UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Experiencia en dos técnicas de biopsia rectal abierta mediante abordaje transanal para el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung en la Fundación Hospital Pediátrico de la Misericordia

María Alejandra Hernández Guzmán

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina
Departamento de Cirugía
Bogotá, Colombia
2025

Experiencia en dos técnicas de biopsia rectal abierta mediante abordaje transanal para el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung en la Fundación Hospital Pediátrico de la Misericordia

María Alejandra Hernández Guzmán

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de:

Especialista en Cirugía Pediátrica

Director:

MD Juan Javier Valero Halaby

Codirector:

MD Fernando Fierro Ávila

Línea de Investigación:

Cirugía colorrectal pediátrica

Grupo de Investigación:

Unidad de Cirugía Pediátrica de la Universidad Nacional de Colombia

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina - Departamento de Cirugía - Unidad de Cirugía Pediátrica

Bogotá, Colombia

2025

Dedicatoria

.

A José, quien caminó conmigo de la mano durante todo este proceso y con su amor me mantuvo a flote.

A Pedro y Daniel, quienes fueron mi motor y mi motivación para alcanzar esta meta.

A mis padres y hermana quienes siempre fueron un soporte incondicional e indeleble.

A Dios y a la vida por llenarme de tantas bendiciones.

Declaración de obra original

Yo, *María Alejandra Hernández Guzmán* declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Agradecimientos

A los profesores Juan Javier Valero y Fernando Fierro por su motivación, confianza y toda la ayuda recibida en la realización de este trabajo de investigación.

A los profesores Iván Darío Molina, Juan Enrique Sebá y cirujanos de la institución por su apoyo durante todo mi proceso de formación profesional.

Al Profesor Jesús Antonio Niño Salcedo quien cuando estuvo en la tierra me enseñó el pasado, el presente y el futuro de la cirugía y ahora desde el cielo nos acompaña.

A mis compañeros por saber dar palabras de aliento y mostrar una cara amiga cuando fue oportuno.

A los doctores Jhon Fredy Castañeda, Paula Andrea Gonzalez Caicedo y Edna Quintero por todo su aporte a este trabajo desde la parte epidemiológica y conceptos histopatológicos.

A la Universidad Nacional de Colombia por continuar siendo mi alma mater y orientar mi camino en el saber.

A HOMI quien fue mi hogar y escenario de prácticas en este proceso de formación y a todos sus colaboradores por hacerme mejor persona y profesional.

A todos los que han sido y serán mis pacientes por ser mi motivo para educarme continuamente.

Resumen

Experiencia en dos técnicas de biopsia rectal abierta mediante abordaje transanal para el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung en la Fundación Hospital Pediátrico de la Misericordia.

La Enfermedad de Hirschsprung (EH) es un desorden en el desarrollo del sistema nervioso entérico producto de un defecto de la migración de los neuroblastos durante el periodo embrionario que afecta aproximadamente a 1 de cada 5000 nacidos vivos. Es necesario para el diagnóstico de esta enfermedad la realización de biopsia rectal, describiendose diferentes técnicas para su toma. En la Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia se han utilizado dos técnicas de biopsia abierta mediante abordaje transanal por parte del servicio de cirugía pediátrica sin haberse realizado una evaluación objetiva de la experiencia y comportamiento diagnóstico de las muestras obtenidas, ni de las complicaciones asociadas al procedimiento.

Materiales y métodos: Estudio de cohorte retrospectivo en un lapso de tiempo que comprende desde el 1 de enero de 2016 hasta 31 de diciembre de 2023. Se recolectaron los datos de los pacientes llevados a biopsia rectal en la institución con sospecha de Enfermedad de Hirschsprung. Haciendo una revisión juiciosa de la historia clínica, se evaluaron los antecedentes, la técnica quirúrgica implementada, la representación histológica del tejido, su valor diagnóstico, realización de inmunohistoquímica, así como las complicaciones postoperatorias asociadas las cuales se categorizaron según la escala de Clavien Dindo.

Resultados: Se incluyeron un un total de 305 casos de pacientes llevados a biopsia rectal, con una mediana de 9.17 meses de edad. 53.44% de las biopsias se realizaron por incisión única y 46.56% por incisión múltiple. El antecedente de enterocolitis necrosante fue más frecuente en los pacientes llevados a biopsia por incisión múltiple.

53 pacientes (17.38%) fueron diagnosticados con Enfermedad de Hirschsprung, correspondiendo el 81.13% al sexo masculino, el diagnostico en el 60% de los casos fue en menores de 1 año.

Se reportaron muestras inadecuadas en 4.59% de los casos llevados a biopsia, sin diferencias estadísticamente significativas en las dos técnicas (P=0.167). La submucosa insuficiente fue la causa más frecuente en 4.26% de los casos, sin embargo se encontraron 5 casos en que la muestra fue inadecuada por ser muy baja, siendo esta causa solamente reportada en las biopsias por incisión única (3.07% vs 0%), con una diferencia estadísticamente significativa (P=0.035). La proporción de biopsias inadecuadas fue mayor en la población con edad menor a un mes (8.33%) y mayor a 12 meses (8.51%) con respecto a los casos entre 1 mes y 12 meses (0%) (P=0.002).

La mayor parte de las muestras recolectadas en nuestro estudio fueron representativas de mucosa - submucosa (espesor parcial), solo el 10.16% de los casos fueron de espesor total con representación histológica de la capa muscular. Al 80.66% de las

muestras recolectadas se les realizó inmunohistoquímica con calretinina. Tomando esta última técnica como estándar de referencia para la confirmación y exclusión de la Enfermedad de Hirschsprung en nuestro medio, la hematoxilina/eosina, presentó una sensibilidad de 100% (IC 93.28-100%) y especificidad del 94.3%. (IC 90.03-97.01%) con un valor predictivo positivo del 80.14% (IC 69.45-87.75%) y valor predictivo negativo del 100% (IC 97.99%-100%). Para el caso de las muestras inadecuadas, en ninguna de ellas se documentaron células ganglionares en la tinción de hematoxilina eosina por lo que la especificidad para excluir la enfermedad de Hirschsprung fue del 0% (IC %0-52.18%). El estudio de inmunohistoquímica se realizó en 11 de 15 muestras inadecuadas, evidenciando la presencia de células ganglionares en 5 pacientes (45.46%) y de esta manera descartando la enfermedad. Las 9 restantes se informaron como no conclusivas y por lo tanto con indicación de repetir la toma de la biopsia.

Se encontraron complicaciones asociadas al procedimiento en un 3.28% de los casos, principalmente el sangrado en 7 pacientes (2.29%). Esta complicación fue más frecuente en los casos llevados a biopsia por incisión múltiple (4.23%) con respecto a los casos de biopsia con incisión única (0.61%) P=0.036. De acuerdo con la clasificación de Clavien/Dindo, las complicaciones más severas fueron clasificadas como IIIa en un paciente del grupo de biopsia por incisión única, y en el grupo de biopsia por incisión múltiple IIIb en un caso, y IVa en 3 casos con requerimiento de UCI. No se presentaron mortalidades (Clavien Dindo V) asociadas al procedimiento quirúrgico en nuestro estudio.

Conclusión: La biopsia abierta por incisión única mediante abordaje transanal bajo anestesia general es un método útil y seguro, que permite la toma de una muestra adecuada para el diagnóstico histopatológico de Enfermedad de Hirschsprung en nuestro medio. Se debe hacer énfasis en la estandarización del procedimiento con una toma en localización y profundidad adecuada, además del uso de la calretinina para evitar falsos positivos y resultados no conclusivos.

Palabras clave: Biopsia rectal. Enfermedad de Hirschsprung**.** Clavien Dindo, Complicaciones.

Abstract

Experience with two open rectal biopsy techniques using a transanal approach for the diagnosis of Hirschsprung Disease at the Fundación Hospital Pediátrico de la Misericordia.

Hirschsprung Disease (HD) is a disorder in the development of the enteric nervous system resulting from a defect in the migration of neuroblasts during the embryonic period that affects approximately 1 in every 5000 live births. To diagnose this disease, it is necessary to perform a rectal biopsy, describing different techniques for performing it. At the Misericordia Pediatric Hospital Foundation, two open biopsy techniques have been used through a transanal approach by the pediatric surgery service without having carried out an objective evaluation of the experience and diagnostic behavior of the samples obtained, nor of the complications associated with the procedure.

Materials and methods: Retrospective cohort study over a period of time from January 1, 2016 to December 31, 2023. Data were collected from patients undergoing rectal biopsy at the institution with suspected Hirschsprung Disease. Making a judicious review of the clinical record, the medical history, the surgical technique implemented, the histological representation of the tissue, its diagnostic value, performance of immunohistochemistry, as well as the associated postoperative complications were evaluated, which were categorized according to the Clavien Dindo scale.

Results: We included a total of 305 patients who underwent rectal biopsy., with a median age of 9.17 months. 53.44% of the biopsies were performed by single incision and 46.56% by multiple incision. A history of necrotizing enterocolitis was more common in patients undergoing multiple incision biopsy. 53 patients (17.38%) were diagnosed with Hirschsprung's Disease, 81.13% of which were male, with a diagnosis in 60% of cases in children under 1 year of age. Inadequate samples were reported in 4.59% of cases, with no statistically significant differences in the two biopsy techniques (P=0.167). Insufficient submucosa was the most frequent cause in 4.26% of the cases, however, 5 cases were found in which the sample was inadequate because it was very low, this cause being only reported in single incision biopsies (3.07% vs 0%). , with a statistically significant difference (P =0.035). The proportion of inappropriate biopsies was higher in the population under one month of age (8.33%) and over 12 months of age (8.51%) compared to cases between 1 month and 12 months (0%) (P=0.002).

Most of the samples collected in our study were representative of mucosa - submucosa (partial thickness), only 10.16% of the cases were full thickness with histological representation of the muscular layer. Calretinin immunohistochemistry was performed on 80.66% of the collected samples. Taking this last technique as the reference standard for the confirmation and exclusion of Hirschsprung's Disease in our environment,

hematoxylin/eosin presented a sensitivity of 100% (CI 93.28-100%) and specificity of 94.3%. (CI 90.03-97.01%) with a positive predictive value of 80.14% (CI 69.45-87.75%) and negative predictive value of 100% (CI 97.99%-100%). In the case of inadequate samples, none of them documented ganglion cells in the hematoxylin eosin staining, so the specificity to exclude Hirschsprung's disease was 0% (CI %0-52.18%). The immunohistochemistry study was performed in 11 of 15 inadequate samples, showing the presence of ganglion cells in 5 patients (45.46%), so the disease was ruled out. The remaining 9 were reported as inconclusive and therefore with an indication to repeat the biopsy.

Complications associated with the procedure were found in 3.28% of cases, mainly bleeding in 7 patients (2.29%). This complication was more frequent in cases undergoing multiple incision biopsy (4.23%) compared to cases with single incision biopsy (0.61%) P=0.036. According to the Clavien/Dindo classification, the most severe complications were classified as IIIa in one patient in the single-incision biopsy group, and in the multiple-incision biopsy group IIIb in one case, and IVa in 3 cases with requirement from ICU. There were no mortalities (Clavien Dindo V) associated with the surgical procedure in our study.

Conclusion: Single incision open biopsy using a transanal approach under general anesthesia is a useful and safe method, which allows the taking of an adequate sample for the histopathological diagnosis of Hirschsprung's Disease in our environment. Emphasis should be placed on the standardization of the procedure with proper localization and depth of sample acquisition, in addition to the use of calretinin to avoid false positives and inconclusive results.

Keywords: Rectal biopsy. Hirschsprung's disease. Clavien Dindo, Complications.

Contenido

Pág.

Resumen ..... **VI**

Lista de figuras ..... **XII**

Lista de tablas ..... **XIII**

Lista de Símbolos y abreviaturas ..... **XIV**

Introducción **1**

1. Marco teórico **2**
1.1.Generalidades de la Enfermedad de Hirschsprung 2
1.2.Diagnóstico de la Enfermedad de Hirschsprung 3
1.3.Biopsias rectales 4
1.3.1 Aspectos histopatológicos 4
1.3.2 Biopsia por succión 5
1.3.3 Biopsia abierta 6
1.3.3.1 Biopsia abierta por incisión múltiple 6
1.3.3.2 Biopsia abierta por incisión única 7
1.4.Complicaciones asociadas a la toma de biopsia rectal 10
1.4.1 Escala de Clavien - Dindo 10

2. Justificación **12**

3. Objetivos **13**
3.1.Objetivo General 13
3.2.Objetivos Específicos 13

4. Metodología **14**
4.1.Diseño del estudio 14
4.2.Población 14
4.3.Criterios de inclusión 14
4.4.Criterios de exclusión 14
4.5.Procedimientos para la recolección de la información 14
4.6.Variables 15
4.7.Desenlaces 16
4.8.Procesamiento y análisis de datos 16
4.9.Aspectos Éticos 16

5.Resultados **18**
5.1.Pacientes incluidos 18
5.2.Caracterización de la población 19
5.3.Aspectos histológicos 20
5.4.Diagnóstico histopatológico de enfermedad de Hirschsprung 21
5.5.Muestras inadecuadas 22
5.6.Rendimiento diagnóstico de la histopatología 24
5.7.Complicaciones 26

6. Discusión..... 28
6.1.Experiencia en la toma de biopsia rectal.....28
6.2.Biopsias inadecuadas.....29
6.3.Valor de la inmunohistoquímica en el diagnóstico de la EH 30
6.4.Complicaciones asociadas a la toma de biopsia rectal.....31

7. Conclusiones y recomendaciones…….....33

8. Bibliografía……..... 34

Lista de figuras

Pág.

Figura 1-1: Toma de biopsia por incisión múltiple ……7

Figura 1-2: Toma de biopsia por incisión única……9

Figura 5-1: Diagrama PRISMA…… ….18

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1-1: Clasificación de Clavien Dindo.....11

Tabla 4-1: Variables de análisis del estudio.....15

Tabla 5-1: Tipo de biopsia..... 19

Tabla 5-2: Edad..... 19

Tabla 5-3: Sexo.....19

Tabla 5-4: Antecedentes.....20

Tabla 5-5: Representación histológica.....20

Tabla 5-6: Calretinina.....21

Tabla 5-7: Resultados de la Histopatología.....21

Tabla 5-8: Caracterización de pacientes con Enfermedad de Hirschsprung.....22

Tabla 5-9: Biopsias inadecuadas.....22

Tabla 5-10: Causa de biopsia inadecuada..... 22

Tabla 5-11: Conclusión diagnóstica de muestras inadecuadas.....23

Tabla 5-12: Análisis bivariado de las biopsias inadecuadas.....23

Tabla 5-13: Tabla de contingencia de coloración básica e inmunohistoquímica..... 24

Tabla 5-14: Tabla de contingencia para cada tipo de biopsia.....24

Tabla 5-16: Tabla de contingencia para biopsias adecuadas e inadecuadas.....25

Tabla 5-17: Complicaciones..... 26

Tabla 5-18: Tipo de Complicaciones..... 26

Tabla 5-19: Clasificación de la severidad de las complicaciones.....26

Tabla 5-20: Análisis bivariado de las complicaciones.....27

Lista de símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
AChE	Acetilcolinesterasa
C-D	Clavien Dindo
EH	Enfermedad de Hirschsprung
HOMI	Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia
H&E	Hematoxilina eosina

Introducción

La Enfermedad de Hirschsprung (EH) es un desorden en el desarrollo del sistema nervioso entérico producto de un defecto de la migración de los neuroblastos durante el periodo embrionario que afecta aproximadamente a 1 de cada 5000 nacidos vivos. El estándar de oro para su diagnóstico es la biopsia rectal, siendo descritas diferentes técnicas para su toma. En la Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia (HOMI) se han utilizado dos técnicas de biopsia abierta mediante abordaje transanal por parte del servicio de cirugía pediátrica sin haberse realizado una evaluación objetiva de la experiencia y comportamiento diagnóstico de las muestras obtenidas, ni de las complicaciones asociadas al procedimiento.

1. Marco teórico

1.1 Generalidades de la Enfermedad de Hirschsprung

La Enfermedad de Hirschsprung (EH) es un desorden en el desarrollo del sistema nervioso entérico producto de un defecto de la migración craniocaudal de los neuroblastos que se originan en la cresta neural y que ocurre durante las primeras 12 semanas de gestación (1). Esto lleva a una ausencia de células ganglionares en los plexos mientérico y submucoso en una porción variable del intestino desencadenando una falta de relación del segmento agangliónico y por ende una obstrucción funcional del intestino (2).

Se trata de una enfermedad que ocurre aproximadamente en 1 por cada 5000 nacidos vivos con una predominancia por el género masculino con una relación 4:1 (3). En el 70% de los casos, su presentación es esporádica, sin embargo aproximadamente el 30% de los niños afectados con la enfermedad tienen alteraciones cromosómicas asociadas (12%) y/o anomalías congénitas (18%) (4), estas incluyen pacientes con síndrome de Down, síndrome de Waardenburg, Neoplasia Endocrina Múltiple 2b (MEN 2b) y el síndrome de Mowat-Wilson (3).

El principal gen involucrado es el protooncogén RET encontrado en aproximadamente el 35% de los casos esporádicos y el 49% de los casos familiares, describiendo más de 100 mutaciones en cualquiera los 21 exones del gen, estas incluyen deleciones, inserciones y mutaciones. Otros genes también se han involucrado en la etiopatogénesis de la Enfermedad de Hirschsprung como el gen del factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF), el gen del receptor de endotelina-B (EDNRB), el gen de endotelina-3, el factor de transcripción SOX10 y el gen PHOX2B (5).

La edad de presentación de la EH es variable, sin embargo la mayoría de los niños se diagnostican en el primer año de vida. Durante el periodo neonatal, esta enfermedad debe sospecharse cuando el recién nacido no elimina meconio dentro de las primeras 24-48h posteriores al nacimiento, presenta intolerancia alimentaria, distensión abdominal y vómito, e incluso hasta en un 5% de los casos puede debutar con enterocolitis y

perforación intestinal (6). Un pequeño número de pacientes no se reconocen hasta mucho más tarde en la infancia o permanecen sin diagnosticar hasta la edad adulta, estos pacientes clásicamente presentan estreñimiento crónico de leve a severo que es refractario a los laxantes orales, requieren terapias rectales evacuatorias, o presentan distensión abdominal y retraso del crecimiento (4).

El diagnóstico temprano y tratamiento adecuado de la EH es importante para evitar complicaciones como la obstrucción intestinal aguda, impactación fecal recurrente, complicaciones quirúrgicas y episodios de enterocolitis agudos o crónicos que pueden ser fatales (7).

1.2 Diagnóstico de la Enfermedad de Hirschsprung

En aras de prevenir morbilidad y complicaciones asociadas a la enfermedad, los pacientes que tengan un alto índice de sospecha de esta patología deben someterse a una evaluación diagnóstica metódica. El National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE), especifica las siguientes indicaciones para toma de biopsia rectal para descartar Enfermedad de Hirschsprung (8):

- Paso de meconio >48h
- Estreñimiento desde las primeras semanas de vida
- Distensión abdominal crónica con vómito
- Historia familiar de EH
- Falla del medro además de cualquiera de las características anteriores.

En la actualidad, existen diversas pruebas para la aproximación diagnóstica de la EH como el colon por enema y la manometría anorrectal. El colon por enema tiene una sensibilidad alrededor del 86% y una especificidad del 90% (3) con hallazgos como irregularidades en la mucosa, presencia de una zona de transición y una inversión del índice recto sigmoideo (9). La manometría anorrectal (ARM), por su parte es una prueba que evalúa el reflejo rectoanal inhibitorio, que está ausente en niños con EH, con sensibilidad del 93.75% y especificidad del 89.47% (10), sin embargo en nuestro medio es poco disponible.

La histopatología sigue siendo el estándar de oro para el diagnóstico de la EH, siendo la ausencia de células ganglionares en una muestra adecuada, conclusiva para aganglionosis (11). Por esto, independientemente de los resultados de las pruebas anteriores, la toma de biopsia rectal es mandatoria.

1.3 Biopsias rectales

Una variedad de técnicas de biopsia rectal que persiguen la obtención de una muestra óptima para el estudio histopatológico se han descrito, entre ellas, punch, endoscópica, abierta y por succión (12) , siendo más destacadas las dos últimas.

1.3.1 Aspectos histopatológicos

La interpretación correcta del estudio histopatológico empieza por la toma de una muestra adecuada, la cual debe medir mínimo 3 mm de diámetro y al menos contener un tercio de su espesor en submucosa; dado que el plexo submucoso refleja la misma inervación que el plexo mientérico, evitanla necesidad de la biopsia de espesor completo (13). La biopsia rectal debe obtenerse 2 cm por encima de la línea dentada, ya que los 1-2 cm distales del recto son fisiológicamente hipoganglionares y las biopsias tomadas a una altura demasiado alta pueden pasar por alto un segmento muy corto de EH limitado al recto distal. Esta muestra debe enviarse apropiadamente orientada para una evaluación cuidadosa de la misma por parte de un patólogo experimentado, quien debe especificar las diferentes capas presentes en la muestra, la presencia de células ganglionares, así como de fibras nerviosas hipertróficas, y emitir una conclusión (14).

La identificación de células ganglionares en la coloración de hematoxilina eosina (H&E) descarta el diagnóstico de EH (S: 100%). Sin embargo, ante la ausencia de células ganglionares (E: 34.4%), coloraciones adicionales de histoquímica como la acetilcolinesterasa (AChE) o de inmunohistoquímica como la calretinina deben realizarse de manera rutinaria en el protocolo diagnóstico (6).

Las ventajas y desventajas de estos dos métodos de tinción en el diagnóstico de la EH se han discutido ampliamente en la literatura en los últimos años. La histoquímica con AChE se ha empleado por varios centros en el mundo, pero no se emplea de forma universal dado que requiere un manejo especial del tejido (15), por lo que en Colombia

no se emplea como técnica auxiliar para el diagnóstico de la EH.

El diagnóstico o la exclusión de la EH mediante inmunohistoquímica con calretinina es más precisa que la coloración de rutina con hematoxilina eosina sola, llevando a menos lecturas equívocas y una buena concordancia entre observadores, por lo que es de gran utilidad para resolver los casos sospechosos e indeterminados de EH (16). De hecho un metaanálisis reciente, que incluyó 28 marcadores de inmunohistoquímica de 107 estudios usados para investigar la presencia de EH en 10891 pacientes, mostró que la sensibilidad y especificidad de la calretinina fue superior a la de los demás descritos en la literatura con un 98 %y 99 % respectivamente (17).

Otra ventaja potencial de la calretinina es su aplicación a secciones del mismo tejido incluido en parafina utilizado para las secciones teñidas con H&E convencional, que, a diferencia de la AChE rápida, no requiere una muestra de biopsia congelada adicional, tiene un patrón de tinción simple y binario de interpretación (negativo o positivo) y es rentable así como ampliamente disponible, por lo que no impone una carga técnica significativa para los laboratorios de patología, a diferencia de la histoquímica AChE, que se utiliza sólo para el diagnóstico de EH (15).

El número de biopsias inadecuadas varía en la literatura. Una revisión sistemática reciente que incluye pacientes llevados a biopsia por succión mostró un 10,1% de biopsias con diagnóstico conclusivo en la biopsia inicial. En cuanto a la biopsia abierta, la frecuencia de biopsias con diagnóstico inconclusivo varía entre el 0 y el 13% en series relativamente pequeñas de 72 pacientes como máximo (18). Otros artículos reportan tasas de biopsias rectales inadecuadas con submucosa insuficiente en el 8%-26% de las muestras, lo que a menudo lleva a repetir la biopsia para hacer un diagnóstico. Las biopsias inadecuadas provocan un retraso en el diagnóstico debido a la necesidad de repetir la biopsia, a veces con un costo notablemente mayor, mayor estancia hospitalaria y una ansiedad prolongada de los padres (13).

1.3.2 Biopsia por succión

Desde su publicación en 1965, la biopsia por succión ha ganado popularidad dado que se puede realizar en la cama del paciente sin requerimiento de anestesia o suturas (19). Consiste en una pistola que se inserta vía rectal, la cual captura y corta ciegamente un

pequeño segmento de la pared del colon mediante un vacío creado en su punta (20), dependiendo de la cantidad de tejido de la muestra, la presión se ajusta para la siguiente biopsia, siendo común la toma de varias muestras en la práctica clínica (21).

La biopsia por succión ha demostrado una sensibilidad y especificidad del 80.95% and 90.00% al compararse con la biopsia abierta (22). En niños mayores de 6 meses de edad puede no producir muestras de tejido adecuadas para el análisis patológico, secundario a una distensión excesiva de la pared rectal, edema de la mucosa o aumento del tejido fibroso, lo que dificulta que el dispositivo de succión aspire un volumen suficiente de submucosa para el diagnóstico (13). Sin embargo pareciera una herramienta adecuada y segura en niños pequeños cuya edad a la biopsia fue incluso <37 semanas o con peso <2000 g (23).

La biopsia por succión puede ser una buena prueba de tamizaje en casos sospechosos de EH, sin embargo, en Colombia no tenemos disponibilidad de estos dispositivos, por lo que las biopsias se realizan vía abierta.

1.3.3 Biopsia abierta

Es una técnica requiere que el paciente sea llevado a anestesia general. A nivel rectal, se posiciona un separador que permite una visión directa del sitio de la biopsia. Se toma una biopsia que debe contener mucosa y submucosa y se cierra el defecto con sutura para hemostasia (21). Esta técnica tiene como objetivo obtener un mayor volumen de tejido de una ubicación bien controlada en la pared del recto, con especial utilidad en biopsias no quirúrgicas previas, en aquellas no concluyentes o niños mayores (13); en nuestro medio, se utiliza de rutina dada la no disponibilidad de la biopsia por succión.

Dentro de nuestro protocolo, se incluyó el uso de antibiótico profiláctico con ampicilina sulbactam dado que se ha demostrado que reduce la tasa de complicaciones infecciosas de un 13,4% al 3.3% comparado con los controles (24).

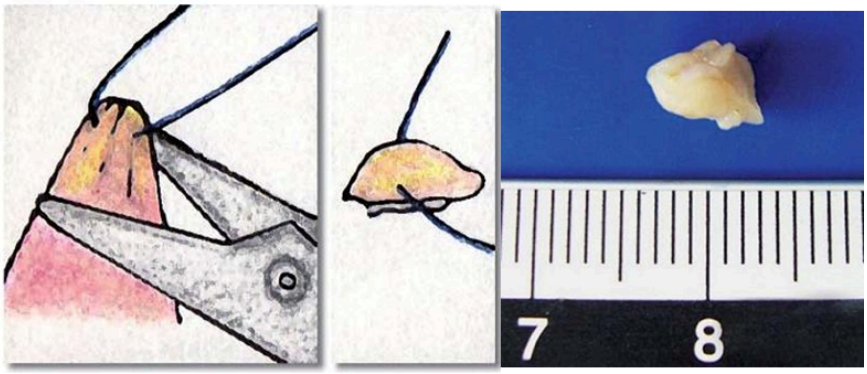
1.3.3.1 Biopsia abierta por incisión múltiple

La técnica empleada consiste en dilatar el recto con un separador dejando expuesta su pared para escoger el nivel a biopsiar. Se pasa un punto de sutura ligeramente por

debajo de la mucosa, con tracción se levanta la submucosa y se corta el fragmento con tijera (Figura 1-1). El número de niveles a tomar varía en las diferentes escuelas, nuestro grupo definió la recolección de muestras entre 3 a 5 niveles a los 1, 2, 3, 4 y 5 cm de la línea pectínea, con tamaños de la biopsia que oscilan entre 0,3 a 0,5 cm, evitando zonas donde la mucosa tiene un aspecto micronodular ya que estos levantamientos pueden corresponder a agregados linfoides que ocupan la submucosa y desplazan el plexo de Meissner en profundidad, quedando en muchas oportunidades fuera del tejido obtenido en la biopsia (25).

Las muestras se envían sobre un papel filtro con la mucosa en contacto con el papel y rotuladas en recipientes con formol para su examen histológico con H&E y coloración especial de inmunohistoquímica en la mayoría de los casos.

Figura 1-1: Toma de biopsia por incisión múltiple.



Tomado de: Jaramillo Lina, Proposed Recommendations and Guidelines for Diagnosis of Hirschsprung 's Disease in Mucosal and Submucosal Biopsies from the Rectum. 2011

1.3.3.2 Biopsia abierta por incisión única

En el año 2019, de la Torre y colaboradores describieron la biopsia de tira única con técnica de las 3 suturas para la toma de biopsias abiertas de recto o mapeo colónico, como alternativa sencilla y reproducible en la obtención de muestras de recto dado permite controlar el espesor de la muestra y la distancia desde la línea pectínea. Para su realización recomiendan altamente el uso del retractor colorrectal Lone-Star® (Cooper Surgical, Inc.) o dispositivos similares como un rinoscopio o nasoscopio para lograr una exposicion decuada del canal anal y del recto.

El procedimiento consiste en la colocación de dos reparos de tracción con seda a 1 y 2 cm de la línea pectínea y una tercera sintética multifilamento de poliglactina (Vicryl) a los 3 cm de la línea dentada, realizando una incisión vertical entre las suturas 1 a 2 y luego 2 a 3. El cierre de la herida se realiza con sutura continua cruzada de Vicryl (26).

Nuestro centro comenzó a realizar esta biopsia abierta por incisión única, empleando pequeñas variaciones técnicas en la biopsia como la aplicación de 4 reparos de tracción y sutura continua del recto con material absorbible monofilamento de polidioxanona (PDS), así como el uso rutinario del del retractor colorrectal Lone-Star® y antibioticoterapia, eliminando de manera paulatina de la práctica clínica la realización de las biopsias por incisión múltiple.

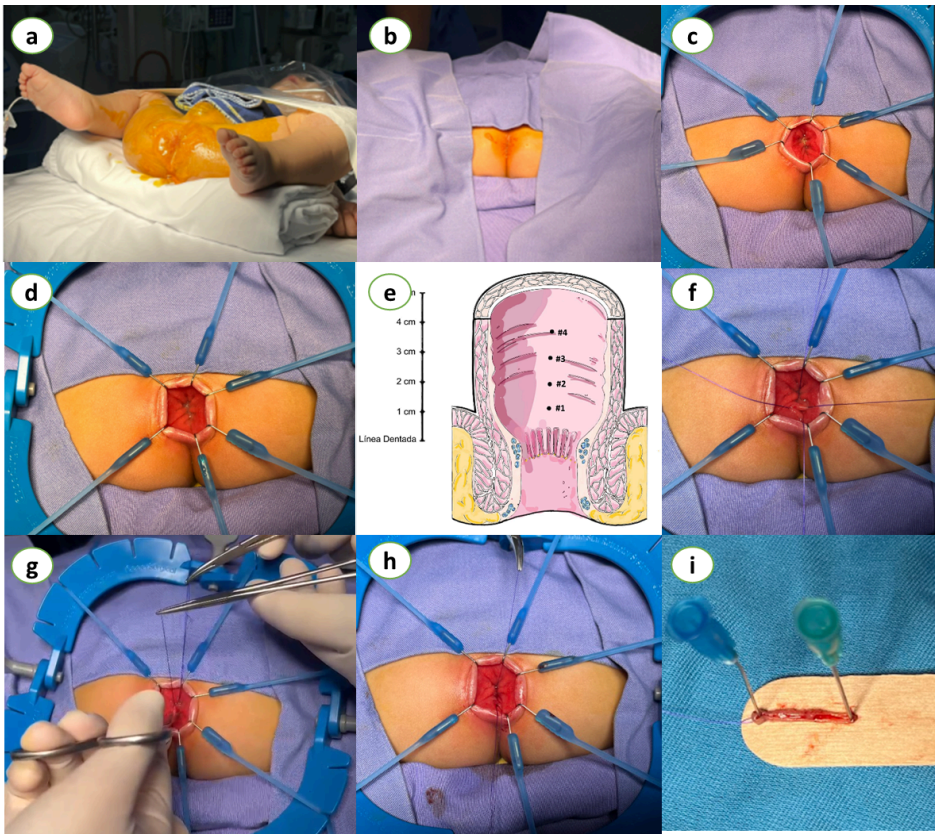
A continuación describimos el paso a paso de la biopsia rectal realizada en nuestro centro, como se esquematiza en la Figura 1-2:

1. Administrar al menos 30 minutos antes de la incisión Ampicilina sulbactam 50 mg/kg como profilaxis.
2. Bajo anestesia general, ubicar el paciente en posición de litotomía, en caso de neonatos y lactantes los estribos no son necesarios. Prevenir la hipotermia con uso de manta térmica. (Imagen a)
3. Realizar lavado quirúrgico con yodopovidona, jabón y solución y colocar campos estériles. (Imagen b)
4. Posicionar el retractor colorrectal Lone-Star® inicialemte en el anodermo para exponer la línea pectinea y examen del canal anal. (Imagen c)
5. Reacomodar el retractor colorrectal protegiendo la línea pectínea. (Imagen d)
6. Colocar reparo de tracción de PDS en el recto a 1 cm de la línea pectínea (Sutura #1). (Imagen e)
7. Aplicar tracción con la sutura #1, y colocar otra sutura de PDS en el recto a 2 cm de la línea pectínea (sutura #2) y anudar (esta sutura marca el extremo distal de la biopsia. (Imagen e)
8. Aplicar tracción con la sutura #2, y colocar una sutura de PDS en el recto a 3 cm de la línea pectínea (sutura # 3). (Imagen e)
9. Aplicar tracción con la sutura #3, y colocar una sutura de PDS en el recto a 4 cm de la línea pectínea (sutura # 4). (Imagen e)

10. Aplicar tracción con las suturas n.° 1 y n.° 4 en direcciones opuestas y levantar las suturas # 2 y #3. (Imagen f)
11. Cortar con tijera verticalmente el recto entre las suturas #1 y #2 y, continuar el corte entre las suturas #2 y #3 hasta justo antes de la sutura #4 para obtener una muestra con suficiente representación de mucosa y submucosa (Imagen g)
12. Cerrar la herida con la sutura #4 utilizando una sutura continua y retirar la sutura #1
13. Revisar hemostasia. (Imagen h)
14. Retirar el retractor colorrectal.
15. Enviar la muestra al laboratorio de patología extendida sobre un bajalenguas con dos alfileres dentro de un recipiente de formol con la mucosa en contacto con la madera con el respectivo diligenciamiento de la hoja de remisión.

En el laboratorio de patología, se realiza el examen histológico con hematoxilina eosina de rutina y la coloración especial de inmunohistoquímica en la mayoría de los casos.

Figura 1-2: Toma de biopsia por incisión única.



Fuente: elaboración propia

1.4 Complicaciones asociadas a la toma de biopsia rectal

Las complicaciones asociadas a la biopsia rectal son raras e incluyen sangrado, cicatrices, estenosis, perforación, sepsis y riesgos inherentes de la anestesia (3,13). En una serie de 1340 biopsias consecutivas, las complicaciones incluyeron 3 hemorragias rectales que requirieron transfusión y 3 perforaciones intestinales con desenlace fatal en uno de los casos dado sepsis de origen pélvico (27), complicaciones como la lesión de la arteria ilíaca común durante la biopsia rectal en un prematuro (28) y gangrena en los miembros inferiores también se han descrito en reportes de caso (29).
En el artículo original de 1955 de Swenson et al, sólo se informó una complicación (sangrado posoperatorio) en 40 pacientes sometidos a biopsia rectal abierta (30). En revisiones sistemáticas recientes, la tasa de complicaciones de biopsia por succión fue del 0,65% (31) y en abierta del 2% (12).

1.4.1 Escala de Clavien - Dindo

Las complicaciones postoperatorias constituyen un importante indicador de calidad: retardan la evolución de la enfermedad, prolongan la estancia hospitalaria e incrementan los índices de morbilidad y mortalidad (32). En aras de realizar un registro adecuado y universal de las mismas, a lo largo de la historia se han propuesto múltiples sistemas de clasificación.

En 1992, Clavien propuso una estratificación de la gravedad de las complicaciones, la cual en conjunto con el Dr. Dindo fue mejorada para 2004 dando origen a la clasificación de Clavien- Dindo (C-D), con gran acogida en la comunidad científica (33) y validación en diversas especialidades quirúrgicas (34)

Las complicaciones identificadas en el presente estudio serán graduadas de acuerdo a la escala de Clavien Dindo, presentamos a continuación una breve reseña:

Tabla 1-1: Clasificación de Clavien Dindo.

GRADO SEGÚN C- D	DEFINICIÓN
GRADO I	Sin necesidad de tratamiento farmacológico, quirúrgico, endoscópico o radiológico. Uso de medicamentos correspondientes a las siguientes categorías: antipiréticos, analgésicos, diuréticos, electrolitos Drenaje de colecciones no infecciosas de la herida quirúrgica (seromas), sin necesidad de eventos anestésicos.
GRADO II	Necesidad de tratamiento farmacológico diferente a los permitidos en el grado I. También se incluyen las transfusiones de sangre y la nutrición parenteral total.
GRADO III	Necesidad de tratamiento quirúrgico, endoscópico o radiológico.
GRADO IIIa	Procedimientos realizados con sedación y/o anestesia local.
GRADO IIIb	Procedimientos realizados bajo anestesia general.
GRADO IV	Complicación que amenaza la vida, requiere manejo en UCI.
GRADO IVa	Disfunción de un solo órgano.
GRADO IVb	Disfunción multiorgánico
GRADO V	Muerte

Reconstruido de: Dindo D, Demartinez N, Clavien PA. Classification of surgical complications: A new proposal with evaluation in cohort of 6336 patients and results of a survey. 2004

2. Justificación

La Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia (HOMI) es un hospital de referencia nacional en el manejo de patología colorrectal, esto incluye aquellos paciente con sospecha o diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung.

Diferentes técnicas para la toma de biopsias rectales se han descrito, empleandose en la Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia dos técnicas de biopsia mediante abordaje transanal: la biopsia abierta por incisión múltiple y la biopsia abierta por incisión única. Hasta el momento no se ha realizado una evaluación objetiva de la experiencia, comportamiento diagnóstico de las muestras obtenidas, ni de las complicaciones asociadas al procedimiento.

Nuestra intención es caracterizar la población que se ha sometido a biopsias rectales por alguna de estas dos técnicas en un periodo de tiempo comprendido entre el 2016-2023, estableciendo la prevalencia global de las complicaciones y su severidad así como evaluar el comportamiento diagnóstico de las mismas.

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

Evaluar la experiencia en dos técnicas de biopsia rectal abierta mediante abordaje transanal para el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung.

3.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar la población llevada a biopsias rectales por sospecha de Enfermedad de Hirschsprung.
- Detallar las técnicas utilizadas para la toma de biopsias en el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung en HOMI.
- Describir las complicaciones asociadas presentadas en los pacientes y clasificar su severidad mediante la aplicación de la escala Clavien – Dindo.
- Retratar los aspectos histológicos de las biopsias recolectadas.
- Evaluar el comportamiento diagnóstico de las biopsias rectales por incisión múltiple y de la biopsia por incisión única.

4. Metodología

4.1 Diseño del estudio

Estudio descriptivo tipo serie de casos retrospectivo, con pacientes llevados a biopsias rectales por sospecha de Enfermedad de Hirschsprung en un lapso de 8 años, entre enero de 2016 y diciembre de 2023.

4.2 Población

Pacientes menores de 18 años llevados a biopsia rectal entre los años 2016 a 2023 con sospecha o diagnóstico confirmado de Enfermedad de Hirschsprung en el Hospital Fundación Pediátrico de la Misericordia.

4.3 Criterios de inclusión

Pacientes menores de 18 años, con sospecha o diagnóstico confirmado de Enfermedad de Hirschsprung, llevados a biopsia rectal durante los años 2016 a 2023 en HOMI.

4.4 Criterios de exclusión

- Falta de datos completos en la historia clínica.
- Pacientes llevados a biopsia por diagnóstico diferente.
- Pacientes llevados a biopsia en otra institución.

4.5 Procedimientos para la recolección de la información

La información se recolectó mediante la revisión de las bases de datos del servicio de cirugía pediátrica y una vez recolectados, se procedió a revisión de historias clínicas en los sistemas Hisisis, Hosvital e Índigo de la institución, realizando la extracción de las variables sociodemográficas de interés como lo son edad, género, tipo de biopsia, representación histológica, coloraciones de rutina e inmunohistoquímica en la patología, antecedentes como derivación intestinal, enterocolitis o descenso abdominoperineal, así como la búsqueda activa de complicaciones que fueron categorizadas mediante la escala de C-D Se excluyeron pacientes según los criterios establecidos.

4.6 Variables

Tabla 4-1: Variables de análisis del estudio.

Nombre de la variable	Definición de la Variable	Tipo y nivel de medición	Categorización
Edad	Número de meses cumplidos	Cuantitativa, discreta	Número de meses
Sexo	Condición sexual biológica del participante	Cualitativa, nominal, dicotómica .	1= Hombre 2= Mujer
Antecedente de descenso	Corrección quirúrgica previa de la enfermedad	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Colostomía o ileostomía.	Derivación intestinal al momento de la biopsia	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Antecedente de enterocolitis	Antecedentes gastrointestinales	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Tipo de biopsia	Tipo de biopsia rectal	Cualitativa, nominal, dicotómica .	0=Múltiple 1=Única
Número de biopsias	Cantidad de piezas de tejido:	Cuantitativa, discreta.	Número de piezas de tejido
Representación de mucosa	Tejidos histológicos representados	Cualitativa, nominal, dicotómica .	0= No 1= Si
Representación de submucosa	Tejidos histológicos representados	Cualitativa, nominal, dicotómica .	0= No 1= Si
Representación de muscular	Tejidos histológicos representados	Cualitativa, nominal, dicotómica .	0= No 1= Si
Presencia de células ganglionares:	Características histológicas	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Realización de calretinina	Uso de coloraciones especiales	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Resultado de calretinina	Utilidad de la coloración especial	Cualitativa, nominal, dicotómica	1= Positiva 2= Negativa
Biopsia adecuada para diagnóstico	Utilidad de la biopsia para el diagnóstico	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Diagnóstico de EH	Resultado de la biopsia	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Biopsia conclusiva para diagnóstico	Utilidad de la biopsia para el diagnóstico	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Complicación	Presencia o ausencia de complicaciones	Cualitativa, nominal, dicotómica	0= No 1= Si
Tipo de complicación	Complicación presentada	Cualitativa, nominal.	Nombre de la complicación
Gravedad de la complicación	Gravedad de la complicación según Clavien Dindo	Cualitativa, ordinal	Grado I= 1 Grado IIA = 2A

			Grado IIB = 2B Grado IIIA = 3A Grado IIIB = 3B Grado IV = 4 Grado IV = 5

4.7 Desenlaces

- **Biopsias inadecuadas:** revisión del total de muestras inadecuadas y su causa según el reporte de histopatología.
- **Complicaciones:** revisión del total de las complicaciones presentadas en los pacientes llevados a biopsia rectal, su caracterización y clasificación de la severidad según la escala de Clavien Dindo.

4.8 Procesamiento y análisis de datos

Inicialmente se realizará un análisis descriptivo, para el estudio y caracterización de la población, realizando un análisis univariado donde se presentarán los resultados en porcentajes y tablas de frecuencia para las variables cualitativas, y en promedios y medidas de tendencia central para las variables cuantitativas si son normales o medianas y rangos intercuartílicos si su distribución no es normal. Se determinará la normalidad de las variables cuantitativas a través de la prueba de tipo Shapiro Wilk y Kolmogorov Smirnov.

Se realizará un análisis inferencial, para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las variables y sus relaciones con la variable dependiente. Para esto, se realizarán pruebas tipo t de student o ANOVA en caso de encontrar normalidad o de tipo Kruskal Wallis o Wilcoxon si no son normales para las variables cuantitativas y de tipo chi cuadrado para las variables cualitativas. Se determinará si existe una significancia estadística mediante los intervalos de confianza al 95% y el valor de $p < 0,05$.

4.9 Aspectos Éticos

Según la normativa colombiana expresada en la resolución 8430 de 1993 referente a la investigación en seres humanos y de concordancia a lo expresado en su artículo 11, este estudio se cataloga: sin riesgo

De igual manera todo lo concerniente a la consecución de los consentimientos informados para uso de datos de historia clínica e imágenes relacionadas con los casos, se ajustan a lo definido en los artículos 14, 15 y 16 de la mencionada resolución.

Se aclara que este estudio se realizará bajo los principios éticos expresados en la Declaración de Helsinki y que es un estudio de carácter retrospectivo, en el que no se realizarán procedimientos que afecten la salud y/o pronóstico de los pacientes, todos los datos se obtendrán a partir de la revisión de los registros clínicos.

Los investigadores tienen las habilidades técnicas requeridas para realizar el estudio. Durante la preparación de una presentación oral, póster o manuscrito únicamente se podrá acceder a los datos sin identificación para su revisión. No se compartirá información que permita la identificación de alguna población, así como se garantizará la confidencialidad de la información obtenida

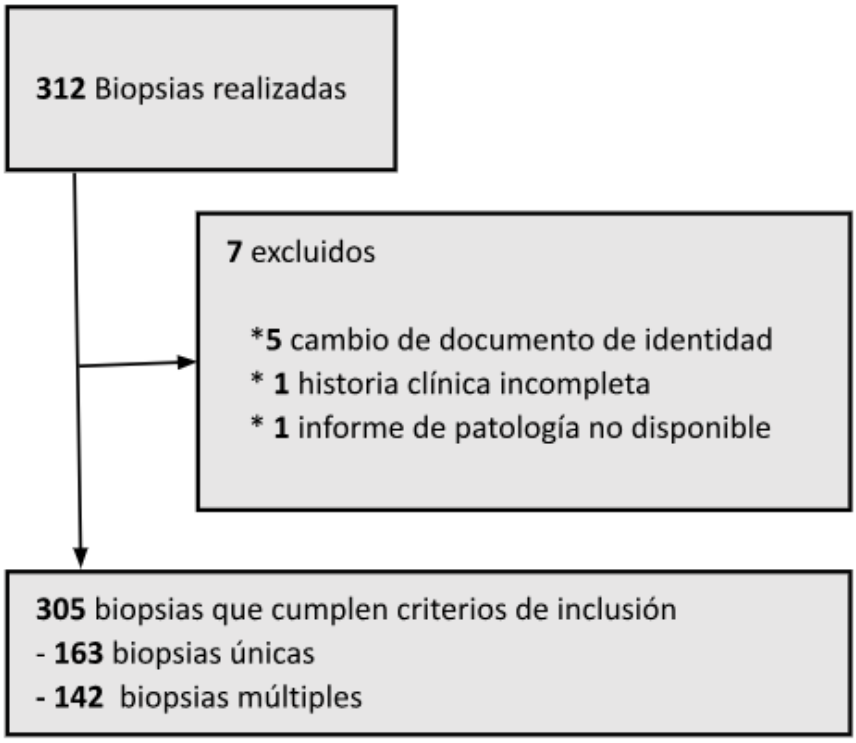
Teniendo en cuenta todo lo anteriormente expresado, se sometió el presente documento a revisión y aprobación por el comité de ética de HOMI.

5. Resultados

5.1 Pacientes incluidos

En el servicio de cirugía pediátrica de la Fundación HOMI, entre enero 1 de 2016 y diciembre 31 de 2023 se realizaron 312 biopsias rectales en pacientes con sospecha de Enfermedad de Hirschsprung. Se excluyeron 7 casos, 5 por cambio de documento de identidad con consecuente pérdida de trazabilidad de su historial médico, 1 con datos incompletos en la historia clínica y 1 con informe de patología no disponible. En total fueron elegibles 305 casos de pacientes para el estudio (Figura 5.1).

Figura 5-1: Diagrama PRISMA.



Se realizó un análisis descriptivo e inferencial. Se analizó la utilidad de la biopsia para diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung así como la presencia de complicaciones usando la escala de Clavien Dindo y el comportamiento de diferentes covariables.

Tabla 5-1: Tipo de biopsia.

Característica	Biopsia única	Biopsia múltiple
Total de casos n (%)	163 (53.44%)	142 (46.56%)

De los 305 casos analizados, a 163 (53.44%) se les realizó biopsia abierta con incisión única en una tira de aproximadamente 3 cm, y a 142 (46.56%) biopsia por incisión múltiple de 0.3 a 0.5 cm realizadas en al menos 3 niveles, con una mediana de 5 muestras por procedimiento.

5.2 Caracterización de la población

Tabla 5-2: Edad.

Característica	Total n=305	Biopsia única n=163	Biopsia múltiple n=142	p Valor
Edad Mediana (RIQ)	9.17 (54.23)	10.6 (57.8)	8.05 (45.6)	0.273
<1 mes n (%)	24 (7.87%)	14 (8.58%)	10 (7.04%)	0.415
1 mes a 12 meses n (%)	140 (45.90%)	68 (41.71%)	72 (50.70%)	
>12m n (%)	141 (46.23%)	81 (49.69%)	60 (42.25%)	

La mediana de edad de la población llevada a biopsia rectal fue de 9.17 meses, con un rango intercuartílico de 54.23 meses, comprendiendo grupos de edades que incluyen mayores a doce meses (46.23%), entre un mes y doce meses (45.90%) y menores de un mes (7.87%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución por edad en los dos grupos.

Tabla 5-3: Sexo.

Característica	Total n=305	Biopsia única n=163	Biopsia múltiple n=142	p Valor
Masculino n (%)	183 (60%)	93 (57.06%)	90 (63.38%)	0.261
Femenino n (%)	122 (40%)	70 (42.94%)	52 (36.62%)	

La distribución por sexo en los casos incluidos fue 60% masculino y 40% femenino, con una proporción similar en los dos grupos.

Tabla 5-4: Antecedentes.

Característica	Total n=305	Biopsia única n=163	Biopsia múltiple n=142	p Valor
Antecedente de enterocolitis n (%)	70 (22.95%)	27 (16.56%)	43 (30.28%)	0.004*
Antecedente de descenso abdominoperineal n (%)	10 (3.28%)	4 (2.45%)	6 (4.23%)	0.386
Colostomía al momento de la biopsia n (%)	60 (19.67%)	27 (16.56%)	33 (23.24%)	0.144

Se evaluó dentro del historial médico, el antecedente de enterocolitis, presencia de colostomía al momento de la biopsia, o diagnóstico previo de EH con descenso abdominoperineal en quienes se sospechara un segmento agangliónico descendido.

De los pacientes incluidos, 19.67% tenían antecedente de colostomía al momento de la realización de la biopsia y 3.28% ya tenían antecedente de descenso. 22.95% de los pacientes tenían antecedente de enterocolitis, esta proporción fue mayor en los pacientes en los que se realizó biopsia por incisión múltiple (30.28%) con respecto al grupo de pacientes de biopsia única (16.56%) con una p estadísticamente significativa.

5.3 Aspectos histológicos

Tabla 5-5: Representación histológica.

Tipo de biopsia	Total n=305	Biopsia única n=165	Biopsia múltiple n=142	p Valor
Submucosa n (%)	292 (95.74%)	154 (94.48%)	138 (97.18%)	0.243
Muscular n (%)	31 (10.16%)	20 (12.26%)	11 (7.74%)	0.192

Se evaluó la representación de cada una de las capas histológicas en las biopsias realizadas, encontrando 100% de representación de la mucosa en las muestras, adecuada representación de la submucosa en el 95.1% de los casos y de la capa muscular (espesor total) en 10.16% de las muestras. La representación de las capas histológicas fue similar en las dos técnicas de biopsia.

Tabla 5-6: Calretinina.

Característica	**Total** n=305	**Biopsia única** n=163	**Biopsia múltiple** n=142	**p Valor**
Calretinina n (%)	246 (80.66%)	131 (80.37%)	115 (80.99%)	0.892

En todas las muestras tomadas se realizó coloración con hematoxilina y eosina. A un 80.66% de las muestras se les realizó además estudio de inmunohistoquímica con calretinina. La realización de este estudio fue proporcional en los dos grupos, en el restante no se realizó, ya sea por criterio del patólogo o la no autorización de la coloración por parte de su Empresa Administradora de Planes de Beneficios (EAPB).

5.4 Diagnóstico histopatológico de la Enfermedad de Hirschsprung

Tabla 5-7: Resultados de la Histopatología.

Diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung	**Total** n=305	**Biopsia única** n=163	**Biopsia múltiple** n=142	**p Valor**
Confirmada n (%)	53 (17.38%)	25 (15.34%)	28 (19.72%)	0.389
Descartada n (%)	243 (79.67%)	131 (80.37%)	112 (78.87%)	0.91
Resultado no conclusivo n (%)	9 (2.95%)	7 (4.29%)	2 (1.41%)	0.14

Entre los casos de biopsia rectal, los hallazgos de histopatología fueron conclusivos para Enfermedad de Hirschsprung en 53 pacientes (17.38% de los casos). De la misma forma se descartó la enfermedad en 243 pacientes (79.67% de los casos) por la evidencia de células ganglionares en la hematoxilina eosina o la positividad de la calretinina.

En 9 casos (2.95%) el estudio de patología fue informado como no conclusivo, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en este desenlace en los dos grupos. El resultado no conclusivo se atribuyó a muestras consideradas inadecuadas.

Tabla 5-8: Caracterización de pacientes con Enfermedad de Hirschsprung.

Característica	EH confirmada
<1 año n (%)	32 (60.37%)
>1 año n (%)	21 (39.63%)
Masculino n (%)	43 (81.13%)
Femenino n (%)	10 (18.87%)

De los 53 pacientes diagnosticados con enfermedad de Hirschsprung, el 60.37% se diagnosticó en el primer año de vida, y un 81.13% correspondió al sexo masculino.

5.5 Muestras inadecuadas

Tabla 5-9: Biopsias inadecuadas.

Característica	Total n= 305	Biopsia única n= 163	Biopsia múltiple n= 142	p Valor
Inadecuada n (%)	14 (4.59%)	10 (6.13%)	4 (2.82%)	0.167

En 14 casos de acuerdo a criterio del patólogo, las muestras recolectadas fueron inadecuadas, 10 casos en las biopsias únicas (6.13%) y 4 casos en las biopsias múltiples (2.82%), sin encontrar una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 5-10: Causa de biopsia inadecuada.

Característica	Total n=305	Biopsia única n=163	Biopsia múltiple n=142	p Valor
Submucosa insuficiente n (%)	13 (4.26%)	9 (5.52%)	4 (2.82%)	0.897
Muestra baja n (%)	5 (1.64%)	5 (3.07%)	0	0.035

Las biopsias inadecuadas se atribuyeron en la mayoría de los casos a la representación insuficiente de submucosa en los cortes (13 casos, 4.26%). La muestra baja se presentó en 5 pacientes (1.64%), todos estos casos ocurrieron en el grupo de biopsia única.

Tabla 5-11: Conclusión diagnóstica de muestras inadecuadas.

Característica	**Total** n= 305	**Biopsia única inadecuada** n= 163	**Biopsia múltiple inadecuada** n= 142
Diagnóstico de EH n (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Descarta EH n (%)	5 (35.71%)	3 (30%)	2 (50%)
Inconclusiva n (%)	9 (64.29%)	7 (70%)	2 (50%)
Total n (%)	14 (100%)	10 (100%)	4 (100%)

14 biopsias fueron consideradas inadecuadas por lo que impedían llegar a un diagnóstico confirmatorio de Enfermedad de Hirschsprung. En ninguna de ellas se documentaron células ganglionares en la tinción de H&E. El estudio de inmunohistoquímica con calretinina, se realizó en 11 de estas, lo cual permitió descartar la EH en 5 pacientes. Las 9 restantes se informaron como no conclusivas.

Tabla 5-12: Análisis bivariado de las biopsias inadecuadas según antecedentes y grupo de edad.

Característica		**Biopsia adecuada**	**Biopsia inadecuada**	**p Valor**
Colostomía	**Si**	56/60: 93.33%	4/60: 6.67%	0.391
	No	235/245: 95.92%	10/245: 4.08%	
Enterocolitis	**Si**	68/70 : 97.14%	2/70 : 2.86%	0.430
	No	223/235 94.89%	12/235 : 5.11%	
Descenso	**Si**	10/10 (100%)	0/10 (0)	0.683
	No	281/295 (95.25%)	14/295 (4.75%)	
<1m		22 (91.66%)	2 (8.33%)	0.002
1m-12m		140 (100%)	0 (0%)	
>12m		129 (91.49)	12 (8.51%)	

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de biopsias inadecuadas en las poblaciones con antecedente de colostomía, enterocolitis o descenso. Las biopsias inadecuadas fueron más frecuentes en los grupos de edad < 1mes y >12 meses con una p estadísticamente significativa.

5.6 Rendimiento diagnóstico de la histopatología

Se comparó el desempeño diagnóstico de la coloración de hematoxilina eosina para determinar la presencia o ausencia de células ganglionares para el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung tomando como estándar de referencia disponible el resultado del estudio de inmunohistoquímica con calretinina.

Tabla 5-13: Tabla de contingencia de la coloración básica e inmunohistoquímica.

		Calretinina	
		Células ganglionares ausentes	Células ganglionares Presentes
Hematoxilina eosina	Células ganglionares ausentes	53 (VP)	11 (FP)
	Células ganglionares presentes	0 (FN)	182 (VN)

Se encontró que en este estudio la sensibilidad de la H&E fue de un 100% (IC 93.28-100%) y la especificidad del 94.3%. (IC 90.03-97.012%). El valor predictivo positivo fue del 80.14% (IC 69.45-87.75%) mientras el valor predictivo negativo fue del 100% (IC 97.99%-100%).

Tabla 5-14:Tabla de contingencia para cada tipo de biopsia.

			Calretinina	
			Células ganglionares ausentes	Células ganglionares Presentes
Hematoxilina eosina	Biopsia única	Células ganglionares ausentes	27 (VP)	9 (FP)
		Células ganglionares presentes	0 (FN)	95 (VN)
	Biopsia múltiple	Células ganglionares ausentes	26 (VP)	2 (FP)
		Células ganglionares presentes	0 (FN)	87 (VN)

Para las biopsias únicas, se encontró que en este estudio la sensibilidad de la hematoxilina/eosina fue de un 100% (IC 87.23-100%) mientras la especificidad fue del 94.3% (IC 84.21-95.97%). El valor predictivo positivo fue del 72.66% (IC 58.74-83.23%) mientras el valor predictivo negativo fue del 100% (IC 96.19-100%).

Para las biopsias múltiples, se encontró que en este estudio la sensibilidad de la hematoxilina/eosina fue de un 100% (IC 86.77-100%) mientras la especificidad fue del 97.75% (IC 92.12-9.79 %). El valor predictivo positivo fue del 91.10% (IC 72.22- 97.58 %) mientras el valor predictivo negativo fue del 100% (IC 95.85-100 %). No se encontraron diferencias significativas en el desempeño del estudio con hematoxilina eosina en las biopsias únicas y múltiples.

Tabla 5-16: Tabla de contingencia para biopsias adecuadas e inadecuadas.

			Calretinina	
			Células ganglionares ausentes	Células ganglionares Presentes
Hematoxilina eosina	Adecuadas	Células ganglionares ausentes	47 (VP)	6 (FP)
		Células ganglionares presentes	0 (FN)	182 (VN)
	Inadecuadas	Células ganglionares ausentes	6 (VP)	5 (FP)
		Células ganglionares presentes	0 (FN)	0 (VN)

Para las biopsias adecuadas, se encontró que en este estudio la sensibilidad de la hematoxilina/eosina fue de un 100% (IC 92.45-100%) mientras la especificidad fue del 96.81% (IC 93.18-98.82%). El valor predictivo positivo del 87.82% (IC 76.63-94.06%) mientras el valor predictivo negativo fue del 100% (IC 97.99-100%)

Para las biopsias inadecuadas, se encontró que en este estudio la especificidad para excluir la enfermedad de Hirschsprung fue del 0% (IC %0-52.18%).

5.7 Complicaciones

Tabla 5-17: Complicaciones.

Característica	Total n= 305	Biopsia única n= 163	Biopsia múltiple n= 142	p Valor
Complicaciones n (%)	10 (3.28%)	1 (0.61%)	9 (6.34%)	0.005*

Se presentaron 10 complicaciones, correspondiendo al 3.28% del total los casos. Las complicaciones fueron más frecuentes en el grupo de biopsias múltiples con 9 casos (6.34%) mientras se registró 1 complicación (0.61%) en el grupo de biopsia única, lo anterior con una diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 5-18:Tipo de Complicaciones.

Complicaciones	Total n= 305	Biopsia única n= 163	Biopsia múltiple n= 142	p Valor
Sangrado n (%)	7 (2.29%)	1 (0.61%)	6 (4.23%)	0.036
Dolor n (%)	2 (0.66%)	0 (0%)	2 (1.41%)	0.128
Vómito n (%)	1 (0.33%)	0 (0%)	1 (0.70%)	0.283

La complicación más frecuente fue el sangrado en 7 casos (2.29%), otras complicaciones fueron: dolor en 2 casos (0.66%) y vómito en 1 caso (0.33%). El sangrado fué más frecuente en el grupo de biopsias múltiples con 6 casos (4.23%) con respecto a 1 caso (0.61%) en el grupo de biopsia única, con una significancia estadística.

Tabla 5-19: Clasificación de la severidad de las complicaciones.

Biopsia	Complicación	Severidad de la complicación	Intervención
Única	Sangrado	IIIa (1)	Hemostasia sin anestesia general
Múltiple	Sangrado	I (1) II (1) IIIb (1) IVa (3)	Manejo expectante Transfusión Hemostasia bajo anestesia general Manejo en UCI
	Dolor	I (2)	Analgésico
	Vómito	I (1)	Antiemético

Las complicaciones fueron agrupadas y unificadas según la clasificación de Clavien-Dindo (CD), estas oscilaron desde complicaciones Clavien Dindo I a Clavien Dindo IVA, como se describe en la tabla. Se documentaron complicaciones leves como dolor y vómito en pocos casos. Las complicaciones graves ocurrieron por sangrado, entre los cuales se requirió reintervención con o sin anestesia general (C-D IIIa y IIIb) para obtener hemostasia. 3 pacientes en el grupo de biopsias múltiples requirieron manejo en la unidad de cuidados intensivos. No se registraron mortalidades relacionadas con el procedimiento.

Tabla 5-20: Análisis bivariado de las complicaciones según antecedentes y grupo de edad.

Característica		Complicación SI	Complicación NO	p Valor
Colostomía	**Si**	2/60 (3.33%)	58/60 (96.67%)	0.979
	No	8/245 (3.26%)	237/245 (96.74%)	
Enterocolitis	**Si**	4/70 (5.71%)	66/70 (94.29%)	0.192
	No	6/235 (2.55%)	229/235 (97.45%)	
Descenso	**Si**	0/10 (0%)	10/10 (100%)	0.554
	No	10/295 (3.39%)	285/295 (96.61%)	
<1m		1/24 (4.17%)	23/24 (95.83%)	0.060
1m-12m		8/140 (5.71%)	132/140 (94.29%)	
>12m		1/141 (0.71%)	140/141 (99.29%)	

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de complicaciones asociadas a la biopsia en las poblaciones con antecedente de colostomía, enterocolitis o descenso, ni en los diferentes grupos de edad.

6. Discusión

6.1 Experiencia en la toma de biopsia rectal

La biopsia rectal es un procedimiento necesario para la evaluación de pacientes con sospecha de Enfermedad de Hirschsprung, sin embargo, se han descrito diversos métodos de biopsia rectal cada una con variaciones en la técnica, así como en la frecuencia de biopsias inadecuadas y complicaciones (12,13).

En Latinoamérica y Colombia, ya se ha reportado la accesibilidad limitada a la biopsia por succión y por lo tanto la práctica de biopsia abierta es el método más extendido y con mayor experiencia, sin embargo, es de resaltar la falta de estandarización en cuanto al número y localización de las muestras recolectadas (35, 36).

En la Fundación Hospital Pediátrico la Misericordia, como centro de referencia en patología colorrectal del país, se atienden una importante cantidad de pacientes con alta sospecha de Enfermedad de Hirschsprung usando los criterios NICE (8) los cuales son llevados a biopsia abierta mediante abordaje transanal y con anestesia general como método estándar . En este estudio se presenta la experiencia local con 305 casos de biopsia abierta comparando dos métodos (incisión única y múltiple), siendo desde el año 2019 la biopsia por incisión única la técnica empleada.

Con los hallazgos de histopatología, el diagnóstico de EH se confirmó en 17.4% de los pacientes llevados a biopsia y se descartó en el 80%, encontrándose una tasa de positividad cercana a lo reportado en a la literatura que oscila entre 11-21% entre las cohortes (31, 37-42)

En la literatura se reporta que alrededor de la mitad de las personas con Enfermedad de Hirschsprung se diagnostican en el primer año de vida, lo cual es consistente con nuestro estudio donde el 60.37% se diagnosticaron en esta ventana de tiempo (2,4), correspondiendo un 81.13% a pacientes del sexo masculino con una proporcion similar a la encontrada en la revisión del arte del 84% (11).

6.1 Biopsias inadecuadas

De acuerdo a los informes de histopatología, se evidenció que la mayoría de las muestras tanto de incisión única como múltiple fueron representativas de mucosa y submucosa (espesor parcial), y el 10.16% tenían representación del plexo mientérico, es decir, eran de espesor total verdadero.

En nuestro estudio, encontramos una frecuencia de biopsias inadecuadas del 4.59% de acuerdo al criterio del patólogo, bien sea por la representación insuficiente de submucosa en las muestras o por ser recolectadas en un nivel bajo. No reportamos diferencias estadísticamente significativas en la proporción total de biopsias inadecuadas en los dos tipos de biopsia realizada, sin embargo, se resalta que la biopsia baja se presentó solo en la biopsia de incisión única. La proporción de biopsias abiertas inadecuadas varía en la literatura y va desde un 0-14% en las series (13, 18, 21, 40, 43-44).

Las biopsias inadecuadas no permiten confirmar el diagnóstico de Enfermedad de Hirschsprung , por lo que se asocian a resultados inconclusivos y por lo tanto costos y estancia hospitalaria mayores, ansiedad prolongada de los padres y la necesidad de repetir la biopsia (17).

Sin embargo, encontramos que en una muestra considerada inadecuada para el diagnóstico, la tinción positiva con calretinina permite descartar la EH sin requerimiento de nueva biopsia, con reportes previos de este hallazgo en la literatura (15, 45, 46)

En nuestro estudio, de las biopsias consideradas inadecuadas pero que se les realizó inmunohistoquímica con calretinina, en el 45.46% de los casos se descartó la presencia de Enfermedad de Hirschsprung. Un metaanálisis y revisión sistemática del 2024 reportó de manera similar que al emplearse la calretinina como técnica auxiliar hasta en 3/4 de las biopsias etiquetadas como inadecuadas con la H&E se logró descartar la EH (17). Otro estudio observacional también demostró cómo la calretinina redujo de un 38% a un 12% las biopsias no conclusivas (47).

Las biopsias no conclusivas se presentaron en el 2.95% de los casos, siendo esta proporción similar a lo reportado en estudios recientes donde entre el 3-6% de los

resultados fueron no conclusivos en la biopsia abierta (12, 18, 21).

En el análisis bivariado de las biopsias inadecuadas, se encontró que estas se presentaron en mayor proporción en los pacientes con edades menores a 1 mes y mayores a 12 meses de edad en comparación con el grupo de 1 mes a 12 meses. Este hallazgo, es concordante con lo encontrado en las biopsias por succión donde la tasa de resultados no concluyentes es mayor en menores de 1.5 meses (40.7%) en comparación con aquellos mayores de 1.5 meses (9.4%) (48).

Sin embargo, otros estudios que comparan la suficiencia de las biopsias por succión vs abiertas, destacan una baja tasa de biopsias inadecuadas por técnica abierta en todos los grupos de edad (43).

Lo anterior, puede explicarse dado que la biopsia rectal abierta permite obtener muestras más grandes y profundas, incluyendo todas las capas de la pared intestinal, esto especialmente importante en niños mayores donde el engrosamiento de la pared rectal dificulta la obtención de una muestra adecuada (46).

6.2 Valor de la inmunohistoquímica en el diagnóstico de la Enfermedad de Hirschsprung

A un 80.66% de las biopsias en nuestro estudio se les realizó inmunohistoquímica con calretinina, como técnica adjunta a la coloración de rutina con H&E. La calretinina ha demostrado en estudios previos una sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de EH del 98 % y 99 % respectivamente (17).

Tomando como mejor estándar de referencia disponible en nuestro medio el estudio de calretinina para la evaluación de la ausencia o presencia células ganglionares, se analizó el rendimiento de la coloración con hematoxilina eosina encontrando un valor predictivo positivo del 80.81%, considerado bajo teniendo en cuenta las implicaciones de un diagnóstico erróneo de la Enfermedad de Hirschsprung. Lo anterior es consistente con estudios reportados previamente donde incluso su VPP fue del 69.2 % (IC 95 % = 38.6-90.1) (49).

Lo anterior, refuerza el papel de las coloraciones especiales en detectar la presencia de

células ganglionares que no son evidentes en el estudio con hematoxilina eosina. Por lo tanto, ante la ausencia de células ganglionares en la hematoxilina eosina es mandatorio realizar coloraciones especiales para así descartar falsos positivos.

De la misma manera, la calretinina es útil incluso en la valoración de muestras inadecuadas con submucosa insuficiente , pues al ser una proteína de unión al calcio que se encuentra expresada en las células ganglionares, se expresa tanto en los filetes nerviosos de la pared intestinal como en las dendritas de la lámina propia (50).

En nuestro estudio, en las biopsias inadecuadas, la H&E mostró una especificidad del 0% al no detectar ninguno de los casos en que se descartó EH por medio de la calretinina. Esto contrasta con la especificidad para la calretinina en biopsias inadecuadas reportada de un 92% en un metanálisis, por lo que su papel es importante y evita la necesidad de repetir la toma de biopsia también en estos casos (17).

6.3 Complicaciones asociadas a la toma de biopsia rectal

Se documentó en nuestro estudio un porcentaje global de complicaciones del 3.28% , siendo menor en los casos con técnica por incisión única con un 0.61%, lo cual es cercano a las tasas reportadas en biopsias abiertas que son de alrededor del 2% (12).
La complicación más frecuente en nuestro estudio fue el sangrado con 7 casos registrados, con una severidad que osciló desde el manejo expectante hasta el requerimiento de reintervencion bajo anestesia general y manejo en UCI por choque hipovolémico en 3 de ellos. Para las biopsias por incisión múltiple el sangrado ocurrió en 1.96% de los casos, mientras para la biopsia única en 0.33%, similar a lo reportado en la literatura que es alrededor del 0.9% (51)

Entre otras complicaciones en nuestro estudio se informó el dolor, y vómito. A diferencia de otros reportes, en nuestro estudio no se documentaron complicaciones infecciosas. Un estudio observacional revisó el uso de antibióticos perioperatorios en biopsias abiertas encontrando menores complicaciones infecciosas (24). En nuestra institución se usa profilaxis antibiótica de forma estandarizada para el procedimiento, lo cual podría explicar este hallazgo. No se encontraron en nuestro estudio otras complicaciones graves como perforación o mortalidad asociada al procedimiento.

En el análisis no se establecieron diferencias significativas en la proporción de las complicaciones según edad y antecedentes en nuestro estudio. Sin embargo, en la literatura se ha descrito que las complicaciones son más frecuentes en recién nacidos y lactantes. Una revisión sistemática encontró que las complicaciones eran significativamente más comunes en este grupo etario en comparación con niños mayores (31).

7. Conclusiones y recomendaciones

La biopsia abierta por incisión única mediante abordaje transanal bajo anestesia general es un método útil y seguro, que permite la toma de una muestra adecuada para el diagnóstico histopatológico de Enfermedad de Hirschsprung.

La principal complicación presentada en nuestra población fue el sangrado, lo anterior en relación con las biopsias múltiples llevando incluso a complicaciones serias como el choque hemorrágico, a diferencia de lo registrado en la biopsia única.

Se presentaron biopsias inadecuadas principalmente por ser superficiales, pero también en una proporción importante por ser bajas, lo cual puede llevar a biopsias no conclusivas y requerimiento de reintervenciones, por lo que se resalta la importancia de que su toma sea realizada al menos a 1cm superior a la línea dentada para que tengan utilidad diagnóstica.

Los hallazgos obtenidos en relación a la frecuencia de muestras inadecuadas y complicaciones son concordantes a los descritos en la literatura científica.

Este estudio demuestra también la importancia del uso complementario de la calretinina cuando no se visualizan células ganglionares en la coloración básica, ya que puede evitar falsos positivos y resultados no conclusivos.

Sirva este estudio como punto de partida para la estandarización de la técnica abierta para la toma de biopsia rectal en nuestro medio.

8. Bibliografía

1. Hwang S, Kapur RP. Advances and Pitfalls in the Diagnosis of Hirschsprung Disease. *Surgical Pathology Clinics*. 2020;13:567-579. doi:10.1016/j.path.2020.07.001

2. Heuckeroth RO. Hirschsprung disease - Integrating basic science and clinical medicine to improve outcomes. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2018;15:152-167. doi:10.1038/nrgastro.2017.149

3. Zuluaga Arbeláez N, Posada S. Enfermedad de Hirschsprung, un enfoque practico. *Pediatría*. 2022;55:91-97. doi:10.14295/rp.v55i2.312

4. Ambartsumyan L, Smith C, Kapur RP. Diagnosis of Hirschsprung Disease. *Pediatric and Developmental Pathology*. 2020;23:8-22. doi:10.1177/1093526619892351

5. Lotfollahzadeh S, Taherian M, Anand S. Hirschsprung Disease. [Updated 2023 Jun 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562142/

6. Kyrklund K, Sloots CEJ, de Blaauw I, et al. ERNICA guidelines for the management of rectosigmoid Hirschsprung's disease. *Orphanet journal of rare diseases*. 2020;15:164. doi:10.1186/s13023-020-01362-3

7. Rathi K, Verma A, Pingat P. Early Detection and Intervention for Hirschsprung's Disease: A Key to Successful Outcomes. *Clinical medicine insights Case reports*. 2024;17:11795476241226576. doi:10.1177/11795476241226577

8. National Collaborating Centre for Women‘s and Children‘s Health. *Constipation in Children and Young People Diagnosis and Management of Idiopathic Childhood Constipation in Primary and Secondary Care*.; 2010.

9. Vlok SSC, Moore SW, Schubert PT, Pitcher RD. Accuracy of colonic mucosal patterns at contrast enema for diagnosis of Hirschsprung disease. *Pediatric Radiology*. 2020;50:810-816. doi:10.1007/s00247-020-04631-2

10. Sowulewski O, Bubińska M, Zagierska A, Zagierski M, Szlagatys-Sidorkiewicz A. High-Resolution Anorectal Manometry as a Screening Tool for Hirschsprung's Disease: A

Comprehensive Retrospective Analysis. J Clin Med. 2024;13(5):1268. Published 2024 Feb 23. doi:10.3390/jcm13051268

11. Santos-Jasso KA. Enfermedad de Hirschsprung. Acta Pediátrica de México. 2017;1(1):72. doi:10.18233/APM1No1pp72-781325

12. Comes GT, Ortolan EVP, de Medeiros Moreira MM, et al. Rectal Biopsy Technique for the Diagnosis of Hirschsprung Disease in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2021;72:494-500. doi:10.1097/MPG.0000000000003041

13. Muise ED, Cowles RA. Rectal biopsy for Hirschsprung's disease: a review of techniques, pathology, and complications. *World Journal of Pediatrics*. 2016;12:135-141. doi:10.1007/s12519-015-0068-5

14. Romero P, Burger A, Wennberg E, et al. Clinical Relevance of Pathological Diagnosis of Hirschsprung's Disease with Acetylcholine-Esterase Histochemistry or Calretinin Immunohistochemistry. *Children*. 2024;11. doi:10.3390/children11040428

15. Kapur RP, Reed RC, Finn LS, Patterson K, Johanson J, Rutledge JC. Calretinin immunohistochemistry versus acetylcholinesterase histochemistry in the evaluation of suction rectal biopsies for hirschsprung disease. *Pediatric and Developmental Pathology*. 2009;12:6-15. doi:10.2350/08-02-0424.1

16. Kannaiyan L, Madabhushi S, Malleboyina R, Are NK, Reddy KR, Rao B. Calretinin immunohistochemistry: A new cost-effective and easy method for diagnosis of Hirschsprung's disease. *Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons*. 2013;18:66-68. doi:10.4103/0971-9261.109355

17. Claxton HL, Lounis SA, Stanton M, Hall NJ, Aldeiri B. The Diagnostic Value of Immunohistochemistry Markers in Hirschsprung Disease; A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of pediatric surgery*. 2024;60:162010. doi:10.1016/j.jpedsurg.2024.162010

18. Bjørn N, Rasmussen L, Qvist N, Detlefsen S, Ellebæk MB. Full-thickness rectal biopsy in children suspicious for Hirschsprung's disease is safe and yields a low number of insufficient biopsies. *Journal of Pediatric Surgery*. 2018;53:1942-1944. doi:10.1016/j.jpedsurg.2018.01.005

19. Rahman Z, Hannan J, Islam S. Hirschsprung's disease: Role of rectal suction biopsy - data on 216 specimens. *J Indian Assoc Pediatr Surg*. 2010;15(2):56-58. doi:10.4103/0971-9261.70640

20. Ax SÖ, Arnbjörnsson E, Gisselsson-Nord D. A Comparison of Rectal Suction and Full Wall Biopsy in Hirschsprung's Disease. *Surgical Science*. 2014;05:15-19. doi:10.4236/ss.2014.51004

21. Vervloet G, de Backer A, Heyman S, et al. Rectal Biopsy for Hirschsprung's Disease: A Multicentre Study Involving Biopsy Technique, Pathology and Complications. *Children (Basel, Switzerland)*. 2023;10. doi:10.3390/children10091488

22. Redkar R, Chigicherla S, Tewari S, Sharma RD. Comparison between suction rectal biopsy and full-thickness rectal biopsy in the diagnosis of hirschsprung's disease. *Journal of Indian Association of Pediatric Surgeons*. 2021;26:144-147. doi:10.4103/jiaps.JIAPS_47_20

23. Zhang Y, Chen Y, Yang S, et al. Safety and Accuracy of Suction Rectal Biopsy in Preterm Infants. *Frontiers in Pediatrics*. 2021;9. doi:10.3389/fped.2021.642342

24. Schiellerup NS, Bjørn N, Linneman A, et al. Perioperative use of antibiotics in full-thickness rectal biopsies for Hirschsprung's disease. *Annals of Pediatric Surgery*. 2022;18(1):48. doi:10.1186/s43159-022-00182-3

25. Jaramillo Barberi LE. Diagnóstico de enfermedad de Hirschsprung en biopsias de mucosa-submucosa del recto: una propuesta de trabajo. *Revista colombiana de Gastroenterología*. 2011;26:277-284.

26. de La Torre L, Wehrli LA. Error traps and culture of safety in Hirschsprung disease. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2019;28:151-159. doi:10.1053/j.sempedsurg.2019.04.013

27. Rees BI, Azmy A, Nigam M, Lake BD. Complications of rectal suction biopsy. *Journal of Pediatric Surgery*. 1983;18:273-275. doi:10.1016/S0022-3468(83)80098-0

28. Cusick EL, Buick RG. Injury to the common iliac artery during suction rectal biopsy. *Journal of Pediatric Surgery*. 1995;30:111-112. doi:10.1016/0022-3468(95)90623-1

29. Jani BR, Brereton RJ, Dillon MJ. Peripheral Limb Gangrene Following Rectal Biopsy: Treatment with Prostacyclin and Exchange Transfusion. *Clinical Pediatrics*.

1989;28:585-588. doi:10.1177/000992288902801208

30. Swenson O, Fisher JH, MacMahon HE. Rectal Biopsy as an Aid in the Diagnosis of Hirschsprung's Disease. *New England Journal of Medicine*. 1955;253:632-635. doi:10.1056/nejm195510132531502

31. Friedmacher F, Puri P. Rectal suction biopsy for the diagnosis of Hirschsprung's disease: a systematic review of diagnostic accuracy and complications. *Pediatric Surgery International*. 2015;31:821-830. doi:10.1007/s00383-015-3742-8

32. Manekk RS, Gharde P, Gattani R, Lamture Y. Surgical Complications and Its Grading: A Literature Review. *Cureus*. 2022;14:e24963. doi:10.7759/cureus.24963

33. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: A new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Annals of Surgery*. 2004;240:205-213. doi:10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae

34. Thompson H, Jones C, Pardy C, et al. Application of the Clavien-Dindo classification to a pediatric surgical network. *Journal of Pediatric Surgery*. 2020;55:312-315. doi:10.1016/j.jpedsurg.2019.10.032

35. Olivos M, Correa C, de la Torre L. Current practice of rectal biopsies for the diagnosis of Hirschsprung's disease in Latin America: an international online survey. *Pediatric Surgery International*. 2021;37:479-483. doi:10.1007/s00383-020-04833-7

36. López T JCH, Jaramillo B LE. UTILIDAD DE LA BIOPSIA RECTAL EN EL DIAGNÓSTICO DEL PACIENTE PEDIÁTRICO CON ESTREÑIMIENTO. EXPERIENCIA DE CINCO AÑOS EN UN CENTRO COLOMBIANO DE REFERENCIA. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2011;59:237-243.

37. Rahman N, Chouhan J, Gould S, et al. Rectal biopsy for Hirschsprung's disease - Are we performing too many? *European Journal of Pediatric Surgery*. 2010;20:95-97. doi:10.1055/s-0029-1241820

38. Ghosh A, Griffiths DM. Rectal biopsy in the investigation of constipation. *Archives of disease in childhood*. 1998;79:266-268. doi:10.1136/adc.79.3.266

39. Khan AR, Vujanic GM, Huddart S. The constipated child: How likely is Hirschsprung's disease? *Pediatric Surgery International*. 2003;19:439-442. doi:10.1007/s00383-002-0934-9

40. Phillips LAF, Darwish AA, Surana R. Too Many Biopsies Performed to Rule Out Hirschsprung's Disease: But It is Worth Doing Them. *European Journal of Pediatric Surgery*. 2019;29:97-101. doi:10.1055/s-0038-1675771

41. Maassel NL, Ozgediz DE, Solomon DG. Establishing a National Rate of Rectal Biopsy Positivity in the Diagnosis of Hirschsprung Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2021;72:501-505. doi:10.1097/MPG.0000000000002960

42. Stewart CL, Kulungowski AM, Tong S, Langer JC, Soden J, Sømme S. Rectal biopsies for Hirschsprung disease: Patient characteristics by diagnosis and attending specialty. *Journal of pediatric surgery*. 2016;51:573-576. doi:10.1016/j.jpedsurg.2015.10.047

43. Ng Liet Hing CI, Teng R, Porrett L, Thompson R. Comparison of inconclusive rates between suction rectal biopsy and open strip rectal biopsy in children of different age groups: a single-center retrospective study. *World journal of pediatric surgery*. 2020;3:e000080. doi:10.1136/wjps-2019-000080

44. Sholadoye TT, Aliyu HO, Mshelbwala PM. A Modified Rectal Mucosal Biopsy for the Diagnosis of Hirschsprung's Disease: Zaria Experience. *Journal of the West African College of Surgeons*. 2023;13:36-39. doi:10.4103/jwas.jwas_241_22

45. Holland SK, Ramalingam P, Podolsky RH, Reid-Nicholson MD, Lee JR. Calretinin immunostaining as an adjunct in the diagnosis of Hirschsprung disease. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2011;15:323-328. doi:10.1016/j.anndiagpath.2011.02.010

46. Croffie JM, Davis MM, Faught PR, et al. At what age is a suction rectal biopsy less likely to provide adequate tissue for identification of ganglion cells? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2007;44:198-202. doi:10.1097/01.mpg.0000252188.12793.ee

47. de Arruda Lourenção PLT, Takegawa BK, Ortolan EVP, Terra SA, Rodrigues MAM. Does calretinin immunohistochemistry reduce inconclusive diagnosis in rectal biopsies for hirschsprung disease? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2014;58:603-607. doi:10.1097/MPG.0000000000000263

48. Meinds RJ, Kuiper GA, Parry K, et al. Infant's Age Influences the Accuracy of Rectal Suction Biopsies for Diagnosing of Hirschsprung's Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015;13:1801-1807. doi:10.1016/j.cgh.2015.04.186

49. Menchaca-Cervantes C, Rodríguez-Velasco A, Ramón-García G, Rendón-Macías ME. Enfermedad de Hirschsprung. La inmunohistoquímica como apoyo para el diagnóstico. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2013;51(6):610-613. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745492003

50. Boschini Paéz M, Vargas Hernández MP, Miranda Solis L. Enfermedad de Hirschsprung: actualización en diagnóstico y tratamiento. *Revista Medica Sinergia*. 2020;5:e406. doi:10.31434/rms.v5i7.406

51. Labib H, Shirinskiy IJ, Roelofs JJTH, et al. Diagnosing Hirschsprung disease in children older than six months of age: complications after rectal biopsy, insight in final diagnoses and factors associated with Hirschsprung disease. *Journal of Pediatric Surgery*. Published online January 9, 2025. doi:10.1016/j.jpedsurg.2024.162066