

Evaluación de la utilidad de diferentes métodos para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*

Evaluation of the usefulness of different methods for diagnosis of *Helicobacter pylori*

Dr. Jordi Alonso Soto^I, Dr. CB. Boris Luis Rodríguez González^{II}, Lic. Arlenis Moreno Guerra^{II}, Dra. Lissette Chao González^I

^I Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas. La Habana, Cuba.

^{II} Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la utilidad de la serología, reacción a la cadena de la polimerasa e histología para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* utilizando como prueba de oro el cultivo se realizó un estudio descriptivo prospectivo en pacientes mayores de 18 años de edad que acudieron al servicio de Gastroenterología del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgica (CIMEQ) con indicación de endoscopia digestiva superior durante el período comprendido entre julio y diciembre del 2010. La muestra quedó constituida por 89 pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión, de ellos 52 pertenecían al sexo masculino y 37 al femenino, el promedio de edad fue de $49,6 \pm 18,0$ años. El 60,7 % fueron casos positivos para la bacteria; la serología fue el método más sensible y la reacción a la cadena de la polimerasa el más específico para el diagnóstico del *Helicobacter pylori*.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, serología, PCR, histología, cultivo.

ABSTRACT

In order to evaluate the usefulness of serology, reaction to polymerase chain and histology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* using as a gold farming was conducted a prospective study of patients over 18 years of age who presented serving Gastroenterology Research Center Medical Surgical (CIMEQ) with indication of upper gastrointestinal endoscopy during the period between July and December 2010.

The sample was composed of 89 patients who fulfilled all inclusion criteria, of whom 52 were male and 37 were female, average age was $49,6 \pm 18,0$ years, these patients underwent upper gastrointestinal endoscopy and sampling for detection of *Helicobacter pylori*. 60.7 % were positive for bacteria cases, serology was the most sensitive reaction to polymerase chain the most specific for diagnosis of *Helicobacter pylori*.

Key words: *Helicobacter pylori*, serology, PCR, histology, culture.

INTRODUCCIÓN

En 1983 se descubre por los médicos australianos Marshall y Warren la bacteria *Helicobacter pylori* responsable de múltiples patologías gastroduodenales.¹ Aunque no está completamente exento de controversias, en la actualidad se acepta que el *Helicobacter pylori* está relacionado con el desarrollo de gastritis crónica, úlcera péptica (principalmente duodenal), carcinoma gástrico y linfomas del tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).²

El germen coloniza la mucosa gástrica e induce una respuesta inflamatoria persistente, y a su vez, ha sido clasificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1994, desde el año 1994, como un carcinógeno «clase I». ³

Para el diagnóstico de la infección hay varios métodos que se pueden emplear. Clásicamente, se han dividido en métodos invasivos y no invasivos, según si precisan o no la práctica de una endoscopia digestiva superior con toma de biopsias. Los métodos invasivos son, el cultivo, la prueba rápida de ureasa (PRU), el examen histológico y reacción a la cadena de la polimerasa (PCR, del inglés: Polimerasa Chain Reaction). Los no invasivos son, la prueba del aliento (UBT, del inglés: urea breath test), la demostración de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal (HpSA, del inglés: *H. pylori* stool antigen test) y las pruebas serológicas que se basan en el descubrimiento específico de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*.⁴

El cultivo es el método de mayor especificidad (100 %) en el diagnóstico de la infección para *Helicobacter pylori*. Sin embargo, la sensibilidad varía mucho entre los diversos estudios reportados, con cifras que se encuentran entre el 60 y el 98 %. Su crecimiento es lento, y las primeras colonias suelen aparecer entre el quinto y séptimo día, y pueden tardar hasta 10 días. La identificación del *Helicobacter pylori* se hace por la actividad de sus enzimas bacterianas: ureasa, oxidasa y catalasa.⁵

Los métodos serológicos se basan en la detección de anticuerpos específicos frente a *Helicobacter pylori* en suero, saliva u orina. La serología es útil en el estudio de poblaciones seleccionadas. Sin embargo, su principal problema radica en que no puede diferenciar la infección activa de la exposición previa al microorganismo. El rendimiento de las pruebas serológicas puede verse afectado por el método diagnóstico considerado como referencia (gold estándar), la clase de anticuerpo, el tipo de antígeno y la técnica serológica utilizada, así como por la población estudiada.⁶

La histología no solo permite el diagnóstico de la infección, sino que además proporciona información sobre los cambios morfológicos de la mucosa gástrica evaluando la densidad de *Helicobacter pylori*. La tinción de hematoxilina-eosina es la técnica más utilizada en el mundo para el diagnóstico de las muestras incluidas en parafina. Su principal ventaja es que permite el diagnóstico y la gradación de la lesión histológica, sin incrementar del costo y el tiempo al procesamiento habitual de las biopsias.^{4,5}

Los métodos de biología molecular, especialmente la PCR han aportado una ayuda considerable, no sola en el campo del diagnóstico de la infección, sino en la tipificación bacteriana, en la detección de los factores genéticos responsables de la virulencia y en la resistencia a los antibióticos. Es un método muy sensible y específico, que permite obtener resultados rápidos y a diferencia del cultivo, las muestras no requieren un medio de transporte especial.⁶ Teniendo en cuenta los diferentes métodos en la detección del *Helicobacter pylori*, se decidió evaluar la utilidad de la serología, la PCR y la histología para el diagnóstico del *Helicobacter pylori*, empleando como prueba de oro el cultivo.

METÓDOS

Se realizó un estudio descriptivo y prospectivo en pacientes mayores de 18 años de edad que acudieron al Servicio de Gastroenterología del Centro de Investigaciones Médico-Quirúrgicas (CIMEQ), con indicación de endoscopia digestiva superior. La investigación se realizó entre julio y diciembre del 2010.

La muestra quedó finalmente constituida por 89 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión siguientes:

Criterios de inclusión

1. Pacientes de ambos性s y mayores de 18 años de edad.
2. Pacientes que dieron su consentimiento informado para incorporarse al estudio.
3. Pacientes en los que se realizaron todos los métodos propuestos en el estudio, para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*.

Criterios de exclusión

1. Pacientes con contraindicación para la endoscopia digestiva superior y toma de biopsia.
2. Embarazadas.

De ellos, 52 fueron del sexo masculino y 37 del femenino. El promedio de edad fue de $49,6 \pm 18,0$ años. A estos enfermos se les realizó la endoscopia digestiva superior y toma de muestra para la detección de *Helicobacter pylori*, según lo establecido en el protocolo de la investigación.

Consideraciones éticas

A todos los pacientes se les realizó la endoscopia digestiva superior previo consentimiento informado, como requisito indispensable para poder ser incluidos en la investigación. La ejecución de este proyecto no expuso a los pacientes a riesgos adicionales. La privacidad de la información obtenida estuvo respaldada por el principio del secreto médico y los resultados de la investigación se expusieron de forma anónima.

Procedimiento

A todos los pacientes se le realizó la endoscopia digestiva superior mediante el empleo de un videogastrotroscopio marca Olympus Evis Lucera GIF-H260. Con este equipo y personal entrenado, se examinó exhaustivamente la mucosa gastroduodenal y se tomaron 4 biopsias antrales. Dos de las biopsias se colocaron en pocillos con formol al 10 % y se enviaron para el Departamento de Anatomía Patológica para realizar la determinación de *Helicobacter pylori* por histología. Las restantes muestras se destinaron para el cultivo microbiológico (una muestra) y para el PCR (una muestra).

También se le extrajeron al enfermo 5 mL de sangre, que se emplearon en el diagnóstico serológico de la bacteria a partir del suero. Esta muestra fue debidamente identificada y conservada a -20°C , hasta su análisis.

Procesamiento y análisis de la información

Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS versión 13.0 para Windows. Se utilizaron porcentajes, medias y desviaciones estándar para el resumen de la información de acuerdo al tipo de variable. Para establecer la eficacia de los métodos diagnósticos empleados (la serología, el PCR y la histología), se calculó la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo (VPP), el

valor predictivo negativo (VPN) y el índice de Kappa. Se tomó como prueba de oro, el cultivo.

RESULTADOS

Como se puede apreciar en la [tabla 1](#), el 60,7% de los pacientes fueron casos positivos de infección por *Helicobacter pylori*.

Tabla 1. Distribución de los pacientes según la presencia de *Helicobacter pylori*

Presencia de <i>H. pylori</i>	Número de pacientes	%
Sí	54	60,7
No	35	39,3

En la [tabla 2](#) se presenta la eficacia de la serología para la detección de la bacteria. Como se puede apreciar, el diagnóstico por serología fue positivo en 62 pacientes. Sin embargo, el diagnóstico realizado por medios del cultivo, empleado como prueba de referencia, sólo en 54 casos se logró aislar la bacteria. Para el diagnóstico serológico 14 de los casos fueron falsos positivos, mientras que seis fueron falsos negativos. Como se puede observar, en el presente trabajo se obtuvieron cifras de sensibilidad del 88,9 % y de especificidad del 60,0 %.

Tabla 2. Eficacia de la serología para la detección de *Helicobacter pylori*, utilizando como prueba de referencia el cultivo

Serología	Cultivo		Total
	positivo	negativo	
positivo	48	14	62
negativo	6	21	27
Total	54	35	89

Intervalo de confianza del 95%

Sensibilidad: 88,9% (76,7-95,4%)

Especificidad: 60,0% (42,2-75,6%)

VPP: 77,4% (64,7-86,7%)

VPN: 77,7% (57,3-90,6%)

Índice Kappa: 0,509

El diagnóstico de *Helicobacter pylori* por PCR fue positivo en 42 pacientes (ver [tabla 3](#)), cuatro casos fueron falsos positivos mientras que en 16 fueron falsos.

Tabla 3. Eficacia del PCR para la detección de *Helicobacter pylori*, utilizando como prueba de referencia el cultivo.

PCR	Cultivo		Total
	positivo	negativo	
positivo	38	4	42
negativo	16	31	47
Total	54	35	89

Intervalo de confianza del 95%**Sensibilidad:** 70,4% (56,2-81,6%)**Especificidad:** 88,6% (72,3-96,3%)**VPP:** 90,5% (76,4-96,9%)**VPN:** 65,9% (50,6-78,7%)

La [tabla 4](#) muestra el diagnóstico de la bacteria por histología fue positivo en el 47 pacientes, sin embargo, por el cultivo se aisló la bacteria en 54 casos. En nueve pacientes el diagnóstico resultó ser falso positivo mientras que en 16 fueron falsos negativos por el estudio histológico. La sensibilidad y especificidad oscilaron en el orden del 70,4 y 74,3 %, respectivamente. El VPP fue del 80,8 %.

Tabla 4. Eficacia de la histología para la detección de *Helicobacter pylori*, utilizando como prueba de referencia el cultivo.

Histología	Cultivo		Total
	positivo	negativo	
positivo	38	9	47
negativo	16	26	42
Total	54	35	89

Intervalo de confianza del 95%**Sensibilidad:** 70,4% (56,2-81,6%)**Especificidad:** 74,3% (56,4-86,9%)**VPP:** 80,8% (66,3-90,3%)**VPN:** 61,9% (45,6-76,0%)**Índice Kappa:** 0.431

DISCUSIÓN

La cantidad de pacientes con diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori* en este estudio coincide con lo reportado en la literatura para los países subdesarrollados, cuyos valores oscilan entre el 60 - 80 %.^{7,8}

Un estudio realizado en Ciudad de La Habana, Cuba, por Gutiérrez et al, ⁹ reportó que el 90 % de los casos estudiados por enfermedades digestivas, fueron positivos para la presencia de la bacteria. Posteriormente, en otro estudio realizado en el Instituto Nacional de Gastroenterología, se reportaron cifras del 75 %.¹⁰ En ambos reportes, los resultados publicados la positividad de casos fue superior al

presente estudio, y esto puede deberse al menor número de pacientes incluidos.

En otro estudio realizado en Irlanda, Sufi et al, ¹¹ mostraron tasas de infección del 65 %. Por su parte, Moncayo et al, ¹² en Quindío, Colombia, reportaron valores del 97,3 %.

Las cifras de sensibilidad y de especificidad para el diagnóstico serológico en el presente estudio son similares a los resultados reportados por Dulcine et al ¹³ en Gran Bretaña e Irlanda.

En otro estudio más reciente, efectuado por Sufi et al, ¹¹ donde también se utilizó el cultivo como prueba de referencia, la serología mostró valores de sensibilidad del 96,7 %, superior al encontrado en esta investigación. Sin embargo, en cuanto a la especificidad, fue inferior y los VPP y VPN oscilaron de manera muy similar al encontrado en este trabajo.

Quintana et al, ¹⁴ realizó un estudio en Costa Rica, donde se emplearon diferentes kits serológicos para la detección del antígeno contra *Helicobacter pylori*. En este estudio, se presentaron una sensibilidad inferior. Sin embargo, en cuanto a la especificidad fueron muy similares a la encontrada en esta investigación, al igual que los resultados de VPP y VPN.¹⁴

La serología es útil en el estudio de poblaciones seleccionadas, sin embargo, su principal problema radica en que no se puede diferenciar la infección activa de la exposición previa al microorganismo. El rendimiento de las pruebas serológicas puede verse afectado por el método diagnóstico considerado como referencia, la clase de anticuerpo empleado, el tipo de antígeno, la técnica serológica utilizada, así como por la población estudiada. ^{15,16}

En el diagnóstico de *Helicobacter pylori* por PCR, en este estudio, las cifras de sensibilidad fueron inferiores a las encontradas por Yakoob et al, ¹⁷ sin embargo los valores de especificidad, VPP y VPN mostraron resultados similares.

Lascols et al, ¹⁸ en Francia, obtuvo valores de especificidad y VPP para el diagnóstico de la bacteria mediante la PCR similares a los de este trabajo. Por su parte, Moncayo et al ¹² en Colombia, reportó cifras de sensibilidad y especificidad superiores a las encontradas en la investigación.

El estudio histológico de la biopsia permite determinar las lesiones de la mucosa además de detectar la infección por *Helicobacter pylori*. Lascols et al, ¹⁸ en Francia, realizó un trabajo donde se utilizó el diagnóstico histológico para determinar la presencia o no del *Helicobacter pylori* y empleó como prueba de referencia, el cultivo. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fue superior a las encontradas en esta investigación. Similares conclusiones arribó Moncayo et al ¹² en Quindío, Colombia.

En Cuba se han realizado varios estudios, donde se ha empleado el examen histológico para evaluar el daño de la mucosa gástrica y para detectar la infección por *Helicobacter pylori*. Sin embargo, solamente se ha comparado con test de ureasa. Es conocido, que debido a la distribución en parches de la bacteria en la mucosa gástrica, cuando se emplea el método histológico de diagnóstico de la infección, para alcanzar una sensibilidad óptima es preciso tomar muestras múltiples del antro, cuerpo y fundus. ^{5,19}

Se usó la hematoxilina-eosina este método, que es el que habitualmente se utiliza en nuestro centro y en numerosas instituciones del mundo por su bajo costo, facilidad con que se puede montar y utilidad en las identificaciones de las alteraciones histológicas de la mucosa gástrica. Aunque se refiere, que el método histológico de tinción con hematoxilina-eosina puede tener menor sensibilidad para el diagnóstico del *Helicobacter pylori*, su empleo en la identificación del germen está muy difundido y se continúa su utilización en la actualidad. ^{6,20}

Entre los métodos estudiados, la prueba que mostró mayor especificidad para el diagnóstico del

Helicobacter pylori fue la reacción a la cadena de la polimerasa y la serología fue el método más sensible.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curned bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1984;1:1311-4.
- 2.- Plummer M, Francesehi S, Muñoz N. Epidemiology of gastric cancer. *IARC Sci Publ*. 2004;157:311-26.
- 3.- Currente Infection with *Helicobacter pylori*. In: IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon. France: International Agency for Research on cancer; 1994 177-241.
- 4.- Vakil N, Vaira D. Non-invasive tests for the diagnosis of *H. pylori* infection. *Rev Gastroenterol Disord*. 2004;4:1-6.
- 5.- Chao L y Bello M. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. En: González- Carbajal M. *Helicobacter pylori ¿el tercer dogma?* Autores Productores Asociados, S.L. Madrid, España. 2003. cap XI.p. 201-19.
- 6.- Petgerson WL y Graham D. *Helicobacter pylori*. En: Feldman M, Sleisenger MH, Scharschmidt BF, editors. *Gastrointestinal Disease*. 7th ed. Filadelfia, PA: WB Saundars; 2004. p.649-65.
- 7.- Banahiala N, Mayo K, Megraud F, Jerwings R, Duks JJ and Feldman RA. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis*. 1993;168:219-21.
- 8.- Coelho LG, Leon-Barua R, Quigley EM. Latin-American consensus conference on *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterology*. 2000;95:2688-91.
- 9.- Gutierrez B, Vidal T, Valmaña CE, Santiesteban N, Gonzalez N, Leonel I, et al. Primer informe sobre el aislamiento de *Helicobacter pylori* asociado a enfermedades digestivas en Ciudad de La Habana. *Vacci Monitor*. 2001 Enero-Marzo. 26 (1): 23-7.
- 10.- Rojas Zurita F. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos. [tesis] Instituto Nacional de Gastroenterología; 2002.
- 11.- Sufi HZR, M Golam A, M Anisur R, MS Arfin, M Mahbub A, Tareq M B and et al. Non- invasive diagnosis of *H pylori* infection: Evaluation of serological tests with and without current infection marker CIM. *World J Gastroenterol*. 2008. 28;14(8):1231-6.
- 12.- Moncayo JI, Santacruz JJ, Álvarez AL, Franco B, López MA, Angel Pinzón A, et al. Comparación de métodos diagnósticos en la infección por *Helicobacter pylori* en Quindío, Colombia. *Colomb Med [serie en Internet]*. 2006 [consultado 22 mar 2011]; 37(3). Disponible en: <http://colombiamedica.univalle.edu.co/Vol37No3/pdf/cm37n3a5.pdf> .
- 13.- Dulcine M, Queiroz M, Mendez E, Rocha G, Oliveira A, Oliveira M, and et al. Serological and direct diagnosis of *Helicobacter pylori* in gastric carcinoma: a case-control study. *J Med Microbiol*. 1999;48: 501-506.
- 14.- Quintana E, Schaonisk Y, Nevermann K, Salas P, Achí A, Davidovich RH. Valor diagnóstico de anticuerpos anti *Helicobacter pylori* en pacientes referidos al servicio de endoscopia digestiva del hospital San Vicente de Paul, Costa Rica. *Rev Biomed*. 2002;13(1):15-23.
- 15.- Staoch K, Kimura K, Taniguchi Y. Biopsy sites suitable for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the assessment of the extent of atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol*. 1998;11:1271-

6.

- 16.- De Mascarel A, Merlio JP. Mises in evidence histologiques the *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin Biol.* 1989;13:26B-30B.
- 17.- Yakoob J, Rasool S, Zaigham A, Jafri W, Abid S, Muhammad I and et al. Gastric juice for the diagnosis of *H pylori* infection in patients on proton pump inhibitors *World J Gastroenterol.* 2008;14(10): 1539-43.
- 18.- Lascols C, Lamarque D, Costa JM, Copie-Bergman C. Fast and Accurate Quantitative Detection of *Helicobacter pylori* and Identification of Clarithromycin Resistance Mutations in *H. pylori* Isolates from Gastric Biopsy Specimens by Real-Time PCR J C Microbiology. 2003;41(10). p.4573-77.
- 19.- González Carvajal M, Sevilla L, Gra Oramas B. Alteraciones histológicas de la mucosa gástrica y prevalencia del *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos Rev Panam Infectol. 2004;7(1):8-15.
- 20.- Yamada T, Alpèrs DH, Owyang C, Powell D. W y Silverstein FE. Gastritis crónica por *Helicobacter pylori*. En: Manual de Gastroenterología. 2000; Cap 34. p.356.

Recibido: 19/10/2011

Aprobado: 30/10/2011

Dr. Jordi Alonso Soto

Calle 3era C # 29624 / 296 y 300 Santa Fé, Playa. Teléfono: 8581449. E mail:
jordialonso@infomed.sld.cu