

EVALUACIÓN DE DIFERENTES PRUEBAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE H. PYLORI

José Ignacio Moncayo Ortiz, MSc^{*}
Adalucy Álvarez Aldana, MSc^{*}
Jorge Javier Santacruz Ibarra, MSc^{*}
Mario Santacoloma Osorio, MD^{**}
Brenda Lucía Arturo Arias, MD^{***}
Liliana Giraldo Martínez, MD^{***}
Alberto Ángel Pinzón MD^{****}

Resumen

Introducción: todos los métodos disponibles para el diagnóstico de *H. pylori* tienen diferencias en su sensibilidad y especificidad. El propósito de este estudio es determinar el índice de desempeño, sensibilidad, especificidad y valores predictivos de cuatro métodos invasivos, teniendo como técnica de referencia la definición de caso: cultivo positivo o la concordancia de por lo menos dos procesos de diagnósticos positivos.

Metodología: a setenta y dos pacientes se les tomaron cinco biopsias distribuidas para PCR-ureC, cultivo, prueba rápida de ureasa (PRU) y examen histológico (EH).

Resultados: los índices de desempeño (ID), sensibilidad, especificidad y valores predictivos mostraron diferencias. La pareja EH-PCR tuvo eficacia considerable por presentar los mayores valores en los índices analizados. La prevalencia de la infección fue de 86.1%.

Conclusión: para establecer el verdadero estatus de la infección por *H. pylori*, se debe utilizar el criterio de definición de caso.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*; PCR; Examen Histológico; Prueba Rápida de la Ureasa; Cultivo; Biopsia Gástrica.

^{*} Docente Facultad Ciencias de la Salud. Universidad Tecnológica de Pereira

^{**} Docente Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas.

^{***} Docente de la Universidad de Manizales.

^{****} Médico Cirujano-Gastrointestinal. Centro Médico Ángel, Manizales.

EVALUATION OF DIFFERENT TESTS TO DIAGNOSE H. PYLORI

Abstract

Introduction: *all of the available tests for the diagnosis of H. pylori have differences in their sensibility and specificity. The purpose of this study is to determine the developmental index, sensibility, specificity and predictable values of four invasive methods, using the case definition as a referential technique; positive culture o concordance of at least two processes of positive diagnostics.*

Methods: *five biopsies were taken among seventy two patients, distributed for PCR-ureC, culture, quick ureic test (PRU) and histological examination (EH).*

Results: *the developmental index (ID), sensibility, specificity and predictive measures showed differences. The couple EH-PCF was considerably effective, presenting the greatest values of analyzed indexes. The prevalence of infection was of 86.1%.*

Conclusion: *in order to establish the true status of the infection by H. pylori, it is necessary to use the criteria by case definition.*

Keywords: Helicobacter pylori; PCR; Histological examination; Quick ureic test; Culture; Gastric biopsy.

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES PROVAS PARA DIAGNÓSTICO DE H. PYLORI

Resumo

Introdução: todos os métodos disponíveis para o diagnóstico de *H. pylori* têm diferenças em sua sensibilidade e especificidade. Este estudo se propõe determinar o índice de desempenho, sensibilidade, especificidade e valores preditivos de quatro métodos invasivos, tendo como técnica de referência, a definição de caso: cultivo positivo ou concordância de, pelo menos, dois processos de diagnósticos positivos.

Metodologia: foram tomadas cinco biópsias a 72 pacientes, distribuídas para PCR-ureC, cultivo, prova rápida de ureasa (PRU) e exame histológico (EH).

Resultados: os índices de desempenho (ID), sensibilidade, especificidade e valores preditivos mostraram diferenças. O par EH-PCR teve eficiência considerável por apresentar valores maiores nos índices analisados. A prevalência da infecção foi de 86.1%.

Conclusão: para estabelecer o status verdadeiro da infecção por *H. pylori*, deve-se utilizar o critério da definição de caso.

Palabras chave: Helicobacter Pylori; PCR; Exame Histológico; Prova Rápida da Ureasa; Cultivo; Biópsia Gástrica.

Introducción

El *H. pylori* es un bacilo Gram negativo en forma de espiral o curvado, móvil, con flagelos múltiples envainados en un polo de la célula; es un microorganismo microaerófilo que coloniza la mucosa gástrica del hombre (1, 3).

La infección por *H. pylori* es una de las más comunes en el mundo; la bacteria infecta a más de la mitad de la población mundial causando gastritis y enfermedad ulcero péptica, y está asociada con carcinoma gástrico y linfoma gástrico tipo MALT (4, 6).

La prevalencia de infección por *H. pylori* varía según la edad, localización geográfica y status socioeconómico de los individuos (7). Esta prevalencia es alta en países en vía de desarrollo si se compara con pueblos desarrollados. Entre adultos jóvenes en las naciones en vía de desarrollo está por encima de 80% (8; 9). En Colombia un estudio en niños de 2 a 9 años de edad en la población de Aldana (departamento de Nariño), mostró prevalencia de 69% y aumentó de 53% en niños de 2 años, a 87% en infantes de 9 años de edad (10). Bravo *et al* (11) encontraron 96% de seroprevalencia en un grupo de 18 a 24 años. Moncayo *et al* (12; 13) informaron 86% y 97.3% de prevalencia en pacientes con síntomas dispépticos, en el departamento de Risaralda y Quindío respectivamente.

Para el diagnóstico de la infección hay varios métodos que se pueden emplear a fin de descubrir la presencia de *H. pylori*: directos/invasivos e indirectos/no invasivos. Los invasivos requieren endoscopia y muestras de biopsia de mucosa gástrica y prueba rápida de

la ureasa (PRU), examen histológico (EH), cultivo y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los métodos no invasivos incluyen la prueba de la urea en el aliento (urea breathtest: UBT), la demostración de antígenos de *H. pylori* en materia fecal (*H. pylori* stool antigen test, HpSA test) y las pruebas serológicas que se basan en la detección específica de anticuerpos anti- *H. pylori* (14, 16).

Todos los métodos disponibles pueden ser útiles en el diagnóstico de H. pylori, sin embargo, tienen diferencias en su sensibilidad y especificidad. Así una sola prueba (con la excepción del cultivo) no es suficiente para hacer un diagnóstico de la infección. Por esta razón, el Grupo Europeo de estudio de *Helicobacter* (European *Helicobacter* Study Group) propuso adoptar como estándar de oro por lo menos dos pruebas diferentes positivas (17). A pesar de ello es habitual en la práctica clínica diaria usar una sola prueba para el diagnóstico de la infección, y ante esta situación lo importante es la elección de la “prueba correcta”, la cual debe considerar varios aspectos como la sensibilidad, especificidad, la situación clínica, la disponibilidad y costos de la prueba (18).

La selección de una prueba confiable es fundamental para detectar la infección por *H. pylori*, pero ninguna de las disponibles es adecuada para todas las situaciones, puesto que cada una de ellas tiene sus propios inconvenientes y fallas (19).

Diferentes utilidades diagnósticas han sido establecidas para cada uno de los métodos y las variaciones, atribuidas principalmente a la forma de distribución de cómo la bacteria coloniza la mucosa gástrica, la viabilidad de la bacteria, la presencia de sangre y las características

histológicas del epitelio gástrico como en el caso de condiciones pre-malignas y malignas que no son favorables para el crecimiento de *H. pylori* (18, 20). Estas características son distintas entre las diferentes presentaciones clínicas de la infección.

Teniendo presente las dificultades y fallas que presentan los métodos utilizados en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, el propósito de este estudio fue determinar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de cada uno de los métodos invasivos (cultivo, PRU, EH y la PCR) utilizando como prueba de referencia la definición de caso (paciente clasificado como *H. pylori* positivo con base en el aislamiento de la bacteria en cultivo o en la concordancia de por lo menos dos métodos de diagnóstico positivos como EH, PRU y la PCR). Adicionalmente se evaluó la mejor combinación entre EH-PRU, EH-PCR y PRU-PCR teniendo como método de referencia la definición de caso.

Materiales y métodos

Población estudiada

Setenta y dos pacientes consecutivos de cualquier edad y sexo que consultaron por síntomas dispépticos a unidades de endoscopia de Manizales y aceptaron por escrito participar en el estudio, firmando el consentimiento informado y cumpliendo los siguientes requisitos de inclusión: no haber ingerido antibióticos o inhibidores de la bomba de protones o bismuto durante los previos quince días o las seis semanas antes de la endoscopia respectivamente y que residiesen en el departamento de Caldas. Esta investigación obtuvo aprobación del Comité de Bioética de la

Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Tecnológica de Pereira.

Se realizaron tres tipos de encuestas: la primera fue diligenciada por los gastroenterólogos en el momento de la consulta, las otras dos fueron tramitadas por microbiólogos y patólogos a medida que se obtuvieron los resultados. Todas las biopsias fueron tomadas por los gastroenterólogos y procesadas por microbiólogos y patólogos.

Endoscopia gastroduodenal

A cada participante se le tomaron 5 biopsias y se distribuyeron así: en una biopsia antral se practicó la prueba rápida de ureasa (PRU); esta biopsia junto con una del cuerpo se utilizó en el examen histológico. Para el cultivo se emplearon dos biopsias (antro y cuerpo). La quinta biopsia (antral) se sometió a la prueba de la PCR.

Cultivo

Las biopsias se transportaron en forma refrigerada (0°C, NalgeneLaptopCooler) en caldo tioglicolato con glicerol al 20%. Retiradas las biopsias del medio de transporte, se maceraron en solución salina estéril con un homogenizador manual (Deltaware Pellet Pestle) y se sembraron en la superficie de agar tripticosa soya (BBL) suplementado con sangre de cordero al 7%, Isovitalex (BBL) y los antimicrobianos vancomicina, anfotericina, bacitracina, polimixina B y trimetoprim (21).

La incubación se realizó bajo condiciones microaerofílicas así: O₂, 5%; CO₂, 10%; y N₂, 85%; a 37°C por 5 a 7 días (WaterJacketedIncubator, Nuair). Las colonias sospechosas de ser *H. pylori*

se confirmaron con coloración de Gram por observación microscópica de bacilos Gram negativos curvados y pruebas positivas de oxidasa (Bactident Oxidase, Merck), catalasa (BactidentKatalase, Merck) y ureasa (solución de urea al 10%), según técnicas de rutina estándar. Los microorganismos aislados se subcultivaron en agar tripticasa soya, libre de antibióticos y se preservaron a -70°C en glicerol al 20% en caldo BHI (Merck).

Prueba rápida de ureasa (PRU)

A partir de la muestra de la biopsia de mucosa antral, se realizó la prueba rápida de ureasa en la misma sala de endoscopia, según el protocolo de la prueba *SENSIBACTER pylori - Test* (Hospimedics).

Examen histológico (EH)

Se utilizó la coloración de hematoxilina-eosina (H-E) y azul de toluidina modificada. Para el caso de esta coloración descrita por Vartanian *et al* (22), no se manejó alcian amarillo para contraste como lo describen los autores, sino únicamente el Blau-O de Merk para microscopía, diluido al 1% en agua desionizada. La placa desparafinada se sumergió en esta solución durante un minuto, luego se lavó con agua corriente, se deshidrató y se montó con citorresina. La cuchilla del micrótopo fue desechable para evitar contaminación entre las biopsias procesadas.

Al paciente se le consideró *H. pylori* positivo cuando por la observación microscópica se identificó la bacteria en cualquiera de las biopsias procesadas. Las placas las estudiaron dos patólogos en forma independiente.

Reacción en cadena de la polimerasa para el gen *ureC* (PCR-*ureC*)

Para extraer el ADN de la biopsia se utilizó el protocolo descrito por Valentine (23). Brevemente se homogenizó la biopsia y se agregó un amortiguador de extracción de tejidos (Tris-HCl 50 mM, pH7.2; EDTA 1mM con SDS al 1% y 100 µg de proteinasa K/ml), se incubaron a 55°C por 2 horas. La extracción del ADN se realizó por la técnica de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico; el ADN se *resuspendió* en 100 µl de amortiguador TE 1x estéril y se almacenó a -20°C para su posterior análisis.

La PCR se llevó a cabo en un volumen de 25 µl en termocicladores GeneAmp PCR System 9700 y 2400 (Perkin Elmer). Se utilizó una pareja de iniciadores para amplificar el gen *ureC*: 5'-AAG CTT TTA GGG GTGTTA GGG GTT T-3' y 5' -AAG CTT ACT TTC TAACAC TAA CGC -3', con un tamaño de 294 pb (24). La mezcla de reacción contenía: 10 mM Tris HCl (pH 9.0), 50 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂, deoxinucleósido trifosfato 200 µM c/u, glicerol al 7% (v/v), Taq. polimerasa (Sigma) 1.25 U, iniciadores 10 pmoles c/u y 10 µl de ADN de biopsia sin cuantificar, ya que la muestra además de contener probablemente ADN de la bacteria, contenía ADN humano.

El programa de amplificación para PCR-*ureC* fue el siguiente: desnaturalización inicial 94°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 minuto, acoplamiento a 60°C por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto, y una extensión final a 72°C por 4 minutos. La cepa de referencia ATCC 43504 de *H. pylori* se utilizó como control positivo de *ureC*.

Cantidades de 15 µl de cada mezcla obtenida por PCR se sometieron a electroforesis en gel de agarosa al 2% (Sigma) y se tiñeron con bromuro de etidio. Un paciente fue considerado como *H. pylori* positivo cuando se obtuvo un amplificado de la PCR-*ureC* de 294 pb.

Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Para hacer el diagnóstico de la infección por *H. pylori* se utilizó el criterio de definición de caso: un paciente se clasificó como *H. pylori* positivo por aislamiento de la bacteria en cultivo o con base en la concordancia por lo menos de dos métodos de diagnóstico positivos (PRU, EH y la PCR) (17, 19). Se consideró como verdadero positivo (VP) todo paciente que presentó cultivo o dos pruebas positivas de la combinación de PRU, EH y PCR; verdaderos negativos (VN) fueron pacientes con todos los métodos negativos; falsos positivos (FP) fueron pacientes que por definición de caso se clasificaron como negativos para *H. pylori* y presentaron un método positivo (PRU o EH o PCR); y falsos negativos (FN) fueron los pacientes que por definición de caso se clasificaron como positivos para *H. pylori* y presentaron un método negativo (cultivo o PRU o EH o PCR).

Análisis estadístico

A fin de evaluar el desempeño de cada método, se determinó en cada caso si el resultado de la prueba coincidía con la definición de caso, y con esta base se calculó el índice de desempeño (ID) dividiendo el número total de aciertos (positivos y negativos) de la prueba por el número de casos. Con los valores de VP, VN, FP y FN definidos anteriormente, se determinó la sensibilidad, especificidad,

valor predictivo positivo, valor predictivo negativo e índice de Kappa de cada método analizado por el Software Epidat 3.1. También se aplicó la misma metodología para comparar las combinaciones entre: EH-PRU versus EH-PCR; EH-PRU versus PRU-PCR; y EH-PCR versus PRU-PCR teniendo como método de referencia la definición de caso. Todos los análisis se realizaron con un nivel de confianza del 95%.

Resultados

Edad y género de los participantes

De los 72 pacientes estudiados, 34.7% eran hombres y 65.3% mujeres, con edades entre 19 y 83 años; 29.2% de los pacientes se ubicaron en un rango de edad entre 41 y 50 años.

Patología gastroduodenal y *Helicobacter pylori*

El estudio endoscópico reveló que 40.3% pacientes presentaban gastritis crónica antral; 40.3% gastritis aguda antral y 19.4% mostraban gastritis junto con otra patología gastroduodenal.

De los 72 pacientes por estudio histológico, 79.2% presentaban gastritis superficial, de estos pacientes 4 fueron negativos para *H. pylori*. 5.6% de los pacientes presentaron gastritis folicular y todos fueron positivos para *H. pylori*. 6.9% pacientes presentaron examen histológico normal y uno de ellos fue positivo para *H. pylori*. Finalmente, 8.3% mostraron combinación de patologías incluyendo metaplasia intestinal y de ellos 2 fueron negativos para *H. pylori* en la combinación de gastritis superficial/gastritis crónica antral/metaplasia intestinal.

Porcentaje de positivos que detectó cada uno de los métodos

Los resultados de detección de *H. pylori* por cada uno de los métodos en los 72 pacientes del estudio se discriminan así: en el cultivo se utilizaron dos biopsias, en biopsia del antro fue positivo para el 22.2%, en biopsia de cuerpo para el 23.6%. El aislamiento de la bacteria en cualquiera de las dos biopsias fue indicativo de la presencia de *H. pylori*, así que la combinación de los resultados (consolidado) de las dos biopsias estableció que el 23.6% de los pacientes tenían la bacteria. Los resultados para la prueba rápida de ureasa (PRU) en biopsia antral estableció que 69.4% de los pacientes tenían *H. pylori*.

Para el caso del examen histológico (EH) se utilizaron dos biopsias (antral y cuerpo) y la visualización microscópica de la bacteria en cualquiera de las dos biopsias en los cortes histológicos coloreados con azul de toluidina modificada fue indicativo de la presencia de *H. pylori*. Las dos biopsias mostraron idénticos resultados con un 83.3%. La combinación de los resultados de las dos biopsias mostró que 83.3% de los pacientes poseían *H. pylori*. Los resultados en la reacción en cadena

de la polimerasa (PCR) de biopsia antral indicó que 90.3% de los pacientes tenían la bacteria.

Prevalencia de la infección estudiada por definición de caso

La prevalencia de la infección por *H. pylori* fue definida por aislamiento de la bacteria en cultivo o con base en la concordancia de por lo menos dos métodos de diagnóstico positivos (PRU, EH y la PCR). De acuerdo con la definición anterior la prevalencia de la infección en la población estudiada fue 86.1%. Por definición de caso en el cultivo la PRU, EH y la PCR presentaron 45, 13, 3 y 3 falsos negativos respectivamente; los métodos de PRU, EH y la PCR presentaron 1, 1, y 6 falsos positivos. (Cuadro 1)

Al realizar un análisis comparativo del ID entre los métodos en los intervalos de confianza, se encontraron diferencias cuando se compararon cultivo y PRU, Cultivo y EH, cultivo y PCR, PRU y EH en biopsia antral; en las demás comparaciones no se observaron diferencias estadísticas significativas. El mejor método de acuerdo con el ID fue el EH y el peor desempeño se presenta en el cultivo.

Cuadro 1. Índice de desempeño (ID) e intervalos de confianza de los métodos de diagnóstico de *H. pylori* según el origen de la biopsia antro y cuerpo.

Biopsia/método diagnóstico e índice de desempeño	Cultivo ID	Prueba Rápida de Ureasa ID	Examen Histológico ID	Reacción en Cadena de la Polimerasa ID
Antral	36.1 [25.0 – 47.2]	80.6 [71.4 – 89.7]	94.4 [89.2 – 99.7]	87.5 [79.9 – 95.5]
Cuerpo	37.5 [26.3 – 47.2]		94.4 [89.2 – 99.7]	

Evaluación de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos e índice Kappa de cada uno de los métodos

El cultivo fue el de menor sensibilidad (27%) y la PCR de mayor sensibilidad (95%). Respecto a la especificidad, el cultivo con 100% de especificidad fue

seguido por PRU y EH. Los valores predictivos positivos en los cuatro métodos fueron superiores a 90% y el de mayor valor predictivo negativo fue el EH (75%). Al determinar los índices Kappa para cada uno de los métodos, el EH tuvo el mayor valor ($k=0.79$), seguido por PRU ($k=0.46$), PCR ($k=0.40$) y cultivo ($k=0.02$).

Cuadro 2. Índice de desempeño, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de combinación de dos métodos positivos y sus respectivos intervalos de confianza frente a la definición de caso

Parejas de métodos diagnóstico	Prueba rápida de Ureasa reacción en cadena de la polimerasa %	Examen Histológico-Reacción en Cadena de la Polimerasa %	Examen Histológico-Prueba Rápida de Ureasa %
ID	79.2 [69.8 – 88.5]	91.7 [85.3 – 98.1]	79.2 [69.8 – 88.5]
S	76 [65.0 – 86.0]	90 [83.0– 98.0]	76 [65.0 – 86.0]
E	100 [100]	100 [100]	100 [100]
VP+	100 [100]	100 [100]	100 [100]
VP-	40 [21.0-59.0]	63 [39.0-86.0]	40 100 [21.0-59.0]

*ID: Índice de desempeño. S: sensibilidad, E: Especificidad VP+: valor predictivo positivo, VP-: valor predictivo negativo

El anterior análisis lleva a establecer cuantitativamente que la combinación EH-PCR mostró mayor eficacia en el proceso diagnóstico por presentar los

mayores valores en los índices analizados, seguido por la combinación de EH-PRU o PRU-PCR.

Cuadro 3. Resultados clasificados como verdaderos positivos (VP), verdaderos negativos (VN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN) por parejas de métodos positivos frente a definición de caso

Resultado/Método	Examen Histológico-Reacción en cadena de la Polimerasa	Examen Histológico-Prueba Rápida de Ureasa	Prueba Rápida de Ureasa-Reacción en Cadena de la Polimerasa
VP	56	47	47
VN	10	10	10
FP	0	0	0
FN	6	15	15

El cuadro 3 muestra los resultados de verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos de las posibles combinaciones entre dos métodos, de acuerdo a la definición de caso tomado como método de referencia. Ninguna de las combinaciones mostró falsos positivos y el de menor falsos negativos fue la combinación EH-PCR.

Discusión

Para el diagnóstico de la infección hay varios métodos disponibles que pueden ser útiles en el diagnóstico de *H. pylori*, aunque tienen diferencias en su sensibilidad y especificidad. Por esta razón el Grupo Europeo de estudio de Helicobacter (European *Helicobacter* Study Group) propuso adoptar como estándar de oro por lo menos dos pruebas diferentes positivas (17). La selección de la prueba diagnóstica debe considerar varios aspectos como la sensibilidad, especificidad, la condición clínica, la disponibilidad y costos de la prueba (18). En este estudio se utilizó como prueba de referencia el criterio de cultivo positivo o la concordancia de al menos dos métodos positivos (PRU, EH y la PCR).

Aunque el cultivo tiene 100% de especificidad, la sensibilidad es variable. Existen numerosas causas que explican esta variabilidad como lo describen diferentes autores (16; 19; 20; 25). La baja sensibilidad del cultivo en nuestro estudio se podría explicar por el tiempo que permanecieron las biopsias en la sala de endoscopia antes de ser transportadas al laboratorio. *H. pylori* es un microorganismo lábil y el procesamiento de la muestra debe realizarse de una forma rápida una vez que esta ha sido obtenida. *H. pylori* permanece viable en suero salino hasta 6 horas o hasta 48 h si se conserva en nevera a 4°C en medio semisólido. No obstante parece que la mejor alternativa es procesar la biopsia durante las cuatro horas posteriores a la recolección de la muestra (26).

Cultivar directamente la biopsia en la sala de endoscopia es complicado por las condiciones en que debe realizarse el cultivo y por ello no se utiliza. Además el tratamiento con antibióticos, inhibidores de la bomba de protones y antagonistas H₂ alteran los resultados del cultivo, y aunque el estudio planteó la no inclusión de los pacientes que habían consumido cualquiera de los anteriores medicamentos, es posible que no todos cumplieran

con el requisito ya sea porque no recordaban los nombres específicos o habían consumido antibióticos en el tratamiento de otras infecciones, la automedicación o la combinación de antiseoretos con diferentes medicamentos en el tratamiento de infecciones para disminuir o evitar la gastritis medicamentosa.

De otra parte los cultivos tienden a ser realizados en centros de investigación particularmente dedicados a la infección por *H. pylori*. Sin embargo, como la tendencia a la resistencia está aumentando globalmente, existe un fuerte argumento para realizar los cultivos y probar la sensibilidad a los antimicrobianos después de una falla terapéutica en el tratamiento primario (para prevenir la emergencia de doble resistencia a claritromicina y metronidazol) aún después de la segunda falla terapéutica. En efecto, algunos podrían argüir que debería ser realizado en el diagnóstico inicial en áreas de alta prevalencia de resistencia (20).

Varias pruebas de ureasa están disponibles comercialmente, incluyendo pruebas basadas en:

- gel (gel-based tests: CLOtest, Hp-Fast);
- papel (paper-based Tests: PyloriTek, ProntoDryHpOne);
- en fase líquida (liquid-based tests: CPtest, EndoscHp).

La mayor parte de las PRUs comercialmente disponibles indican una sensibilidad (S) y especificidad (E) entre 79% y 100% y de 92% a 100% respectivamente. La prueba utilizada en el estudio (*SENSIBACTER pylori – Test Hospimedics*) mostró una S=79% y E=90%, indicando que la prueba utilizada está dentro de los rangos reportados por otros investigadores (19, 20) aunque es importante mencionar que

estos parámetros pueden cambiar bajo ciertas circunstancias como en el caso de enfermos con sangrado del tracto digestivo superior, si el contenido gástrico es contaminado con sangre o cuando hayan recibido medicamentos inhibitorios de la bomba de protones, antagonistas del receptor-H₂, antibióticos, o compuestos con bismuto (9; 20; 27; 28).

La sensibilidad y especificidad del examen histológico en el diagnóstico de *H. pylori*, varía entre 53% a 90% dependiendo de la práctica clínica, la densidad de la colonización y la experiencia del histopatólogo. En general, un diagnóstico histológico puede ser hecho alrededor del 90% de los casos (29, 30) con un promedio de 2 a 3 días, pero este se incrementa cuando se toman múltiples biopsias, lo cual aumenta los precios por el procesamiento de las biopsias y sobre todo en el monto final del diagnóstico. Un tratamiento previo reduce el número de *H. pylori* y afecta en forma negativa la sensibilidad (29, 32). En el estudio el EH fue el método individual que cuantitativamente mostró mayor eficacia en el proceso diagnóstico.

En la actualidad se dispone de varias técnicas moleculares para detectar *H. pylori* que ofrecen excelentes posibilidades en el diagnóstico. La PCR ha sido extensamente utilizada para el diagnóstico de *H. pylori* en biopsia gástrica, saliva, heces fecales y otros especímenes que no solo permiten detectar la bacteria sino también los factores de virulencia y de los genes involucrados en la resistencia de los antibióticos (33, 35). La sensibilidad de la PCR utilizada en el estudio fue buena, pero la especificidad no, lo cual se explica por el número de falsos positivos que mostró la prueba cuando se consideró como método de

referencia la definición de caso. Esto ya ha sido demostrado previamente por otros autores en donde la PCR detecta la bacteria aun cuando otros métodos no (36, 37). Con los resultados obtenidos para cada uno de los métodos utilizados en este estudio, fue necesario evaluarlos de acuerdo con el criterio de definición de caso previamente sugerido por otros autores (17, 19, 20).

Un punto relevante de esta investigación fue determinar el verdadero estatus de la infección *H. pylori* utilizando como método de referencia la definición de caso; para los pacientes con cultivo positivo fue indicativo de la presencia de *H. pylori*. Pero en el tema de cultivo negativo, la positividad de al menos dos métodos positivos (PRU, EH y PCR) fue un criterio definitivo para establecer el verdadero estatus de la infección por *H. pylori*. De acuerdo a las posibles combinaciones entre estos métodos, se pudo evidenciar que la pareja de EH-PCR mostró los mejores resultados con diferencias estadísticas significativas, frente a PRU-PCR y PRU-EH y con un índice de Kappa bueno de la escala de Ledis y Koch. Sin embargo, la PCR solo se realiza en centros de investigación y por ello la hace irrealizable como método de rutina en el diagnóstico de la infección. En el futuro se espera que esta técnica sea implementada como método de diagnóstico de rutina y como opción alterna, la pareja PRU-EH que presentó una sensibilidad de 76% y especificidad de 100%.

En conclusión, debido a la alta tasa de resultados falsos negativos y las dificultades inherentes al cultivo de *H. pylori*, este no se recomienda como método de referencia para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en la práctica

clínica; el cultivo seguirá siendo una herramienta útil para estudiar virulencia y resistencia a los antimicrobianos, aunque con los resultados obtenidos avalamos el criterio de definición de caso.

La combinación de resultados positivos de EH y PRU es una excelente opción cuando clínicamente se requiera la endoscopia; ello permite establecer el verdadero estatus de la infección y las alteraciones histopatológicas en los pacientes con síntomas dispépticos, y aunque estas dos pruebas son invasivas pueden realizarse durante el procedimiento endoscópico sin que esto altere en mayor grado el tiempo del procedimiento, sin que se aumente su morbilidad, y los costos siguen siendo razonablemente más bajos que los de las otras pruebas empleadas.

Para establecer el verdadero estatus de la infección por *H. pylori* se debe utilizar el criterio de definición de caso, porque los métodos manejados en el estudio mostraron diferencias en los índices analizados. Es importante considerar que si bien los resultados obtenidos para la combinación EH-PCR mostraron mayor eficacia, se debe tener como alternativa de combinación PRU-EH por su menor costo y facilidad con que se ejecutan en el laboratorio.

Agradecimientos

El grupo investigador expresa sus agradecimientos a la Universidad Tecnológica de Pereira por su generosa colaboración en el financiamiento y apoyo durante el desarrollo de la investigación, igualmente al grupo de auxiliares de Gastroenterología Clínica y Quirúrgica, SES -Hospital de Caldas, Clínica La Presentación de Manizales y del Centro Médico Ángel, y a las directivas que aprobaron y apoyaron la realización de

REFERENCIAS

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984 Jun 16;1(8390):1311-5.
2. Dooley CP. Background and historical considerations of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology clinics of North America*. 1993 Mar; 22(1):1-4.
3. Goodwin CS, Worsley BW. Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology clinics of North America*. 1993 Mar; 22(1):5-19.
4. Brown KE, Peura DA. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology clinics of North America*. 1993 Mar; 22(1):105-15.
5. Dunn BE. Pathogenic mechanisms of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology clinics of North America*. 1993 Mar; 22(1):43-57.
6. Figura N. *Helicobacter pylori* factors involved in the development of gastroduodenal mucosal damage and ulceration. *Journal of clinical gastroenterology*. 1997 Jan; 25 Suppl 1S149-63.
7. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science*. 1999 May 21;284(5418):1328-33.
8. Graham DY, Rakel RE, Fendrick AM, Go MF, Marshall BJ, Peura DA, et al. Scope and consequences of peptic ulcer disease. How important is asymptomatic *Helicobacter pylori* infection? *Postgraduate medicine*. 1999 Mar;105(3):100-2, 105-8, 110.
9. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *The New England Journal of Medicine*. 2002 Oct 10;347(15):1175-86.
10. Goodman KJ, Correa P, Tenganá Aux HJ, Ramírez H, DeLany JP, Guerrero Pepinosa O, et al. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *American journal of epidemiology*. 1996 Aug 1;144(3): 290-9.
11. Carrascal E, Correa P, Ordoñez N, Bravo LE, Cortés A. Seroprevalencia de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* en donantes de sangre de regiones colombianas con diferencias en la mortalidad por cáncer gástrico. *Revista Colombia Médica*. 2000; 31(3): 122-130.
12. Moncayo JI, Santacruz JJ, Montes ML, Franco B, Lopez manuel A, Meissel E. Utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en pacientes con enfermedad úlcero-péptica. *Revista Medica de Risaralda*. 2002; 84-10.
13. Moncayo JI, Santacruz JJ, Alvarez A, Franco B, Lopez MA, Angel A, et al. Comparación de métodos diagnósticos en la infección por *Helicobacter pylori* en Quindío, Colombia. *Colombia Médica*. 2006; 37(3): 203-212.
14. Vakil N, Vaira D. Non-invasive tests for the diagnosis of *H. pylori* infection. *Reviews in Gastroenterological Disorders*. 2004 Jan; 4(1):1-6.
15. Coudron PE, Stratton CW. Factors affecting growth and susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in liquid media. *Journal of clinical microbiology*. 1995 Apr ;33(4):1028-30.
16. Burette A. How (who?) and when to test or retest for *H. pylori*. *Acta gastroenterologica Belgica*. 61(3):336-43.
17. Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin APS, Jones R, Axon A, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2002 Feb; 16(2):167-80.
18. Zúñiga-Noriega JR, Bosques-Padilla FJ, Pérez-Pérez GI, Tijerina-Menchaca R, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado Garza HJ, et al. Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in different clinical presentations. *Archives of Medical Research*. 2006 Jan; 37(1):123-8.
19. Mégraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the

- detection of *Helicobacter pylori*. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1996 Jan; 21:557-62.
20. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best Practice Research Clinical Gastroenterology*. 2007 Jan; 21(2):299-313.
 21. Fresnadillo-Martínez MJ, Rodríguez-Rincón M, Blázquez de Castro AM, García-Sánchez E, García-Sánchez JE, Trujillano-Martín I, et al. Comparative evaluation of selective and nonselective media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. *Helicobacter*. 1997 Mar; 2(1):36-9.
 22. Carr NJ, Owens EW. Correspondence re: Vartanian RK, Leung JK, Davis JE, Kim YB, Owen DA: A novel alcian yellow-toluidine blue (Leung) stain for *Helicobacter* species: comparison with standard stains, a cost-effectiveness analysis, and supplemental utilities. *Mod Pathol* 1998; *Modern pathology*. 1998 Aug; 11(8):798.
 23. Valentine JL. PCR Detection of *Helicobacter pylori*. In: Persing DH, Smith TF, Tenover FC, White TJ, editor(s). *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*. Washington DC: ASM Press; 1993. p. 282-287.
 24. Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. *Journal of Bacteriology*. 1991 Mar; 173(6):1920-31.
 25. Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007 Apr; 20(2):280-322.
 26. Alarcón T, Baquero M, Domingo D, López-Brea M, Royo G. Diagnóstico Microbiológico de la Infección por *Helicobacter pylori* [Internet]. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 2004; [cited 2011 Jul 1] Available from: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>
 27. Lai KC, Hui WM, Lam SK. Bleeding ulcers have high false negative rates for antral *Helicobacter pylori* when tested with urease test (abstract). *Gastroenterology*. 1996; 110A167.
 28. Howden CW, Hunt RH. Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. Ad Hoc Committee on Practice Parameters of the American College of Gastroenterology. *The American journal of gastroenterology*. 1998 Dec; 93(12):2330-8.
 29. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointestinal endoscopy*. 1997 Jun; 45(6):463-7.
 30. Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon MF. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. *Journal of Clinical Pathology*. 2000 Oct; 53(10):756-9.
 31. Cutler AF, Havstad S, Ma CK, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Schubert TT. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*. 1995 Jul; 109(1):136-41.
 32. Aydin O, Egilmez R, Karabacak T, Kanik A. Interobserver variation in histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. *World journal of gastroenterology*. 2003 Oct; 9(10):2232-5.
 33. Ueda H, Ito M, Eguchi H, Tanaka S, Yoshihara M, Haruma K, et al. Development of a novel method to detect *Helicobacter pylori* cagA genotype from paraffin-embedded materials: comparison between patients with duodenal ulcer and gastric cancer in young Japanese. *Digestion*. 2006 Jan; 73(1):47-53.
 34. Cellini L, Grande R, Di Campli E, Di Bartolomeo S, Capodicasa S, Marzio L. Analysis of genetic variability, antimicrobial susceptibility and virulence markers in *Helicobacter pylori* identified in Central Italy. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2006 Mar; 41(3):280-7.
 35. Álvarez A, Moncayo JI, Santacruz JJ, Corredor LF, Reinoso E, Martínez JW, et al. Resistencia a metronidazol y claritromicina en aislamientos de *Helicobacter pylori* de pacientes dispépticos en Colombia. *Revista médica de Chile*. 2009 Oct; 137:1309-1314.

36. Bak-Romaniszyn L, Smolarz B, Kulig A, Płaneta-Małecka I, Zeman K, Małecka-Panas E. Comparable evaluation of usefulness of traditional methods and polymerase chain reaction technique in detection of *Helicobacter pylori* infection. *Polski merkuriusz lekarski*. 2007 May; 22(131):350-3.
37. Smith SI, Fowora MA, Otegbayo JA, Abdulkareem FB, Omonigbehin EA, Adegboyega A, et al. Comparison of PCR with other diagnostic techniques for the detection of *H. pylori* infection in patients presenting with gastroduodenal symptoms in Nigeria. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics*. 2011 Jan; 2(2):178-84.