos.

 Respuesta humoral: linfocitos B con la colaboración de linfocitos.

FUGURA N° 8



FUENTE: <http://www.google.com.ec/images>  
FI ARORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

## I. DEFENSAS ESPECÍFICAS

Se basan en el reconocimiento de los determinantes antigénicos localizados en la superficie del germen patógeno o en las toxinas producidas por estos.

Una vez que el sistema inmunitario reconoce la naturaleza del antígeno, lanza contra los dos tipos de respuesta, que actúan de modo secuencial:

- ✚ La respuesta humoral, basada en la síntesis de anticuerpos por los linfocitos B.
- ✚ La respuesta celular, mediada por los linfocitos T, que destruyen los microorganismos portadores de dicho antígeno, y las células propias si están infectadas por ellos.

## **II. RESPUESTA HUMORAL**

En el plasma sanguíneo, se encuentran un tipo de particular de globulinas que tienen la capacidad de reaccionar específicamente con las partículas extrañas, anulando su posible efecto patógeno. Se les denomina genéricamente inmunoglobulinas o anticuerpos”<sup>8</sup>

## **III. ANTICUERPO**

“Los anticuerpos son proteínas pertenecientes al grupo de las gammaglobulinas o inmunoglobulinas.

### **a) INMUNOGLOBULINAS**

Los anticuerpos son glucoproteínas secretadas por las células plasmáticas, que reciben colectivamente el nombre de inmunoglobulinas (abreviadamente Ig). La especificidad de estas proteínas ante los diferentes antígenos es semejante a la de la enzima con respecto a su sustrato. Los anticuerpos circulan por la sangre y penetran en los fluidos corporales donde se unen específicamente al antígeno que provocó su formación.

### **b) ESTRUCTURA DE LOS ANTICUERPOS**

Las inmunoglobulinas son moléculas que tienen forma de “Y” constituida por cuatro cadenas polipeptídicas iguales dos a dos. Dos cadenas pesadas o cadenas H y dos cadenas ligeras o cadenas L de menor peso molecular. Las uniones entre las cadenas se hacen mediante puentes disulfuros (-S-S-)

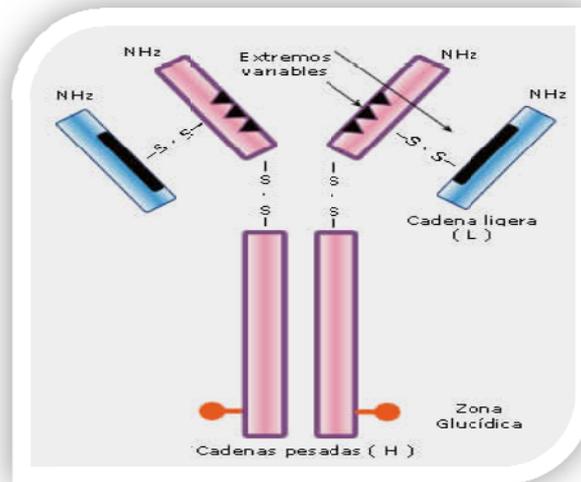
Las zonas amino terminales de las cadenas H y L constituyen las regiones variables cuya secuencia de aminoácidos es específica de cada anticuerpo (por ellas se unen a los antígenos). La porción carboxilo terminales corresponden a las regiones

---

<sup>8</sup> [http://es.wikipedia.org/wiki/Sistema\\_inmune](http://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_inmune), 2010-01-5 hora 17:45 pm.

constantes, que varían muy poco dentro de cada tipo de inmunoglobulina.

**TABLA N° 9**



FUENTE: <http://es.wikipedia.org/wiki/Anticuerpo>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

### c) TIPOS DE INMUNOGLOBULINAS

La clasificación se ha realizado en función de diferencias físico-químicas, como masa molar, carga, solubilidad, así como por su comportamiento como antígenos.

- ✚ Inmunoglobulina G Subtipos: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4
- ✚ Inmunoglobulina A Subtipos: IgA1, IgA2.
- ✚ Inmunoglobulina M
- ✚ Inmunoglobulina D
- ✚ Inmunoglobulina E

#### INMUNOGLOBULINA G

Es la inmunoglobulina más abundante en el plasma 80% de las proteínas totales es monomérica y es producida en grandes cantidades durante respuestas secundarias a antígenos timo dependientes.

Predomina en los fluidos internos del cuerpo como sangre, líquido cefalorraquídeo y líquido peritoneal. Sintetizada por el organismo en respuesta a la invasión de bacterias, hongos, virus. Es la única que atraviesa la barrera placentaria transmitiendo inmunidad de la madre al feto.

#### INMUNOGLOBULINA M

Tiene diez sitios de unión con antígeno y es secretada principalmente en respuestas humorales primarias timo dependientes y en respuestas timo independiente. Otra característica es que posee capacidad neutralizante, precipitante, aglutinante, fijar el complemento, y activar la respuesta inmune. Ejerce su acción en los espacios intervasculares. Representa del 5 al 10% de Igs séricas totales encontrada en la superficie de los linfocitos B.

#### INMUNOGLOBULINA A

Se encuentra en lágrimas, leche, saliva y mucosa de los tractos intestinal y digestivo. Protegen los puntos más vulnerables del organismo como ojos, boca, aparato digestivo, sistema respiratorio, vagina, etc.

Se encuentra también en la leche materna. La inmunoglobulina A recibida por la madre ejerce un papel importante de defensa a nivel de todo el aparato digestivo.

### **IV. ANTÍGENO**

Es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmune. Los antígenos son usualmente proteínas o polisacáridos. Esto incluye partes de bacterias (cápsula, pared celular, flagelos, fimbrias, y toxinas), de

virus y otros microorganismos.”<sup>9</sup>

## ✚ REACCION ANTÍGENO ANTICUERPO

“Tanto la respuesta humoral como la celular suponen el reconocimiento de determinadas estructuras químicas en la superficie de macromoléculas extrañas, los antígenos. Las zonas del antígeno que se unen específicamente con el anticuerpo o con el receptor de un linfocito, se denominan determinantes antigénicos.

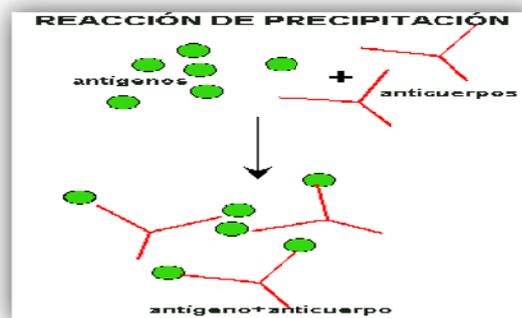
Cada antígeno puede presentar varios determinantes antigénicos diferentes que estimulan la producción de anticuerpos y la repuesta de los linfocitos T.

Cuando se ponen en contacto un antígeno con el anticuerpo específico, reaccionan uniéndose mediante un enlace no covalente y se desencadenan una serie de procesos capaces de neutralizarlo y eliminarlo.

## ✚ TIPOS DE REACCION ANTÍGENO-ANTICUERPO

**Precipitación:** En este caso el antígeno se encuentra disuelto, y al unirse los anticuerpos a los antígenos se forman unos macro complejos moleculares, formándose como una red tridimensional que debido a su tamaño precipita.

FIGURA N° 10



FUENTE:<http://members.fortunecity.com/jojoel99/biologia/inmunolo.html>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

<sup>9</sup> [http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter\\_pylori](http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori), 2009-12-14 hora 18:20 pm

**Aglutinación:** En las reacciones de aglutinación, un anticuerpo puede unirse a la vez a dos antígenos, así mismo cada antígeno puede unirse a varios anticuerpos y formar un entramado de complejos antígeno-anticuerpo.

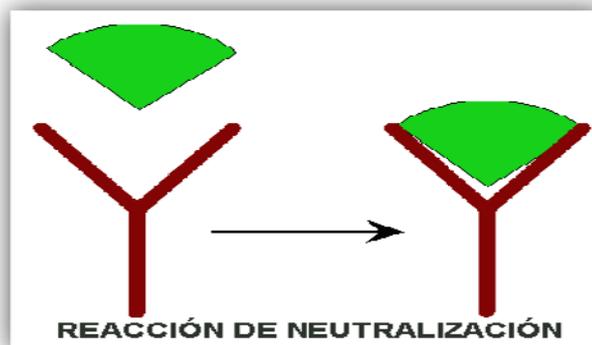
**FIGURA N° 11**



FUENTE: <http://members.fortunecity.com/jojoe199/biologia/inmunolo.html>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

**Neutralización:** Si el antígeno es una sustancia tóxica, la unión con el anticuerpo provoca su neutralización, de modo que no puede ejercer su efecto tóxico.

**FIGURA N° 12**



FUENTE: <http://members.fortunecity.com/jojoe199/biologia/inmunolo.html>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

**Opsonización:** El anticuerpo puede recubrir al antígeno para que sea reconocido por los fagocitos, esta reacción se llama Opsonización, y es como si los antígenos fueran más "sabrosos" para ser fagocitados.”<sup>10</sup>

**FIGURA N° 13**



FUENTE: <http://members.fortunecity.com/jojoel99/biologia/inmunolo.html>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

### 2.2.6. *Helicobacter pylori*.

“*Helicobacter pylori* es una bacteria que infecta el mucus del epitelio estomacal humano. Muchas úlceras y algunos tipos de gastritis se deben a infecciones por *H. pylori*. En muchos casos, los sujetos infectados nunca llegan a desarrollar ningún tipo de síntoma. Esta bacteria vive exclusivamente en el estómago humano, siendo el único organismo conocido que puede subsistir en un ambiente tan extremadamente ácido. Es una bacteria espiral (de esta característica morfológica deriva el nombre de la *Helicobacter*) y puede "atornillarse" literalmente por sí misma para colonizar el epitelio estomacal.

<sup>10</sup> <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>, 2010-01-7 hora 15:56 pm.

### 2.2.6.1. Origen del nombre

La bacteria fue llamada inicialmente *Campylobacter pyloridis*, después *C. pylori* y en 1989, después de secuenciar su ADN, se vio que no pertenecía al género *Campylobacter*, y se la reemplazó dentro del género *Helicobacter*. El nombre *pylori* viene del latín *pylorus*, que significa "guardabarrera", y hace referencia al píloro (la apertura circular del estómago que conduce al duodeno).

### 2.2.6.2. Estructura de la bacteria

**FIGURA N°14**



FUENTE: [http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter\\_pylori](http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori)  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

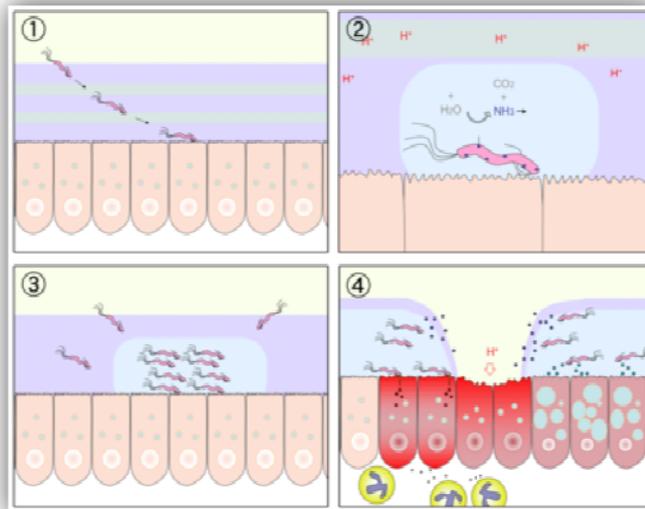
*H. pylori* es una bacteria Gram negativa de forma espiral, de alrededor de 3 micras de largo y con un diámetro aproximado de unas 0,5 micras. Tiene unos 4–6 flagelos. Es microaerófila, es decir, requiere oxígeno pero a más bajas concentraciones de las encontradas en la atmósfera. Usa hidrógeno y metano como fuente de energía. Además es oxidasa y catalasa positiva

Con su flagelo y su forma espiral, la bacteria "taladra" literalmente la capa de mucus del estómago, y después puede quedarse suspendida en la mucosa gástrica o adherirse a células epiteliales. *H. pylori* produce adhesinas, proteínas que se unen a lípidos asociados a membranas y a carbohidratos.

### 2.2.6.3. Modo de infección de *Helicobacter pylori*.

1. *H. pylori* penetra la capa mucosa del estómago y se adhiere a la superficie de la capa mucosa epitelial gástrica.
2. Produce amoníaco a partir de la urea, para neutralizar el ácido gástrico. Migración y proliferación de *H. pylori* al foco de infección.
3. Se desarrolla la ulceración gástrica con destrucción de la mucosa, inflamación y muerte de las células mucosas.”<sup>11</sup>

FIGURA N° 15



FUENTE: [http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter\\_pylori](http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori)  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

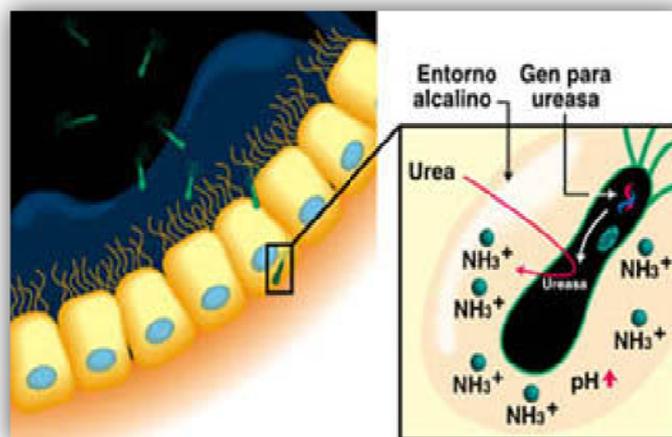
<sup>11</sup> <http://www.a14.san.gva.es/labm/IA.htm>, 2009-10-25 hora 9:34 am.

#### 2.2.6.4. Producción de ureasa y motilidad

“La producción de ureasa hidroliza la urea en amonio y agua, protegiéndose así de los efectos del ácido gástrico, alcalinizando el medio a su alrededor. Es probable también que la ureasa tenga efectos tóxicos directos sobre la capa de moco y las células de la mucosa.

La motilidad de la bacteria mediada por flagelos le permite pasar a través del medio ácido del estómago, introducirse en la capa de moco y establecerse sobre el epitelio gástrico, donde existe un ambiente neutro que la beneficia.”<sup>12</sup>

FUGURA N°16



FUENTE: Ilustración de los principales mecanismos de virulencia de *H. pylori*.  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

Gracias a los flagelos puede movilizarse a través de la capa de moco, y la ureasa mantiene un pH neutro, e incluso alcalino, en torno a la bacteria.

<sup>12</sup> <http://hnnbiol.blogspot.com/2008/01/sistema-digestivo-ii.html>, 2010-01-11 hora 16:16 pm.

#### **2.2.6.5. Importancia de la infección por h. pylori**

“En la actualidad nadie pone en duda la importancia por infección de Helicobacter pylori como el factor causal mas importante en la ulcera péptica, tanto duodenal como gástrica. Este conocimiento ha causado un gran impacto en la evaluación diagnostica y terapéutica de esta enfermedad.

Por otra parte el papel de la infección por Helicobacter pylori y los síntomas de dispepsia, ya sea no investigada o después de una endoscopia negativa no ha sido aclarado del todo. Finalmente la infección por Helicobacter pylori ha sido implicada como un factor de riesgo para el adenocarcinoma gástrico y para el linfoma gástrico de bajo grado del tejido linfoide asociado a la mucosa, también llamado MALT.

#### **2.2.6.6. Patogénesis**

##### 1) ACTIVIDAD MUCOLITICA DEL HELICOBACTER PYLORY

El H. Pylori produce ureasa por lo tanto el moco de estómagos infectados tiene una concentración de amoniaco cuatro veces más de un estomago no infectado.

El amoniaco es un lesionante directo, eleva el ph lo que altera la interacción lipídica y proteica del moco, por lo tanto hay una alteración de la viscosidad lo que disminuye la capacidad de difusión del hidrogeno y habrá más permeabilidad del moco.

##### 2) ADHERENCIA A LA MUCOSA GASTRICA DEL H. PYLORI

Las adhesinas del H. Pylori están constituidas por una hemoaglutinina desde la superficie de la bacteria, esta se une a un componente de sialoproteínas tanto de células epiteliales y sanguíneas.

Por lo tanto hay cambios en el moco intracelular como descenso de carbohidratos neutros e incrementos de glicoproteínas ricas en acido siálico en el citoplasma de las

células mucosas. La adhesión es ventajosa para la supervivencia del patógeno y para favorecer la liberación de las toxinas del germen sobre las células epiteliales.

### 3) CITOTOXICIDAD Y FACTORES DE VIRULENCIA

Se produce un factor cito tóxico provocando vacualización celular y necrosis visto microscópicamente<sup>15</sup>

Entre los factores de virulencia están las proteínas superficiales implicadas en los fenómenos de adhesión y alteración del epitelio mucoso gastroduodenal relacionado con la actividad endotoxica del germen. La toxicidad está dada por un lípolisacarido de la superficie del H. Pylori.”<sup>13</sup>

### 4) ASPECTOS INMUNOLOGICOS

“Activación de los polinucleares neutrófilos traducido en un infiltrado inflamatorio de las superficies mucosas.

Este efecto esta mediado por la interleukina 8, así como una proteína de la propia bacteria con potente actividad quimiotactica. La activación da lugar a la formación de cito quinas y moléculas de adhesión intracelular.

#### **2.2.6.7. Epidemiología de H. pylori.**

Se estima que más de dos tercios de la población mundial se encuentran infectados por esta bacteria.

En poblaciones de condiciones socioeconómicos baja y de higiene deficiente la infección ocurre en los primeros años de vida y persiste hasta la edad adulta en forma crónica, de modo que de 80 a 100% son portadores. En las personas con un mejor

---

<sup>13</sup> <http://members.fortunecity.com/jojoel99/biologia/inmunolo.html>, 2009-11-26 hora 11:36 am.

nivel de vida la infección es más tardía, pero su prevalencia se estima cercana a 40% en niños de 4 años y 70% en adolescentes.

Desde el punto de vista epidemiológico la prueba diagnóstica ideal debe de cumplir una serie de requisitos: poseer una alta sensibilidad y especificidad, no ser invasiva, ser fácilmente realizable y no excesivamente costosa. La mayoría de los test diagnósticos cumplen perfectamente las dos primeras condiciones, pero no son aplicables sobre población general por no ajustarse a las restantes. La prueba más utilizada en estudios epidemiológicos es la detección de anticuerpos séricos, tipo IgG, frente al H pylori mediante técnicas de enzimoimmunoanálisis. Otros autores prefieren el test del aliento tras la toma oral de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  por presentar una mayor especificidad y no precisar venopunción. Ambas técnicas poseen una alta sensibilidad (superior al 95%) pero a favor de la segunda estaría el hecho de que podría detectar infecciones agudas o muy recientes en las que todavía no se hubiera producido la seroconversión.

#### **2.2.6.8. Causas incidencias y factores de riesgo**

La mitad de la población mundial está infectada por H. Pylori. Las personas que viven en países en desarrollo o en condiciones de insalubridad tienen la mayor probabilidad de contraer las bacterias, que se pasan de una a otra.

##### **1. Causas**

La infección por Helicobacter pylori es responsable de la mayor parte de las patologías gastroduodenales.

Está bien documentado un tipo de transmisión persona-persona tanto de tipo oral-oral como fecal-oral, y se especula con la existencia de vectores de transmisión de tipo zoonótico (moscas, gatos) y de tipo ambiental (agua) que actuarían a la vez, como reservorios de la infección.

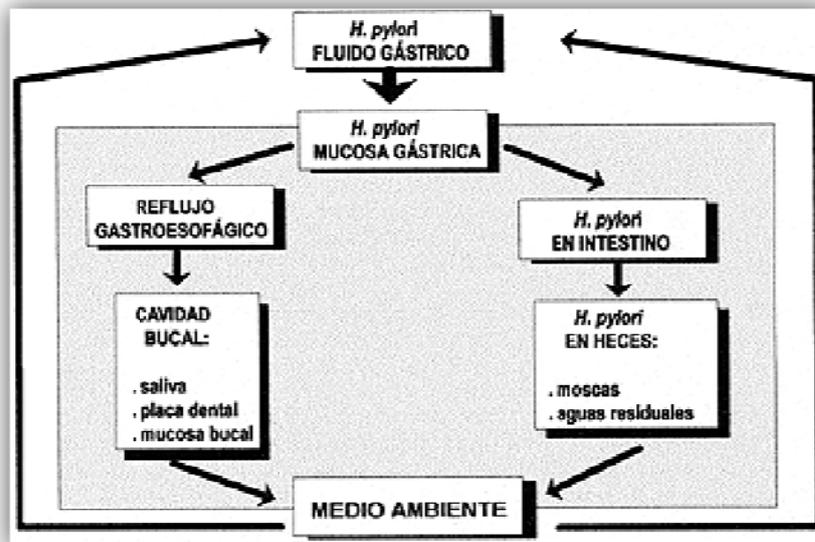
### Transmisión oral-oral

El contacto estrecho entre personas para que tenga lugar. Aunque el cultivo de *H. pylori* en muestras obtenidas de la boca (placa dental, saliva, lengua o mucosa de la mejilla) es difícil. Ocurre una colonización transitoria de la cavidad oral en casos de reflujo o en pacientes sometidos a endoscopia; utilizando la técnica de PCR para la detección de la bacteria

### Transmisión fecal-oral

El cultivo de formas viables de la bacteria en muestras de heces, apoya la hipótesis de esta vía de transmisión.

FIGURA N° 17



FUENTE: <http://www.google.com.ec/images>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

## 2. Factores De Riesgo

Lo que es interesante es que muchas personas tienen este organismo en su tracto gastrointestinal pero no desarrollan úlcera o gastritis. Parece ser que para que el daño tenga lugar, también tienen que estar presentes otros factores. Los factores que incrementan el riesgo de una úlcera a causa de H. Pylori abarcan:

- ✚ Respuesta inmunológica anormal en los intestinos.
- ✚ Ciertos hábitos del estilo de vida, como tomar café, fumar y estrés continuo.

### 2.2.6.9. Síntomas por infección de Helicobacter pylori

Si se es portador de H. pylori, pueden no presentarse síntomas. Si la persona tiene una úlcera o gastritis, puede experimentar algunos de los siguientes síntomas.

Dolor abdominal

- ✚ Dispepsia o indigestión
- ✚ Distensión y llenura
- ✚ Náuseas leves (que se pueden aliviar al vomitar)
- ✚ Eructos y regurgitación
- ✚ Sentir mucha hambre de 1 a 3 horas después de comer

### 2.2.6.10. Patologías de la mucosa gástrica por infección de Helicobacter pylori

**Gastritis.-** Inflamación de la mucosa gástrica. Son varias las causas, como los malos hábitos alimenticios, alcohol, tabaco, bebidas excitantes, el estrés, el abuso en el

consumo de analgésicos (aspirina, piroxicam, indometacina, etc.) o la infección por *Helicobacter pylori* principal productor de gastritis 80%.

**Úlcera péptica.-** Lesión de la membrana mucosa del estomago y duodeno con forma crateriforme (con forma de un cráter, al perderse parte del tejido) y con escasa o nula tendencia a la cicatrización. <sup>[4]</sup> La infección por *Helicobacter Pylori* está presente en el 95% de los pacientes con úlcera duodenal y en un 83% con úlcera gástrica.

**Adenocarcinoma gástrico.-** *H. Pylori* es considerado un factor de riesgo en el desarrollo de cáncer gástrico, pues se encuentra presente entre el 70 y 94% de los pacientes con adenocarcinoma gástrico.”<sup>14</sup>

#### 2.2.6.11. Métodos de diagnósticos

“Los primeros informes sobre el hallazgo de *H. pylori* se realizaron analizando biopsias gástricas, lo que llevó a definir una serie de métodos diagnósticos basados en el análisis de tejidos, o sea cuyo prerrequisito era la gastroscopía y por ende la biopsia, de ahí que esos métodos fueron denominados invasivos; en contra posición con aquellos otros desarrollados más tarde, que no requieren biopsia y que se denominan “no invasivos”.

##### 1. Métodos Agresivos (Biopsia gástrica)

-  Cultivo
-  Histología
-  Ureasa rápida

##### 2. Métodos No Agresivos

-  Antígeno en heces

---

<sup>14</sup> <http://hnnbiol.blogspot.com/2008/01/sistema-digestivo-ii.html>, 2010-01-11 hora 16:16 pm.

- ✚ Prueba del aliento con urea (UBT)
- ✚ Serología
- ✚ Anticuerpos en saliva

**Histología:** Permite la observación del microorganismo espiral y el estudio anatomopatológico de la muestra gástrica y los posibles cambios originados.

#### 2.2.6.12. Tratamiento

El tratamiento específico de las úlceras causadas por el *H. pylori* será determinado por su médico basándose en:

- ✚ Su edad, su estado general de salud y su historia médica.
- ✚ Qué tan avanzada está la enfermedad.
- ✚ Su tolerancia a determinados medicamentos, procedimientos o terapias.
- ✚ Sus expectativas para la trayectoria de la enfermedad.
- ✚ Su opinión o preferencia.

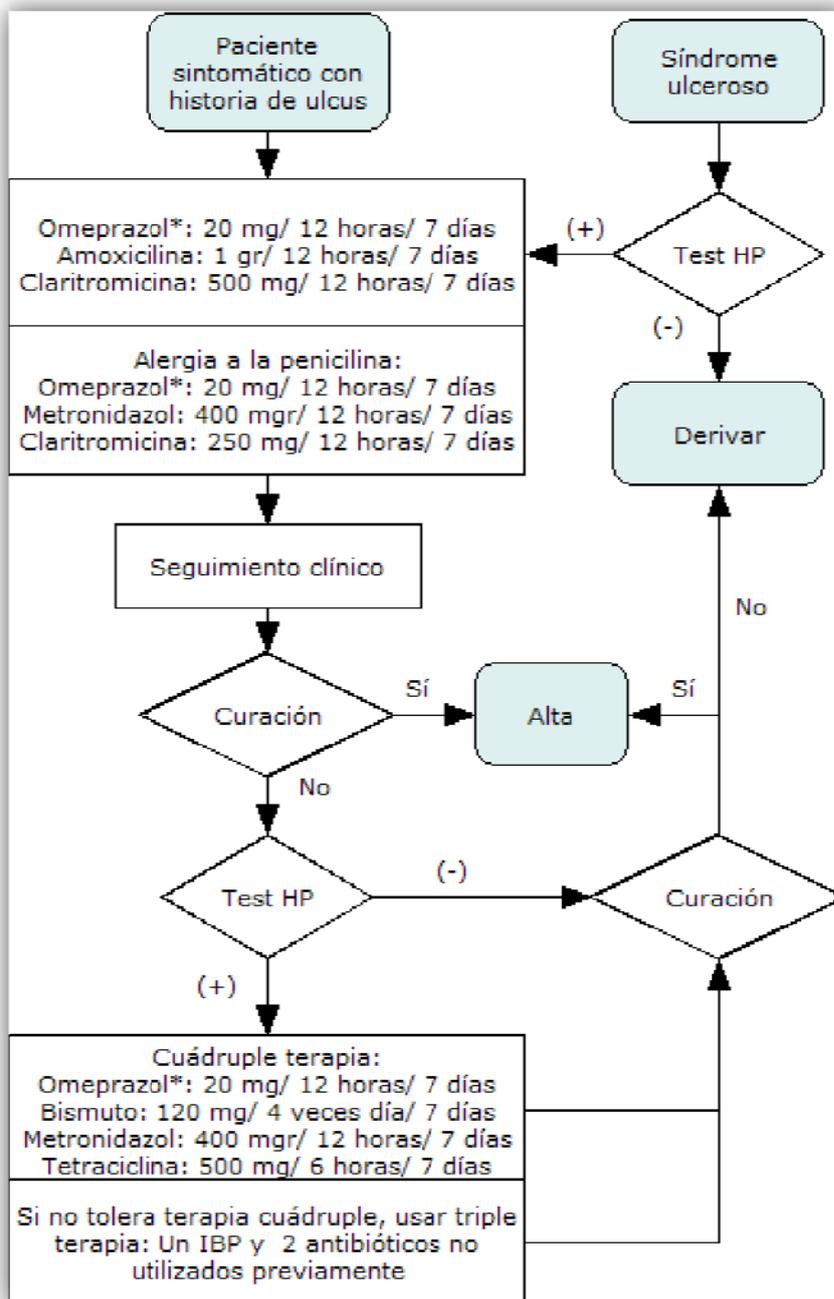
El tratamiento puede incluir:

Antibióticos (para eliminar la bacteria) claritromicina y amoxicilina. Medicamentos (para suprimir la producción de ácido), incluyendo los siguientes: Bloqueadores H2 (para reducir la cantidad de ácido en el estómago por bloqueo de la histamina, un poderoso estimulante de la secreción ácida. Inhibidores de la bomba de protones (para bloquear por completo la producción de la secreción de ácidos del estómago, deteniendo el bombeo.”<sup>15</sup>

---

<sup>15</sup> Guarderas, C. (1995) “*El Examen Médico*”. Editorial Copynght: Guarderas Peñafiel. Tercera Edición. Pp. 446 – 448.

FIGURA N° 18



FUENTE: <http://www.google.com.ec/images>  
 ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

#### **2.2.6.13. Complicaciones.**

“La infección por *H. pylori* está ligada a la úlcera y al cáncer del estómago.

#### **2.2.6.14. Prevención**

Un ambiente limpio y libre de gérmenes puede ayudar a disminuir el riesgo de contraer una infección por *H. pylori*

#### **2.2.7. Diagnóstico serológico.**

La respuesta inmune desarrollada contra el *H. pylori* tiene componentes agudos/innatos y crónicos/adaptativos que involucran la producción de anticuerpos a nivel sistémico y de la mucosa, así como también la secreción de citoquinas tales como interleuquinas (IL) 12 y 18, las cuales orientan la respuesta inmune a través de linfocitos T helper tipo Th1.

Las personas infectadas presentan altos niveles de IgG e IgA en la sangre, así como un aumento en la secreción de IgA e IgM en el estómago. Niveles de IgM pueden ser detectados al poco tiempo después de ocurrida la infección, sin embargo, los niveles de IgA e IgG indican el carácter crónico de la misma. La respuesta inmune del hospedero es ineficaz en la eliminación de la bacteria, y es probable que contribuya a la patogénesis de la infección.”<sup>16</sup>

“La capacidad para diagnosticar la infección se determina haciendo una comparación de los resultados obtenidos en la serología respecto de los obtenidos con los otros métodos, lo anterior permite obtener parámetros tales como sensibilidad

---

<sup>16</sup> [http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_01.htm](http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_01.htm), 2009-10-22 hora 9:34 am.

(probabilidad de que un infectado por *H. pylori* sea positivo para el test serológico), especificidad (probabilidad de que la prueba sea negativa para los individuos que no están infectados) y valores predictivos positivos y negativos (probabilidad de que un resultado positivo o negativo indique la presencia de infección). De los anticuerpos mencionados, la detección de IgG es considerada como el mejor indicador para el diagnóstico de infección, que posee valores de sensibilidad y especificidad que en población adulta supera el 90%. La situación es diferente al detectar la presencia de IgA, la cual posee valores diagnósticos considerablemente más bajos.

Es una prueba sencilla, no invasiva, basada en la detección de anticuerpos específicos frente a antígenos del HP como consecuencia de la reacción inmunológica local/sistémica del individuo.

Las personas infectadas presentan altos niveles de IgG e IgA en la sangre, así como un aumento en la secreción de IgA e IgM en el estómago. Niveles de IgM pueden ser detectados al poco tiempo después de ocurrida la infección, sin embargo, los niveles de IgA e IgG indican el carácter crónico de la misma. La IgG constituye la respuesta inmunológica humoral contra la infección sistémica mientras que las IgA son la respuesta local (mucosa gástrica).<sup>17</sup>

#### **2.2.8. Elisa. (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)**

“El ensayo de inmunoenlace (EIA) es una técnica versátil y muy sensible, que puede utilizarse para detectar y medir en una muestra tanto Ag como Ac. Los conjugados que se emplean tienen como marcadores a diversas enzimas.

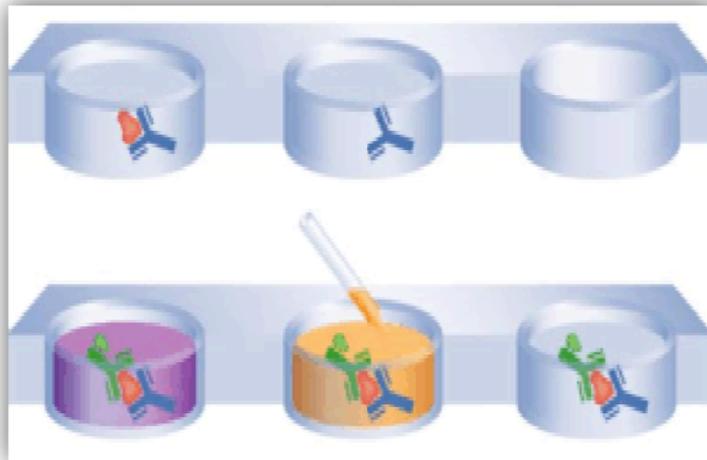
Esta técnica recibe diferentes nombres de acuerdo al soporte sobre el que se realiza: cuando es en placa, se denomina ELISA; sobre tejidos, inmunohistoquímica y sobre

---

<sup>17</sup> <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>, 2010-01-7 hora 15:56 pm.

células, inmuno-cito química., ELISA (en placa). La más comúnmente utilizada es el ELISA indirecto que se usa para determinar la presencia de Ac en una muestra problema, utilizando como conjugado un Ac anti-Ig marcado con una enzima.

**FIGURA N° 19**



FUENTE:[http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion\\_Elisa&opc=introduccion](http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion_Elisa&opc=introduccion)  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

Para detectar la presencia de este conjugado, se agrega a la reacción un sustrato específico de dicha enzima y un cromógeno que permita observar la acción de la enzima sobre su sustrato. Si luego de la reacción inmunológica y de los posteriores lavados, el reactivo marcado permanece unido a la fase sólida, al agregar la mezcla de sustrato-cromógeno la enzima actuará sobre su sustrato, modificándolo, y este producto inducirá un cambio de color en el cromógeno soluble sobrenadante. La intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad de anti-Ig marcada que se haya captado, y ésta a su vez será proporcional a la cantidad de Ac que se

encuentren en la muestra problema. La intensidad de color se puede estimar a simple vista.”<sup>18</sup>

“Para cuantificar pequeñas cantidades de Ag o Ac no detectables por los métodos convencionales pueden aplicarse técnicas que utilizan marcadores de alta sensibilidad. El ELISA se basa en la utilización de superficies sólidas para inmovilizar Ag o Ac, en la elusión a través de lavados de los reactivos que no reaccionan y en la detección de la reacción a través de conjugados enzimáticos.

Uno de los inmunoreactivos se absorbe a una fase sólida y el otro se marca con una enzima. La enzima reacciona con un sustrato formando un producto coloreado.

Las enzimas pueden unirse a Ag, Ac u otras proteínas y los conjugados resultantes conservan tanto la actividad enzimática como inmunológica.

## 1) VENTAJAS

- ✚ Los reactivos marcados con enzima son de alta estabilidad.
- ✚ Permite una completa visualización del color por medio de peines con proyecciones u automatización.
- ✚ Los resultados son objetivos y pueden ser cuantificados por una escala de color o un espectrofotómetro.
- ✚ Los Ag o Ac marcados con enzima pueden ser manejados en condiciones normales de laboratorio.

## 2) DESVENTAJAS

- ✚ Diferente afinidad de los Ag para adherirse a la fase sólida

---

<sup>18</sup><http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Inmunologia/Documentos/2008/guia%20de%20trabajos%20practicos.pdf>, 2010-02-06 hora 16:08 pm.

- ✚ Presencia de reacciones no específicas.”<sup>19</sup>

### 2.2.8.1. Fundamento de Elisa

“Ag o Ac fijado a una fase sólida + Ag o Ac en la muestra + Conjugado: Ac unido a ENZIMA + SUSTRATO = CAMBIO DE COLOR.

### 2.2.8.2. Componentes de Elisa

- ✚ Tipo de muestra: antígenos o anticuerpos
- ✚ Fase sólida.
- ✚ Enzimas
- ✚ Lavados
- ✚ Substratos
- ✚ Revelador de la actividad enzimática.

**Soporte Sólido.-** La prueba se realiza en placas de plástico (poliestireno) que contienen 96 pocillos, cada uno de aprox. 1 cm de profundidad y 0,7 cm de diámetro. Aumentan capacidad de absorción (fenómeno de superficie) de moléculas y con fondos de pocillo ópticamente claros para poder realizar las medidas de densidad óptica en instrumentos específicos.

- ✚ Material de Soporte Formas disponibles:
- ✚ Membranas de Nitrocelulosa.
- ✚ Peine con proyecciones sensibilizadas con Ag o Ac.
- ✚ Placas o Láminas de polivinilo

---

<sup>19</sup>[http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion\\_Elisa&o=tecnicas](http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion_Elisa&o=tecnicas), 2010-02-04 hora 15:09 pm.

✚ Placas o Láminas poliestireno.

✚ Látex, nylon, celulosa.

**Antígeno:** Completo - Extracto total - Fracción Purificada

**Anticuerpos Policlonales:** Obtenidos a partir del suero de animales inmunizados con el antígeno de interés.

✚ Heterogéneos

✚ Reconocen epítopes diferentes del Ag

✚ Producidos por numerosos clones de Linfocitos B

**Anticuerpos Monoclonales.-** Producidos por un único clon de células plasmáticas, por lo tanto con única especificidad.

✚ Homogéneos

✚ Especificidad única

✚ Producidos por un único clon de Linfocitos B

**Bloqueo:** Buffer de bloqueo

**Enzimas**

✚ Peroxidasa

✚ Fosfatasa alcalina

✚  $\beta$ -galactosidasa

✚ Penicilinasas

✚ Ureasa

✚ Glucosa oxidasa

**Sustratos**

✚ Solubles en agua

✚ Fácil de manipular

- ✚ No tóxicos, no mutagénicos
- ✚ Bajo costo

### **Lavados**

- ✚ Utilizados para separar los componentes
- ✚ De 3 a 6 lavados por cada etapa
- ✚ Duración de 30 seg a 1 min c/u
- ✚ Se utiliza Buffer fosfato 0.01 a pH 7,2

### **Revelación De La Actividad Enzimática**

- ✚ Incorporación de ácidos o bases fuertes para detener la reacción
- ✚ La cantidad de producto enzimático formado se determina leyendo a base del color en los peines de fase solida o en la densidad óptica (DO) con un espectrofotómetro.

#### **2.2.8.3. Pasos generales de un Elisa**

- ✚ Tapizado del pocillo con el antígeno o anticuerpo.
- ✚ Adición de la muestra problema con la mezcla de antígenos o anticuerpos.
- ✚ Unión del antígeno o anticuerpo específico al anticuerpo o antígeno tapizado en el pocillo
- ✚ Lavado del pocillo para eliminar el exceso de antígeno o anticuerpo no unido
- ✚ Adición del anticuerpo secundario marcado con la enzima
- ✚ Unión del anticuerpo secundario al antígeno o anticuerpo
- ✚ Lavado del pocillo para eliminar el exceso de enzima no unida

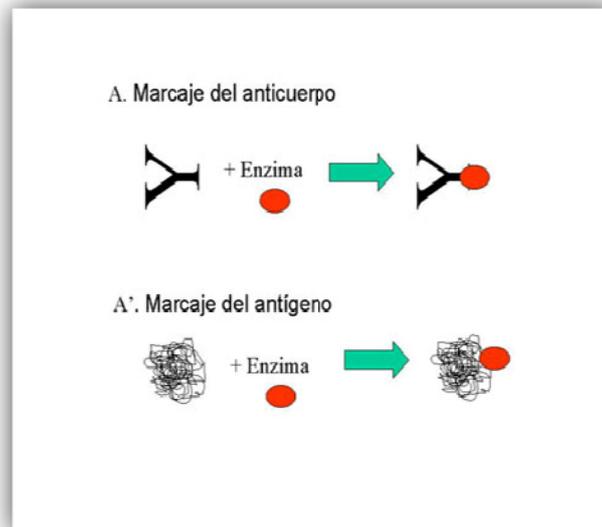
- ✚ Adición del sustrato
- ✚ Unión del sustrato a la enzima
- ✚ Desarrollo del color<sup>20</sup>

#### 2.2.8.4. Fases de un ensayo de Elisa

“Las fases de un ensayo Elisa son las siguientes: conjugación del anticuerpo del antígeno con un enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina). El anticuerpo conjugado al enzima se emplea en los ensayos directos e indirectos, sándwich.

El antígeno marcado se emplea en ensayos de competición de antígeno

**FIGURA N° 20**



FUENTE:<http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>  
 ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

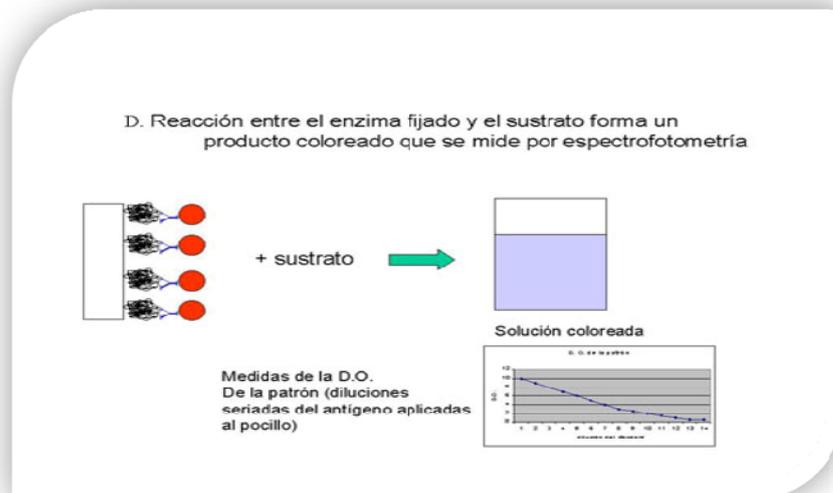
<sup>20</sup> HENRY, (2005) “*El Laboratorio en el Diagnostico Clínico*”. Editorial Marban. Segunda edición. Pp. 832 – 834; 845 – 847

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.

Formación de una o más capas de inmunocomplejos amplificando la señal al poderse unir uno o más anticuerpos secundarios a cada anticuerpo primario. En el caso del anticuerpo unido a la placa se incubaba con una mezcla de antígeno y antígeno marcado.

Revelado de la reacción enzimática. Después de un lavado para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos se añade el sustrato enzimático en solución. Se deja reaccionar y se lee en escala de color o por la densidad óptica (D.O.) mediante espectrofotometría. En el esquema se muestra la reacción asociada a un ELISA directo.

**FIGURA N° 21**



FUENTE: <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

### 2.2.8.5. Tipos de ensayo de un Elisa

Se han adaptado varios tipos del método ELISA tanto para la determinación de ANTÍGENOS como de ANTICUERPOS.

#### 1) Determinación De Antígenos

La modalidad más frecuente del método ELISA para la determinación de antígenos es el modelo ELISA "Sandwich".<sup>19</sup> En esta forma, la placa suele ya venir con un anticuerpo fijado (monoclonal ó policlonal) frente al antígeno problema.

#### Elisa Directo

FIGURA N° 22



FUENTE: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

Ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos. Esta prueba es generalmente de tipo sándwich, con revelado enzimático, utilizando un anticuerpo monoclonal ligado a una fase sólida (pocillo, esfera plástica) el cual capta al antígeno presente en el suero. A continuación se agrega un anticuerpo policlonal marcado con

<sup>19</sup> <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>

una enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina) y se promueve el desarrollo de color tras la adición de sustrato cromogénico.

## 2) Determinación De Anticuerpos

Para la determinación de anticuerpos específicos frente a un determinado antígeno se utilizan normalmente las siguientes modalidades del método ELISA.<sup>21</sup>

### ✚ **Elisa Indirecto**

**FUGURA N° 23**



FUENTE: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

Es el método de elección para detectar la presencia de anticuerpos séricos contra *H. pylori*.

“Consta de las siguientes etapas:

- ✚ Fijación a la fase sólida de antígenos específicos para los anticuerpos objeto de estudio. Lavado para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados.

<sup>21</sup> [http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_01.htm](http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_01.htm), 2009-10-22 hora 9:34 am.

- ✚ Adición del suero problema, de tal forma que sus anticuerpos reaccionarán específicamente con los antígenos fijados al soporte. Lavado para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- ✚ Adición de anti-anticuerpos conjugados con una enzima, los cuales reaccionan con los anticuerpos específicos añadidos en el paso anterior y que se encuentran fijados a los antígenos. Lavado para eliminar los anti-anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.
- ✚ Adición de un sustrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
- ✚ Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado.

En otras palabras se basa en la fijación de un antígeno en la fase sólida, el cual atrapa los anticuerpos de la muestra que posteriormente son identificados con un anticuerpo anti Inmunoglobulina humana específico marcado con una enzima<sup>20</sup>

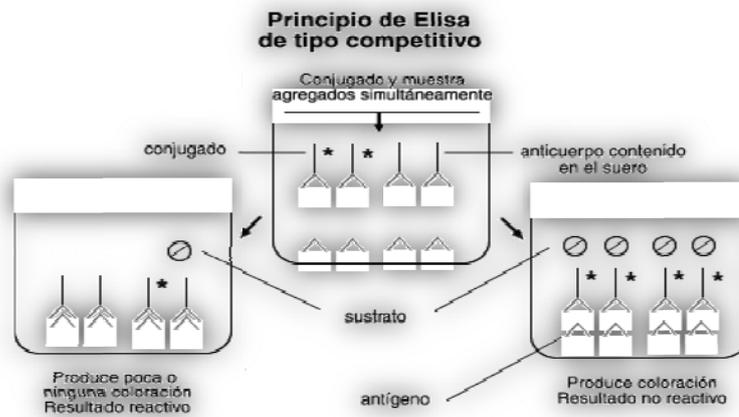
En estos casos la cantidad de Anticuerpo es directamente proporcional a la cantidad de producto enzimático formado, por lo cual se produce más color a medida que la concentración de anticuerpos aumenta en la muestra dando lecturas en escala de color o de DO altas, y viceversa.

### ✚ **Elisa Competitivo**

---

<sup>20</sup> <http://members.fortunecity.com/jojoel99/biologia/inmunolo.html>

FIGURA N°24



FUENTE: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca051.htm>  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

Determina la concentración de Ag – Ac, se basa en la competencia entre el Ag de la muestra y un antígeno marcado con una enzima por la unión del Ac de captura. Consta de lo siguiente:

- Fijación al soporte de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
- El método se basa en la competencia por la unión con el anticuerpo de captura entre el Ag de la muestra y un Ag marcado con una enzima.
- Cuanto menor sea la intensidad del color generado mayor será la concentración de Ag en la muestra problema.
- El Ag de la muestra (Ag sin marcar) desplaza al conjugado (Ag marcado) que se elimina con los lavados, disminuyendo así la cantidad de enzima presente en el pocillo y por consiguiente la cantidad de color generando al agregar la mezcla de sustrato cromógeno.

En otras palabras se basa en la competencia que se establece entre el anticuerpo de la

muestra y el conjugado (que es un anticuerpo dirigido contra el antígeno) para ocupar sitios reactivos en el antígeno fijado.

En este ELISA de tipo competitivo tanto la muestra que contiene el anticuerpo como el conjugado se agrega al mismo tiempo. Si la concentración de anticuerpos en la muestra es alta muy poco conjugado puede fijarse en los antígenos inmovilizados, por lo tanto habrá ausencia de coloración por la poca fijación de la enzima con el sustrato. Inversamente con muestras que contienen poco o nada de anticuerpos, más conjugado se fijará al antígeno y la posterior adición de sustrato producirá la presencia de color

En estos casos la cantidad de anticuerpos en la muestra es inversamente proporcional a la cantidad de producto enzimático formado (producto coloreado).

#### **2.2.8.6. Control de calidad de la prueba de Elisa**

La prueba ELISA es un procedimiento que involucra muchos pasos por lo cual se deben controlar adecuadamente para obtener el máximo rendimiento en precisión y exactitud. Para el adecuado control de la técnica se debe observar lo siguiente.

- ✚ Leer el inserto que acompaña al kit antes de empezar la prueba para verificar si se cuenta con todo lo necesario para realizarla.
- ✚ Realizar la prueba como lo indica el inserto colocando todos los controles que solicita, respetando la temperatura, tiempo de incubación, número y volumen de lavados.
- ✚ Dispensar los controles y muestras evitando la formación de burbujas que pueden alterar el volumen de las mismas.
- ✚ Utilizar puntas nuevas en cada prueba.

- ✚ Evitar el uso de material reciclado que podrían contener residuos de detergentes y producir resultados erróneos.
- ✚ Colocar el suero control interno en cada prueba para obtener la gráfica de control Levey Jennings.
- ✚ No utilizar reactivos fuera de la fecha de vencimiento.
- ✚ Realizar la validación de la prueba antes de aceptar los resultados.
- ✚ Si los criterios de validación no se cumplen, se invalida toda la corrida y se debe realizar una nueva prueba.”<sup>22</sup>

#### **2.2.8.7. Fundamento del método**

La prueba de InmunoComb II Helicobacter Pylori IgM es un ensayo inmunoenzimático (EIA) indirecto de fase sólida. La fase sólida es el peine con 12 proyecciones (dientes). Cada diente está sensibilizado en dos áreas reactivas:

Punto superior: anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana (control interno). Punto inferior: antígenos de Helicobacter Pylori inactivado.

La bandeja de desarrollo tiene 6 filas (A-F) de 12 pocillos. Cada fila contiene una solución reactiva lista para ser usadas en cada etapa del ensayo. La prueba es realizada por etapas, pasando el peine de una fila a otra, con un periodo de incubación en cada etapa.

Al comienzo de la prueba, las muestras de suero o plasma se pre diluyen a 1:11 y se agregan al diluyente de los pocillos de la fila A de la bandeja de desarrollo. El peine luego es insertado en los pocillos de la fila A. Los anticuerpos anti-H. Pylori de estar

---

<sup>22</sup> [www.helicobacterspain.com](http://www.helicobacterspain.com), 2009-11-08 hora 10:12 am.

presentes en las muestras, se unirán específicamente a los antígenos de H. Pylori en el punto inferior de los dientes del peine.

Simultáneamente las inmunoglobulinas presentes en las muestras son capturados por la anti-inmunoglobulina humana en el punto superior (control interno). Los componentes no unidos son lavados en la fila B. En la fila C, el IgM anti-H. Pylori capturado en los dientes reaccionan con el anti-IgM humano marcado con fosfatasa alcalina.

En las dos filas siguientes, los componentes no unidos son eliminados mediante un lavado. En la fila F la fosfatasa alcalina unida reacciona con componentes cromogénicos. Los resultados pueden observarse como puntos azul grisáceo en la superficie de los dientes del peine.

#### **2.2.8.8. Contenido del kit**

##### **A. Materiales Suministrados**

**1. Peines:** El kit contiene 3 peines de plástico, cada peine tiene 12 dientes, un diente para cada prueba. Cada diente es sensibilizado en 2 aéreas reactivas:

 Punto superior: anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana

 Punto inferior: antígenos inactivados de H. Pylori.

Los peines son suministrados en empaques de aluminio que contienen una bolsa desecante.



## 2. Bandejas De Desarrollo

El kit contiene 3 bandejas de desarrollo cubiertas con papel de aluminio, cada bandeja tiene los reactivos necesarios para la prueba. La bandeja consiste de 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada una. Los contenidos de cada fila son:

- + FILA A Diluyente de la muestra
- + FILA B Solución de lavado
- + FILA C anticuerpos de cabra anti Ig M humano marcados con fosfatasa alcalina.
- + FILA D Solución de lavado.
- + FILA E Solución de lavado.
- + FILA F Solución de sustrato cromogénico que contiene 5-bromo-4 cloro-3 indolil fosfato y nitro azul tetrazolio.



- + CONTROL POSITIVO.- Tiene Ig M anti-H.Pylori .Un frasco de tapa roja de 0,2 ml. De plasma humano inactivado con calor.
- + CONTROL NEGATIVO.- Un frasco tapa verde de 0.2 ml de plasma humano, inactivado con calor, negativo para anti-H. Pylori.



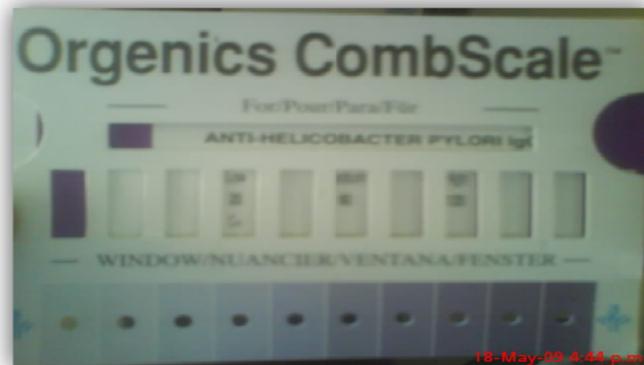
- + DILUYENTE DE LA MUESTRA.- Una botella de 5 ml.



- + PERFORADOR.- Para penetrar el papel aluminio que cubre a los pocillos.



- ✚ COMBSCALE.-Para la lectura de los resultados de la prueba.



## **B. MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS**

- ✚ Pipetas de precisión con puntas desechables con capacidad de 10 ul, 25 ul, 100 ul.
- ✚ Tijeras.
- ✚ Cronometro de laboratorio
- ✚ Centrifuga para separar suero o plasma.
- ✚ Microtubos o tubos de ensayo.

## **C. CONSERVACION Y ESTABILIDAD DEL KIT**

- ✚ Conservar el kit en su caja original a 2-8 °C.
- ✚ No congelar el kit
- ✚ Después de abrir el kit inicialmente, los componentes deben ser conservados a 2-8°C.
- ✚ El funcionamiento del kit después de su apertura inicial, es estable hasta la fecha de caducidad del mismo si se conserva a 2-8°C.
- ✚ Después del uso inicial, el peine y la bandeja de reactivos no pueden ser utilizados más de tres veces.

#### **D. MANEJO DE MUESTRAS**

- ✚ Es posible usar suero o plasma en la prueba.
- ✚ Las muestras pueden ser almacenadas por 7 días a temperatura de 2-8<sup>0</sup>C. antes de la prueba. Para almacenar las muestras por más de 7 días, congélelas a -20<sup>0</sup>C o a temperaturas más bajas.
- ✚ Después de descongelar las muestras de suero, centrifúguelas. Use sobrenadante para la prueba.

#### **E. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA**

- ✚ Incube la bandeja de desarrollo en una incubadora a 37<sup>0</sup>C.por 20 minutos.
- ✚ Abra el empaque de aluminio por el borde perforado y retire el peine.
- ✚ Doble y rompa verticalmente el peine o córtelo con tijeras según cuantos dientes van utilizar.
- ✚ Vuelva a meter la porción no utilizada del peine en el empaque de aluminio mantener a temperatura de 2-8<sup>0</sup>C.
- ✚ Para cada muestra y control colocar 100 ul de diluyente para la muestra en un microtubo o tubo de ensayo.



- ✚ Agregar 10 ul de la muestra o del control positivo o negativo, mezclar.



- ✚ Pipetee 25 ul de una muestra prediluida. Perfore la cubierta de aluminio de un pocillo de la fila A con el perforador y vacié la muestra en el fondo del pocillo.



- ✚ Inserte el peine en los pocillos de la fila A (reacción Ag-Ac). Deje el peine en la fila A exactamente por 30 minutos. Al cumplirse los 30 minutos saque el peine de la fila A absorba el líquido adherido a las puntas de los dientes sobre un papel absorbente. En cada uno de los pasos previamente hay que perforar el papel aluminio de los pocillos momentos antes de que termine el tiempo.



- ✚ Inserte el peine en los pocillos de la fila B (primer lavado) agite por el transcurso de 2 minutos. Retire el peine y absorba líquido adherido.



- ✚ Inserte el peine en los pocillos de la fila C (unión del conjugado) mezcle y dejar por 20 minutos, luego retire y absorba el líquido adherido.



- ✚ Inserte el peine en los pocillos de la fila D (segundo lavado), agite durante 2 minutos, luego retire y absorba el líquido adherido.



- ✚ Inserte el peine en los pocillos de la fila E (tercer lavado), agite durante 2 minutos, luego retire el peine y absorba el líquido adherido.



- ✚ Inserte el peine en los pocillos de la fila F (reacción de color), mezcle e incube por 10 minutos, luego retire el peine.



- ✚ Inserte el peine nuevamente en los pocillos de la fila E (detención de la reacción), después de un minuto retire el peine y déjelo secar al aire.

## **F. LECTURA E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS**

### **1) VALIDACION**

-  El control positivo debe producir dos puntos en el diente del peine.
-  El control negativo debe producir un punto superior.
-  Cada muestra analizada debe producir un punto superior.

Debe cumplirse estas tres condiciones para que los resultados sean validos.

### **2) LECTURA**

-  Un punto con una intensidad mayor o igual a la del control positivo indica la presencia de anticuerpos Ig M contra H. Pylori a un titulo bajo.
-  Un punto con una intensidad menor que la del control positivo es considerado como un resultado negativo.

### **LECTURA VISUAL DE LOS RESULTADOS**

El nivel de Ig M anti -H. Pylori en cada muestra puede ser evaluado comparando la intensidad del color del punto inferior en cada diente, con la escala de color en el CombScale.

- Calibre el CombScale, colocando el punto inferior en el diente del control positivo bajo la intensidad de color más parecida de la escala de color. Ajuste la regla para que 20 U/ml aparezca en la ventana sobre la intensidad de color seleccionada.
- Lea los resultados sin cambiar la posición calibrada de la regla. Compare la intensidad de color de cada punto inferior con la intensidad de color más parecida en la escala de color. Registre el valor que aparece en la ventana como puede ser de 40 U/ml hasta 120 U/ml sobre esa intensidad como el

título aproximado de anticuerpos Ig M contra H. Pylori para la muestra correspondiente.



#### **G. CONTROL DE CALIDAD**

A l fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba y demostrar que los resultados son validos deben cumplir las siguientes condiciones:

- ✚ El control positivo debe producir dos puntos en el diente del peine.
- ✚ El control negativo debe producir un punto superior.
- ✚ Cada muestra analizada debe producir un punto superior.

Debe cumplirse estas tres condiciones para que los resultados sean validos.

#### **H. LIMITACIONES**

Al igual que otras pruebas ideadas para ser usadas como diagnósticos in vitro, los resultados de esta prueba deben ser evaluados en relación a todos los síntomas, historia clínica y otras pruebas de laboratorio del paciente.

## **I. CARACTERISTICAS TECNICAS**

La sensibilidad y especificidad del kit InmunoComb II Helicobacter Pylori Ig M fueron evaluadas en 339 muestras.

Los resultados mostraron:

- Sensibilidad 92.1%
- Especificidad 80.75%

## **J. ESTUDIOS DE INTERFERENCIA**

No se observo interferencia en muestras hemolizadas (Hb hasta 10 mg/ml), lipémicas (colesterol hasta 282 mg/dl, triglicéridos hasta 381 mg/dl) y bilirrubina alta (hasta 20 mg/dl)

### **2.2.9. Inmunocromatografía.**

## **I. CONCEPTO**

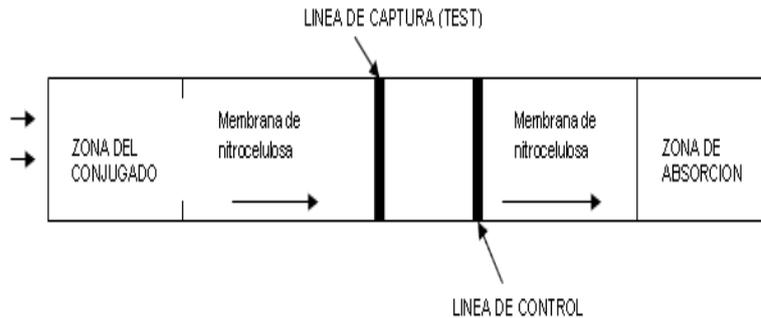
La Inmunocromatografía es una de las técnicas de inmunodiagnóstico cromatográfico más modernas cuyas principales ventajas son la sencillez y rapidez del test para la detección cualitativa de anticuerpos anti-H. Pylori de todos los Isotopos (IgG, IgM, IgA, etc.).<sup>3</sup>

## **II. COMPONENTES INMUNOCROMATOGRAFICOS**

En el siguiente esquema se resume el fundamento del método:

---

<sup>3</sup> HENRY, "El Laboratorio en el Diagnostico Clínico".



- a. 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 epítomos 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.
- b. La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomo 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).
- c. 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 de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas.

### **III. USO DESTINADO**

La Prueba H. Pylori de Un Paso es un ensayo Inmunocromatográfico de un solo paso para la rápida detección cualitativa de anticuerpos del Helicobacter Pylori en plasma o suero humano. La Prueba H. Pylori de Un Paso está destinada para el uso profesional y como una ayuda en el diagnóstico de las infecciones de H. Pylori

### **IV. PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La prueba de H. Pylori en un solo paso en placa es una inmunopueba cualitativa basada en el dispositivo de membrana, para la detección de anticuerpos H. pylori en suero y plasma. En este procedimiento la IgG anti-humano se inmoviliza en la región correspondiente en la línea de la prueba del dispositivo. Después la muestra se agrega al pozo de la placa, esta reacciona con el Ag H. Pylori recubierto con partículas en la prueba la mezcla migra cromatográficamente a lo largo de la placa de la prueba e interactúa con la IgG anti-humano inmovilizado. Si la muestra contiene anticuerpos H. pylori una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de prueba indicando un resultado positivo si la muestra no contiene H. pylori no aparecerá ninguna línea coloreada en esta región, indicando un resultado negativo.

### **V. REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**

El equipo de prueba H. Pylori contiene los siguientes artículos para realizar el ensayo:

1. Casete de prueba H. Pylori.
2. Gotero de muestras desechable.
3. Instrucciones de uso.

## **VI. PRECAUCIONES**

Los dispositivos de prueba H. Pylori de Un Paso deben ser almacenados a temperatura ambiente. El dispositivo de prueba es sensible a la humedad así como al calor.

Realizar la prueba inmediatamente después de retirar el dispositivo de la bolsa de aluminio. No se use después de la fecha de caducidad.

## **VII. RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA**

- a) Centrifugar la sangre total para obtener una muestra de plasma/suero.
- b) Si las muestras no son inmediatamente probadas, éstas deben ser refrigeradas a 2-8° C. Para períodos de almacenamiento mayores a 3 días, es recomendable la congelación. Las muestras deben ser traídas a temperatura ambiente antes de su uso.
- c) Las muestras conteniendo precipitados pueden producir resultados inconsistentes. Dichas muestras deben ser clarificadas antes del ensayo.

## **VIII. ADVERTENCIAS**

- a. Para uso en el diagnóstico In Vitro solamente.
- b. Use guantes protectores mientras se manejan las muestras. Lavarse muy bien las manos después de realizar la prueba.
- c. Evitar salpicaduras o formación de aerosol.
- d. Limpiar los derrames completamente usando un desinfectante apropiado.

- e. Descontaminar y desechar todas las muestras, equipos de reacción y materiales potencialmente contaminados, como si fueran desechos infecciosos, en un contenedor para desechos biológicos.
- f. No usar el equipo de prueba si el paquete está dañado o el sello está roto.

## **IX. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA**

- a. Sacar el casete de prueba de la bolsa de papel aluminio y colocarlo en una superficie plana y seca.
- b. Sosteniendo el gotero de la muestra sobre el casete de prueba, añadir 3 gotas (100 µl) de la muestra dentro del pozo.
- c. Conforme la prueba empieza a trabajar, se observará un color rojo moverse a través de la Ventana de Resultados en el centro del casete de prueba.
- d. Interpretar los resultados de la prueba dentro de los 10 minutos. No interpretarlos después de 20 minutos.

## **X. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA**

 Mientras el equipo de prueba empieza a trabajar, una banda de color aparecerá en la sección izquierda de la Ventana de Resultados para mostrar que la prueba está trabajando apropiadamente. Esta banda es la “Línea de Control”.

 La sección derecha de la Ventana de Resultados indica los resultados de la prueba. Si otra banda de color aparece en la sección derecha en la ventana de resultados, esta banda es la “Línea de Prueba”.

1) **RESULTADO POSITIVO: 2 BANDAS DE COLOR**

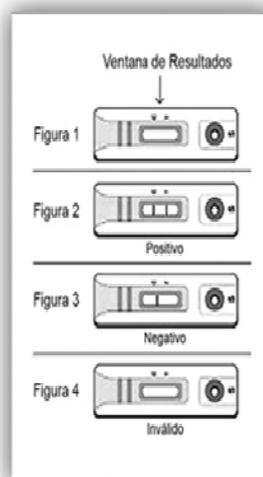
Nota: Generalmente, mientras más alto es el nivel analítico en la muestra, más fuerte será el color de la banda “T”. Cuando el nivel analítico de la muestra está cercano pero dentro del límite de sensibilidad de la prueba, el color de la banda “T” será muy débil.

2) **RESULTADO NEGATIVO: 1 BANDA DE COLOR**

La presencia de sólo una banda de color dentro de la Ventana de Resultados indica un resultado negativo.

3) **RESULTADO INVÁLIDO**

Si después de realizar la prueba no es visible una banda de color rojo dentro de la Ventana de Resultados, el resultado es considerado inválido. Algunas causas de resultados inválidos son: no se están siguiendo las instrucciones correctamente o está cercana la fecha de caducidad de la prueba. Se recomienda que la muestra sea vuelta a probar usando un nuevo equipo de prueba. Nota: Un resultado positivo no cambiará una vez que se haya establecido los 20 minutos. Sin embargo, para prevenir cualquier resultado incorrecto, la prueba no debe ser interpretada después de 20 minutos.



## **XI. LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

Los contenidos de este equipo son para el uso en la detección cualitativa de anticuerpos específicos IgG, IgM, IgA, etc., de H. Pylori y no indica la concentración de anticuerpos en la muestra. La prueba debe ser usada sólo para evaluar a pacientes con signos y síntomas clínicos sugestivos de enfermedad gastrointestinal. Otras pruebas clínicamente disponibles son requeridas si se obtienen resultados cuestionables. Así como, con todas las pruebas de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no debe ser basado en los resultados de una sola prueba, sólo debe ser hecha por el médico después de todos los resultados encontrados en las evaluaciones clínicas y de laboratorio.

## **XII. ESTUDIO DE INTERFERENCIA**

Muestras visiblemente hemolizadas, Lipémicas así como también muestras de suero con niveles altos de bilirrubina, hemoglobina, albumina en sueros humanos interfieren en la prueba.

### 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

**Acido Clorhídrico.-** Acido producido por el estomago que degrada las proteínas de los alimentos que ingerimos.

**Acido Siálico:** Es un monosacárido ácido derivado del ácido neuramínico (un compuesto base de 9 átomos de carbono) mediante acetilación.

**Adenocarcinoma:** Es el cáncer de estómago o cáncer gástrico es un tipo de crecimiento tisular maligno producido por la proliferación contigua de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos y órganos.

**Antro:** Porción más distal del estómago responsable de la secreción acida y del vaciamiento hacia el duodeno.

**Anticolinérgico:** Se utilizan para aliviar retortijones o espasmos del estomago, intestino, vejiga.

**AINES:** Grupo heterogéneo de fármacos antiinflamatorios, analgésicos, antipiréticos que reducen síntomas de inflamación, dolor y fiebre.

**Bomba de protones:** Son complejos enzimáticos integrales de membrana que es capaz de movilizar protones a través de la membrana de una célula, de la mitocondria o de cualquier otro compartimento subcelular.

**Bloqueadores H2:** Medicamentos que impiden que la histamina se fije a la superficie de las células secretoras de ácido en el estómago, y de ese modo bloquean la producción de ácidos.

**Biopsia:** Una biopsia es un procedimiento realizado con el propósito de obtener tejido o células del cuerpo para examinarlos con el microscopio.

**Buffer:** Solución reguladora que mantiene constante el pH cuando se adiciona ácidos o bases.

**Conjugado:** En la prueba ELISA, una enzima unida a un anticuerpo.

**Control de Calidad:** (CC) Aquellas medidas que deben ser incluidas durante cada prueba para verificar que la prueba está funcionando correctamente.

**Control Positivo:** Utiliza una muestra que va arrojar un valor positivo asegurando que las condiciones de reacción son las adecuadas para no obtener falsos negativos.

**Control Negativo:** Utiliza una muestra que va arrojar un valor negativo asegurando que los elementos utilizados no estén contaminados y no obtengas falsos positivos.

**Cromógeno:** Compuesto sintético soluble que cambia de color como consecuencia de la oxidación, reducción u otra modificación química provocada por el marcador enzimático.

**Densidad óptica:** Unidades expresadas por un lector micro placas ELISA que representan la luz absorbida por el producto final coloreado de una reacción ELISA.

**Dispepsia:** Alteración de la digestión por alguna disfunción del estomago o intestino.

**Distensión:** Es un problema en la que el abdomen se siente lleno, apretado y distendido, generalmente debido a un exceso de gases intestinales.

**Enzima:** Catalizador orgánico. En la prueba de ELISA, la enzima actúa sobre un sustrato específico para crear un producto final coloreado que se mide y refleja la cantidad de enzima fijada específicamente en la reacción.

**Especificidad:** Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. Capacidad de la prueba para identificar todos los negativos correctamente.

**Falso Negativo (FN):** Resultados negativos (no reactivos) obtenidos por la prueba con las muestras de la población infectada.

**Falso Positivo (FP):** Resultados positivos (reactivos) obtenidos por la prueba con las muestras de la población no infectada.

**Fascia:** Es la envoltura de tejido conjuntivo que realiza un número importante de funciones, incluyendo la envoltura y el aislamiento de uno o más músculos.

**Gastroscopia:** Consiste en ubicar un endoscopio (un pequeño tubo flexible con una cámara y luz) dentro del estómago y duodeno para buscar anomalías.

**Hipoclorhidria:** Disminución del ácido clorhídrico contenido en el jugo gástrico, síntoma frecuente de cáncer de estómago.

**Inflamación:** Es la respuesta inespecífica frente a las agresiones del medio, y está generada por los agentes inflamatorios. La respuesta inflamatoria ocurre sólo en tejidos conectivos vascularizados y surge con el fin defensivo de aislar y destruir al agente dañino, así como reparar el tejido u órgano dañado.

**Interleukina:** Es un conjunto de citocinas (proteínas que actúan como mensajeros químicos a corta distancia) que son sintetizadas principalmente por los leucocitos.

**Indigestión:** Sensación de náusea, distensión, gas y acidez causada por la mala digestión.

**Inhibidores de la bomba de protones:** Son un grupo de medicamentos cuya acción principal es la reducción pronunciada y duradera de la producción de ácido en el jugo gástrico.

**Jugo Gástrico:** Es un líquido claro segregado por las glándulas mucosas del estómago sus componentes son: Agua, Ácido Clorhídrico, Enzimas (pepsina, lipasa).

**Micrófagos:** Se encuentran en mayor cantidad que los macrófagos y presentan mayor actividad fagocitaria.

**Opsonización:** Fenómeno por el que ciertos anticuerpos, combinados con el antígeno, permiten una mejor fagocitosis de éste.

**Oxidasa:** Enzima que cataliza una reacción de oxidación-reducción empleando oxígeno que reduce el agua a peróxido de hidrógeno.

**Proteína:** Las **proteínas** son macromoléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos (molécula orgánica con un grupo amino (-NH<sub>2</sub>) y un grupo carboxilo (-COOH; ácido).)

**Pepsina:** Es una enzima digestiva que degrada las proteínas en el estómago.

**Pepsinógeno:** Es una enzima precursora de la pepsina, liberada por células principales (zimógenas) halladas en la glándula fúngica del estómago. Este pepsinógeno se activa transformándose en pepsina al entrar en contacto con el ácido clorhídrico del estómago, ya que su producción requiere un ambiente con pH menor a 7, o bien, ácido.

**Posición de Fowler.-** O semisentado relaja la tensión muscular abdominal mejorando la respiración, incrementa la comodidad durante la alimentación oral.

**Prostaglandinas.-** Son hormonas derivadas de ácidos grasos poliinsaturados. Se sintetizan y liberan en diferentes tejidos como vesícula, pulmones, hígado, aparato digestivo.

**Placas de Peyer.-** Cúmulos de tejido linfático que recubren el interior de las mucosas intestinales y vías respiratorias. Formados por linfocitos B que sintetizan Ig A que opsonizan a patógenos.

**Quimo.-** Proceso de desmenuzamiento del estómago segrega enzimas y jugo gástrico. Para que éstos actúen correctamente las paredes del estómago se contraen

rítmicamente. Luego de obtenida una mezcla homogénea el proceso será continuado en el intestino. La mezcla resultante previa al pasaje al intestino recibe la denominación de quimo.

Masa ácida resultante de la digestión de los alimentos en el estómago: el alimento, después de transformarse en quimo, pasa al intestino delgado.

**Reacción de la ureasa:** Capacidad de un organismo de desdoblar la urea formando dos moléculas de amoníaco por acción del enzima ureasa.

**Reacción de la catalasa.-** Se utiliza para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen cito cromo.

**Sensibilidad:** Capacidad de una prueba para detectar muy pequeñas cantidades de sustancias a ser analizadas en un suero o la capacidad de una prueba para detectar individuos infectados.

**Sibilancia.-** Sonido que hace el aire al pasar por las vías respiratorias congestionadas.

**Sustrato:** Químico específico activado por una enzima para formar un producto coloreado.

**Tamizaje:** Selección Verdadero Positivo (VP): Resultado positivo (reactivo) obtenido por la prueba con las muestras de la población de infectados. Verdadero Negativo (VN): Resultados negativos (no reactivos) obtenidos por la prueba con las muestras de la población no infectada.

**Test de aliento con urea marcada.-** Es un **sencillo procedimiento** en el cual el paciente toma un líquido que contiene urea marcada con carbono C13 o C14. El *H. pylori* metaboliza la urea rápidamente y el carbono se absorbe. Antes y después de ingerir esta solución, de sabor agradable, la persona sopla en un dispositivo llamado BreathMAT Plus que mide la ureasa (enzima degradadora de la urea) presente en el

aliento y mediante una simple comparación se detecta la presencia o no de la bacteria. En una persona sana, la urea ingerida no modificara su composición en absoluto.

**Transcavidad de los epiplones.-** Conjunto de varios repliegues peritoneales que recubren las vísceras abdominales, formado por epiplón mayor que cubre y fija el intestino delgado, epiplón menor que cubre y fija la curvatura menor del estomago con el hígado.

## **2.4. HIPÓTESIS**

La prueba de Helicobacter Pylori por el método de Elisa, permite obtener un diagnóstico positivo para gastritis crónica.

## **2.5. VARIABLES**

### **2.5.1. Variable independiente**

Especificidad entre los métodos de ELISA e Inmunocromatografía.

### **2.5.2. Variable dependiente**

Diagnóstico de Helicobacter Pylori.

## **2.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p><b>Especificidad entre los métodos de ELISA e inmunocromatografía.</b></p>	<p><b>Especificidad:</b> es la proporción de verdaderos negativos identificados por la prueba del total de sanos.</p> <p><b>ELISA</b> es una técnica versátil y muy sensible, que puede utilizarse para detectar y medir en una muestra tanto Ag como Ac.</p> <p><b>Inmunocromatografía:</b> es una de las técnicas de inmunodiagnóstico más modernas cuyas principales ventajas son la sencillez y rapidez del test.</p>	<p><b>ELISA</b> consiste en determinar la presencia de Ac en una muestra problema, utilizando como conjugado un Ac anti-Ig marcado con una enzima.</p> <p><b>Inmunocromatografía</b> q consiste en la separación y generación de la señal, seguido de un flujo sobre un material poroso, membrana de nitrocelulosa, la muestra migra a donde existe un parche absorbente para mantener la velocidad.</p>	<p><b>ELISA</b> Método cuantitativo</p> <p><b>Inmunocromatografía</b> Método cualitativo.</p>	<p>Observación Guía de Observación</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p><b>Diagnostico de Helicobacter Pylori</b></p>	<p>Helicobacter pylori es una bacteria que infecta el mucus del epitelio estomacal humano.</p>	<p>Bacilo Gram negativo, oxidasa-catalasa positiva.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✚ -Infección crónica por Helicobacter Pylori.</li> <li>✚ -Toxicas por alcohol y tabaquismo</li> <li>✚ -Postquirúrgicas</li> <li>✚ -Radiación.</li> <li>✚ -Uremia</li> <li>✚ -Inmunológica</li> <li>✚ -Anemia Perniciosa.</li> </ul>	<p>Observación Guía de Observación</p>

FUENTE: Recopilación de datos del trabajo de campo  
ELABORADO POR: Heredia Eduardo/Romero Carla

**CAPÍTULO III**  
**MARCO METODOLÓGICO**

## **CAPITULO III**

### **3. MARCO METODOLOGICO**

#### **3.1. Método**

En la presente investigación se utilizó el método deductivo- inductivo

##### **I. Tipo de investigación**

La investigación es descriptiva-explicativa

##### **II. Diseño de investigación**

Esta diseñado en una investigación de campo no experimental realizado en el laboratorio del IESS.

##### **III. Tipo de estudio**

El presente trabajo tiene un estudio longitudinal.

#### **3.2. Población y muestra.**

La población atendida en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS) de la ciudad de Riobamba es de 240 pacientes en el periodo comprendido propuesto para la presente investigación.

#### **3.3. Técnicas e instrumentación.**

Recopilación de datos, guía de observación, reporte de Endoscopia y biopsia.

Muestras de 240 pacientes del IESS.

#### **3.4. Técnicas para el análisis e interpretación de resultados.**

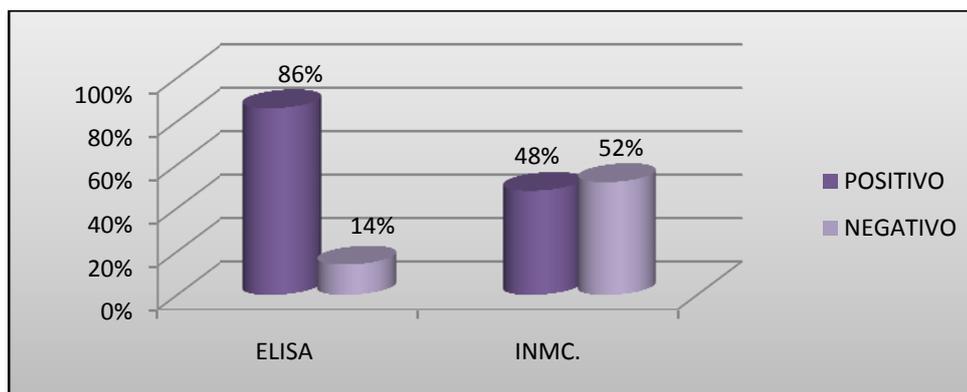
La tabulación de los datos e interpretación de los resultados que corresponden a pacientes que se les realizó la prueba Inmunocromatográfico y Elisa, fueron atendidos en el IEES obtenidos en la presente investigación se lo realiza mediante estadísticas.

**TABLA Y GRÁFICO N° 1**

CUADRO COMPARATIVO ENTRE LOS DOS MÉTODOS A PACIENTES ATENDIDOS EN EL IEES					
ELISA POSITIVO	ELISA NEGATIVO	TOTAL	INMUNOCROMATOGRAFIA POSITIVO	INMUNOCROMATOGRAFIA NEGATIVA	TOTAL
207	33	240	115	125	240
86%	14%	100%	48%	52%	100%

**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo.  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

**1 CORRELACION DE LOS RESULTADOS ENTRE LOS 2 METODOS**



**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

**INTERPRETACION:**

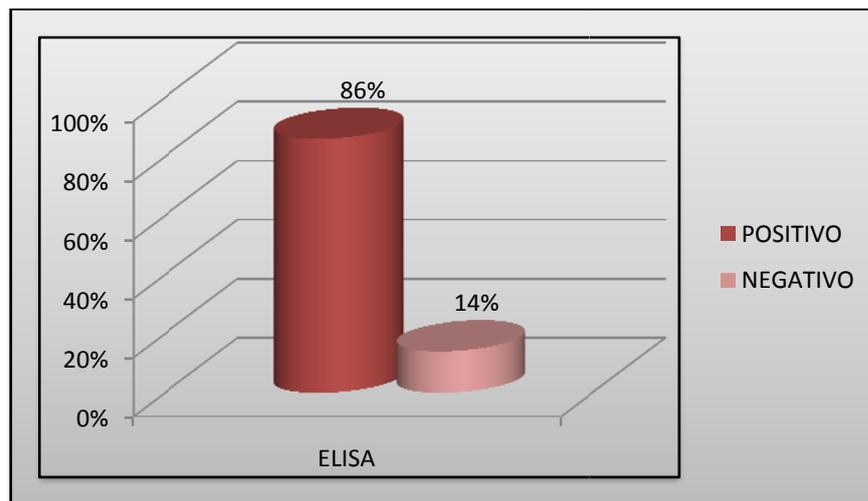
De 240 pacientes atendidos que representan al 100% durante el periodo Octubre 2009 – Marzo 2010 en el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social de la ciudad de Riobamba; se puede observar que a los mismos pacientes se les realizo las dos pruebas de laboratorio, sin embargo podemos observar que su sensibilidad y especificidad lo manifiesta la técnica de microelisa donde se observo que el 86% representan los casos con resultados positivos a diferencia que con el otro método se observo que solo fue sensible para el 48% de pacientes.

**TABLA Y GRÁFICO N° 2**

<b>TOTALIDAD DE RESULTADOS POR EL METODO DE ELISA</b>		
<b>ELISA POSITIVO</b>	<b>ELISA NEGATIVO</b>	<b>TOTAL</b>
207	33	240
86%	14%	100%

**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo.  
**ELABORADO:** HEREDIA. E y ROMERO. C. (2010)

**PORCENTAJE DE LOS RESULTADOS ELISA**



**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

**INTERPRETACION:**

El método de ELISA tiene un total de 207 pacientes que dieron un resultado positivo a partir de 40 hasta 120 U/ml, con un porcentaje de 86% y 33 de ellos presentaron negatividad menor o igual a 20 U/ml presentando el 14%.

### TABLA Y GRÁFICO N° 3

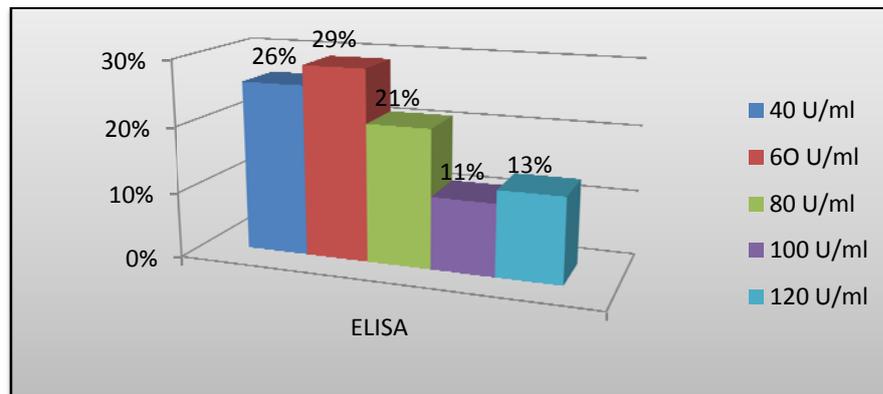
Resultados Positivos de H. Pylori de 207 pacientes determinado por el método de ELISA con su rango de positividad que va de 40 a 120 U/ml.

Valores U/ml	N°	%
40 U/ml	53	26 %
60 U/ml	61	29 %
80 U/ml	44	21 %
100 U/ml	23	11 %
120 U/ml	26	13 %
TOTAL	207	100 %

FUENTE: Departamento de Estadística del IEES Riobamba (2010)

ELABORACIÓN: HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

### RESULTADOS POSITIVOS DEL MÉTODO DE ELISA



FUENTE: Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo

ELABORACIÓN: HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

### INTERPRETACION:

En el gráfico observamos que en el diagnóstico de H. Pylori por el método de ELISA se ha encontrado 23 pacientes con valores de 100 U/ml correspondiente al 11%, 26 pacientes presentan valores de 120 U/ml dando el 13%, 44 pacientes tienen valores de 80 U/ml representando el 21%, 53 pacientes con 40 U/ml es el 26% mientras que en 61 pacientes con valores de 60 U/ml pertenecen al 29% siendo este el más alto.

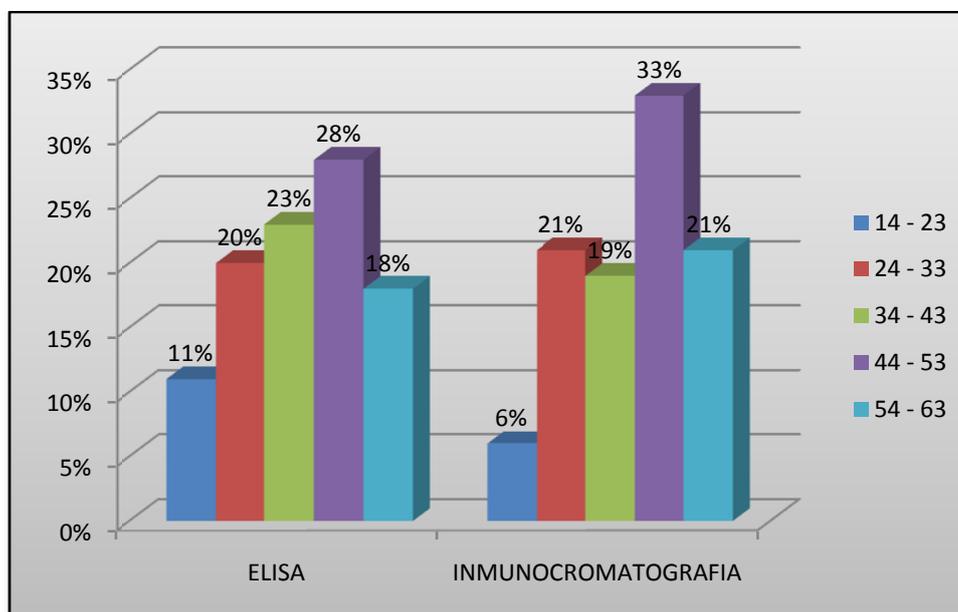
**TABLA Y GRÁFICO N° 4**

Número de pacientes con resultados positivos de Helicobacter Pylori por los métodos de ELISA e Inmunocromatografía de acuerdo al intervalo de edades.

EDADES	ELISA (Positivo 40 – 120 U/ml)		INMUNOCROMATOGRAFÍA (Positivo )	
	Ni	%	ni	%
14 – 23	22	11	7	6
24 – 33	42	20	24	21
34 – 43	48	23	22	19
44 – 53	57	28	38	33
54 – 63	38	18	24	21
<b>TOTAL</b>	<b>207</b>	<b>100</b>	<b>115</b>	<b>100</b>

**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

**RESULTADOS POSITIVOS DE ACUERDO AL INTERVALO DE EDADES**



**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

## **INTERPRETACION:**

Se observa 23 pacientes están en edades entre los 14 a 23 años con el 11%, 42 pacientes en edades que van de los 24 a 33 años son el 20%, 48 pacientes corresponden al 23% de 34 a 43 años, en 56 pacientes de 44 a 53 años dan el 28% y en 38 pacientes tienen el 18% a partir de 54 a 63 años; son resultados positivos de 40 U/ml, 60 U/ml, 80 U/ml y 120 U/ml por el método de ELISA de un total de 240 pacientes.

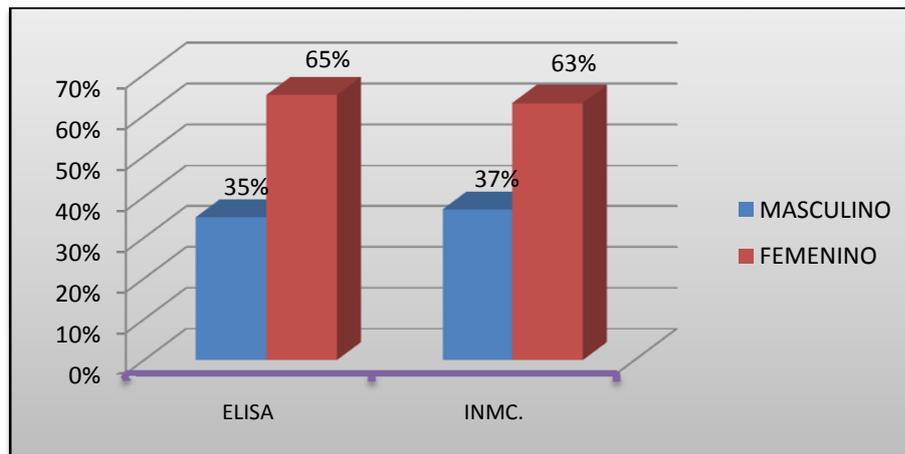
Por el método de Inmunocromatografía presenta resultados positivos de una totalidad de 240 pacientes en donde 7 de ellos representan el 6% en edades que van de 14 a 23 años, 24 pacientes el 21% entre los 24 a 33 años, 22 pacientes de 34 a 43 años conforman el 19%, 38 pacientes de 44 a 53 años pertenecen al 33% y 24 pacientes de 54 a 63 años corresponden al 21%.

**TABLA Y GRÁFICO N° 5**

TOTALIDAD DE LOS RESULTADOS POSITIVOS POR LOS METODOS ELISA E INMUNOCROMATOGRAFIA DEACUERDO AL SEXO				
SEXO	ELISA		INMUNOCROMATOGRAFÍA	
	ni	%	ni	%
<b>MASCULINO</b>	72	35 %	43	37 %
<b>FEMENINO</b>	135	65 %	72	63 %
<b>TOTAL</b>	<b>207</b>	<b>100 %</b>	<b>115</b>	<b>100 %</b>

FUENTE: Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
ELABORACIÓN: HEREDIA, E. Y ROMERO, C.

**RESULTADOS POSITIVOS ENTRE LOS DOS MÉTODOS DE ACUERDO AL SEXO**



FUENTE: Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
ELABORACIÓN: HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

**INTERPRETACION:**

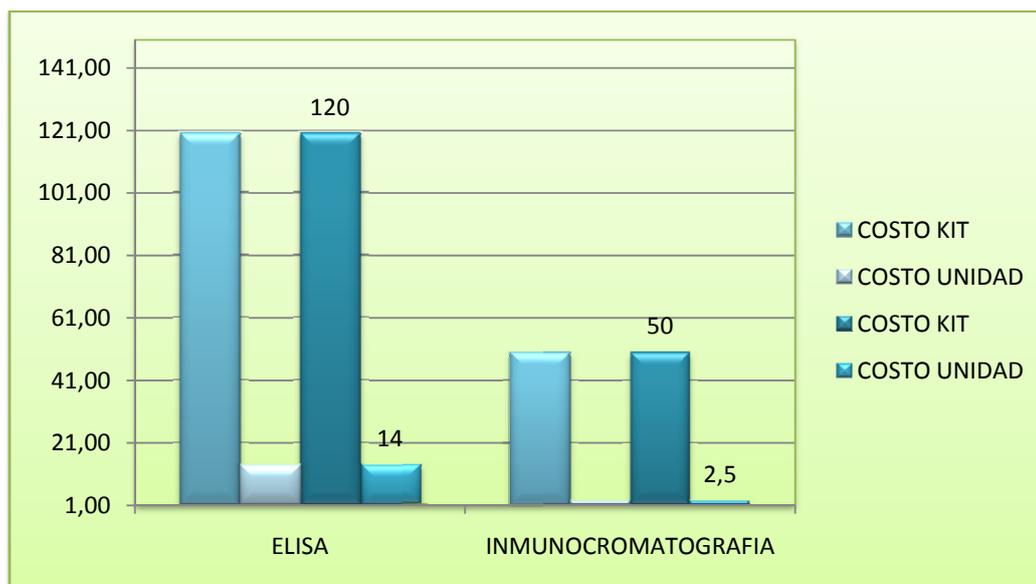
En la figura se observa que existe 72 pacientes que corresponden al sexo masculino figuran el 35% pero en 135 pacientes del sexo femenino definiendo el 65% de los resultados positivos de 40 U/ml, 60 U/ml, 80 U/ml y 120 U/ml por el método de ELISA, pero en Inmuncromatografía 43 de ellos pertenecientes al sexo masculino son el 37% y los 72 restantes del sexo femenino pertenecen al 63%.

**TABLA Y FIGURA N° 6**

COTIZACION DE LOS METODOS ELISA E INMUNOCROMATOGRAFIA PARA LA DETECCION DE HELICOBACTER PYLORI			
	<b>KIT</b>	<b>Total Pruebas</b>	<b>C/U</b>
ELISA	120 \$	12 PRUEBAS	14 \$
INMUNOCROMATOGRAFIA	50 \$	40 PRUEBAS	2.50 \$

**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

**COSTO DE CADA MÉTODO**



**FUENTE:** Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo  
**ELABORACIÓN:** HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)

**INTERPRETACIÓN:**

En la figura presente ELISA tiene un costo del Kit de 250 dólares lo cual consta de 100 pruebas siendo el valor por unidad de 2,50 dólares sucede lo contrario en Inmunocromatografía porque el Kit es de 50 dólares que tiene 40 pruebas que esta valorizado por unidad en 1,50 dólares.

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSIONES Y**  
**RECOMENDACIONES**

## CAPITULO IV

### 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. CONCLUSIONES

- ✚ Se estableció la correlación de las técnicas de ELISA e Inmunocromatografía llegando a la conclusión que la más sensible y específica es ELISA ya que la unión Ag- Ac se da, aun cuando la concentración de Ac sea baja, mientras que la Inmunocromatográfica no capta en concentración mínima este complejo.
  
- ✚ Mediante la tabulación de los resultados obtenidos en las pruebas para la detección de H. Pylori en el Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social de la ciudad de Riobamba durante el periodo Octubre 2009 - Marzo 2010 se ejecutó las estadísticas obteniendo como resultado real de 207 pacientes cuyo diagnostico fue gastritis por Helicobacter Pylori, resultados positivos confirmatorios por el método de ELISA determinando una diferencia notoria con el otro método dando solamente 115 positivos
  
- ✚ Una de las principales causas para que se de la infección por Helicobacter Pylori se da en las personas que viven en países subdesarrollados o en condiciones de insalubridad.

## 4.2. RECOMENDACIONES

- ✚ A pesar que ELISA es un método más costoso que el Inmunocromatográfico se recomienda utilizar ya que su especificidad y sensibilidad es mucho más precisa que ayuda a dar un diagnóstico presuntivo a las patologías gastrointestinales producidas por H. Pylori, así como también para llevar un control del tratamiento.
- ✚ Es importante realizar exámenes de laboratorio ya que son el apoyo al diagnóstico Médico de gastritis producido por la bacteria Helicobacter Pylori.
- ✚ Se presume que Helicobacter Pylori es la Bacteria causante del cáncer gástrico por ello se debe realizar un examen presuntivo por el método de ELISA.
- ✚ Es conveniente aplicar todas las normas de bioseguridad en cada uno de los análisis a realizar.

## BIBLIOGRAFIA

1. GUARDERAS, Carlos (1995) “*El Examen Médico*”. Editorial Copynght: Guarderas Peñafiel Tercera Edición. Págs. 446 – 448.
2. Guyton, A. (2004).”*Fisiología Médica*”. Editorial Mc Graw Hill. Interamericana. Séptima edición. Pp. 588-596.
3. HENRY, (2005) “*El Laboratorio en el Diagnostico Clínico*”. Editorial Marban Segunda Edición. Pp. 832 – 834; 845 – 847.
4. ROBBINS (2000) “*Patología Estructural y Funcional*”. Editorial Mc Graw-Hill-Interamericana Quinta Edición, Págs.: 850-868.
5. Roskoski, Robert. (2000) “*Bioquímica*” Editorial Mc Graw-Hill-Interamericana Sexta Edición. Pp. 343 – 345.
6. Rouviere, H. (1999). “*Anatomía Humana: descriptiva, topográfica y funcional*”. Editorial Masson. SA. Paris. Décima Edición. Pp. 220-224.
7. [http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol15\\_1\\_01/ali07101.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol15_1_01/ali07101.htm), 2009-11-09 H. 14:00 pm.
8. <http://drmarin.galeon.com/duodeno.htm>, 2009-10-17 hora 11:11 am.
9. <http://es.wikipedia.org/wiki/Est%C3%B3mago>, 2009-10-17 hora 10:53 am.
10. [http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter\\_pylori](http://es.wikipedia.org/wiki/Helicobacter_pylori), 2009-12-14 hora 18:20 pm.

11. [http://es.wikipedia.org/wiki/Inmunidad\\_\(medicina\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Inmunidad_(medicina)), 2009-10-20 hora 15:04 pm.
12. [http://es.wikipedia.org/wiki/Sistema\\_inmune](http://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_inmune), 2010-01-5 hora 17:45 pm.
13. <http://hnnbiol.blogspot.com/2008/01/sistema-digestivo-ii.html>, 2010-01-11 hora 16:16 pm.
14. <http://members.fortunecity.com/jojoel99/biologia/inmunolo.html>, 2009-11-26 hora 11:36 am.
15. <http://www.a14.san.gva.es/labm/IA.htm>, 2009-10-25 hora 9:34 am.
16. [http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion\\_Elisa&o=tecnicas](http://www.cultek.com/aplicaciones.asp?p=Aplicacion_Elisa&o=tecnicas), 2010-02-04 hora 15:09 pm.
17. <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>, 2010-01-7 hora 15:56 pm.
18. [http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_01.htm](http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_01.htm), 2009-10-22 hora 9:34 am.
19. <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Inmunologia/Documentos/2008/guia%20de%20trabajos%20practicos.pdf>, 2010-02-06 hora 16:08 pm.
20. [www.helicobacterspain.com](http://www.helicobacterspain.com), 2009-11-08 hora 10:12 am.

# ANEXOS

## ANEXO N° 1

### PACIENTES QUE SE REALIZARON LA PRUEBA HELICOBACTER PYLORI EN IESS POR EDAD Y SEXO.

Los siguientes datos corresponden a pacientes que se realizaron la prueba de Helicobacter Pylori por los métodos de Inmunocromatografía y Elisa que fueron atendidos en el Hospital del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social de la Ciudad de Riobamba en el periodo Octubre 2009 – Marzo 2010.

			ELISA		INMUNOCROMATOGRAFÍA	
N°	EDAD	SEXO	POSITIVO 40 – 120 U/ml	NEGATIVO ≤ 20 U/ml	POSITIVO	NEGATIVO
1	50	F	60		X	
2	34	F	40			X
3	36	F	40			X
4	14	F	40			X
5	25	M	40			X
6	28	F	120		X	
7	33	F	80		X	
8	58	F	60		X	
9	23	F	40			X
10	47	F	120		X	
11	20	F	40			X

12	47	F	60		X	
13	20	F	80		X	
14	18	F	80		X	
15	26	F	80		X	
16	24	M	100		X	
17	35	M	80		X	
18	39	F	60			X
19	46	F	80		X	
20	45	F	60			X
21	36	M	60		X	
22	15	F	60		X	
23	23	F	40		X	
24	28	F	60			X
25	27	F	40			X
26	25	F		20		X
27	35	F	40			X
28	37	F	40			X
29	45	F	120		X	
30	40	F	80		X	
31	36	M	60			X
32	33	F		20		X

33	32	F		20		X
34	51	M	120		X	
35	27	M	60			X
36	35	M	40			X
37	45	M	120		X	
38	47	M		20		X
39	23	F	80			X
40	25	F	80			X
41	27	F	100		X	
42	35	F		20		X
43	39	M	60			X
44	30	M	120		X	
45	41	M	100		X	
46	44	M		20		X
47	47	F	60			X
48	52	F	120		X	
49	55	M		20		X
50	47	F	60		X	
51	46	M	60			X
52	22	F		20		X
53	37	M	120		X	

54	31	F	80		X	
55	40	F	40			X
56	44	F	100		X	
57	38	M		20		X
58	36	F	40			X
59	26	M	60		X	
60	29	M	80		X	
61	22	M	60			X
62	18	M	40			X
63	16	F	40			X
64	34	F	100		X	
65	37	F	60		X	
66	46	F	40			X
67	48	F	80		X	
68	52	M	40			X
69	55	M		20		X
70	39	M	100		X	
71	54	F		20		
72	59	F	80			
73	50	F	60		X	
74	34	F	40			X

75	60	F	40			X
76	55	F	40			X
77	45	M	60			X
78	53	F	120		X	
79	33	F	80		X	
80	45	F	60		X	
81	63	F	40			X
82	49	F	120		X	
83	20	F	40			X
84	47	F	60		X	
85	29	F	80		X	
86	58	F	80		X	
87	26	F	80		X	
88	54	M	100		X	
89	35	M	80		X	
90	39	M		20		X
91	62	F	80		X	
92	45	F	60			X
93	43	M	100		X	
94	28	F	60		X	
95	57	F	40			X

96	28	F	60			X
96	27	F	40			X
97	25	F		20		X
98	35	F	40			X
99	50	F	40			X
100	45	M	120		X	
101	40	M	80		X	
102	36	M	60			X
103	33	F		20		X
104	16	F		20		X
105	56	M	120		X	
106	27	M	60			X
107	31	M	40			X
108	45	M	120		X	
109	24	M		20		X
110	44	F	80			X
11	59	F	80			X
112	38	F	100		X	
113	30	F		20		X
114	46	M	60			X
115	52	M	120		X	

116	42	M	100		X	
117	17	M		20		X
118	48	F	60			X
119	63	F	120		X	
120	18	M		20		X
121	58	F	60		X	
122	33	M	60			X
123	22	F		20		X
124	53	M	120		X	
125	45	F	80		X	
126	24	F	40			X
127	28	F	100		X	
128	32	M		20		X
129	50	F	40			X
130	55	M	60		X	
131	46	M	80		X	
132	56	M	60			X
133	55	F	40			X
134	48	M	40			X
135	54	F	100		X	
136	19	F	60		X	

137	60	F	40			X
138	33	F	80		X	
139	52	M	40			X
140	55	M	60			X
141	39	M	100		X	
142	28	M	40			X
143	49	M	60		X	
144	51	F		20		X
145	50	F	60		X	
146	34	F	40			X
147	36	F	100		X	
148	37	F	60			X
149	25	M	40			X
150	28	F	120		X	
151	57	F	80		X	
152	44	F	60		X	
153	23	F	40			X
154	61	F	120		X	
155	20	F	60			X
156	47	F	60		X	
157	62	F	80		X	

158	49	F	80		X	
159	26	F	80		X	
160	54	M	100		X	
161	30	M	80		X	
162	39	F	60			X
163	46	F	80		X	
164	35	F	60			X
165	56	M	80		X	
166	55	M	60		X	
167	38	F	40		X	
168	28	F	60			X
169	60	F	100		X	
170	25	M		20		X
171	39	M	40			X
172	55	M	60			X
173	60	F	120		X	
174	40	F	80		X	
175	36	M	60			X
176	15	F		20		X
177	32	F		20		X
178	58	M	120		X	

179	27	M	60			X
180	37	F	40			X
181	49	F	120		X	
182	47	F		20		X
183	23	F	80			X
184	32	M	80			X
185	29	M	100		X	
186	35	F		20		X
187	39	M	60			X
188	51	M	120		X	
189	41	M	100		X	
190	44	M		20		X
191	47	F	60			X
192	52	F	120		X	
193	55	M		20		X
194	47	F	60		X	
195	46	M	60			X
196	38	F		20		X
197	59	F	120		X	
198	31	M	80		X	
199	40	F	40			X

200	56	F	100		X	
201	38	M		20		X
202	36	F	40			X
203	26	M	80		X	
204	53	M	80		X	
205	22	M	60			X
206	18	M	40			X
207	54	F	40			X
208	34	F	100		X	
209	22	F	60		X	
210	46	F	40			X
212	48	F	80		X	
213	52	M	40			X
214	19	F		20		X
215	62	M	100		X	
216	58	F	40			X
217	29	F	100		X	
218	50	M	60			X
219	34	F	40			X
220	36	F	60			X
221	19	F	40			X

222	25	M	40			X
223	61	F	120		X	
224	38	F	80		X	
225	44	F	60		X	
226	21	F	40			X
227	51	F	120		X	
228	30	F	40			X
229	47	F	60		X	
230	24	F	60		X	
231	17	F	80		X	
232	26	F	80		X	
233	57	M	100		X	
234	35	M	80		X	
235	54	F	60			X
236	46	F	80		X	
237	45	F	60			X
238	34	F	60		X	
239	22	F		20		X
240	56	F	40		X	
FUENTE: Departamento de Estadística del IEES Riobamba y trabajo de campo						
ELABORACIÓN: HEREDIA, E. Y ROMERO, C. (2010)						

**ANEXO N° 2**

• 95% Intervalo de Confidencialidad

Precisión: 85,2% (79,7%-89,7%)  
La discrepancia de las muestras fueron resueltas por ELISA para anticuerpos *H. pylori* IgG

**Prueba de *H. pylori* en Placa vs. Biopsia/ELISA**

Método		ELISA		Resultados Totales
Prueba de <i>H. pylori</i> en Placa	Resultados Positivo	Positivo	Negativo	
	Positivo	94	13	107
	Negativo	0	85	85
<b>Resultados Totales</b>		<b>94</b>	<b>98</b>	<b>192</b>

Sensibilidad Relativa: >99,0% (96,2%-100%)\* Especificidad Relativa: 86,7% (78,4%-92,8%)\*  
Precisión: 93,2% (88,7%-96,3%)\*

**Validación**  
Intra-Ensayo

Dentro de una precisión que ha sido determinada al utilizar 10 replicas de 4 muestras: un valor negativo, un valor bajo positivo, un medio positivo y un valor alto positivo. El valor negativo, el valor bajo positivo, el medio positivo y el valor alto positivo han sido identificados correctamente superiores al 99% de las veces.

**Inter-Ensayo**

Entre la precisión que ha sido determinada a través de 10 ensayos independientes sobre las mismas 4 muestras: un valor negativo, uno bajo positivo, uno medio positivo y uno alto positivo. Tres diferentes lotes de la Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) han sido utilizados analizando valores negativos, bajo positivos, medio positivos y alto positivos de las muestras. Las muestras se identificaron correctamente en más del 99% de las veces.

**Reactividad Cruzada**

Los sueros que contienen cantidades conocidas de anticuerpos contra *H. pylori* han sido probados con Hepatitis A, B, C, E, HIV y Syphilis. Se observó reactividad no cruzada indicando que la Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) tiene un alto grado de especificidad para anticuerpos humanos contra *H. pylori*.

**Estabilidad Interferencia**

La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) ha sido probada para posibles interferencias de muestras visiblemente hemolizadas y lipemias, así como también muestras de suero con niveles altos de bilirrubina. Además, no se observó interferencia en muestras que contienen hasta 1.000 mg/dl de hemoglobina, hasta 1.000 mg/dl de Bilirrubina y hasta 2.000 mg/dl de Albumina en sueros humanos.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Marshall, BJ, McGeech, DB, Rogers, PAR and Glancy, RG *pyloric Campylobacter infection and gastrointestional disease*. Med. J. Australia. 149: 439-44, 1985.
2. Soli, AH. *Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy*. New England J. Med. 312:905-16, 1980.
3. Hazell, SL, et al. *Campylobacter pyloridis and gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis*. Amer J Gastroenterology. 82(4):292-96, 1987.
4. Löffel, RLF, et al. *Usefulness of several commercial enzyme-linked immunosays for detection of Helicobacter pylori infection in clinical medicine*. Euro. J. Gastroen. Hepa. 5:333-37, 1993.
5. Cutler, AF, et al. *Accuracy of invasive and non-invasive tests to diagnose Helicobacter pylori infection*. Gastroenterology. 109: 136-141; 1995.
6. Ansong, K, Van Recklinghausen, G, Pomarius, R and Schmid, EN. *Evaluation of techniques for isolation, subcultivation and preservation of Helicobacter pylori*. J. Clin. Micro. 29:51-53, 1991.
7. Pronovost, AP, Rose, SL, Pawlak, J, Robin, H and Schneider, R. *Evaluation of a new immunodiagnostic assay for Helicobacter pylori antibody detection: Correlation with histopathological and microbiological results*. J Clin. Micro. (1994) 32: 46-50.
8. Megraud, F, Bassens-Rabbe, MP, Datus, F, Belbouni, A and Hou, DQ. *Seroprevalence of Campylobacter pylori infection in various populations*. J. Clin. Micro. 27: 1870-3, 1983.

**Índice de Simbolos**

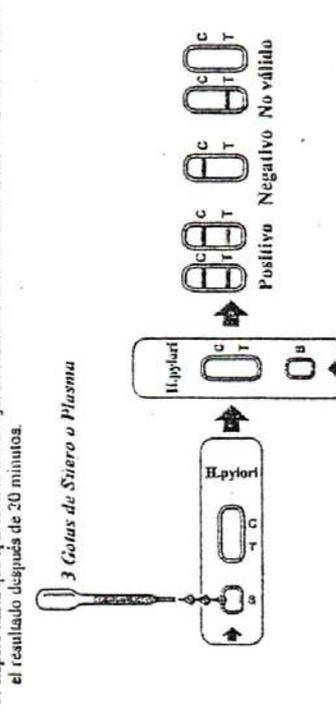
	Atención, ver instrucciones de uso		Representante autorizado
	Solo para uso de diagnóstico in vitro		Pruebas por kit
	Almacén entre 2-30°C		Caducidad
			Número de lote
			No reutilizar
			Nº de referencia

**ACON Laboratories, Inc.**  
4108 Sorrento Valley Boulevard,  
San Diego, CA 92121, USA

**CE**  
acc to IVDD 98/79/EC  
MDSB  
Büchelhardt, 1  
30163 Hannover, Germany

Número: 1150280501  
Fecha efectiva: 2005-09-22

instrucciones abajo.  
3. Espere hasta que aparezca la línea roja. El resultado debe ser leído a los 10 minutos. No lea el resultado después de 20 minutos.



**INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS**  
(Consultar la figura anterior)

**POSITIVO:** Aparición de dos líneas rojas distintas. Una línea roja debe estar en la región de la línea de control (C) y la otra línea roja debe estar en la región de la línea de prueba (T).  
**NOTA:** La intensidad del color rojo en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de las concentraciones de los anticuerpos *H. pylori* presentes en la muestra. Por consiguiente cualquier oscurecimiento de la región de la línea roja de prueba se debe considerar como positivo.

**NEGATIVO:** Una línea roja aparece en la región de la línea control (C). No aparece ninguna línea aparentemente ni roja ni rosada en la región de la línea de prueba (T).

**NO VÁLIDO:** La línea (C) de control no aparece. Las razones más probables para que falle el procedimiento no se realizaron en forma adecuada. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo placa de prueba. Si los problemas persisten, no siga utilizando la placa de prueba y contacte su distribuidor local.

**CONTROL DE CALIDAD**

Un control de procedimiento interno se incluye en la prueba. El apareamiento de una línea roja en la región de la línea de control (C) es un control de procedimiento positivo. Esta confirma un volumen suficiente de muestra y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no se suministran en este estuche. Sin embargo, se recomienda que un control positivo y negativo se lleven a cabo como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar la realización adecuada de la prueba.

**LIMITACIONES**

1. La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) se utiliza solamente para el diagnóstico *in vitro*. La prueba se debe utilizar en la detección de anticuerpos *H. pylori* en muestras de suero o plasma solamente. Ni valores cuantitativos ni incrementos en la proporción de los anticuerpos *H. pylori* se puede determinar a través de esta prueba cualitativa.
2. La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) solamente indicará la presencia de anticuerpos *H. pylori* en muestras y no se debe utilizar como único criterio para el diagnóstico de las infecciones de *H. pylori*.
3. Con la prueba diagnóstica los resultados deben ser interpretados junto con otra información clínica para los médicos.
4. Si la prueba resulta negativa y los síntomas clínicos persisten, se debe realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos recomendados. Un resultado negativo no excluye de ninguna manera la posibilidad de una infección por *H. pylori*.

**VALORES ESPERADOS**

La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) ha sido comparada con cultivos de tejidos, demostrando una precisión total del 93,2%.

**CAYACTERÍSTICAS TÉCNICAS**

**Sensibilidad Clínica, Especificidad y Precisión**

La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) ha sido evaluada con muestras obtenidas de una población de individuos sintomáticos y asintomáticos que se presentaron para exámenes endoscópicos.

La biopsia (cultivo) se utilizó como método de referencia para la Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma). La muestra fue considerada positiva si tanto el cultivo o la histología o ambos fueron reportados positivos. La muestra fue considerada negativa si ambos métodos fueron reportados negativos.

**USO INDICADO**

La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) es un inmunoensayo (inmunológico rápido) para la detección cualitativa de anticuerpos de *H. pylori* en suero o plasma o en el diagnóstico de infecciones ocasionadas por *H. pylori*.

**RESUMEN**

El *H. pylori* es una bacteria pequeña de forma espiral que vive en la superficie del estómago y duodeno. Está implicada en la etiología de una variedad de enfermedades gastrointestinales incluyendo cáncer duodenal y gástrico, dispepsia no ulceroosa y gastritis crónica y activa. Muestras subduodenales y costosas a Métodos de diagnóstico invasivos incluyen biopsias gástricas o duodenales seguidas por pruebas de ureasa (presuntiva), cultivos y/o coloraciones (tinción) histológicas. Las técnicas no invasivas incluyen la prueba de aliento de urea, la cual requiere equipos de laboratorio costosos y una exposición moderada a la radiación y métodos serológicos. Los individuos infectados con *H. pylori* desarrollan anticuerpos, los cuales se correlacionan fuertemente con la infección de *H. pylori* confirmada histológicamente. La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) es una prueba sencilla que utiliza una combinación de antígenos de *H. pylori* reactivos por partículas e IgG anti-humano para que cualitativa y selectivamente detecte anticuerpos *H. pylori* en suero o plasma.

**PRINCIPIO**

La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) es una inmuno-prueba cualitativa basada en el dispositivo de membrana, para la detección de anticuerpos *H. pylori* en suero y plasma. En este procedimiento de la prueba el IgG anti-humano se inmoviliza en la región correspondiente a la línea de la prueba del dispositivo. Después la muestra se agrega al pozo de la placa, este reacciona con el antígeno *H. pylori* reactivos con partículas en la prueba. La mezcla migra cromatográficamente a lo largo de la placa de la prueba e interactúa con el IgG anti-humano inmovilizado. Si la muestra contiene anticuerpos *H. pylori* una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de prueba indicando un resultado positivo. Si la muestra no contiene *H. pylori*, no aparecerá ninguna línea coloreada en esta región indicando un resultado negativo. Como un procedimiento de control, siempre aparecerá una línea roja en la región de la línea de control si la prueba ha sido realizada correctamente. Si no aparece la línea coloreada en la línea de control, los resultados no son válidos.

**REACTIVOS**

La placa contiene antígenos *H. pylori* reactivos en partículas e IgG anti-humano recubriendo la membrana.

**PRECAUCIONES**

- Solo para uso diagnóstico profesional *in vitro*. No se debe utilizar después de cumplirse la fecha de vencimiento.
- No consumir ningún alimento, beber o fumar cerca del área donde los especímenes o los estuches están siendo manipulados.
- No utilizar la prueba si el empaque está dañado.
- Manipular la prueba como si tuviera agentes infecciosos. Mantener las precauciones establecidas para los riesgos microbiológicos a través de la prueba y seguir los procedimientos estándares para el desecho adecuado de las muestras.
- Utilizar la ropa adecuada, tales como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos, cuando las muestras están siendo probadas.
- La prueba, una vez utilizada, debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Tanto la humedad como la temperatura podrían afectar los resultados.

**ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

Almacén de la forma como viene empaquetado a temperatura ambiente o refrigerado a una temperatura de (2-30°C). La prueba se puede realizar siempre y cuando se cumpla con la fecha indicada en el empaque. La prueba debe permanecer sellada hasta su uso. **NO CONGELAR.** No se debe utilizar después de la fecha de vencimiento.

**OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

- La Prueba de *H. pylori* en Un Solo Paso en Placa (Sero/Plasma) puede ser realizado usando suero o plasma.
- Separe el suero o plasma de la sangre tan pronto como sea posible y evite la hemólisis.
- Use solamente muestras claras no hemolizadas.
- La prueba debe ser realizada inmediatamente después de recolectar la muestra. No deje la muestra a temperatura ambiente por períodos prolongados. Las muestras deben ser almacenadas entre 2-8°C, hasta por tres días. Para almacenamientos más prolongados, las muestras deben ser mantenidas a -20°C.
- Deje las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba.
- Muestras congeladas se deben descongelar completamente y mezclarlas antes de realizar la prueba. Las muestras no se deben congelar y descongelar repetidamente. Si las muestras han sido enviadas deben cumplir con las regulaciones locales de empaque y envío.

**MATERIALES**

- Materiales suministrados
  - Cuentagotas
  - Ficha técnica
- Recipientes para la recolección de muestras
- Centrifuga
- Cronómetro

**ImmunoComb® II**  
**Helicobacter pylori IgM**

ORGENICS

CE

Código: 60425002      Formato: 3 x 12 pruebas

*Para uso diagnóstico in vitro solamente*

**1** Préincubation du bac de développement: 3 hrs. à 37°C ambiante ou 20 mn. à 37°C

**2** Prélever et pré-diluer échantillons et contrôles

**3** Distribuer échantillons et contrôles dans le compartiment A. Mix

**4** Retirer le peigne de la pochette aluminium

**5** Insérer le peigne dans le compartiment A et agiter. Incuber

**6** Ouvrir le compartiment B

**7** Absorber le liquide résiduel

**8** Insérer le peigne dans le compartiment B et agiter. Incuber.

**9** Réaction colorée dans le compartiment F

**10** Résultats

**Résumé du mode opératoire**  
Le mode opératoire résumé ci-dessous est réservé aux utilisateurs expérimentés de la trousse ImmunoComb® II Helicobacter pylori IgM

(Pour des instructions détaillées, prière de vous reporter au texte complet)

- Équilibrer réactifs et échantillons à tester à température ambiante et exécuter le test à température ambiante.
- Pré-diluer 10 µl de chaque échantillon et des deux contrôles dans 100 µl de diluant échantillons.
- Distribuer 25 µl de chaque échantillon pré-dilué et des deux contrôles dans les puits du compartiment A et homogénéiser.
- Insérer le peigne dans le compartiment A et procéder comme indiqué dans le tableau 1 ci-dessous.

**Tableau 1. Résumé du mode opératoire**

Étape	Compartiment	Opération
Réaction antigène-anticorps	A	Homogénéiser; Incuber 30 minutes; absorber.
Lavage	B	Agiter; Incuber 2 minutes; absorber
Conjugué	C	Homogénéiser; Incuber 20 minutes; absorber.
Lavage	D	Agiter; Incuber 2 minutes; absorber
Lavage	E	Agiter; Incuber 2 minutes; absorber.
Chromogène	F	Homogénéiser; Incuber 10 minutes.
Réaction d'arrêt	E	Incuber 1 minute; sécher à l'air.

**1** Préincubation du bac de développement: 3 hrs. à 37°C ambiante ou 20 mn. à 37°C

**2** Prélever et pré-diluer échantillons et contrôles

**3** Distribuer échantillons et contrôles dans le compartiment A. Mix

**4** Retirer le peigne de la pochette aluminium

**5** Insérer le peigne dans le compartiment A et agiter. Incuber

**6** Ouvrir le compartiment B

**7** Absorber le liquide résiduel

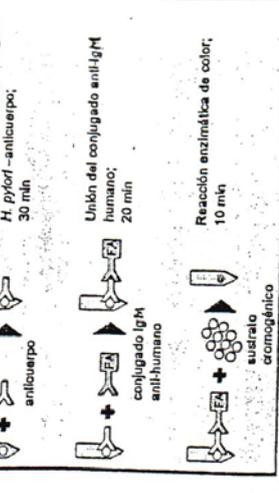
**8** Insérer le peigne dans le compartiment B et agiter. Incuber.

**9** Réaction colorée dans le compartiment F

**10** Résultats

**Principe de la Prueba**  
La prueba ImmunoComb® II Helicobacter pylori IgM es un ensayo inmunoenzimático (EIA) indirecto de fase sólida. La fase sólida es un peine con 12 proyecciones ("dientes"). Cada diente está sensibilizado en dos áreas reactivas: punto superior — anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana (Control Interno) punto inferior — antígenos de *H. pylori* inactivado.

Cada fila contiene una solución reactiva lista para ser usada en cada etapa del ensayo. La prueba es realizada en el peine, pasando el peine de una fila a otra, con un período de incubación en cada etapa. Al comienzo de la prueba, las muestras de suero o plasma se prediluyen a 1:11 y se agregan al diluyente en los pocillos de la fila A de la Bandeja de Desarrollo. El peine luego es insertado en los pocillos de la fila A. Los anticuerpos anti-*H. pylori*, de estar presentes en las muestras, se unen específicamente a los antígenos de *H. pylori* en el punto inferior de los dientes del Peine (Figura 1). Simultáneamente, las inmunoglobulinas presentes en las muestras son capturadas por la anti-inmunoglobulina humana en el punto superior (Control Interno). Los componentes no unidos son lavados en la fila B. En la fila C, el IgM anti-*H. pylori* capturado en los dientes reaccionan con el anti-IgM humano marcado con fosfatasa alcalina (FA). En las dos filas siguientes, los componentes no unidos son eliminados mediante un lavado. En la fila F, la fosfatasa alcalina unida reacciona con componentes cromogénicos. Los resultados pueden observarse como puntos azul grisáceos en la superficie de los dientes del Peine.



**Figura 1. Principio de la prueba**  
El kit incluye un Control Positivo (IgM anti-*H. pylori*) y un Control Negativo, que deben incluirse cada vez que se realiza la prueba. Al término de esta, el diente usado con el Control Positivo debe mostrar 2 puntos de color azul grisáceo. El diente usado con el Control Negativo debe mostrar un punto superior y un punto inferior léu o la ausencia del mismo. El punto superior debe también aparecer en todos los demás dientes, a fin de confirmar que la muestra fue agregada.

**Contenido del Kit**  
El kit contiene 3 Peines de plástico. Cada Peine tiene 12 dientes, un diente para cada prueba (Figura 2). Cada diente es sensibilizado en dos áreas reactivas: punto superior — anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana (Control Interno) punto inferior — antígenos inactivados de *H. pylori*

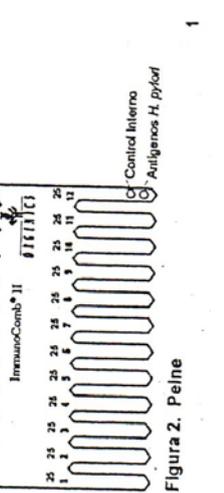


Figura 2. Peine

El kit contiene 3 bandejas de Desarrollo cubiertas con papel de aluminio. Cada Bandeja de Desarrollo (Figura 3) contiene todos los reactivos necesarios para la prueba. La Bandeja de Desarrollo consiste de 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada una. Los contenidos de cada fila son los siguientes:

- Fila A diluyente de la muestra
- Fila B solución de lavado
- Fila C anticuerpos de cabra anti-IgM humano marcados con fosfatasa alcalina
- Fila D solución de lavado
- Fila E solución de lavado
- Fila F solución de sustrato cromogénico que contiene 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y nitro azul tetrazolol (NBT)

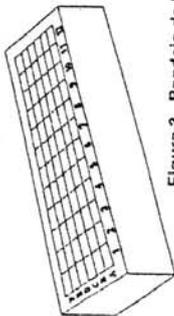


Figura 3. Bandeja de Desarrollo

**Control Positivo** — 1 frasco (lupa roja) de 0.2 ml de plasma humano inactivado con calor, diluido a nivel crítico de 20 U/ml para anti-H. pylori IgM

**Control Negativo** — 1 frasco (lupa verde) de 0.2 ml de plasma humano diluido, inactivado con calor, negativo para anti-H. pylori. Diluyente de la Muestra — 1 botella de 5 ml.

**Perforador** — para perforar el papel de aluminio que cubre los pocillos de la Bandeja de Desarrollo.

**CombScale™** — para la lectura de los resultados de la prueba.

- Todos los materiales de origen humano usados en la preparación del kit pasaron pruebas que demuestran que no son reactivos al antígeno de superficie de la hepatitis B, así como a anticuerpos de HIV o al virus de la hepatitis C. Ya que ningún método puede garantizar por completo la ausencia de contaminación viral, todas las soluciones de referencia y todas las muestras humanas deben ser manipuladas como si fueran potencialmente infecciosas.
- Use guantes quirúrgicos y ropas de laboratorio. Siga los procedimientos de laboratorio aceptados para el trabajo con suero o plasma humano.
- No use la pipeta aspirando con la boca
- Deseche todas las muestras, Peines usados\*, Bandejas de Desarrollo y otros materiales usados con el kit como desechos biocontaminantes.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.
- No use el kit después de la fecha de caducidad.

**Conservación y estabilidad del kit**

El kit es enviado a 2-8°C. Durante el transporte el kit puede ser conservado a menos de 30°C durante cortos períodos de tiempo que no excedan de 48 horas. Los controles internos indican que el kit no ha sido dañado durante el transporte. Conservar el kit en su caja original a 2-8°C.

No congelar el kit.

Después de abrir el kit inicialmente, los componentes deben ser conservados a 2-8°C.

El funcionamiento del kit después de su apertura inicial, es estable hasta la fecha de caducidad del mismo si se conserva a 2-8°C.

Después del uso inicial, el peine y la bandeja de reactivos no pueden ser utilizados más de tres veces.

**Manejo de las Muestras**

- Es posible usar suero o plasma en la prueba.
- Las muestras pueden ser almacenadas por 7 días a temperaturas de 2° a 8°C antes de la prueba. Para almacenar las muestras por más de 7 días, congélelas a -20°C o a temperaturas más bajas.

A menos que sea lavado para consulta posterior

## Procedimiento de la Prueba

- Pipetas de precisión con puntas desechables con capacidad de 10 µl, 25 µl y 100 µl.
- Tijeras
- Cronómetro de Laboratorio o reloj
- Microtubos o micropocillos de titulación

## Preparación de la Prueba

Ponga todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente (22°-26°C).

**Preparación de la Bandeja de Desarrollo**

1. Incube la Bandeja de Desarrollo en una incubadora a 37°C por 20 minutos, o deje a temperatura ambiente (22°-26°C) por 3 horas.
2. Cubra la mesa de trabajo con papel absorbente, para ser desechado como desecho biocontaminante al concluir la prueba.
3. Mezcle los reactivos secudando suavemente la Bandeja de Desarrollo.

**Nota:** No retire la cubierta de aluminio de la Bandeja de Desarrollo; tómpala usando la punta desechable de la pipeta o el perforador, cuando las instrucciones de la prueba así lo indiquen.

## Preparación del Peine

**Precaución:** Para asegurar el funcionamiento apropiado de la prueba, no toque los dientes del Peine.

1. Abra el empaque de aluminio por el borde perforado. Retire el Peine.
2. Es posible utilizar todo el Peine y la Bandeja de Desarrollo o una parte. Para utilizar parte del Peine:
  - a. Determine cuántos dientes va a necesitar para analizar las muestras y los controles. Se necesita un diente para cada muestra. Cada diente tiene impreso el número del código del kit, "75", para permitir la identificación de los dientes sueltos.
  - b. Doble y rompa verticalmente el Peine, o córtelo con tijeras (ver Figura 4) para separar el número requerido para las pruebas (Nro. de pruebas más dos controles).
  - c. Vuelva a meter la porción no utilizada del Peine en el empaque de aluminio (con la bolsa desecante). Cierre bien el empaque (con un clip, por ejemplo) para mantenerlo seco. Almacene el Peine en la caja original del kit a temperaturas de 2° a 8°C para su uso posterior.

## Fraccionamiento del Peine

### Inducción de Muestras y Controles

1. Para cada muestra y control, vierta 100 µl de diluyente para la muestra en un microtubo o micropocillos de titulación.
2. A cada microtubo agregue 10 µl de una muestra o del Control Positivo o del Control Negativo suministrados con el kit. Mezcle vaciando y rellenando repetidamente la solución.

### Reacción Antígeno-Anticuerpo (fila A de la Bandeja de Desarrollo)

3. Pipete 25 µl de una muestra prediluida. Perfore la cubierta de aluminio de un pocillo de la fila A con la punta de la pipeta o el perforador y vacíe la muestra en el fondo del pocillo. Mezcle la solución vaciando y rellenando el pocillo. Deseche la punta de la pipeta.
4. Repita el paso 3 para las otras muestras prediluidas y los dos controles prediluidos. Use un nuevo pocillo en la fila A y cambie la punta de la pipeta para cada muestra o control.

5. a. Inserte el Peine (con el lado impreso hacia Ud.) en los pocillos de la fila A que contienen las muestras y los controles. Mezcle: Retire e inserte el Peine en los pocillos varias veces.

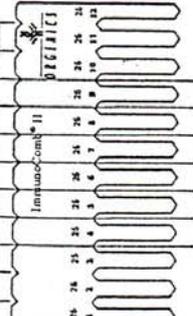


Figura 4. Fraccionamiento del Peine

## Inducción de Muestras y Controles

### Reacción Antígeno-Anticuerpo

1. Para cada muestra y control, vierta 100 µl de diluyente para la muestra en un microtubo o micropocillos de titulación.
2. A cada microtubo agregue 10 µl de una muestra o del Control Positivo o del Control Negativo suministrados con el kit. Mezcle vaciando y rellenando repetidamente la solución.

### Reacción Antígeno-Anticuerpo (fila A de la Bandeja de Desarrollo)

3. Pipete 25 µl de una muestra prediluida. Perfore la cubierta de aluminio de un pocillo de la fila A con la punta de la pipeta o el perforador y vacíe la muestra en el fondo del pocillo. Mezcle la solución vaciando y rellenando el pocillo. Deseche la punta de la pipeta.
4. Repita el paso 3 para las otras muestras prediluidas y los dos controles prediluidos. Use un nuevo pocillo en la fila A y cambie la punta de la pipeta para cada muestra o control.

5. a. Inserte el Peine (con el lado impreso hacia Ud.) en los pocillos de la fila A que contienen las muestras y los controles. Mezcle: Retire e inserte el Peine en los pocillos varias veces.

perforador. No abra más pocillos de los necesarios.

6. Al cumplirse los 30 minutos, saque el Peine de la fila A. Absorba el líquido adherido a las puntas de los dientes apoyándolos sobre un papel absorbente limpio. No toque la superficie frontal del diente.

## Primer Lavado (Fila B)

6. Inserte el Peine en los pocillos de la fila B. Agite: retire e inserte vigorosamente el Peine en los pocillos por al menos 10 segundos para que quede bien lavado. Repita el lavado varias veces agitando en el transcurso de 2 minutos; mientras tanto, perfore el papel aluminio de la fila C. Después de dos minutos, retire el Peine y absorba el líquido adherido como en el paso 5c.

## Unión del Conjugado (fila C)

7. Inserte el Peine en los pocillos de la fila C. Mezcle como en el paso 5a. Programe el reloj para 20 minutos. Perfore el papel de aluminio de la fila D. Después de 20 minutos, retire el Peine y absorba el líquido adherido.

## Segundo Lavado (fila D)

6. Inserte el Peine en los pocillos de la fila D. Agite repetidamente durante 2 minutos. Mientras tanto, perfore el papel de aluminio de la fila E. Después de 2 minutos, retire el Peine y absorba el líquido adherido.

## Tercer Lavado (fila E)

9. Inserte el Peine en los pocillos de la fila E. Agite repetidamente durante 2 minutos. Mientras tanto, perfore el papel de aluminio de la fila F. Después de 2 minutos, retire el Peine y absorba el líquido adherido.

## Reacción de Color (fila F)

10. Inserte el Peine en los pocillos de la fila F. Mezcle, incube la Bandeja de Desarrollo con el Peine por exactamente 10 minutos (programe el reloj). Después de 10 minutos, retire el Peine.

## Diferenciación de la Reacción (Fila E)

11. Inserte el Peine de nuevo en la fila E. Después de un minuto, retire el Peine y déjelo secar al aire.

## Almacenamiento de las Partes No Usadas del Kit

Si no usó todos los pocillos de la Bandeja de Desarrollo, puede almacenar para su uso futuro posteriormente:

- Selle los pocillos usados con una cinta adhesiva ancha a fin de que nada se derrame fuera de los pocillos, incluso en caso de que la Bandeja de Desarrollo sea volteada.
- Otros Materiales del Kit

- Vuelva a colocar la(s) Bandeja(s) de Desarrollo, Peine(s), perforador, controles e instrucciones en la caja original del kit y almacene a temperatura de 2° a 8°C.

## Resultados de la Prueba

### Validación

A fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba y demostrar que los resultados son válidos, deben cumplirse las siguientes tres condiciones (ver Figura 5):

1. El Control Positivo debe producir dos puntos en el diente del Peine.
2. El Control Negativo debe producir un punto superior (Control Interno). El punto inferior debe no aparecer o aparecer levemente, sin afectar la interpretación de los resultados.
3. Cada muestra analizada debe producir un punto superior (Control Interno).

Si cualquiera de las tres condiciones no se cumple, los resultados no son válidos y las muestras y controles deben ser reanálizados.

### Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Control Positivo

Control Negativo

Resultados Inválidos

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Negativo

Control Positivo

Presencia de anticuerpos IgM anti-H. pylori a un título de  $\geq 20$  U/ml

muestra

Resultado Neg

**Interferencia**  
No se observó interferencia en muestras hemolisadas (hemoglobina hasta 10 mg/ml), lipémicas (colesterol hasta 281.6 mg/dl; triglicéridos hasta 381.0 mg/dl) y bilirrubina alta (hasta 20 mg/dl).

**Bibliografía**

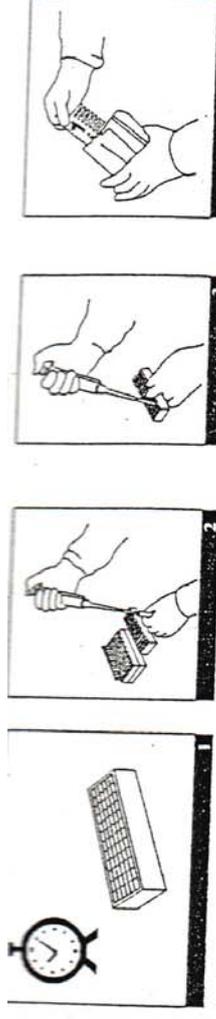
Blaser MJ, 1993. *Helicobacter pylori*: Microbiology of a "slow" bacterial infection. *Trends Microbiol* 1:255-260.  
 Borén T, Falk P, Roth KA, et al. 1993. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 262:1892-1895.  
 Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. 1993. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:5791-5795.  
 De Giacomo C, Lisato L, Negini R, et al. 1991. Serum immune response to *Helicobacter pylori* in children: Epidemiologic and clinical applications. *J Pediatrics* 119:206-210.  
 Hailer F, Hurlimann S, Inauen W. 1992. Pathophysiology and clinical relevance of *Helicobacter pylori*. *Yale J Biol Med* 65:623-638.  
 Kosunen TU, Seppälä K, Sarna S, Sipponen P. 1992. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 339:893-895.  
 Kreaming J, Lindeman, Blomond I, Lamers CBHW. 1994. Relation between IgG and IgA antibody titres against *Helicobacter pylori* in serum and severity of gastritis in asymptomatic subjects. *J Clin Pathol* 47:227-231.  
 Parsonnet J, Friedman GD, Vanderstee DP, et al. 1991. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 325:1127-1136.  
 Talley NJ, Newell DG, Omand JE, et al. 1991. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assays. *J Clin Microbiol* 29:1635-1639.  
 Tellard JL, Covacci A, Ghilardi P, Montecucco C, Rappuoli R. 1994. Unravelling the pathogenic role of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer: potential new therapies and vaccines. *Trends Biochemol* 12:420-426.  
 The Eurogast Study Group (D. Forman, et al.). 1993. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet* 341:1359-1362.

PLATE	Bandejas de Desarrollo
CONTROL +	Control positivo
CONTROL -	Control negativo
PERFORATOR	Perforador
	Consulte las Instrucciones de uso
	Atención, ver Instrucciones de uso
IVD	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura
	Contenido suficiente para n ensayos
	Fabricante
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea
DIL	Diluent de amostra
COMBSCALE	CombScale™
REF	Número de catálogo
LOT	Código de lote
	Fecha de caducidad
BN	Número de serie

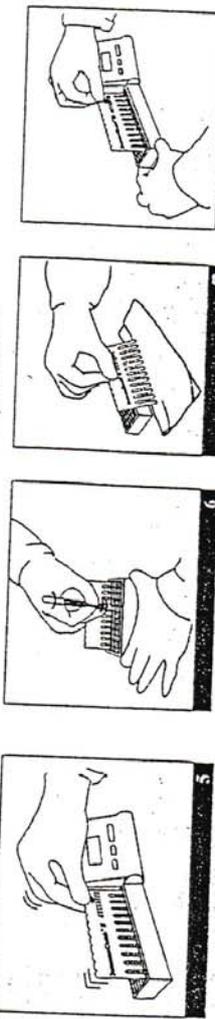
**Fabricante:**

**ORGANICS**  
 Organics Ltd, part of the Inveness Medical Innovations Group  
 P.O. Box 70650, Yereva 70650, Israel  
 Tel. ++ 972 8 942 92 01  
 Fax. ++ 972 8 943 87 58

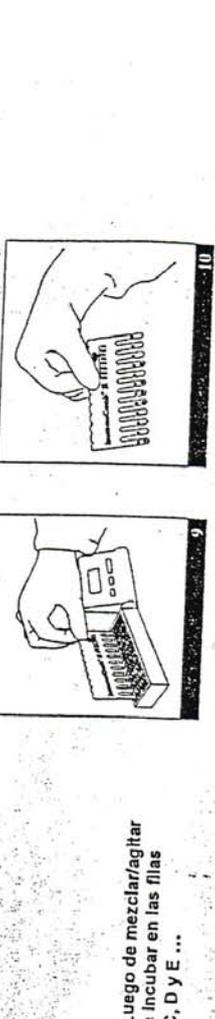
**Representante autorizado en UE:**  
 Organics France S.A.  
 19, rue Lambrechts  
 92400 Courbevoie, France  
 Tel. +33-1 41 99 92 90  
 Fax: +33-1 41 99 92 95  
 Versión: 60425002/S13/OR/ICE (05/2007)



**1**  
Preincubación de la Bandeja de Desarrollo: 3 hrs. a temperatura ambiente o 20 minutos a 37°C



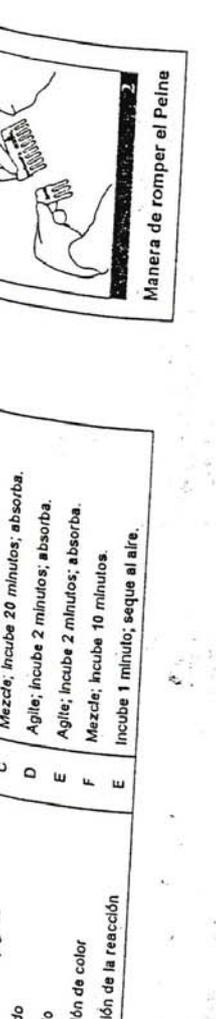
**2**  
Tomar y prediluir las muestras y controles prediluidos a la fila A. Mezclar



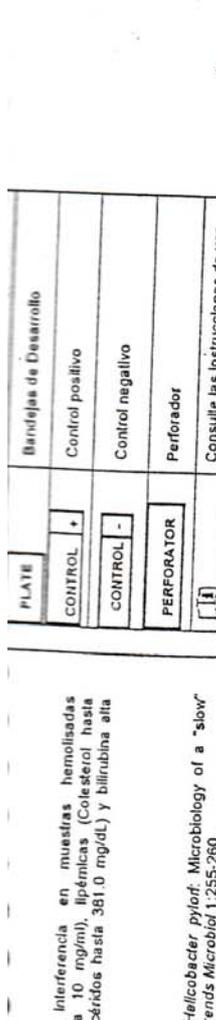
**3**  
Sacar el Peine del empaque



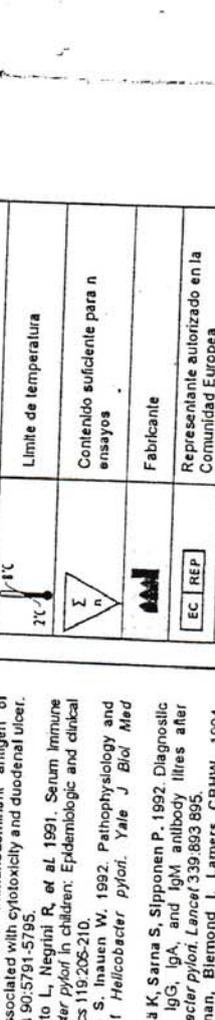
**4**  
Agregar muestras y controles prediluidos a la fila A. Mezclar



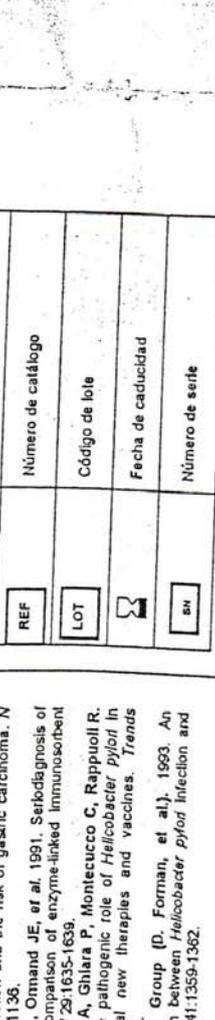
**5**  
Perforación de la fila B



**6**  
Insertar el Peine y mezclar en la fila A. Incubar.



**7**  
Absorber líquido adherido a los dientes



**8**  
Reacción de color en la fila F



**9**  
Luego de mezclar/agitar e Incubar en las filas C, D, E ...



**10**  
Resultados

**Resumen del Procedimiento de la Prueba**  
 Las Instrucciones abreviadas abajo son para los usuarios experimentados en el uso del kit ImmunoComb® II *Helicobacter pylori* IgG1.  
 (Para Instrucciones detalladas, favor referirse al texto completo)  
 1. Lieve todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente.  
 2. Prediluya 10 µl de cada muestra y control con 100 µl de diluyente de la muestra.  
 3. Vierta 25 µl de cada muestra y control prediluidos en los pocillos de la fila A de la Bandeja de Desarrollo y mezcle.  
 4. Inserte el Peine en la fila A y continúe como se describe en la Tabla 1:

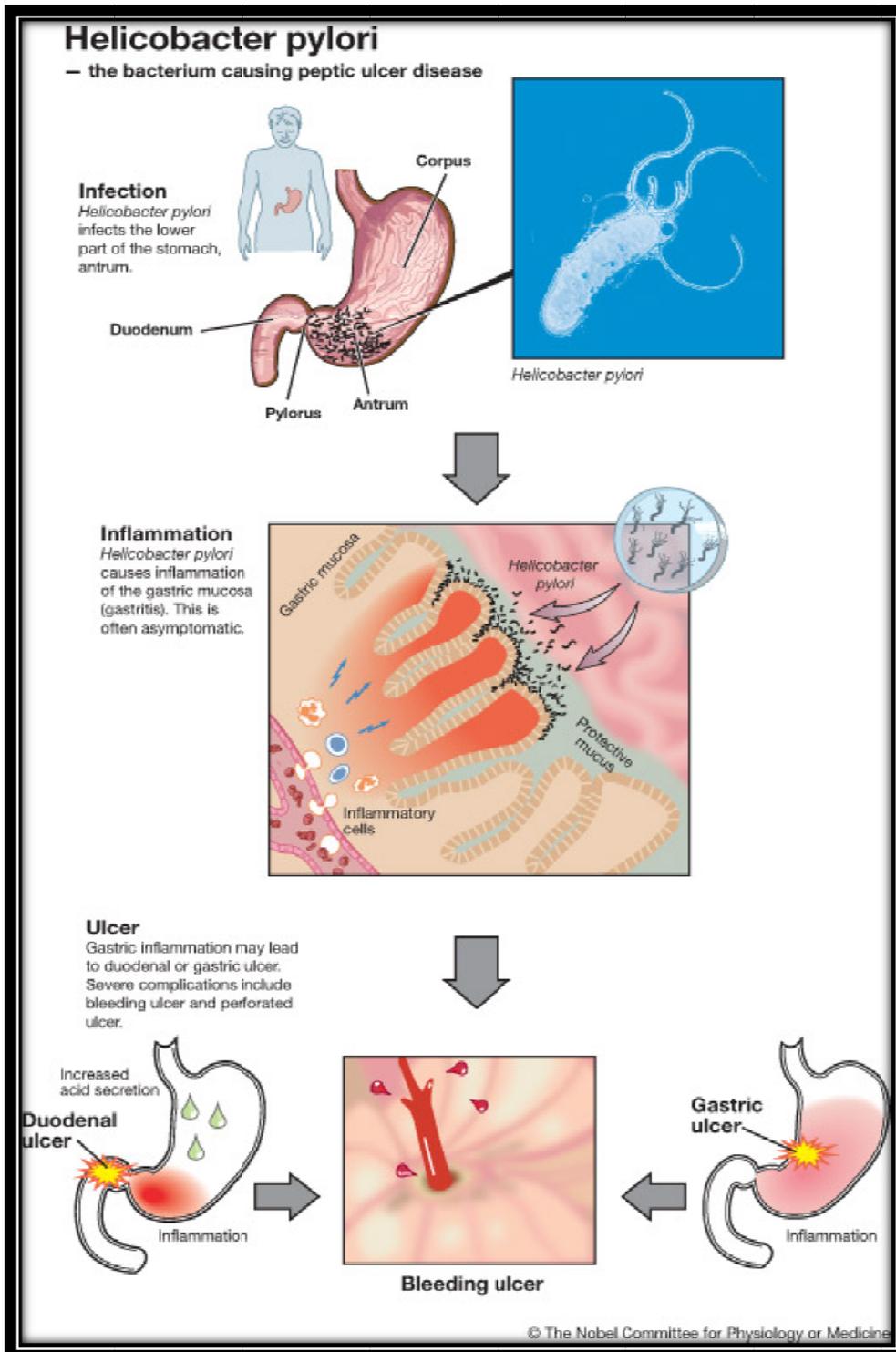
**Tabla 1. Resumen del Procedimiento de la Prueba**

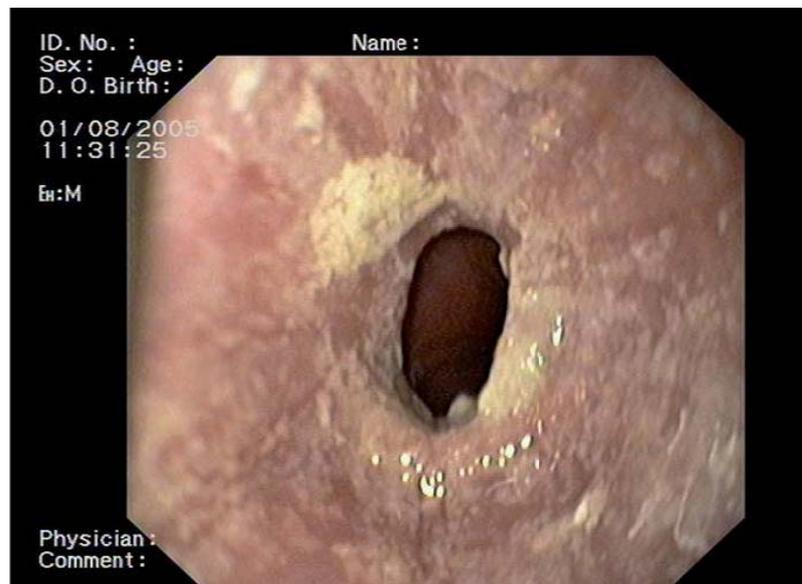
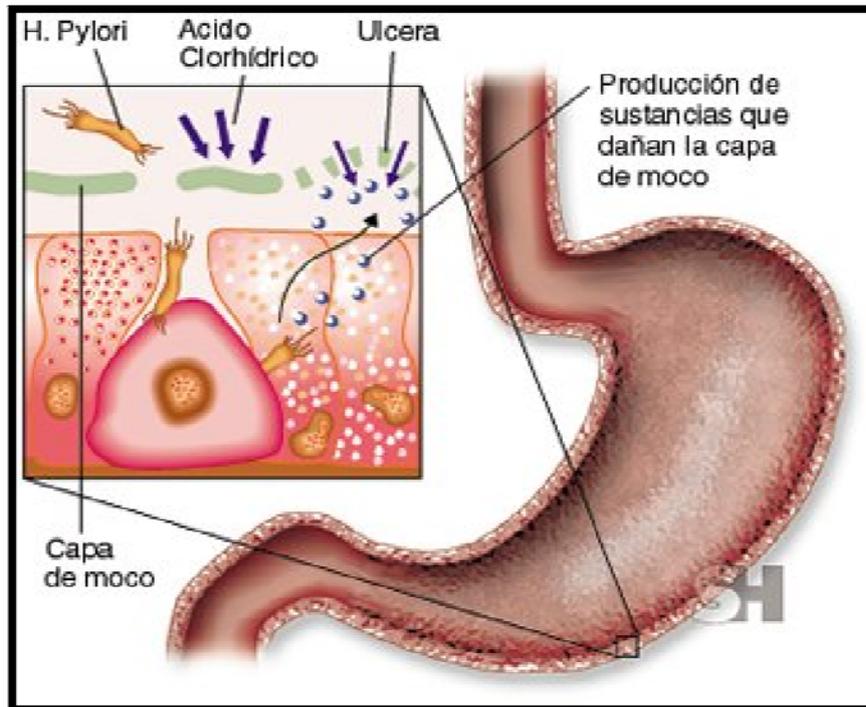
Paso	Fila	Proceda como sigue
Reacción Antígeno-Anticuerpo	A	Mezcle; Incube 30 minutos; absorba.
Lavado	B	Agile; Incube 2 minutos; absorba.
Unión del conjugado	C	Mezcle; Incube 20 minutos; absorba.
Lavado	D	Agile; Incube 2 minutos; absorba.
Reacción de color	E	Agile; Incube 2 minutos; absorba.
Delención de la reacción	F	Mezcle; Incube 10 minutos.
	E	Incuba 1 minuto; seque al aire.



**11**  
Manera de romper el Peine

# ANEXO N° 3





**ANEXO N° 4**

# INFORME HISTOPATOLÓGICO

IESS  
ANATOMÍA  
PATOLÓGICA

Hospital IESS Riobamba - Subgerencia Servicios Auxiliares de Diagnóstico -  
Unidad Nacional 3929 y Chile - Riobamba - Fono:032961811

Informe : 2010000025

Paciente :

Género, edad : Masculino, 31a 7m

Dirección : RIOBAMBA

H.CL. :

Cédula :

Servicio remitente : CE. GASTRO

Recepción muestra : 07/Enero/2010

Médico solicitante : MEJÍA JORGE

Médico tratante : MEJÍA JORGE

Muestra : BIOPSIA DE ESTÓMAGO

Tipo paciente : ACTIVOS

Fecha pedido : 06/Enero/2010

## INFORME

### Macroscopía :

En formol se reciben 3 fragmentos blandos, blanquecinos, irregularmente redondeados y aplanados que miden entre 1 y 2 mm. SPT.

### Microscopía :

Los cortes histológicos muestran secciones de mucosa gástrica antral con una gastritis crónica activa con posos especímenes de Helicobacter .

**Diagnóstico :** Mucosa Gástrica Antral. Biopsia Endoscópica.

GRUPO I ( GASTRITIS CRONICA ACTIVA ASOCIADA A HELICOBACTER).

HOSPITAL I.E.S.S. RIOBAMBA

Dr. Marcelo Toro Córdova  
PATOLOGO LABORATORISTA CLINICO

DR. MARCELO TORO CÓRDOVA

Médico Patólogo

xFecha 13/Enero/2010

de HCL:047991

Apellido paterno

Apellido materno

Nombres

C. Identidad

Identificación Social y familiar

Sexo: M

Grupo de edad AÑOS

Servicio: CONSULTA EXTERNA( ).

### SOLICITUD ESTUDIO ENDOSCOPICO

EXAMEN SOLICITADO

E.D.A

INDICACIONES DE ORIENTACION DIAGNOSTICA :DOLOR ABDOMINAL TIPO URENTE

PRINCIPALES PUNTOS AL ACLARARSE:

DIAGNOSTICO O PRESUNCION DIAGNOSTICA: GASTRITIS CRONICA

DRA. SILVIA PRGAÑO

Firma del Médico Solicitante

### INFORME ENDOSCOPICO

FECHA DE EXÁMEN

ENERO 11 DE 2010

### INFORME

ESOFAGO

En el tercio medio y distal se observan lesiones blanquecinas puntiformes algodonosas.

ESTOMAGO

La mucosa del cuerpo y fundus se observa hiperémica con erosiones petequiales submucosas. La mucosa del antro se observa irregular (se toma biopsias).

DUODENO

Sin patología hasta la segunda porción.

MONILIASIS ESOFAGICAS.

GASTRITIS EROSIVA ALTA MODERADA .

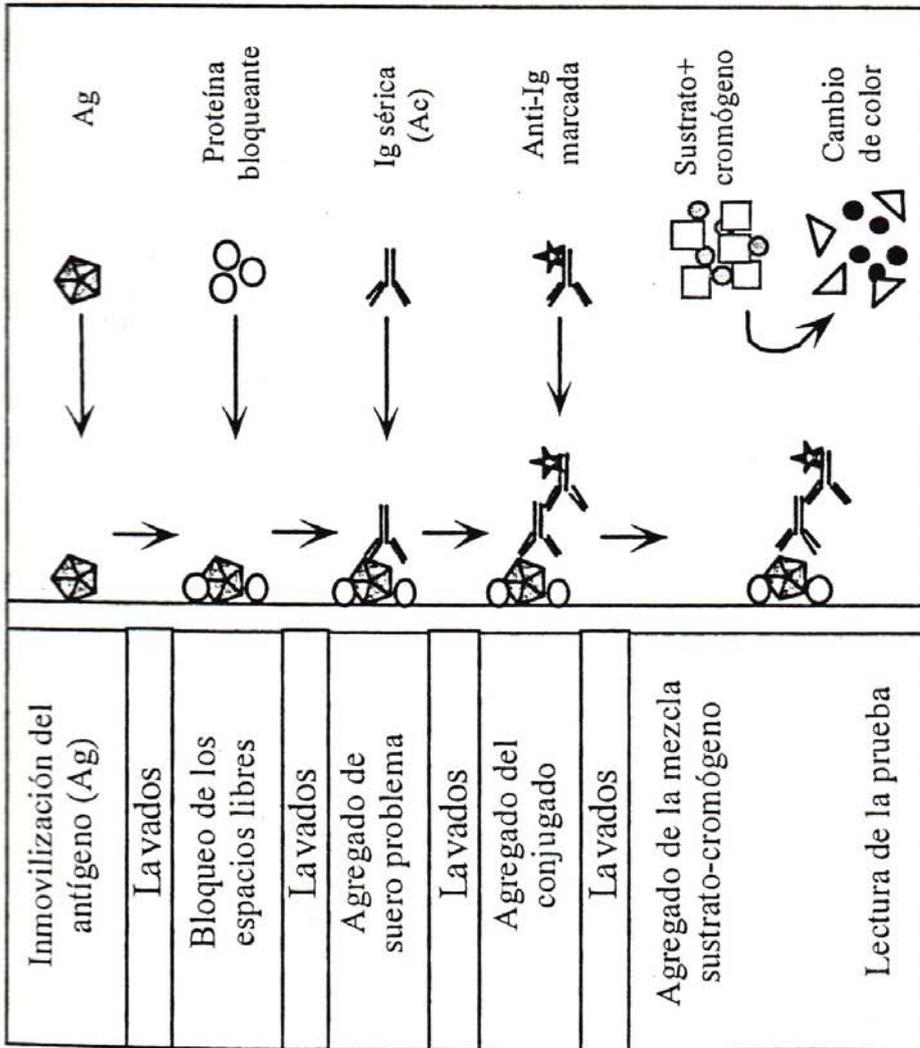
SIGNOS ENDOSCOPICOS SUGESTIVOS DE GASTRITIS CRONICA TIPO B.

.....  
Jorge Mejía Chávez  
Nombre y nombre del Médico

L. LOBRÓN

**ANEXO N°5**

**ELISA INDIRECTO  
(reacción positiva)**



**ELISA INDIRECTO  
(reacción negativa)**

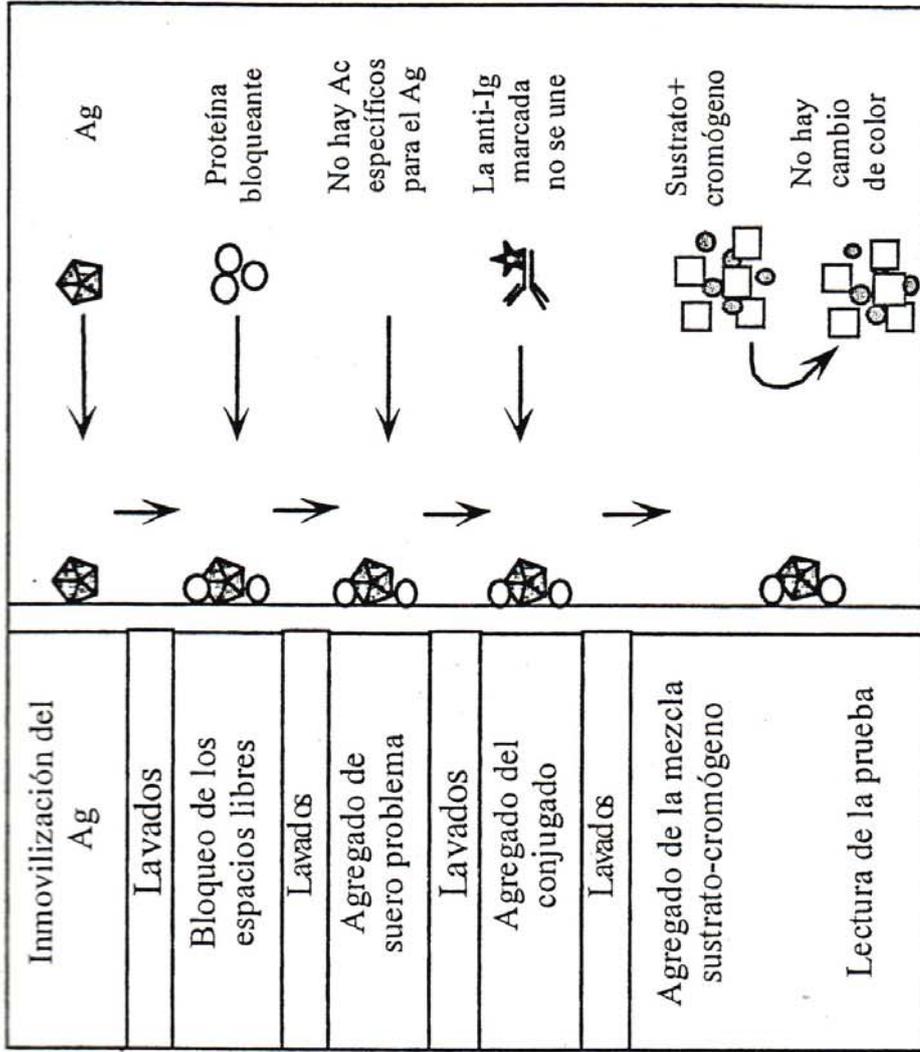


Fig 3. Enzimo inmuno ensayo (ELISA) indirecto