

Coproantígeno Monoclonal para Detección de *Helicobacter pylori* en Niños. Evaluación Inicial.

Verónica Castillo-Montoya *

Noé Baldenebro-Muñoz *

Mauro Valencia-Juillerat**

Guillermo López-Cervantes**

Eduardo Ruiz-Bustos**

Gerardo Álvarez-Hernández**

Norberto Sotelo-Cruz**

RESUMEN

Introducción: Se estima que la infección por *Helicobacter pylori* (HP) afecta a cerca del 50% de la población mundial, siendo los países subdesarrollados y en desarrollo en los que existe mayor riesgo de infección desde etapas tempranas de la vida. En los adultos y niños, actualmente están disponibles para el diagnóstico métodos no invasivos, para estudios epidemiológicos.

Material y Métodos: Se seleccionó muestra de 22 sujetos, durante el periodo de 1 de Marzo de 2013 a 31 de Mayo de 2013, se determinó Coproantígeno para HP, mediante kit (Amplified IDEIATM Hp StAR) (Chislon S of Journal of Medical Microbiolgy 2004). Se consideraron pacientes asintomáticos como sintomáticos la edad, sexo, y antecedentes familiares de padres y abuelos (antecedente de gastritis e infección por HP demostrada, cáncer gástrico).

Resultados: De 22 pacientes 11(50%) fueron de sexo femenino y 11 de sexo masculino. Del total, 3 fueron HP positivos y tenían sintomatología sugestiva de infección, representando el 14%. Se registraron síntomas positivos de HP en 8 niños pero la prueba de coproantígeno fue negativa.

Conclusiones: La infección de HP, en esta muestra, estudiada mediante coproantígeno del 14%. La frecuencia de manifestaciones gastrointestinales más frecuente fue el dolor abdominal epigástrico en 91%, seguido del dolor periumbilical con 73%.

ABSTRACT

Introduction: It is estimated that the infection by *Helicobacter pylori* (HP) affects about 50% of the world's population, remain underdeveloped and developing countries in which there is an increased risk of infection from early stages of life.

* Hospital infantil del Estado de Sonora.

** Universidad de Sonora.

Correspondencia. Dr. Norberto Sotelo Cruz. Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Sonora. Calle Colosio y Reforma S/N. Hermosillo, Sonora. México. nsotelo@quaymas.uson.mx, norbertosotelo5@hotmail.com

In adults and children are available non-invasive diagnostic methods, for clinical and epidemiological studies in children.

Material and Methods: We included for the study a sample of 22 patients, from March 1st of 2013 to May 31th of 2013; we will determine copro-antigen for HP through kit (Amplified IDEIATM HpStAR) (Chislom S of Journal of Medical microbiology 2004). It is considered both of asymptomatic patients as symptomatic the age, sex, and family history of parents and grandparents (history of gastritis and HP infection demonstrated, gastric cancer).

Results: In 22 patients, 11 (50%) were female and 11 males. Of the total, 3 were positive HP and have suggestive symptoms of infection representing the 14%. We registered 8 patients with symptoms of HP and 8 however the copro-antigen test was negative.

Conclusions: The infection of HP, in this sample, studied through copro-antigen was of the 14%. The frequency of gastrointestinal manifestations more frequently was the epigastric abdominal in 91%, followed by the periumbilical pain with 73%.

Introducción

Se estima que la infección por Helicobacter pylori (HP) afecta a cerca del 50% de la población mundial, siendo los países subdesarrollados y en desarrollo en los que existe mayor riesgo de infección desde etapas tempranas de la vida; sin embargo, en dichos países no está convenientemente aclarada cual es la prevalencia de infección por HP¹⁻³.

En la actualidad están disponibles para apoyo en el diagnóstico diversos métodos incluidos los invasivos, como la biopsia de mucosa gástrica para histología y cultivo, y la determinación de anticuerpos en suero, reacción en cadena de la polimerasa y prueba de la ureasa. Entre los no invasivos están la detección de antígenos y anticuerpos contra HP en saliva, orina y heces fecales (Copro-antígeno), cultivo de HP en materia fecal y prueba de la Urea espirada C-UBT, siendo esta última hasta ahora la más sensible pero de alto costo. En fechas recientes se ha considerado que la detección de Copro-antígeno para HP es una prueba adecuada para estudios clínicos y epidemiológicos en los niños⁴⁻⁶.

En los niños se recomienda utilizar idealmente pruebas de más fácil aplicación, de menor costo y que no requieran la colaboración especialmente de aquellos que se encuentran en edades entre lactantes mayores y preescolares; las dos pruebas con estas características que están disponibles son: el cultivo de HP en materia fecal, que tiene el inconveniente de que HP no se encontraría viable o estaría en forma cocoide, y la detección de antígeno de HP en materia fecal mediante anticuerpos mono y polyclonales. De acuerdo a lo acumulado en la literatura entre 1998 a 2012^{1,4-6,7-16}, se han encontrado evidencias de que la prueba de copro-antígeno por ELISA, que los anticuerpos monoclonales constituyen una prueba efectiva en el diagnóstico de infecciones por HP en niños y se han encontrado variabilidades en cuanto a sensibilidad y especificidad en distintas edades pediátricas⁶⁻⁹. En este estudio exploratorio pretendemos conocer en una muestra limitada el manejo de la prueba y

las posibilidades que muestra en la detección y desarrollar en lo sucesivo un estudio más amplio en niños.

Objetivos

Se ha tenido el propósito es buscar la utilidad y más delante la especificidad de un método no invasivo como el copro-antígeno monoclonal para el diagnóstico y seguimiento de infección por HP en pacientes asintomáticos y sintomáticos, que asistieron a la consulta ambulatoria del Hospital Infantil del Estado de Sonora, esto es; ante la posibilidad de que en la población pediátrica que asiste a la consulta ambulatoria de la institución entre el 30 a 50% sean portadores o padecan infección por HP.

Métodos

Entre pacientes en edades de 1 a 18 años que asistían a la consulta ambulatoria del Hospital Infantil, asintomáticos y aquellos con signos y síntomas que sugirieran estados dispépticos específicos e inespecíficos, dolor abdominal recurrente, gastritis, duodenitis, se incluyeron de manera secuencial 22 pacientes entre los meses de marzo a junio de 2013. Dentro de las variables se consideraron tanto de pacientes asintomáticos como de los sintomáticos la edad, el sexo; antecedentes familiares de padres y abuelos (historia de gastritis e infección por HP demostrada, cáncer gástrico). A los pacientes sintomáticos que consulten por vómito, náuseas, distensión abdominal, dolor abdominal recurrente, (difuso o peri umbilical, varias veces al día, matutino y en la escuela, de corta duración sin interferencia de apetito o actividad normal), pirosis, ardor gástrico o duodenal, diarrea, hiporexia, anorexia, sangrado de tubo digestivo alto, y pérdida de peso, así como a aquellos pacientes asintomáticos considerados por edades pediátricas, se les solicitó, coproparasitoscópico serie de III mediante procedimiento de Stoll, y en una muestra se determinó Coproantígeno para HP, mediante kit (Amplified IDEIATM Hp StAR) (Chislom S of Journal of Medical Microbiology

2004). La recolección de muestra fecal 0.1 gramos de la muestra para almacenarse a -70°C, o bien procesada de inmediato; 500 µl de heces homogenizado por 15 segundos en un vortex y centrifugado durante 5 minutos a 2500 rpm y 50 µl del sobrenadante se traslada a la micro celda y se le adicionan control positivo y negativo, y 50 µl de enzima conjugada tras lo cual, la micro placa se cubre e incuba entre 18 a 27°C por 1 hora. El reactivo complejo de anticuerpo conjugado determina la presencia de antígenos de HP (complejo de emparedado), después del proceso de lavado automático para remover anticuerpos no adheridos se adicionan 100 µl de sustrato e incubado a 20 a 30°C por 10 minutos, se lee en espectrofotómetro a 450nm, y una densidad óptica de ≥ 0.190 es considerada positiva^{1,9,15-18}. Los pacientes asintomáticos que resultaron son sujetos a vigilancia en la consulta externa y en caso de la aparición de síntomas o por antecedentes familiares de cáncer gástrico se revalorarán; a los casos con antecedentes de episodios repetitivos de gastritis o presencia de úlceras gástrica en familiares directos y de acuerdo a criterio clínico podrían recibir tratamiento de erradicación¹⁹⁻²⁴.

Por razones éticas aquellas pacientes sintomáticas y con coproantígeno positivo, recibirán tratamiento con esquema de subsalicilato de bismuto, inhibidores de bomba de protones, secnidazol, claritromicina^{1,6}. Así también los pacientes con sintomatología muy definida para infección por HP que resulten con coproantígeno negativo, se turnarán a una prueba de aire espirado con urea marcada con carbono-13 en los laboratorios del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. a los niños que se proporcionó tratamiento, serían localizados para una prueba de seguimiento mediante copro-antígeno, programándose repetirla en un mes posterior al tratamiento para verificar la erradicación; estos pacientes se integrarán a un grupo especial, que será motivo de otro estudio^{9,17}. El proyecto fue autorizado por los comités de ética de las instituciones participantes.

Resultados

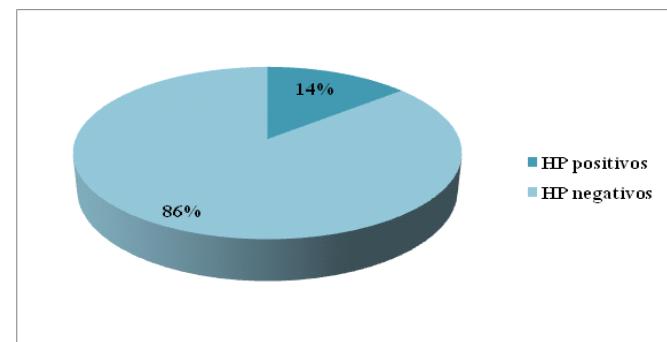
Se estudiaron 22 pacientes de los cuales 11 (50%) fueron de sexo femenino y 11 de sexo masculino. Del total, 3 (14%) fueron HP positivos (Figuras 1 y 2).

Los pacientes de 1 a 6 años de edad constituyeron el 7%, entre 7 a 10 años fueron 50% en los de 7 a 10 años, y no registramos pacientes entre los 11 y los 18 años, (Cuadro 1).

La presencia de síntomas y signos gastrointestinales fue de la siguiente manera: de 19 pacientes con coproantígeno negativo 8 tenían síntomas positivos y 11 resultaron asintomáticos; en 3 niños en los que el coproantígeno fue positivo, los tres tenían sintomatología gastrointestinal sugestiva. No se encontraron

antecedentes heredofamiliares de importancia relacionados.

Figura 1.-Frecuencia de Resultados Positivos a la Coproantígeno Monocional



Discusión

Aunque aún existe mucho por estudiar y aclarar acerca de la infección por HP, existen conceptos claros acerca de la epidemiología de este microorganismo; probablemente la más importante, es que su prevalencia depende de factores sociales, económicos y culturales de cada grupo poblacional.

Los países en desarrollo presentan mayores focos de pobreza en los que existen hábitos de higiene deficientes; los alimentos que se procesan para consumo y que no siguen son una causa importante de contagio; el hacinamiento, y probablemente la presencia de mascotas dentro del hogar, han sido también identificados como factores de riesgo para infección con HP, se ha sugerido que dichos factores sugirieron que estos son la resultante de una deficiente educación y dos estudios lo corroboran: en uno se evaluaron personas de bajo nivel socioeconómico con personas de nivel más alto dentro de una misma población y la prevalencia fue mayor en aquellos de bajo nivel, y en el otro se evaluaron personas de una población de baja prevalencia de HP con orígenes en un país endémico y su prevalencia fue menor que aquellos en su país de origen⁶⁻¹².

Por otro lado en relación a los signos y síntomas relacionados con HP, se ha identificado a este agente como una causa importante de dolor abdominal recurrente, en niños de otros países¹⁰⁻¹⁵. En esta muestra de pacientes, al observar la relación entre HP y sintomatología gastrointestinal, esta variante dolor abdominal no fue la manifestación más frecuente.

Un punto controversiales si el HP debe ser investigado y erradicado de manera rutinaria, aún en pacientes asintomáticos, esto es debido a su estrecha relación con patologías gastrointestinales benignas y malignas tanto en adultos como en niños. Mientras que

en Canadá y Estados Unidos se considera poco beneficioso el tamizaje^{1-7,9-17}, en la población pediátrica latinoamericana, incluyendo la mexicana, el HP es una importante fuente de morbilidad. Su prevalencia se encuentra entre el 10 al 80% y está relacionada con cuadros de gastritis crónica y úlcera péptica¹⁰⁻¹⁵. En el consenso latinoamericano de la infección por HP se concluyó que es recomendable la realización de estudios de prevalencia y factores asociados en cada grupo poblacional, y que el HP en Latinoamérica es un problema de salud pública que requiere planes de acción^{3,10,11}.

La utilidad de la prueba serológica en niños no está completamente definida, ya que aún existen opiniones opuestas²³⁻²⁵. Pero existe la necesidad de una prueba diagnóstica de bajo costo y fácil realización para la investigación rutinaria de HP. La prueba serológica cumple con los requisitos pero previo a su implementación es necesario determinar el punto de cohorte, más adecuado en cada población, para definir los resultados como positivos; además esta prueba tiene el inconveniente de su invasividad²⁵.

El procedimiento de laboratorio empleado en este estudio inicial, para la detección de HP, aunque el número de pacientes colectados es bajo, permite apreciar las bondades de su aplicación y la conveniencia de que no es invasiva, habrá que ver en lo sucesivo cuantos pacientes asintomáticos son registrados positivos, para considerar la determinación de urea en aliento, en los dos grupos, con y sin síntomas, por ahora se emprendió la localización de los niños sintomáticos positivos para la prueba de aire espirado con urea marcada.

Desde luego que por los propósitos de esta evaluación inicial con la prueba de coproantígeno monoclonal; no es posible por ahora hacer inferencias respecto al comportamiento de este padecimiento, o la sensibilidad o especificidad de la misma; esto podrá ser permisible al tener un mayor número de pacientes estudiados, toda vez que hemos conocido el procedimiento y apreciado las bondades inmediatas del método^{1,2,5,9,12}.

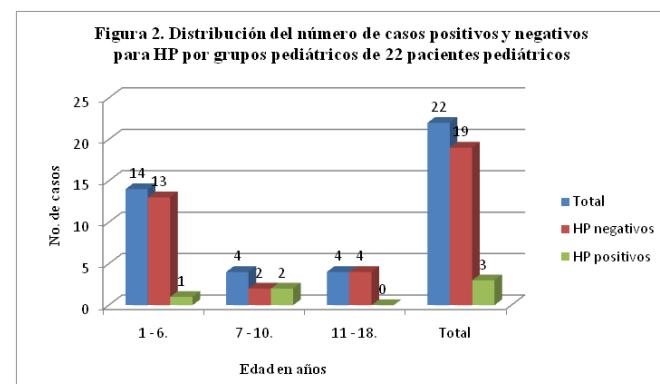
Frente al problema de la infección por HP, es necesario ofrecer a las autoridades sanitarias evidencias científicas, para la implementación de programas de estudio y procedimientos auxiliares de diagnóstico accesibles, para la replicación en la población general, para que de esta manera se establezcan las medidas de control y las acciones sanitarias prudentes.

Conclusiones

1. El número de pacientes positivos a HP mediante coproantígeno y que además manifestaban sintomatología, en esta muestra de pacientes de la consulta ambulatoria del Hospital Infantil del Estado de Sonora, fue del 14%.

Aunque se pretende reunir un mayor número de casos para corroborar si esta tendencia persiste.

2. Respecto a las manifestaciones gastrointestinales; se observó que fue mayormente el dolor abdominal, siendo el de localización epigástrica el más frecuente con 91%, seguido del dolor periumbilical con 73%. Otras manifestaciones encontradas en pacientes sintomáticos fueron distensión abdominal en 45%; diarrea y estreñimiento en 36%, pirosis, náuseas y vómito en 27%. La hiporexia, pérdida de peso, anorexia y sangrado de tubo digestivo alto las menos frecuentes con 9%, (Cuadro 2).



Cuadro 1.- Positividad del Antígeno Monocional Según Edad.
N = 22

Edad(Años)	No. de Casos	HP Positivos	(%)
1 - 6	14	1	7%
7 - 10	4	2	50%
11 - 18	4	0	0%
Total	22	3	14%

Cuadro 2.- Manifestaciones Gastrointestinales Recurrentes en 11 Pacientes Sintomáticos y su Frecuencia de Aparición.

Manifestaciones Gastrointestinales	Frecuencia (%)
Dolor Abdominal Epigástrico	91%
Dolor Abdominal Periumbilical	73%
Distensión Abdominal	45%
Diarrea	36%
Estreñimiento	36%
Pirosis	27%
Náuseas	27%
Vómito	27%
Hiporexia	9%
Pérdida de Peso	9%
Anorexia	9%
Sangrado de Tubo Digestivo Alto	9%

REFERENCIAS

- 1.- Koletzko S , Jones NL, Goodman KJ, Gold B, Rowland M, Cadanel S, et al. Evidenced-based Guidelines from ESPAGHAN and NASAPGHAN for *Helicobacter Pylori* infection in children. JPGN 2011; 53(2): 230-43.
- 2.- DrummB,Koletzko S, Oderda G. *Helicobacter pylori* infection in children: consensus statement.EuropeanPaediatric Task Force on Helicobacter Pylori. JPGN 2000; 30(2) 207-13.
- 3.- Azevedo NF, Huntington J, Goodman KJ.The epidemiology of *helicobacter Pylori* and public health implications. Helicobacter 2009; 14,Suppl 1: 1-7.
- 4.- Smith SI, Oyedeji KS, Goodluck HA, Fowora MA, Anomneze E, Lesi OA. The use of Helicobacter pylori Stool antigen for the diagnosis *Helicobacter pylori* in Lagos, Nigeria.West Indian Med J 2011; 60(1) 33-5.
- 5.- Pourakbari B, Mirsalehian A, Maleknjead P, Mamishi S, Azhdarkosh, Daryani NE. Evaluation a new antigen for diagnosis *helicobacter pylori* infection in stool of adult and children. Helicobacter 2011; 16: 42-6.
- 6.- Selgrad M, Kandulski A, Malfertheiner. Helicobacter pylori: diagnosis and treatment. CurrOpinGastroenterol 2009; 25: 549-56.
- 7.- McNulty C A, Lehours P, Megraud F. diagnosis *helicobacter pylori* infection.Helicobacter 2011; 16(Suppl.1): 10-18.
- 8.- Leal- Herrera Y, Cedillo- Rivera R, Simón A, Velazquéz JR, Flores LL, Torres J. Utility of stool sampled-based test for the diagnosis of *helicobacter pylori* infection in children JPGN 2011; 52(6): 718-28.
- 9.- Raguza D, Machado RS, Ogata KS, Granato CF Patricio FRS, Kawakami E. Validation a monoclonal stool antigen test for diagnosing *Helicobacter Pylori* Infection in young children.JPGN. 2010; 50(4): 400-3.
- 10.- Calvaz RR. *Helicobacter Pylori* y su importancia en pediatría. En PAC- Pediatría V. EditorialIntersistemas México 2007; Libro 3: 133-71.
- 11.- Santos SI, Boccio J, Davidsson L, Hernandez TM, Huanaca SE, et al. *Helicobacter pylori* is not associated with anemia in Latin America: results from Argentina, Brazil, Bolivia, Cuba, México and Venezuela. Public HealthNutr 2009; 12(10): 1862-70.
- 12.- Bosques PF, Tijerina MR, Perez PG, Flores GI, Garza GE. Comparison of *helicobacter pylori* prevalence symptomatic patients in Northeastern Mexico with the rest of the country: Its association with gastrointestinal disease. Arch Med Res 2003; 34: 60-3.
- 13.- Sykora J, Rowland M. *Helicobacter pylori* in pediatrics.2011; 16(Suppl.1): 59-64.
- 14.- Sotelo CN, Beltrán Cho. Problemas clínicos. El intrincado diagnóstico etiológico de gastritis en niños. Rev MexPediatr 2010; 77(5): 194-8.
- 15.- Chilsom SA, Watson CL, Teare LE, Saverymuttu S, Owen R. Non- invasive diagnoses of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapidimmune-chromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA Kits. J med Microbiol 2004; 53: 623-7.
- 16.- You JHS, Lee KKC, Ho SSS, Sung JJY, Kung NSS, Yung M, et al. Economics analysis of four triple regimens for the treatment of *Helicobacter pylori*-related peptic ulcer disease in-patient and out-patient settings in Hong Kong. AlimentPharmacolTher 2011; 15: 1009-15.
- 17.- Barrado A, Preston T, Slater C, Zubilliaga M, Miranda CB, Mokhtar N, Zednik M, Valencia ME, y Boccio J. The Usefulness of stable isotopes in nutrition and human health: the application of mass spectrometry and 13C-breath tests to detect *Helicobacter pylori* infection . Arch LatNutr 2004. 54 (Supl 2) 27-42.
- 18.- Cervantes DT, Fisbach LA, Goodman KJ, Phillips CV, Cheen S, Broussard SC. Exposure to helicobacter pylori-positive siblings and persistence of *helicobacter pylori* infection in early childhood. JPediatrGastroentrolNutr 2010; 50: 481-5.
- 19.- Cohen D, Shoham O, Orr N, Muhsen K. An inverse and independent association between *helicobacter pylori* infection and incidence of shigellosis and other diarrheal disease, clinical infectious disease 2012; 54; e35-42.
- 20.- Torres J, Leal Y, Perez G, Gomez A, et al. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in México. J Infect Dis 1998; 178: 1089-94.
- 21.- Nomura A, Stemmerman GN, Chyou PH, Kato I, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawai. N Engl J Med 1991; 325: 1132-6.
- 22.- Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. BMJ 1991; 302: 1302-5.
- 23.- Moreira Ed Jr, Santos RS, Nassri VB, et al. Risk factors for *Helicobacter pylori* infection in children: is education a main determinant? Epidemiol Infect 2004; 132(2): 327-35.
- 24.- Torres J. Epidemiologic and clinical aspects of *Helicobacter pylori* infection in children. Rev GastroenterolMex 2000;65(4 Suppl 2): 13-9.
- 25.- Gómez NA, Rojas JE, Arévalo CA. Importancia de los anticuerpos IgG como indicadores de prevalencia del *Helicobacter pylori* en población de alto riesgo. GEN 1997; 51(3): 215-8.