



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA  
SECCION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION

---

**T E S I S:**

**“EFICACIA DIAGNÓSTICA PARA HELICOBACTER PYLORI  
COMPARANDO PRUEBA DE UREASA CONTRA BIOPSIA  
HISTOPATOLÓGICA”**

**QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD  
AREA DE INVESTIGACION CLINICA**

**Presenta:**

**ADRIANA ALEJANDRA AZPEITIA BRAVO**

**Directores de Tesis:**

**Dr. Nelson Eduardo Alvarez Licona**

**Dr. Juan Asbun Bojalil**

**México D.F.**

**Octubre 2011**





# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 10:00 horas del día 30 del mes de Mayo del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de ESM para examinar la tesis titulada:

**“Eficacia diagnóstica para *Helicobacter Pylori* comparando prueba de ureasa contra biopsia histopatológica”**

Presentada por la alumna:

**Azpeitia**

Apellido paterno

**Bravo**

Apellido materno

**Adriana Alejandra**

Nombre(s)

Con registro:

B	0	9	2	0	4	1
---	---	---	---	---	---	---


aspirante de:

**Maestría en Ciencias de la Salud**

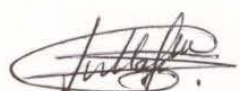
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.


### LA COMISIÓN REVISORA

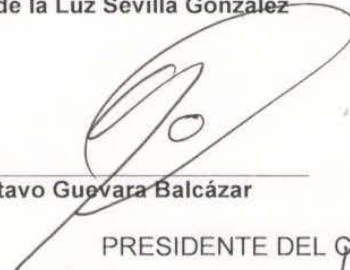
Directores de tesis

  
Dr. Nelson Eduardo Alvarez Licona


  
Dr. Juan Asbun Bojalil

  
Dra. María de la Luz Sevilla González

  
Dra. María del Carmen Castillo Hernández

  
Dr. Gustavo Guevara Balcázar

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

  
Dr. Eleazar Lara Padilla



ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA  
I.P.N.  
SECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
E INVESTIGACION  
\* CONTROL ESCOLAR \*



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de **México** el día **29** del mes **Noviembre** del año **2011**, el que suscribe **Adriana Alejandra Azpeitia Bravo** alumna del Programa de **Maestría en Ciencias de la Salud** con número de registro **B092041** adscrito a **La Escuela Superior de Medicina**, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de el **Dr. Nelson Eduardo Álvarez Licona y el Dr. Juan Asbun Bojalil** y cede los derechos del trabajo intitulado **“Eficacia diagnóstica para *Helicobacter Pylori* comparando prueba de ureasa contra biopsia histopatológica”**, al **Instituto Politécnico Nacional** para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **[alexazpeitia@yahoo.com.mx](mailto:alexazpeitia@yahoo.com.mx)**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**Adriana Alejandra Azpeitia Bravo**

Nombre y Firma

# INDICE

Agradecimientos .....	V
Abreviaturas .....	VII
Glosario .....	VIII
Relación de figuras y tablas .....	IX
Resumen .....	XI
Abstract .....	XIII
1. Introducción .....	1
2. Antecedentes .....	3
3. Justificación .....	32
4. Hipótesis .....	33
5. Objetivos .....	33
5.1. Objetivo General .....	33
5.2. Objetivos Particulares .....	33
6. Pregunta de investigación .....	33
7. Material y Métodos .....	34
8. Análisis estadístico .....	46
9. Aspectos éticos .....	46
10. Resultados .....	48
11. Discusión .....	61
12. Conclusiones .....	63
10. Perspectivas .....	64
11. Bibliografía .....	65
12. Anexos .....	69
12.1. Anexo A .....	69
12.2. Anexo B. ....	71

Este trabajo fué realizado en el Hospital Central Militar, en el Gabinete de Endoscopia y en la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional bajo las direcciones de los Doctores Nelson Eduardo Alvarez Licona y Juan Asbun Bojalil, con las colaboraciones de los Doctores Eduardo Almazan Urbina, Martha Santiago Torres, Maricela Olivia Franco Lira, Gregorio Ulises Guizar Lopez y Rubén Cruz Guzmán.

**DEDICATORIA**

**A MI FAMILIA:**

**POR SU APOYO PARA CONCLUIR ESTA META**

**A MIS MAESTROS:**

**POR SU ENTREGA Y MULTIPLES ENSEÑANZAS**

**AL PERSONAL DE ENFERMERIA DEL HOSPITAL CENTRAL MILITAR:**

**POR SU APOYO EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO**

## ABREVIATURAS

DNA	Acido desoxirribonucleico
Kda	Kilodalton
FDA	Food And Drug Administration
°C	Grados centígrados
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
AAS	Acido acetil salicílico
AINEs	Anti-inflamatorio no esteroideos
MALT	Mucosa associated lymphoid tissue (Tumor Linfoide Asociado a las Mucosas)
H.P.	Helicobacter Pylori
<sup>13</sup> C	Carbono 13
<sup>14</sup> C	Carbono 14
H <sub>2</sub>	Hidrógeno
IBP	Inhibidores de la bomba de protones
ELISA	Enzyme linked inmunosorbent assay
pH	Potencial de hidrógeno
BHI	Infusión de corazón cerebro

## GLOSARIO

**Helicobacter:** Bacteria responsable del 80% de los casos de gastritis y úlceras gástricas.

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

**Gastritis:** Inflamación de la mucosa del estómago.

**Linfoma MALT:** Es un linfoma no Hodgkin de células B extranodal, encuadrado dentro del grupo de linfomas de la zona marginal con siglas que definen Tumor Linfoide Asociado a Mucosas.

**Urea:** Principal producto nitrogenado del metabolismo final de las proteínas con fórmula  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  conocida como carbamida.

**Hidrolizar:** Reacción química mediante la cual resultan 2 nuevos componentes a partir de una sustancia compleja mediante la adición de agua y su posterior descomposición.

**Endoscopia:** Técnica diagnóstica y terapéutica que consiste en la introducción de una cámara o lente dentro de un tubo o endoscopio para explorar a través de un orificio natural, una incisión quirúrgica o una lesión dentro de las cavidades internas corporales u órganos del organismo.

**Ureasa:** Enzima que cataliza la degradación de urea a amoníaco y anhídrido carbónico y del ácido hipúrico a ácido benzoico y glicocola.

**Úlcera:** Pérdida de la sustancia de la piel o mucosas circunscrita relacionado con procesos isquémicos, químicos, inflamatorios infecciosos o malignos, que profundizan incluso hasta la muscular de la mucosa.

**Antibiótico:** Sustancia química producida por un ser vivo o fabricada por síntesis capaz de paralizar el desarrollo de ciertos microorganismos patógenos (acción bacteriostática) o de causar la muerte de ellos (batericida).

**Seropositividad:** Reacción positiva en la determinación de anticuerpos a algún antígeno.

**Oxidasa:** Enzima que induce oxidación biológica mediante la activación de oxígeno presente en las moléculas que lo contienen, como el peróxido de hidrógeno.

**Catalasa:** Enzima que cataliza la oxidación por peróxido de oxígeno de muchos compuestos.

**Flagelos.** Filamentos vinculados al desplazamiento de las células pueden ser de tipo liso (latigo) o mastigonemas (cepillo).



**Metanogénesis:** Es la formación de metano por microbios, es una forma de respiración anaeróbica.

**Adhesinas:** Estructura de microorganismos que les permite adherirse con más o menos especificidad a superficies inanimadas o a las células de los tejidos.

**Péptica:** Relativo al estómago o a la digestión de los alimentos.

**Antiinflamatorio no esteroideo:** Sustancias químicas con efecto antiinflamatorio, analgésico con efectos clínicos similares a los corticosteroides.

**Hipertróficos:** Crecimiento excesivo y anormal de un órgano o tejido del cuerpo

**Dispepsia.** Sensación de dolor o ardor en la parte superior del abdomen

**Biopsia:** Método médico para obtener una muestra de tejido u órgano a fin de analizarlos y establecer un diagnóstico de forma precisa.

**Tinción:** Técnica auxiliar de microscopia para mejorar el contraste en la imagen vista al microscopio. También se denomina coloración.

**Metaplasia:** Proceso adaptativo de la mucosa gástrica o esofágica con transformación patológica de las células al estar sometidas durante largos períodos a estímulos irritantes.

**Displasia:** Desarrollo o crecimiento anormal de un tejido, trastorno en el desarrollo de tejidos de órganos o partes anatómicas que producen deformidades o incluso anomalías severas compatibles o no con la existencia de un tejido.

## RELACION DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Reacción de la urea _____	12
Figura 2. Estructura de dos moléculas de pirimidina _____	24

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cociente de tiempos obtenidos con ambas pruebas de ureasa -53 _____	53
---	----

## INDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía 1: Preparación del reactivo de ureasa _____	34
Fotografía 2: Formación de esporas en el reactivo _____	35
Fotografía 3: Proceso de esterilización en luz ultravioleta _____	35
Fotografía 4: Colocación de reactivos en tubos de ensayo _____	36
Fotografía 5: Endoscopia con toma de biopsias de antro _____	39
Fotografía 6: Colocacion de biopsias de antro en soluciones de urea _	40
Fotografía 7: Prueba de ureasa positiva con viraje a rosa fiucsa _____	41
Fotografía 8: Prueba de ureasa negativa sin observar viraje _____	41

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 1:	Sensibilidad y especificidad de los test diagnósticos de infección por <i>Helicobacter pylori</i> . _____	29
Cuadro 2:	Grupo de pacientes por sexo _____	44
Cuadro 3:	Estratificación por grupos de edades de los pacientes _____	45
Cuadro 4:	Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 100% _____	46
Cuadro 5:	Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 50%% más azul de bromotimol _____	46
Cuadro 6:	Reporte de pruebas de ureasa positivas contra biopsia histopatológica (con tabla de 2 x 2 ) _____	48
Cuadro 7:	Reporte de resultados paramétricos _____	51
Cuadro 8:	Cálculo de probabilidades post-prueba (Teorema de Bayes)_____	52

## INDICE DE GRAFICAS:

Grafica 1:	Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 100% _____	47
Grafica 2:	Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 100%_____	47
Grafica 3:	Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 50% _____	49
Grafica 4:	Coefficiente de correlación de Pearson y regresión lineal__	
Grafica 5:	Intervalos de confianza al 95% _____	54

## RESUMEN

**Introducción:** La infección por *Helicobacter pylori* se ha asociado con el desarrollo de úlceras pépticas las cuales presentan alta posibilidad de progresión a adenocarcinoma y linfoma tipo MALT. De ahí que su identificación se ha considerado de vital importancia, con la intención de proporcionar al paciente desde un diagnóstico adecuado, hasta un tratamiento oportuno.

Existen diversos métodos de diagnóstico para *Helicobacter pylori*, sin embargo, no todas están al alcance de todos los servicios de salud. La identificación de este microorganismo por sus características particulares ha servido para desarrollar diversos métodos diagnósticos como es la prueba de ureasa, la cual es un método rápido y sencillo la cual puede proporcionar resultados antes de que el paciente abandone la sala de endoscopia.

**Objetivo:** Comparar la prueba de ureasa con una concentración al 50% más azul de bromotimol, comparada contra biopsia histopatológica y medir el tiempo de reacción de la misma.

**Material y Métodos:** Se realizó un estudio comparativo, transversal, en el gabinete de Endoscopia del Hospital Central Militar (México) con voluntarios referidos para realización de endoscopia con diagnósticos de dispepsia, reflujo gastroesofágico o sospecha de gastropatía ulcerosa. Se calculó un tamaño de muestra de 34 pacientes para cada grupo con el programa power sample size version 23.1.2. Se pesó en el laboratorio multidisciplinario de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad los reactivos y se preparó una solución de urea utilizando estos reactivos más el colorante rojo fenol, así como una segunda solución de urea al 50% con rojo fenol y azul de bromotimol. Las soluciones preparadas fueron sometidas a proceso de esterilización con luz ultravioleta en el laboratorio clínico del mismo Hospital. Se les realizó la endoscopia con toma de biopsia de antro y se tomaron 2 biopsias para patología y 2 para los dos reactivos de urea, midiéndose el tiempo de viraje de ambas soluciones.

**Resultados:** Se seleccionaron 85 pacientes que cubrían los requisitos para el estudio en el periodo del 1 agosto al 28 de Octubre del 2011, excluyendo 6 casos, restando 79 pacientes, con edades desde 14 a 79 años. El 68.36% fueron del sexo femenino y el 31.64% del sexo masculino, encontrando una mayor incidencia de casos entre los 30 y 59 años. Se obtuvieron 46 pacientes con prueba de ureasa positiva las cuales correlacionaron con el reporte de biopsia histopatológica positiva a *Helicobacter*. 27 pacientes con prueba de ureasa negativa y biopsia histopatológica negativa, 2 casos con biopsias negativas y prueba de ureasa positiva, y 4 casos con prueba de ureasa positiva y reporte de biopsia negativa. Se realizó una tabla de 2 x 2 para pruebas dicotómicas, con un intervalo de confianza de 95% y obteniendo con esto una sensibilidad de la prueba del 95.8%, especificidad de 87.1%, con un VPP de 92.0%, VPN del 93.1%, una PFP de 12.9% y proporción de falsos negativos de 4.2%, exactitud del 92.4%, odds ratio de 155.25, índice de Youden de 0.8, coeficiente de probabilidad de 7.43 y una probabilidad preprueba de 60.8%.

**Cuadro 1: Reporte de pruebas parametricas**

	PORCENTAJE	
SENSIBILIDAD	95.8%	86 a 98.82 %
ESPECIFICIDAD	87.1%	71.1 a 94.9 %
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	92.0%	81.1 a 96.8 %
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	93.1%	78.0 a 98.1 %
PROPORCION DE FALSOS POSITIVOS	12.9%	5.1 a 28.9 %
PROPORCION DE FALSOS NEGATIVOS	4.2 %	1.2 a 14.0 %
EXACTITUD	92.4%	84.4 a 96.5 %
ODDS RATIO DIAGNOSTICA	155.25	26.64 a 904.79
INDICE J DE YOUDEN	0.8	
CPP o LR (+)	7.43	2.97 a 18.57
CPN o LR (-)	0.05	0.01 a 0.19
<b>PROBABILIDAD PRE-PRUEBA (PREVALENCIA)</b>	<b>60.8%</b>	

Se obtuvo además un índice de concordancia de los tiempos de reacción de 0.020, que es una variabilidad total de 2% para las dos concentraciones.

Con el tiempo de respuesta de ambas pruebas de ureasa a dos concentraciones, se obtiene un coeficiente de variación de Pearson de 0.999, que nos indica que no hay diferencias entre ambos

**Reactivos.** No se encontró ningninguna diferencia entre la respuesta de la concentración al 100% y la del 50%, considerando que nuestra solución al 50% es tan efectiva como la prueba de ureasa. Durante el procedimiento endoscopico no existió ninguna complicación,

**CONCLUSIONES:**

La prueba de ureasa al 50% es igual de eficaz como la prueba de ureasa al 100% y correlaciona de acuerdo a su sensibilidad y especificidad con la biopsia histopatologica. Asi mismo los reportes pueden ser elaborados en cualquier nivel de atención de salud. La sensibilidad y especificidad encontradas comparadas con la biopsia histopatológica son altas y similares a las comparadas en la literatura. La toma de biopsias por endoscopia sigue considerandose un procedimiento seguro.

## ABSTRACT

**Introduction:** Infection by *Helicobacter pylori* has been associated with the development of peptic ulcers which have high chance of progression to adenocarcinoma or lymphoma MALT type. That is why its identification has been considered of vital importance, in order to providing the patient from a right to prompt treatment diagnosis. The various diagnostic methods for diagnostic methods for *Helicobacter pylori*, not all are available to all health service. The identification of this organism for its particular characteristics has served to develop various diagnostic methods such as urease test, which is a quick and easy method and we can get results before the patient leaves the room of endoscopy.

**Aim:** Compare test of urease with a concentration 50% bromothymol blue compared against biopsy histopathologic and measure the reaction time of the same.

**Material and methods:** A comparative, cross, study was conducted in the Cabinet of endoscopy of the Central Military Hospital (Mexico) with volunteers referrals for realization of endoscopy with diagnostic dyspepsia, Gastroesophageal or suspicion of ulcerative gastropatia. They estimate a sample size of 34 patients for each group with the power sample size version 23.1.2 program. We Weight in the Multidisciplinary Laboratory of the Graduate Military School of Health items and prepare a solution of urea with Phenol Red, and a second solution of urea to the 50% phenol red and bromothymol blue. The solutions prepared were subjected to sterilization process with ultraviolet light in the clinical laboratory of the Hospital. Endoscopy with biopsy of antrum takes took and took 2 biopsies for pathology and 2 for the two reactive of urea, and take the time shift of both solutions

**Results:** Were selected 85 patients than doorposts requirements for study in the period from 1 August to 28 October 2011, excluding 6 cases, subtracting 79 patients, ages 14-79 years. The 68.36% were female and the 31.64% of male, finding a higher incidence of cases between 30 and 59 years. We found 46 patients with evidence of positive urease which correlated with the report's positive histopatology biopsy for *Helicobacter* were obtained. 27 patients test negative urease and biopsy negative histopatology, 2 cases with negative biopsies and proof of positive urease, and 4 cases with test, urease positive and negative biopsy report. Performed a table of 2 x 2, with a 95% confidence interval and obtained thereby a sensitivity of the test of the 95.8%, specificity of 87.1%, with a VPP of 92.0%, the 93.1 VPN %, a PFP of 12.9% and/d ratio of false negatives of 4.2%, exactly from 92.4 %, odds ratio of 155.25, index of 0.8 Yourden, probability of 7.43 coefficient and a probability pre-test of 60.8%.

Table 1: Parametric testing report

	PERCENTAGE	
SENSITIVITY	95.8%	86 to 98.82 %
SPECIFICITY	87.1%	71.1 to 94.9 %
POSITIVE PREDICTIVE VALUE	92.0%	81.1 to 96.8 %
NEGATIVE PREDICTIVE VALUE	93.1%	780 to 98.1 %
/ D RATIO OF FALSE POSITIVE	12.9%	5.1 to 28.9 %
/ D RATIO OF FALSE NEGATIVES	4.2 %	1.2 to 14.0 %
ACCURACY	92.4%	84.4 at 96.5 %
ODDS RATIO DIAGNOSED	155.25	26.64 to 904.79
INDEX J OF YODEN	0.8	
CPP or LR (+)	7.43	2.97 to 18.57
NPC or LR (-)	0.05	0.01 to 0.19
<b>PRE-TEST PROBABILITY (PREVALENCE)</b>	<b>60.8%</b>	

In addition a rate of concordance of the reaction times of 0.020, which is a total variability of 2% for the two concentrations was obtained.

Eventually both urease testing responses to two concentrations, a coefficient of variation of 0.999 Pearson, which indicates that there is no difference between the two reagents is obtained

Not found any difference between the concentration response to 100% and 50%, whereas our 50% solution is as effective as the urease test. During the endoscopy procedure don't existed any complication.

#### CONCLUSIONS:

Urease test 50% is as effective as the urease test is 100% and correlates according to its sensitivity and specificity with the biopsy histopatological. Likewise the reports can be made at any level of health care. Compared with histopathologic biopsy found the sensitivity and specificity are high and similar to the comparative literature. The capture of biopsy by endoscopy continues been sure

**Palabras clave:** Helicobacter pylori, prueba de ureasa.

## 1. INTRODUCCION

La infección por *Helicobacter Pylori* (*H. pylori*) ha sido asociada con el desarrollo de múltiples enfermedades gastroduodenales, desde gastritis crónica superficial, gastritis crónica activa, úlcera péptica y adenocarcinoma gástrico, así como el linfoma tipo MALT. Por lo que su identificación se ha considerado fundamental por la gran repercusión clínica que esta bacteria produce, lo cual nos obliga a un diagnóstico y tratamiento oportuno de la infección (2).

La investigación de *H. pylori* se ha considerado un paradigma de la biología de los patógenos, condicionando el estudio de su evolución, infección, y desarrollo.

Existen diversos métodos diagnósticos para *H. pylori*, estos pueden ser mediante su demostración directa con muestras de biopsias gástricas, o por ciertas características de las bacterias como su capacidad de hidrolizar la urea, o produciendo anticuerpos como respuesta al sistema inmunitario del huésped frente a la infección. Sin embargo ninguno se califica como ideal o que cumpla todos los requisitos para las distintas presentaciones clínicas del paciente. Distintos estudios sugieren utilizar por lo menos dos métodos fiables con el fin de confirmar la presencia de la infección.

Existen múltiples estudios que recomiendan que si se plantea una endoscopía al paciente, el diagnóstico se debe basar en biopsias y test rápido de la ureasa.



La importancia de establecer e incluir la prueba de ureasa dentro del protocolo de toma de biopsias endoscópicas donde se busca helicobacter pylori, sería de gran apoyo para la terapéutica principalmente en los diversos escalones sanitarios que se encuentran fuera de la zona metropolitana, llamados foráneos, pues se egresarían con un resultado, y en caso de ser positivo y la posibilidad de iniciar una terapia de erradicación oportuna por el médico que indicó el estudio.

Así mismo la intención de realizar una prueba de ureasa agregando un reactivo, es para lograr una prueba diagnóstica con menor costo comparada con la prueba de ureasa y en menor tiempo.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 HISTORIA

En 1875, científicos alemanes descubrieron bacterias espirales en el epitelio del estómago humano, pero no pudieron cultivarlas y este descubrimiento se olvidó. En 1892 el investigador italiano Giulio Bizzozero describió una serie de bacterias espirales que vivían en el ambiente ácido del estómago de perros. En 1899 Walery Jaworsky en Cracovia investigó sedimentos de lavados gástricos obtenidos de humanos, además de bacterias alargadas, y encontró otras en forma de espiral, y les llamó vibrio rugula. Su trabajo fue incluido en “El Manual de Enfermedades Gástricas”, pero no tuvo impacto por estar escrito en polaco.

La infección por *H. pylori* posteriormente fue descrita por Kreinitz en 1906, como presencia de bacterias espirales en el estómago humano. Al final fue redescubierta en 1979 por Robin Warren y Barry Marshall, médicos patólogos australianos, quienes lograron cultivarla y describieron el papel de esta bacteria en la gastritis y en la úlcera péptica, recibiendo el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en el año 2005 (1).

Antes de identificar a *H. Pylori* con diversas enfermedades gástricas como las úlceras, éstas eran tratadas con medicamentos neutralizantes de ácido y las úlceras reaparecían después de dejar el tratamiento (2).

Por tanto cuando Warren y Marshall anunciaron los resultados encontrados, la vieja creencia de enseñanza médica de cambios en el estilo de vida y el estrés quedó atrás, demostrando que *H. pylori* causa más del 90% de las úlceras duodenales y hasta el 80% de las úlceras gástricas (31).

Es en 1994 donde los institutos nacionales de Salud de Estados Unidos de Norte América reportaron que las úlceras gástricas eran causadas

por *Helicobacter* y recomendaron el uso de antibióticos para su tratamiento (3).

Se han realizado múltiples estudios donde la infección por *H. pylori* representa un papel principal en el desarrollo de enfermedades digestivas entre ellas la úlcera péptica y el cáncer gástrico, utilizando tanto métodos diagnósticos directos e indirectos.

Los métodos de diagnóstico directos se basan en la demostración del microorganismo de muestras obtenidas por biopsias, y los métodos indirectos se fundamentan en la detección de ciertas características de la bacteria, como ejemplo su capacidad de hidrolizar la urea, o la respuesta del sistema inmunitario frente a la infección con la medición de anticuerpos mediante las diversas pruebas serológicas y otros métodos que aún están en estudio (4).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA.

La prevalencia de la infección por *H. pylori* en úlceras duodenales es del 85 a 95% y de 75 a 85% en úlceras gástricas. Estos pacientes desarrollarán sangrado gastrointestinal o perforación, por lo que se debe realizar un diagnóstico preciso de *H. pylori*, ya que su erradicación reduce significativamente el riesgo de reactivación de la úlcera y previene nuevos episodios de sangrado gastrointestinal (5).

En otros estudios se ha encontrado una prevalencia alta aunque variable, donde 30-80% de la población adulta esta infectada (35).

En un estudio realizado en una cohorte de lactantes en el Estado de Morelos, México, encontraron que la incidencia de sero-positividad para *Helicobacter* fue del 20% al año de vida, en otros países en desarrollo como Egipto encontraron un 13% de positivos a los 9 meses de edad y 25% a los

18 meses, en Perú se reportó una prevalencia de 71.4% a los 6 meses de vida y en Bangladesh 8 de 15 lactantes fueron positivos a *H. pylori* (6).

*H. pylori* se ha encontrado en el estómago de humanos en todas las partes del mundo. En países en desarrollo un 70 al 90% de la población es portadora de *H. pylori*, y en estos casos, todos adquieren la infección antes de los 10 años de edad. En países desarrollados la prevalencia de la infección es baja de 25 a 50%.

Los datos de países desarrollados sugieren que la infección se adquiere desde la niñez. En la mayoría de los estudios los hombres y las mujeres se infectan en la misma proporción (10).

## 2.3 MICROBIOLOGIA

*H. pylori* es un bacilo Gram negativo, helicoidal, curvo, móvil con crecimiento óptimo a 37 °C, catalasa y oxidasa positivo, (7) tiene alrededor de 3 micras de largo y un diámetro aproximado de 0.5 micras, con 4 a 6 flagelos. Es microaerófila, es decir, requiere oxígeno pero a más bajas concentraciones de las encontradas en la atmósfera. Usa hidrógeno y metanogénesis como fuente de energía (10). Habita en la mucosa gástrica humana, y como característica propia es su abundante producción de ureasa, que convierte la urea proveniente de la saliva y la del jugo gástrico en amonio, el cual la protege del fuerte ambiente ácido del medio (7).

Las enzimas útiles para su identificación cuando crece en medios de cultivo son la oxidasa y la catalasa. (18) Su forma espiralada y su motilidad la protegen de las sacudidas peristálticas del estómago. Produce una serie de adhesinas específicas que la anclan al gel mucoso sin invadir directamente el epitelio gástrico. Reside en el estómago del hombre y otros primates, aumentando la secreción de moco por las células secretoras (7).

## 2.4 TRANSMISION.

Se ha aceptado que este organismo ha colonizado los seres humanos posiblemente por muchos miles de años (31).

*H. pylori* parece no ser el reservorio único del estómago humano y se han descrito tres rutas o medios principales de transmisión.

Como primer medio de transmisión se ha considerado el iatrogénico, con tubos de endoscopia o especímenes en contacto con la mucosa gástrica de una persona que se introducen a otra persona, pero la desinfección de los endoscopios ha reducido la incidencia de esta transmisión. La infección ocupacional también se ha reportado en los laboratoristas, los cuales deben tener las precauciones universales en el manejo de especímenes como uso de barreras. Se debe recordar que el *H. pylori* es un patógeno humano, por lo que se deben disponer de medios de eliminación del material contaminado. Estas medidas se deben utilizar para reducir el riesgo de transmisión de enfermedades infecto-contagiosas relacionadas con el trabajo del equipo de salud (27).

La transmisión fecal-oral se ha considerado tal vez la más importante, ya que *H. pylori* ha sido aislado de heces de niños infectados. Se pensaba que la contaminación fecal del agua podría ser una fuente de infección, sin embargo el organismo no se ha podido aislar del agua.

Finalmente la transmisión oral-oral ha sido identificada en el caso de mujeres africanas quienes mastican la comida y se la dan a sus hijos.

No se ha identificado en ningún caso la transmisión de *H. pylori* por contacto sexual.

## 2.5 PATOGENIA.

El proceso de infección por *H. pylori* comienza con una inflamación de la mucosa gástrica con cierto grado de destrucción de foveolas gástricas. *H. pylori* se aloja en ellas creando una nube de amonio gracias a que posee un enzima, la ureasa, para defenderse del medio ácido. Allí actúa extracelularmente sobre las vacuolas de mucina y provocando en muchos casos la erosión de la mucosa.

Inicialmente puede existir una gastritis antral difusa y los linfocitos migran a territorio gástrico, hasta los capilares de la lámina propia. Posteriormente puede aparecer una colonización de los folículos con rara infiltración medular.

*H. pylori* se adapta fuertemente al nicho ecológico de la mucosa gástrica, debido a sus características que le permiten entrar dentro del moco, nadar, atacar a las células epiteliales, evadir la respuesta inmune y como resultado, la colonización y transmisión persistentes.

La supervivencia del germen en la mucosa gástrica se lleva a cabo por una serie de mecanismos que incluyen: *adhesinas*, que le impiden ser arrastrado por el peristaltismo, la actividad ciliar o el recambio epitelial; enzimas bacterianas, como la *ureasa*, que transforma la urea en amonio, produciendo un microclima alcalino que lo protege de la acidez gástrica, *lipasa* y *protesa* que propician la desintegración del moco gástrico y la pérdida de la hidrofobicidad de la mucosa, disminuyendo la capacidad de las células mucosas para secretar moco, catalasa y superóxido dismutasa como línea de defensa ante polimorfonucleares activados.

*H. pylori* causa una continua inflamación de la mucosa gástrica. La respuesta inflamatoria inicialmente consiste en el reclutamiento de neutrófilos, seguidos por linfocitos T y B, células plasmáticas, y macrófagos.

También participan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad que inducen la apoptosis de las células epiteliales.

Los genes del *H. pylori* inducen la formación de IL-8 y otras quimiocinas que atraen a los neutrófilos, también está involucrado el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , la IL-1  $\beta$  y el interferón, que incrementan la liberación de gastrina y de este modo inducen la producción de la secreción ácida, además el factor de necrosis tumoral produce una disminución del número de células antrales.

La infección aguda de *H. pylori* causa hipoclorhidria transitoria y se diagnostica raramente. La gastritis crónica se desarrollará en todas las personas persistentemente colonizadas, pero 80 a 90% nunca tendrán síntomas. El curso clínico posterior es altamente variable y depende de factores bacterianos y del huésped.

Los pacientes con una secreción ácida elevada, son más propensos de tener gastritis antral preferentemente y los predispone a las úlceras duodenales. En cambio, los pacientes con una secreción ácida disminuida, generalmente desarrollan gastritis en el cuerpo del estómago, que los predispone a la úlcera gástrica y donde se puede iniciar una secuencia de eventos que, en casos raros, conducen al carcinoma gástrico.

La infección de *H. pylori* induce la formación del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) en la mucosa gástrica. La relación causal entre esta infección y la úlcera gástrica o duodenal se ha demostrado por la influencia favorable de la erradicación del *H. pylori* en la evolución de la enfermedad ulcerosa (39).

## 2.6 ASOCIACION CON ENFERMEDADES PARTICULARES.

Todos los pacientes detectados con *H. pylori* desarrollan gastritis crónica, pero su condición es generalmente asintomática. La gastritis no es una enfermedad por sí, la enfermedad de úlcera péptica se asoció a la aspirina, antiinflamatorios no esteroideos o raramente al Síndrome de Zollinger-Ellison, Enfermedad de Chron y otros desordenes inflamatorios, donde la enfermedad de úlcera péptica idiopática representaba el 65% de todos los casos. Ahora sabemos que el *H. pylori* es la causa de todos los casos en los adultos y que el tratamiento para erradicarlo conduce a la cura de las úlceras. Así en todas las poblaciones *H. pylori* es la causa de úlceras duodenales.

Los portadores de *H. pylori* también se han asociado con el desarrollo de gastritis atrófica el cual es un precursor del cáncer gástrico y adenocarcinoma del estómago distal. La infección también se asocia con los tumores de tipo intestinal y difuso, esto es muy importante ya que el cáncer gástrico es la segunda causa de muerte a nivel mundial.

*H. pylori* también se ha asociado con una enfermedad gástrica rara, la Enfermedad de Menetrier, en la cual los pliegues gástricos son hipertróficos y los pacientes sufren diferentes síntomas intestinales, siendo denominada dispepsia no ulcerosa y puede estar o no asociado a *H. pylori*. (10)

Se ha intentado asociar a *Helicobacter* con diferentes enfermedades no digestivas como cardiovasculares (aterosclerosis, cefalea primaria, fenómeno de Raynaud primario), de piel (rosácea, alopecia areata, urticaria idiopática crónica), autoinmunes (Síndrome de Sjögren, neuropatía isquémica óptica anterior no arterítica), hepáticas (encefalopatía hepática) y respiratorias (bronquitis crónica, asma bronquial, cáncer de pulmón). (18)



### 2.6.1 Gastritis

La gastritis que se origina después de la infección por *H. pylori*, puede desarrollarse sin manifestaciones o bien originar la expresión clínica propia de la gastritis aguda (dolor epigástrico, náuseas y vómitos). La gastritis aguda por *H. pylori* es un diagnóstico poco frecuente y cuando se ha descrito ha sido tras la ingestión accidental o en voluntarios como en el caso de investigadores que descubrieron la bacteria. Su curso es de 7 a 10 días y puede evolucionar a la eliminación espontánea de *H. Pylori* ó a la cronicidad.

La gastritis crónica se caracteriza por infiltración inflamatoria crónica, constituida por linfocitos, células plasmáticas, folículos linfoides y un grado de actividad variable (infiltración inflamatoria aguda). La gastritis crónica por *H. pylori* es un proceso crónico que evoluciona hacia la atrofia que afecta el antro y la mucosa transicional y se extiende en dirección del cuerpo. También se puede asociar a metaplasia intestinal como respuesta a la agresión crónica. En áreas metaplasicas no se detecta *H. pylori* y la inflamación es menor que en las no metáplasicas. La atrofia y la metaplasia son procesos diferentes que pueden presentarse de manera independiente.

### 2.6.2 Úlcera péptica

La asociación de *H. pylori* con úlcera duodenal es clara ya que del 90 al 95% de los pacientes presentan este microorganismo y la úlcera cicatriza al erradicar la bacteria. Además existe una clara relación en un 70% de la úlcera gástrica con *H. pylori*, ya que el resto de ella están producidas por consumo de antiinflamatorios no esteroideos.

### 2.6.3 Cáncer gástrico

En 1994 la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer de la Organización Mundial de la salud (IARC) incluyó a *H. pylori* como un agente biológico carcinógeno para el hombre. Cuyo papel se comprende porque la gastritis crónica es un factor de riesgo para el desarrollo de este tipo de cáncer. Además el 70% de los pacientes con cáncer gástrico son positivos para *H. pylori*.

### 2.6.4. Linfoma gástrico Tipo MALT

Los pacientes con linfoma tipo MALT el cual es un tipo de linfoma que se localiza preferentemente en el antro del estómago, que es la zona donde existe más tejido linfoide, presentan más del 90% la presencia de helicobacter. Esta asociación es apoyada en que, tras la erradicación de la bacteria, se ha observado regresión del linfoma (18).

## 2.7. DIAGNOSTICO DE LA INFECCION

Existen diferentes herramientas diagnósticas de la infección por *H. Pylori*, casi todas ellas con alta sensibilidad y especificidad. (11)

Estos métodos son: endoscopia con biopsia para histología, test rápido de ureasa y/o cultivo; test del aire espirado con urea marcada con  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$ , anticuerpos anti *H. pylori* en orina y test de antígeno en materia fecal (12).

Con esta amplia variedad de métodos para *Helicobacter pylori*, no existe un método que pueda calificarse ideal y que reúna todas las cualidades para afrontar todas las diferentes situaciones clínicas que se

presentan durante la evolución de la infección. Múltiples autores han recomendado emplear dos métodos que se consideren fiables con el objetivo de confirmar la presencia de la infección, aunque académicamente un paciente se define como positivo cuando el cultivo es positivo. En la práctica clínica es imposible emplear este método de cultivo por su costo y su gran complejidad, por lo que ha quedado reservado para fines de investigación (13, 14).

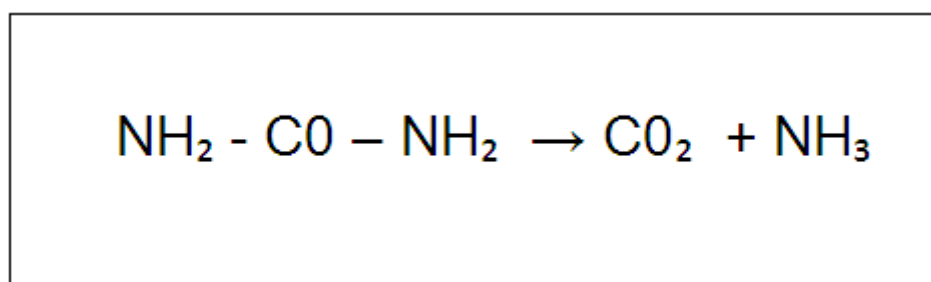
### 2.7.1 Test rápido de la ureasa.

*H. pylori* posee una ureasa que le capacita para la colonización y persistencia en la cavidad gástrica. Se localiza tanto en la membrana como en el espacio periplásmico y está compuesta por una estructura hexámerica. La potencia de la ureasa es muy superior a la de otras bacterias como *Proteus* spp.

La enzima cumple dos funciones adaptativas: protección frente al ácido de la mucosa gástrica, provisión de nitrógeno en forma de amonio y actúa como factor de virulencia en la patogenia de la úlcera gástrica. (18)

El fundamento de ésta prueba consiste en detectar la presencia de la enzima de la siguiente forma: *H. pylori* descompone la urea en anhídrido carbónico y amoníaco, la cual genera un pH básico que se pone en evidencia mediante el cambio de color.

Figura 1. Reacción de la urea.



El test rápido de la ureasa es considerado de elección para diagnóstico de *H. pylori* por endoscopia. Existen muchos test comerciales para realizar esta prueba, entre ellos tenemos: CLO test (Delta West LTD, Bentley, Australia), HP fast (GI Suplply, Philadelphia, U.S.A., Pyloritek Serin Research Corporation Elkhart, India. Determinandose una sensibilidad y especificidad de la prueba de la ureasa en más del 95% según los reportes (13).

El CLOtest, incorpora gel conteniendo urea, rojo fenol como indicador de pH, y un agente bacteriostático. Con una sensibilidad a las 24 horas reportadas en rango del 65% al 99% con especificidad en la mayoría de los estudios de 95% al 100%. Debido a que esta prueba se basa a la prueba de ureasa de *H. pylori* se postulo que incrementando la cantidad de tejido en el CLOtest aumenta el número de organismos y por tanto la concentración de ureasa. Algunos autores han reportado excelente sensibilidad después de cortos periodos de observación del test, aproximadamente 75% a la hora y cerca del 90% a las tres horas. (15).

El procedimiento consta en que se toma una biopsia del antro gástrico durante la endoscopia, que se coloca en un tubo con urea y un indicador. Si la muestra contiene ureasa aumenta el pH y cambia el color de la solución. Pueden producirse resultados falsos negativos si la cantidad de bacterias en el estomago es pequeña y en casos de hemorragia digestiva. Se aconseja tomar una biopsia de la curvatura mayor del cuerpo gástrico cuando el paciente ha recibido recientemente inhibidores de la bomba de protones o tratamiento erradicador y en los casos de úlcera gástrica (11).

Algunos autores han reportado que en los pacientes con úlcera gástrica existe elevada concordancia entre el test rápido de la ureasa y los métodos histológicos cuando las biopsias se obtienen del cuerpo gástrico, pero no ocurre esta concordancia cuando son muestras del antro, en los

que la prueba rápida de la ureasa es menos eficaz para el diagnóstico de infección por *Helicobacter*. Esto podría corresponder posiblemente a mayor presencia en el antro de metaplasia intestinal o atrofia mucosa en los pacientes con presencia de úlcera gástrica, por lo que algunos estudios deducen que deben obtenerse biopsias del cuerpo gástrico (8,9).

Para la prueba se deposita un fragmento de la biopsia gástrica en un tubo o placa de CLotes que contenga una solución de urea entre 2 y 10% con rojo fenol como indicador de pH, si la bacteria esta presente se produce un cambio de color en la solución de urea que se caracteriza por la aparición de un color rojo o rosado fucsia que contrasta con el color amarillo naranja de la solución sin inocular. La reacción positiva (roja o rosado fucsia) esta dada por la hidrólisis de la urea, a traves de la enzima ureasa presente en la bacteria, que desdobla la urea en amonio y anhídrido carbónico, por lo que cambia el pH de la solución y se obtiene el color de la reacción positiva.

La capacidad de *H.pylori* de producir grandes cantidades de ureasa ha servido para desarrollar este método rápido y sencillo de diagnóstico, ya que esta bacteria es la única del tracto digestivo que produce estas grandes cantidades de ureasa que permiten su identificación (13).

Destacan entre sus ventajas que es un método diagnóstico barato y rápido que nos permite con frecuencia conocer en una hora si existe la infección. Entre sus inconvenientes esta su menor sensibilidad si es que se utiliza para confirmar la desaparición de *Helicobacter* tras haber administrado un tratamiento erradicador, por lo que en ésta situación en particular no debe emplearse como método diagnóstico.

Para evidenciar aún más el cambio de color de la solución de urea se han utilizado algunas modificaciones, por ejemplo una solución de urea al 6% y rojo fenol como indicador de pH a una concentración de 0.05%, se le ha añadido azul de bromotimol que brinda un cambio de color mas acentuado y

la lectura puede realizarse antes del minuto y se mantiene una sensibilidad y especificidad similar al procedimiento anterior (13, 16).

### 2.7.2 Estudios histológicos de biopsias

Consiste en la observación de los microorganismos en los cortes histológicos de las biopsias, nos informa de los cambios existentes en la mucosa gástrica. Se aconseja biopsiar el cuerpo gástrico en la misma situación que el test de la ureasa (11).

Entre los métodos de tinción más utilizados en la actualidad esta la hematoxilina y eosina, Giemsa y Wuartin-Starry, también tinciones inmunohistoquímicas, ninguna específica para H.pylory pero permiten identificarlo reconociendo sus características y localización. Debido al relativo costo de la histología se ha sugerido que esta técnica no sea de rutina y se ha reservando solo a los casos en los que el test rápido de ureasa que es más barato fuera negativo.

La tinción hematoxilina y eosina es la técnica más utilizada para el diagnóstico de las muestras incluidas en parafina, su principal ventaja consiste en que permite en diagnóstico y la evaluación de la lesión histologica asociada, además de ser una técnica fácil de realizar de forma rutinaria en los laboratorios de anatomía patológica, tiene como inconveniente requerir experiencia superior al de otras técnicas y tiene la desventaja que debe existir una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer el microorganismo que queda teñido debilmente y que puede confundirse con productos celulares y moco, por esta razón los patólogos recomiendan realizar siempre una tinción especial, ademas de realizar hematoxilina y eosina.

La tinción de Giemsa a diferencia de la anterior permite una fácil identificación de H .pylori por su simplicidad, rapidez y bajo costo. Se han

propuesto otras técnicas de tinción e inmunohistoquímica, la inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales o policlonales frente a *H. pylori*, pero en la práctica clínica esto resulta poco viable, mientras el diagnóstico histológico sí es factible de realizarse, basado en la realización y observación directa de la morfología de la bacteria, proporciona información adicional sobre el estado de la mucosa gástrica y evolución de la infección. Permite descubrir los primeros indicios de evolución hacia metaplasia gástrica y la displasia, lesión considerada pre-neoplásica. Esto nos proporciona argumentos para ejercer acciones preventivas con relación al desarrollo de cáncer (10, 13).

El estudio histológico presenta una tasa más alta de precisión diagnóstica en comparación con el test de ureasa pero ambos son considerados de elección y su combinación aumenta más la tasa de precisión diagnóstica en el evento de sangrado por úlcera péptica. Por otro lado un tema a considerar, es la disponibilidad de los resultados, ya que la lectura de test rápido de ureasa puede estar desde la primera hora hasta las siguientes 24 horas de la toma de muestras en comparación de los 3 a los 6 días o más, que puede demorar los resultados de la histología. Esto podría dar a conocer el estado de *H. pylori* del paciente antes del alta y así permitir el inicio de terapia erradicadora (17).

### 2.7.3 Test de aliento con urea $C^{13}$

Esta prueba se basa en la capacidad de la ureasa producida por *H. pylori* para hidrolizar una solución ingerida de urea marcada con  $C^{13}$  y liberar  $CO_2$ . El  $CO_2$  marcado se absorbe, difunde a la sangre, es transportado a los pulmones y de ahí excretado a través del aire espirado. El  $C^{13}$  es un isótopo no radioactivo por lo que se puede repetir la prueba tantas veces como sea necesario, incluso a niños y embarazadas.

El test de aliento de con urea  $C^{13}$  puede dar resultados negativos en los pacientes tratados con inhibidores de la bomba de protones (IBP) o antibióticos. Se recomienda interrumpir el tratamiento con IBP dos semanas antes (puede substituirse por un agonista  $H_2$  si se precisa disminuir la secreción ácida). Si ha tomado antibióticos, debe diferirse el test por un mes. Puede obtenerse también falsos negativos en pacientes sometidos a cirugía, como consecuencia del rápido vaciamiento gástrico de la urea ingerida (11).

También se ha utilizado  $C^{14}$ , el cual es detectado con un contador de cintilleo, mientras que el  $C^{13}$  es detectado por espectrometría.

Otros microorganismos dentro de la orofaringe también pueden hidrolizar la urea, influyendo además en esta prueba la forma de ingerir la urea y el tiempo de vaciamiento gástrico (10).

#### 2.7.4 Serología

Consiste en la detección de anticuerpos frente a antígenos del *H. pylori* usualmente mediante ELISA. Una ventaja de la serología es que no se afecta por el tratamiento reciente con IBP o antibióticos. Un problema de ésta técnica es que tiene prolongada latencia entre la desaparición del *H. pylori* y la negativización de los anticuerpos, lo que ocurre a partir del sexto mes. Han aparecido métodos de serología rápida que utilizan sangre capilar obtenida por punción del dedo, pero los valores de sensibilidad y especificidad no son buenos y no se recomienda su uso (11).

La infección de la mucosa gástrica con *H. Pylori* da por resultado una respuesta inmune sistémica y local, incluyendo elevación de niveles específicos de IgG e IgA en suero y niveles elevados de IgA secretoria e IgM en el estómago, lo que ha permitido el desarrollo de pruebas serológicas para la detección de la bacteria. Estos estudios no son invasivos, son relativamente rápidos y simples de realizar, y más baratos que las pruebas que requieren biopsias de endoscopias. Además las pruebas serológicas es



menos probable que se alteren por la supresión de la infección por *H. pylori* por componentes como el bismuto, inhibidores de la bomba de protones o la ingesta de antibióticos como en la prueba de la ureasa.

La utilidad de cualquier prueba serológica para la detección de anticuerpos específicos de *H. pylori* depende de la preparación de antígenos los cuales son de 3 tipos. Estos incluyen antígenos crudos, tales como células blancas y células blancas sonicates, fracciones de células como extractos de glicina, antígenos calientes estables, antígenos enriquecidos con ureasa y antígenos de 120 Kda.

La sensibilidad y especificidad de las 3 pruebas es aproximadamente del 95%, sin embargo en un meta-análisis con estudios de 11 kits de ELISA y kit de aglutinación, se encontró un promedio de sensibilidad del 85% y especificidad del 79%.

En ausencia de una intervención terapéutica, los anticuerpos se mantienen elevados, tal vez de por vida, reflejando la duración de la infección.

Después de la erradicación de *H. pylori*, la IgG específica y los niveles de IgA tienden a disminuir, aproximadamente a la mitad del valor previo al tratamiento dentro de 6 meses. Los bajos niveles de IgG específica tienden a persistir por meses después de la erradicación, además se utilizan las pruebas serológicas para valorar los efectos del tratamiento comparando el pre y post tratamiento directamente.

En Estados Unidos, la FDA aprobó pruebas para detectar anticuerpos IgG anti *H. pylori*, resultado de laboratorios clínicos. A pesar de su disponibilidad comercial, tiene la dificultad de que la serología es un método global que refleja cualquier infección en el estómago, pero podría ser más exacto que la biopsia que es el Gold Estándar, sin embargo una biopsia

representa aproximadamente el 0.001% de la superficie del estómago y esta sujeto a una variedad de errores simples.

Las pruebas serológicas pueden ser positivas en pacientes con gastropatía atrófica en el cual, el número de organismos de *H. pylori* es pequeño o indetectable por biopsia o por la prueba de aliento. Algunos individuos con atrofia gástrica continúan teniendo evidencia serológica de infección por *H. pylori* el cual ya se había erradicado. La prueba negativa predice una baja probabilidad de infección en el paciente.

Existen pruebas de anticuerpos comerciales disponibles para el paciente, utilizan sangre del dedo como suero. Sus datos son limitados, uno de ellos es Flexsure HP y Quickview One Step, aprobadas por la FDA. Pero los datos sugieren que aunque son baratos (menos de 15 dólares), tienen baja exactitud. (10)

#### 2.7.5 Cultivo y antibiograma

El cultivo de *H. pylori* tiene dos ventajas, permite probar la sensibilidad antimicrobiana y el cultivo aislado puede ser caracterizado en detalle. La sensibilidad de cultivos en laboratorios experimentados es mayor del 95%, otros métodos de diagnóstico son más simples y con menos variabilidad.

Se recomienda que las muestras de mucosa gástrica para el cultivo sean inicialmente colocadas en solución salina por corto tiempo, menos de 6 hrs. Si el cultivo se va a retrasar, un medio más complejo como el medio de Stuart o suplemento con infusión corazón-cerebro debe ser utilizado. Los medios que contienen glicerol son susceptibles para biopsias que se van a almacenar a largo plazo a menos 70 °C.

Existe por tanto una variedad de medios selectivos y no selectivos disponibles comercialmente para el cultivo de *H. pylori*. El uso de múltiples medios puede incrementar la susceptibilidad. *H. pylori* requiere un ambiente microaeróbico, alta humedad e incubación a 35 a 37 °C por un máximo de 7 a 10 días. Los cultivos positivos son generalmente detectados después de 3 a 5 días de incubación. *H. pylori* es identificado en base a la morfología de la colonia (traslúcida, que varían de tamaño y que consisten en gram negativos, curvados, generalmente no helicoidales, bacilos ureasa, catalasa y oxidasa positivos, y que al agregar sales de tetrazolium permite la identificación de colonias de *H. pylori* en medio agar.

Las muestras son colocadas en tubos que son agitados por 5 minutos, por cada tubo de microcentrifuga de infusión corazón- cerebro (BHI) son tomados y colocados en placas de agar corazón-cerebro conteniendo 7% de sangre de borrego, 0.4% de *H. pylori* isovitalex. Las placas son incubadas a 37 °C en una incubadora con CO<sub>2</sub> por 3 a 7 días. Los cultivos son positivos al identificar la morfología de las colonias (19).

Ésta es una técnica compleja y ni aún conociendo la sensibilidad bacteriana se alcanza una eficacia erradicadora del 100%, pues no existe una total correlación entre la sensibilidad antibiótica in vitro e in vivo. Aunque se recomienda el cultivo cuando han fracasado dos tratamientos erradicadores. En la práctica clínica no suele realizarse (11).

#### 2.7.6 Antígeno en heces

Es un método directo no invasivo que permite la detección de antígeno de *H. pylori* en muestras de heces, con anticuerpos policlonales o monoclonales y pueden existir pequeñas diferencias entre ellos.

Este método se ha descrito como válido para establecer el diagnóstico inicial, verificar la eficacia del tratamiento en las cuatro o seis

semanas posteriores a su realización y comprobar la reaparición de una infección. Se trata de un ensayo cualitativo (no cuantitativo). La técnica aporta una información muy valiosa por la fácil obtención y conservación de las muestras, se puede realizar en cualquier laboratorio de microbiología y no necesita la colaboración del paciente (como en el caso de la prueba de aliento). Es muy útil en niños pequeños. Puede utilizarse tanto para el diagnóstico de colonización por *H. pylori* como para el seguimiento después del tratamiento erradicador.

El equipo Premier Platinum HpSA (Meridian diagnostics) es una técnica de inmunoanálisis preparado con anticuerpos policlonales anti *H. pylori*, el cual presenta excelente especificidad pero existen datos variables de sensibilidad de 57.7% a 96.6% según los estudios (18).

#### 2.7.7. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa ofrece una gran promesa con una técnica altamente sensible y específica para la detección de *H. pylori*. Los factores que afectan su exactitud incluyen elección de primers, blancos de DNA, preparación del espécimen, densidad de la bacteria y técnicas de procedimiento de PCR, en el cual se ha reportado un 100% de sensibilidad y especificidad para la detección de infección de *H. pylori*. Se ha encontrado PCR y ensayo de PCR con transcriptasa reversa el cual ha demostrado excelente exactitud en un limitado número de pacientes.

#### 2.8. MANEJO DE LAS MUESTRAS:

Para recogida de muestra se deben tener en consideración las siguientes indicaciones:

### 2.8.1 Toma de la muestra.

La muestra más habitual es la biopsia a partir de la mucosa gástrica predominantemente en la parte antral, excepto en individuos tratados con IBP y antihistaminicos anti H<sub>2</sub> en los que se encuentran densidades más grandes en el cuerpo. H. pylori se encuentran igualmente en mayor proporción en el antro gástrico en comparación con el duodeno en pacientes con duodenitis. Debido a su distribución parcheada se recomiendan varias biopsias para el aislamiento. Si se va a enviar a cultivo, se requieren cuatro biopsias, si bien se acepta de manera general y de acuerdo a la clasificación modificada de Sydney que para asegurar un diagnóstico suficiente se deben procesar para cultivo al menos una muestra de antro y si es posible tomar dos.

Cualquier antibiótico con actividad frente a H. pylori reducirá considerablemente el número de bacterias en el estómago. Si el paciente ha estado con antibióticos, es necesario esperar al menos cuatro semanas tras la última dosis para obtener resultados satisfactorios para el cultivo.

Otro aspecto es la limpieza de los fórceps con los que se realizan las biopsias, los cuales deben desinfectarse para evitar contaminaciones entre los pacientes.

### 2.8.2 Transporte y conservación de la muestra.

H. pylori es un microorganismo lábil y el procesamiento debe hacerse de forma rápida una vez que ésta ha sido obtenida. Debe introducirse la biopsia en un tubo estéril con 0.5ml de suero salino, considerandose que H. pylori puede permanecer viable en suero salino hasta 6 hrs de tal forma que si la siembra se realiza con posterioridad, la biopsia debe introducirse en un medio de transporte semisólido para aumentar la visibilidad de la bacteria hasta 48 hrs y si se conserva en nevera a 4 °C.

### 2.8.3 Condiciones de incubación.

*H. pylori* es un microorganismo microaerófilo y requiere para su crecimiento una atmósfera con 5-10% de oxígeno, 5-10% de CO<sub>2</sub> y 80- 90% de N<sub>2</sub> a 35-37 °C, una humedad del 95% y una incubación hasta de 10 días.

### 2.8.4 Subcultivos y conservación de cepas.

Una vez obtenido el aislamiento, se debe cultivar cada 48 a 72 hrs en medios no selectivos en las condiciones anteriormente expuestas. Las cepas se pueden conservar en caldo tripticasa, soja o infusión de cerebro-corazón con glicerol al 20% en congelador a -80 °C ó en nitrógeno líquido.

### 2.8.5 Limitaciones de procedimientos:

La contaminación excesiva de flora orofaríngea puede impedir el crecimiento de *H. pylori* incluso en medios selectivos. La incubación prolongada de las placas en medios microaerófilos con alta tasa de humedad puede favorecer el crecimiento de hongos contaminantes que dificultan o imposibilitan el cultivo del microorganismo. Otras bacterias que produzcan ureasa pueden positivizar falsamente la prueba de la ureasa. De igual forma puede ocurrir en pacientes con úlcera sangrante. (18)

### 2.8.6. Esterilización de los reactivos.

La esterilización es el proceso mediante el cual se alcanza la muerte de todas las formas de vida microbianas, incluyendo bacterias y sus formas esporuladas, hongos y sus esporas y virus.

La porción ultravioleta del espectro incluye todas las radiaciones desde 15 a 390 nm. Las longitudes de onda alrededor de 265 nm son las que tienen mayor eficacia como bactericidas (200 – 295 nm).

En la esterilización por luz ultravioleta, se transmite baja cantidad de energía transmitida, afectando solo a los electrones de los átomos periféricos de las moléculas, produciendo solo estados de excitación.

Estas radiaciones son muy utilizadas en laboratorios como técnicas de esterilización de rutina, ya que los adelantos tecnológicos han simplificado estos equipos y su manipulación.

El principal mecanismo del efecto letal de la luz ultravioleta sobre las bacterias, se atribuye a su absorción por el ADN y el resultante daño de ese. Así provocan la formación de uniones covalentes entre los residuos de pirimidina adyacentes pertenecientes a la misma cadena, lo que provoca la formación de dímeros de pirimidina de tipo ciclobutano. (ver Fig. 2)

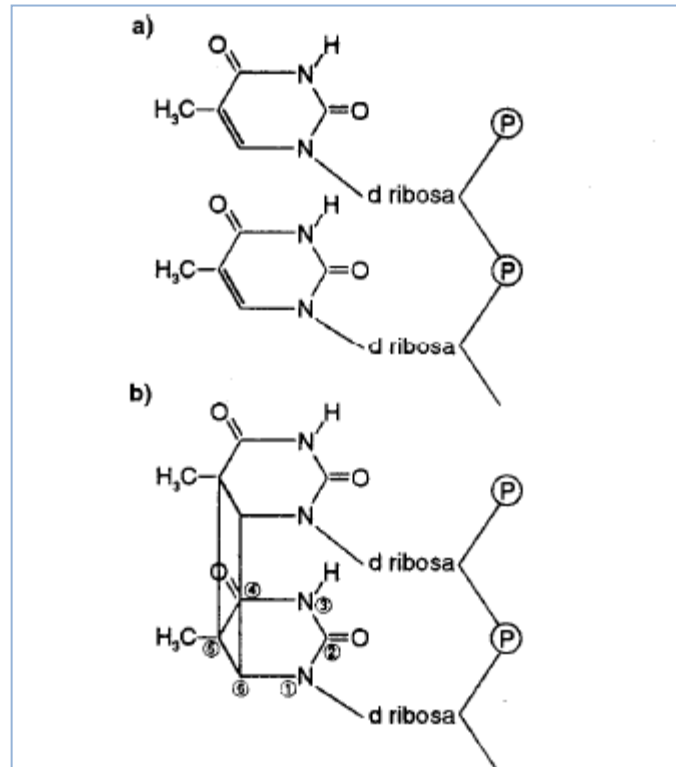
La luz ultravioleta tiene poca capacidad para penetrar la materia por lo que solo los microorganismo que se encuentran en la superficie de los objetos que se exponen directamente a la acción de luz ultravioleta son susceptibles de ser destruídos.

Esto produce distorsiones en la forma del DNA e interfiere en el apareamiento normal de las bases. El resultado final es la inhibición de la síntesis de ADN y secundario a esto, inhibición del crecimiento y respiración.

Estas radiaciones pueden producirse artificialmente con lámparas de vapor de mercurio, siendo igualmente efectivas para Gram (+) y Gram (-).

Su principal uso es para esterilizar el aire y superficies, ya que no penetra sólidos y lo hace pobremente en líquidos. (36,37)

Figura 2. Estructura de dos moléculas de pirimidina.



A. Organización normal: B. Organización luego de exposición a rayos ultravioleta donde se puede ver el ciclo butano que se forma entre los carbonos 5 y 6 de amnas moléculas.

## 2.9. TRATAMIENTO

Actualmente existen diversos esquemas terapéuticos que buscan la erradicación del *H. pylori* a través de medicamentos bacteriostáticos y bactericidas. Dentro de éstas drogas encontramos amoxicilina, tetraciclinas,



sales de bismuto las cuales no crean resistencia. También contamos con eritromicina, clindamicina, quinolonas y metronidazol.

Amoxicilina: erradica al microorganismo hasta en un 20% y se utiliza por la conveniencia de su dosificación, combinado con omeprazol, aumenta su efecto terapéutico. La dosis recomendada es de 500mg 4 veces al día.

Tetraciclinas: no es muy efectivo para la erradicación del H. pylori, pero es estable en un medio ácido, se recomienda una dosis de 500 mg cuatro veces al día.

Sales de bismuto: Las tasas de curación de la úlcera péptica es prácticamente igual a la que se obtiene con bloqueadores H<sub>2</sub>, por lo que se recomienda en pacientes con úlcera refractaria al tratamiento con estos últimos.

Eritromicina: la tasa de erradicación es similar a la de la amoxicilina. Claitromicina: tiene una tasa de curación del 60%, por lo que es la única droga con tal efectividad.

Quinolonas: No se conoce su efectividad.

Metronidazol: Se ha demostrado que en países desarrollados el 75% de las cepas de Helicobacter Pylori son sensibles, situación que en los países en vías de desarrollo no es así, por el uso indiscriminado del fármaco contra las parasitosis.

Las drogas antes mencionadas se utilizan en forma combinada para evitar resistencia o para lograr una mayor eficacia. Sin embargo el uso de amoxicilina asociado a omeprazol ha mostrado ser eficaz en la erradicación del Helicobacter en un porcentaje que oscila entre el 70 y 80%.

A cada uno de estos esquemas podría asociárseles bloqueadores H<sub>2</sub> u omeprazol como parte del tratamiento convencional ya que no debe cuestionarse el efecto terapéutico de estos fármacos en la enfermedad ulcerosa.

La triple terapia que consiste en un inhibidor de la bomba de protones y dos antibióticos es el tratamiento de elección. Es más eficaz que la doble terapia y tanto como la cuádruple, que es menos aceptable. No existe un acuerdo general acerca de la duración óptima del tratamiento, si una semana o dos. Una semana es casi tan efectiva como dos, tiene un coste menor y menos efectos adversos, por lo que parece tener una mejor relación coste-efectividad (20,21,22), sin embargo algunas sociedades recomiendan 14 días por su mayor tasa de erradicación (un 4% superior) (23). La erradicación se produce en el 82-84% de los casos y las reinfecciones suponen menos del 1% anual (24).

Todos los médicos deben conocer un segundo régimen terapéutico para usar en caso de fracaso del primero. Las recidivas son generalmente un problema de resistencia antibiótica que debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar el tratamiento y que ocurre de forma usual después de un fracaso terapéutico. *H. pylori* es resistente a metronizadol en 15 a 66% y en 8 a 30% a claritromicina. No existe resistencia a la amoxicilina y es baja o inexistente a tetraciclinas (25).

En caso de haber usado recientemente para cualquier indicación claritromicina debe usarse un tratamiento antibiótico alternativo. El fracaso de un régimen terapéutico que contenga claritromicina está generalmente en relación con resistencia a este antibiótico (22).

La diferencia entre distintos IBP es mínima en cuanto a seguridad y eficacia. En caso de insuficiencia hepática la dosis de omeprazol no debe

exceder de 20 mg/ día, y se ha encontrado que omeprazol interfiere con cumarínicos y fenitoina.

La cuádruple terapia está indicada en caso de elevada resistencia a claritromicina (>20%) y en caso de fracaso de la triple terapia que incluya claritromicina (22).

Los regímenes con levofloxacino (IBP+ amoxicilina+ levofloxacino) de 10 días de duración deben considerarse solo cuando fallen las pautas referidas previamente (22).

#### 2.9.1 Situaciones especiales.

Se debe prestar atención a las siguientes situaciones como:

- Incumplimiento terapéutico, enfermedad maligna de base, test H. Pylori negativos por tratamientos recientes (antibiótico o IBP), uso no declarado de AAS o AINEs, tabaquismo (mayor tasa de fallo de erradicación), enfermedad de Crohn y Síndrome de Zollinger-Ellison.

#### 2.9.2. Indicaciones de test para H. pylori

Está indicado hacer un test para *H. pylori* en los siguientes casos:

- Pacientes con enfermedad ulcerosa activa.
- Pacientes sintomáticos con historia documentada de úlcera sin tratamiento erradicador previo. En estos pacientes es tan alta la asociación que puede ser más eficiente tratar sin realizar previamente test alguno.
- Reparición de los síntomas en un paciente tratado.
- Pacientes con síndrome ulceroso.

- Individuos tratados para confirmar su curación en caso de que exista úlcera asociada, antecedente de úlcera y tratamiento antisecretor crónico y persistencia de síntomas dispépticos.

No está indicado hacer test en los siguientes casos:

- Individuos asintomáticos con historia previa de úlcera.
- Individuos consumidores crónicos de antiácidos por reflujo gastroesofágico.
- Para confirmar la curación de forma rutinaria (26).

La erradicación del *H. pylori* se asocia a una mejoría de síntomas de dispepsia, sin embargo no está claro que este indicado hacer test a todos los individuos con dispepsia. Se necesitan más estudios para valorar la relación coste-beneficio en atención primaria (27).

En pacientes con síndrome ulceroso y especialmente en nuestro sistema de atención de salud (con tiempos de espera para pruebas prolongado) una opción razonable y eficiente es “probar y tratar”. Un paciente con síndrome ulceroso y test *H. pylori* positivo puede tratarse con terapia de erradicación sin la solicitud de una endoscopia ni una prueba de contraste en individuos menores de 50 años y sin síntomas de alarma (28).

## 2.10. ESTUDIOS DE INTERVENCION:

En el cuadro 1, se describen la sensibilidad y especificidad de los distintos test diagnósticos de la infección por *H. Pylori* (29). El test de elección para la confirmación de la erradicación es el test de urea en el aliento, que debe realizarse al menos 4 semanas después de haber finalizado el tratamiento erradicador.

Cuadro 1: Sensibilidad y especificidad de los test diagnósticos de infección por H. pylori.

Test	Sensibilidad	Especificidad	Coste
• Cultivo	• 75 - 90%	• 100%	• Alto
• Biopsia	• 85 -95%	• 95 - 100%	• Bajo
• Serología	• 85-95%	• 80 - 95%	
• Test ureasa rápida	• 85-95%	• 95 - 100%	
• Antígeno en heces	• 90 - 100%	• >95%	• Medio
• Urea en aliento	• 90 - 100%	• 90 - 100%	• Alto

La sensibilidad del cultivo y de la histología se ha encontrado de un 77 a un 85% respectivamente. La sensibilidad a una hora de prueba de ureasa fue de 83% y especificidad del 100% llegando a ser positiva a los 5 min en el 68% de los pacientes.

La utilización de solución de urea con rojo fenol inicio en 1988. En un estudio que contenía urea al 6% con una sensibilidad y especificidad reportada del 93 al 100% respectivamente a los 15 min (32). En otro estudio se utilizó urea al 10% fue utilizado obteniendo un cambio de color al minuto con una sensibilidad del 91% y 100% de especificidad (33).

Ruiz et. al. investigaron el cambio de color en la biopsia del espécimen con una solución al 10% con una sensibilidad hasta los 30 min de 82% y especificidad del 96%. Y en otro estudio utilizando la misma solución reportaron una sensibilidad al minuto del 89% y una especificidad del 100% (34).

En un estudio realizado por Castro Fernando M, utilizando la prueba rápida de ureasa en pacientes con sangrado por úlcera duodenal, resultó

positiva en 83% de los pacientes y 93% de los pacientes sin sangrado y úlcera duodenal. Con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.019$ ): OR: 0.35; CI 95%(0.13-0.93) (5).

La causa de la disminución de la sensibilidad diagnóstica de la prueba de ureasa en caso de sangrado por úlcera duodenal, se ha asociado a traslocación bacteriana debido al efecto bactericida del suero. Otra posibilidad es que la albúmina sérica puede inducir un efecto amortiguador sobre el indicador de pH utilizado para la prueba de ureasa, el cual puede evitar el cambio de color. Sin embargo concluyeron en su estudio que la presencia de sangrado no representa un factor condicionante para disminuir la sensibilidad de la prueba de ureasa (5).

### 3. JUSTIFICACION

La infección por *Helicobacter pylori* es una de las más comunes en el hombre y en algunos casos los pacientes desarrollan enfermedades gástricas complicadas. Se estima que un 70 a 80% de la población de países desarrollados son portadores de *Helicobacter pylori* y debido a la presencia de úlceras gástricas, hemorragias y riesgo de progresión a cáncer gástrico, por lo que es importante realizar un diagnóstico temprano y realizar una intervención llámese tratamiento oportuno de erradicación de *H. pylori* a fin disminuir la sintomatología de los pacientes así como evitar la progresión de la enfermedad a estados más graves como lesiones premalignas hasta el cáncer.

En los sistemas institucionales de salud con tiempos de espera prolongados para el reporte de pruebas diagnósticas, una opción razonable y eficiente es la prueba de urea, ésta es una prueba simple que puede realizarse en el cuarto de endoscopía, con un reporte positivo desde los 5 minutos de tomada la muestra, de tal forma que los pacientes foráneos a los que se realiza biopsia por endoscopia en el gabinete de Endoscopía del Hospital Central Militar egresarían a sus escalones sanitarios después de esta sencilla prueba, con indicación de iniciar si es necesario la terapia de erradicación, sin tener que esperar hasta 8 semanas o más en iniciar su terapéutica adecuada o en casos más extremos, que se pierda el paciente.

Este tipo de prueba reduciría los costos de tratar complicaciones en caso de no iniciar un tratamiento temprano y además serviría para poder ofrecer un tratamiento oportuno y adecuado a los pacientes.

#### 4. HIPOTESIS DE TRABAJO

La prueba de ureasa con una concentración al 50% correlaciona adecuadamente con la presencia de Helicobacter demostrada en el estudio histopatológico de pacientes con enfermedad ulceropéptica.

#### 5. OBJETIVO

##### 5.1 Objetivo General

Determinar la eficacia de prueba de ureasa al 50% agregando un colorante para determinar la presencia de helicobacter en comparación con la biopsia histológica de pacientes sometidos a endoscopia por enfermedad ulcero- péptica para reconocimiento de Helicobacter.

##### 5.2 Objetivos particulares

1. Determinar el tiempo de reacción de prueba de ureasa al 3-4% considerada como 100% más rojo fenol y al 50% con rojo fenol mas azul de bromotimol en paciente con enfermedad ulcero péptica a las cuales se les realizó biopsia endoscópica para búsqueda de Helicobacter.
2. Comprobar la eficiencia diagnóstica de las dos concentraciones de ureasa al 100% y al 50%.

#### 6. PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es el porcentaje de sensibilidad y especificidad de la prueba de ureasa a dos concentraciones diferentes comparada con reporte histopatológico?



## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO:

Se realizó un estudio con las siguientes características:

Es un estudio observacional, comparativo, prospectivo, transversal con un universo de trabajo constituido por pacientes de ambos sexos, con síntomas de dispepsia, sospecha de gastropatía ulcerosa, y reflujo gastroesofágico, los cuales fueron referidos de la Consulta Externa de Gastroenterología y Consulta Externa de Cirugía General del Hospital Central Militar, así como de otros escalones sanitarios para realizar Panendoscopia durante el período comprendido del 1 de Agosto al 20 de Octubre del 2011, la cual se realizó en el Servicio de Endoscopia del Hospital Central Militar.

### 7.2 METODOLOGIA DEL ESTUDIO

#### 7.2.1 Selección de pacientes:

1. A los pacientes los cuales fueron enviados para ser sometidos a endoscopia superior en el gabinete de endoscopia del Hospital Central Militar, se seleccionaron pacientes con diagnóstico de referencia de sospecha de gastropatía ulcero-péptica, síntomas de dispepsia o reflujo gastroesofágico.
2. A estos pacientes se les invitó a participar en el estudio y se les solicitó autorización y firma de consentimiento informado para la toma de dos biopsias adicionales a su estudio ya programado y realizar la prueba de ureasa a las dos concentraciones preparadas.

### 7.2.2. Preparación del reactivo

Fue necesario recalculer los reactivos de la formula de la urea. Se pesaron los reactivos para la prueba de ureasa en una balanza analítica en el Laboratorio Multidisciplinario de La Escuela Militar de Graduados de Sanidad, y se preparará la solución en el Laboratorio Clínico del Hospital Central Militar.



Fotografía 1: Preparación de reactivo de urea 3-4%.

Las soluciones se prepararon con urea al 3 - 4% y con un indicador de pH que fue el rojo fenol, de la siguiente manera:

Solucion A: La primera solución de urea 3-4% contenía los siguientes reactivos: 60 g/dl de urea, 0.012 g/L de rojo fenol, 2 g/L de  $\text{KH}_2\text{P}_4$ , 1 g/L de peptona, 5 g/L de NaCl y 10 g/L de glucosa en 1 litro de agua destilada. Es la considerada en este estudio prueba de ureasa al 100%.

Solución B: La segunda solución a probar contenía urea al 3-4% e indicador de pH con rojo fenol: con 30 g/L de urea, 0.06 g/L de rojo fenol, 1 g/L de  $\text{KH}_2\text{P}_04$ , 0.5 g/L de peptona, 2.5 g/L de NaCl y 5 g/L de glucosa mas 0.05 gramos de azul de bromotimol en 1 litro de agua destilada. Considerada en este estudio como prueba de ureasa al 50%.

Se sometieron ambos reactivos a esterilización con luz ultravioleta en el laboratorio clínico del Hospital cada tercer día a fin de evitar contaminación por otros germenos y se mantuvieron en refrigeración a 8 grados centigrados.



Fotografía 2: Se observa la contaminación de reactivo por esporas si no se sometian a proceso de esterilización.



Fotografía 3: Proceso de esterilización en luz ultravioleta de los reactivos.

Una vez preparados los reactivos, se colocó 0.5 ml de ambas soluciones o reactivos en tubos de ensaye esterilizados, y se parearon y numeraron para obtener las muestras de biopsias de los pacientes, y rotularlas con los nombres de los mismos, tomando el tiempo desde la toma de la biopsia, hasta el tiempo de reacción de la prueba obteniendola conel viraje de color del reactivo.



Fotografía 4. Colocación de reactivos en tubos de ensayo estériles.

### 7.2.3 MANEJO DE BIOPSIAS.

Dos de las biopsias de antro que eran tomadas durante el procedimiento endoscópico, se enviaron al servicio de anatomía patológica para su revisión por los patólogos. A las biopsias se les realizó tinciones con GIEMSA para la identificación de helicobacter. Las otras dos biopsias de antro tomadas fueron colocadas en tubos con urea a dos concentraciones.

### 7.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN:

#### 7.3.1 Criterios de inclusión.

- Adultos de ambos sexos
- Diagnóstico de referencia de dispepsia en estudio, sospecha de gastropatía ulcerosa, reflujo gastroesofágico y pirosis

- Pacientes que requirieran la realización de endoscopia superior y que aceptaron de manera voluntaria participar en el estudio con firma para su autorización en la Carta de Consentimiento informado.

#### 7.3.2 Criterios de no inclusión.

- Pacientes que por algún motivo hubieran recibido tratamiento antibiotico con quinolonas o que en ese momento estuviera tomando antibioticos.
- Pacientes que en el ultimo mes hayan tenido tratamiento con inhibidores de la bomba de protones y bloqueadores de la bomba de hidrogeno, o derivados de bismuto.
- Pacientes que hubieran recibido tratamiento previo erradicador de Helicobacter pylori, y pacientes en los cuales se reporte cáncer gástrico en estudio histopatológico.

#### 7.3.3. Criterios de exclusión.

- Pacientes embarazadas
- Diagnóstico previo de cáncer gástrico
- Antecedente de cirugía gástrica previa, hemorragia digestiva reciente
- Pacientes inestables (hepatopatía crónica, insuficiencia cardiaca o respiratoria, insuficiencia renal, diabetes mellitus descompensada o cualquier tipo de neoplasia)
- Negación por parte del paciente.

#### 7.3.4 Criterios de eliminación.

Pacientes que soliciten retiro voluntario del estudio

## 7.4 DESCRIPCION DE LAS VARIABLES.

### 7.4.1 Variable independiente

Realización de la prueba de ureasa.

Definición operativa: Es la realización de la prueba de ureasa a través de la reacción química de la ureasa con el amonio producida por la bacteria *Helicobacter pylori*.

Tipo de variable: Cualitativa

Escala de Medición: Nominal dicotómica

Unidades de medición: Reacción positiva o no.

### 7.4.2 Variable dependiente

Tiempo de respuesta positiva de la prueba.

Tiempo para virado.

Expresión histopatológica con la presencia de *Helicobacter*.

## 7.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se calculó en base a los trabajos de investigación de Castro y Fernández M. (Diagnosis of *Helicobacter Pylori* infection using ureasa rapid test in patients with bleeding duodenal ulcer: influence of endoscopic signs and simultaneous corporal and antral biopsies.) donde se reporta una prevalencia de infección por *H. pylori* en úlceras gástricas del 75 a 85%.

La muestra quedó conformada por 34 pacientes para cada grupo, la cual se obtuvo utilizando el programa Power and Sample Size Calculations Versión 2.1.31, considerando con muestras independientes, estudio

transversal, con 2 proporciones y corrección de chi cuadrada, con un valor de alfa de 0.05, valor de Beta de 80%, un poder de 0.8.

## 7.6 DESCRIPCIÓN OPERATIVA DEL ESTUDIO.

En el área de Endoscopia del Hospital Central Militar, se invito a participar a los pacientes que serían sometidos a endoscopia superior con diagnóstico de referencia de sospecha de gastropatía ulcerosa, con síntomas de dispepsia ó enfermedad por reflujo.

Al paciente se le explicó el objetivo del estudio y se le entregó el formato de consentimiento informado el cual firmo de manera voluntaria. Se le informó de las características de la investigación, las posibles complicaciones y el procedimiento a realizar en caso de presentar complicación alguna.

Los endoscopistas realizarón la endoscopia con toma de biopsias de antro gástrico y en algunos casos necesarios en áreas sospechosas por la presencia de alguna lesión para diagnóstico histológico.





Fotografía 5. Endoscopia con toma de biopsias de antro.

Para la prueba de ureasa se tomaron dos muestras de la curvatura menor de antro y se colocaron en los dos tubos de ensaye que contenian 0.5 ml de la prueba de urea al 100% y otra con urea al 50% más el indicador azul de bromotimol. Se tomarón además las dos muestras para el estudio histopatológico y de ser necesario biopsias de otros sitios si el estudio lo ameritaba, las cuales se colocaban en frascos con formol.

Se utilizaron siempre las primeras biopsias de antro para la realización de la prueba de ureasa a fin de no coontaminarlas con el sangrado.



Fotografía 6: Colocación de biopsias de antro en las soluciones de urea.

Se tomo nota del tiempo inicial con la toma de la biopsia y el tiempo de reacción de la prueba de ureasa a dos concentraciones, considerandose la prueba positiva al observarse el viraje de las soluciones de urea a rojo o rosado fucsia, la cual es dada por la hidrólisis de la urea; y prueba negativa si es que no había cambio alguno en la solución. Los tubos que contenían el reactivo más la biopsia se mantuvieron en observación por 48 hrs.



Fotografía 7: Prueba de ureasa positiva con viraje a rosa fucsia.



Fotografía 8: Prueba de ureasa negativa sin observar viraje.

Se realizó la toma del tiempo de respuesta de las pruebas positivas con cambio de color desde los 5 min, 15 min, 30 min, 1 hr, hasta 24 hrs con las dos concentraciones de preparadas.

Las biopsias de mismo estudio endoscópico enviadas a patología se les realizó correlación histológica con tinciones de hematoxilina y eosina y en casos dudosos con tinción de Giemsa. El patólogo desconocía el resultado de la prueba de ureasa.

Se comparó el resultado de la prueba de ureasa a las dos concentraciones con el reporte histopatológico que indicó la presencia o no de la bacteria de helicobacter.

En todo el proceso de la investigación desde la autorización de procedimiento, toma de muestra y realización de pruebas de ureasa así como toma de tiempo de la reacción, y al recabar el reporte histopatológico el investigador principal estuvo presente.

## 8. ANALISIS ESTADISTICO.

La información obtenida de los estudios realizados fue capturada en el programa Excel, y posteriormente se concentró para su análisis estadístico. El análisis de los resultados se realizó de acuerdo con la distribución de los datos utilizando una correlación de Pearson para el análisis de la asociación de las variables cuantitativas para el tiempo de reacción de la prueba de ureasa.

## 9. ASPECTOS ETICOS.

El estudio se realizó en apego a las normas éticas Internacionales y Nacionales, respetando los artículos 16 a 21 de la Ley General de salud en materia de Investigación en seres humanos.

El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Enseñanza e Investigación y por el Comité de Bioética del Hospital Central Militar y se obtuvo el consentimiento informado del paciente (Anexo 1), respetando en todo momento su libertad de abandonar el estudio en el momento que lo considerara conveniente.

El proyecto programado se consideró con riesgo mayor al mínimo, por tratarse de toma de biopsias durante el procedimiento endoscópico, el cual ya estaba programado de acuerdo a lo solicitado por médicos gastroenterólogos y cirujanos generales quienes indicaron el estudio y por considerarse como de práctica habitual.

Se informó a los participantes de cada uno de los procedimientos planeados, explicando con detalle y de manera suficiente las ventajas y las posibles molestias derivadas de su participación en el estudio.

Se puntualizó de manera específica que el procedimiento no ponía en peligro su vida, y que en el momento que deseara podía abandonar el estudio sin detrimento de su atención médica.

## 10. RESULTADOS.

### A. DESCRIPCION DE LA MUESTRA

Durante el periodo de 1 de agosto del 2011 a octubre del 2011 se captaron en total 85 pacientes que reunían los criterios de inclusión. De estos pacientes, 6 fueron excluidos, 1 por biopsia no concluyente, 3 por no ameritar la toma de biopsias ante los hallazgos de endoscopia y su sintomatología y 3 por complicaciones de anestesia que ameritaron suspender el procedimiento endoscópico, quedando en total 79 pacientes.

De los 79 pacientes que integraron el estudio, 54 pacientes (68.36%) fueron del sexo femenino, y 25 pacientes (31.64%) fueron del sexo masculino.

Cuadro 2: Grupo de pacientes por género.

<b>Pacientes (genero)</b>	<b>Número de pacientes</b>	<b>Porcentaje</b>
Femenino	54	68.354 %
Masculino	25	31.646 %
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>100%</b>

Se realizó una estratificación por grupos de edad encontrando una mayor frecuencia de pacientes con presencia de bacteria helicobacter entre los 31 años y 70 años.

Cuadro 3: Estratificación por grupos de edades de los pacientes.

<b>Grupo</b>	<b>Edades</b>	<b>Número de pacientes</b>
1	(14 a 29 años)	8
2	(30 a 44 años)	20
3	(45 a 59 años)	26
4	(60 a 74 años)	19
5	(75 a 89 años)	6
<b>Total</b>		<b>79</b>

Del grupo en estudio se obtuvieron muestras de pacientes con edades con un rango de 14 a 79 años, con un promedio de 50.5 años.

## B. CARACTERIZACION DE LOS REACTIVOS

De la respuesta de las pruebas de ureasa realizadas a dos concentraciones con la biopsia gástrica, se obtuvo que ambas concentraciones presentaron viraje a rosa fiucsca ante la presencia de la bacteria de helicobacter, ya sea con poca o nula diferencia de tiempo, sin embargo en todos los casos esta positividad de reacción fue demostrada en ambos tubos.



Se obtuvo que la mayoría de las observaciones de positividad de la reacción se presentarán desde los 5 minutos hasta los 60 minutos, como se observa en los cuadros 4 y 5.

Cuadro 4. Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 100%.

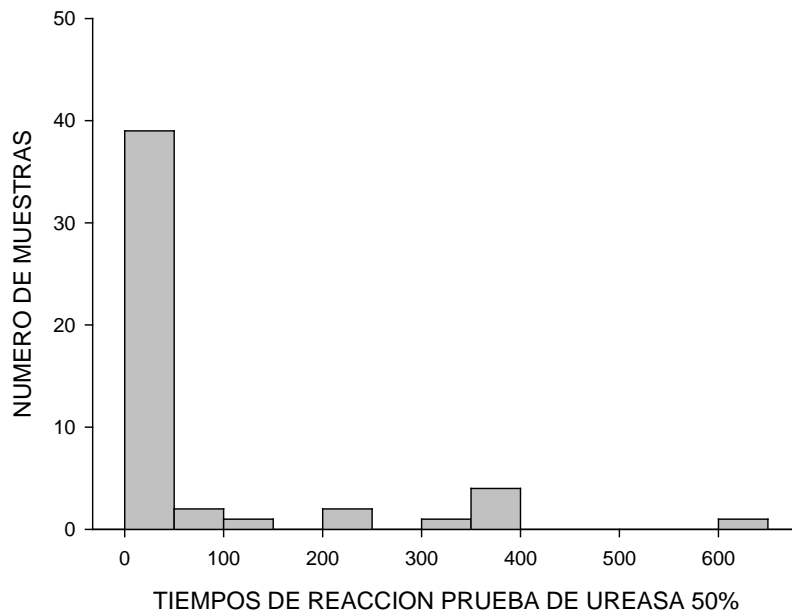
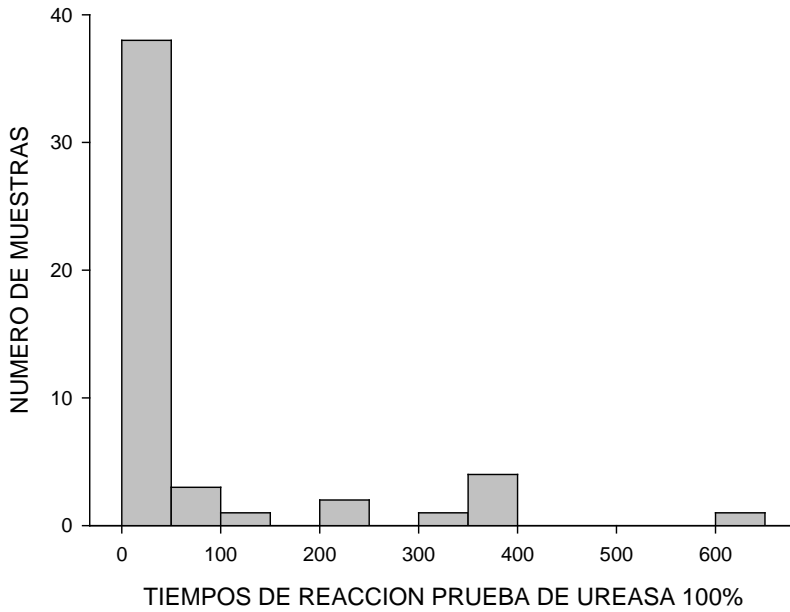
<b>Grupo 1</b>	<b>Minutos</b>	<b>Número de pacientes</b>
1	0 a 5 min	3
2	10 a 30 min	27
3	31 a 60 min	11
4	61 a 360 min	7
5	361 a 600 min	2
6	> 600 min	0
<b>Total</b>		<b>50</b>

Cuadro 5: Tiempo de reacción de prueba de ureasa al 50% más azul

de bromotimol

<b>Grupo 1</b>	<b>Minutos</b>	<b>Número de pacientes</b>
1	0 a 5 min	3
2	10 a 30 min	22
3	31 a 60 min	16
4	61 a 360 min	8
5	361 a 600 min	1
6	> 600 min	0
<b>Total</b>		<b>50</b>

Grafica 1 y 2: Tiempos de reacción de prueba de ureasa al 100% y al 50%.



Se encontró como se observa en los histograma que no hubo diferencias entre la reacción de la prueba de ureasa al 100% y al 50%.

De los 79 procedimientos realizados, se obtuvieron 46 pacientes con prueba de ureasa positiva que correlacionaron con reporte de biopsia histopatológica, 27 pacientes con prueba de ureasa negativa y reporte de biopsia histopatológica negativo, 4 casos con prueba de ureasa positiva y reporte de biopsia histopatológica negativa y 2 casos con biopsia negativa y prueba de ureasa positiva.

Por lo cual realizando una tabla de 2 x 2 para comparar estos resultados se obtuvieron los siguientes datos:

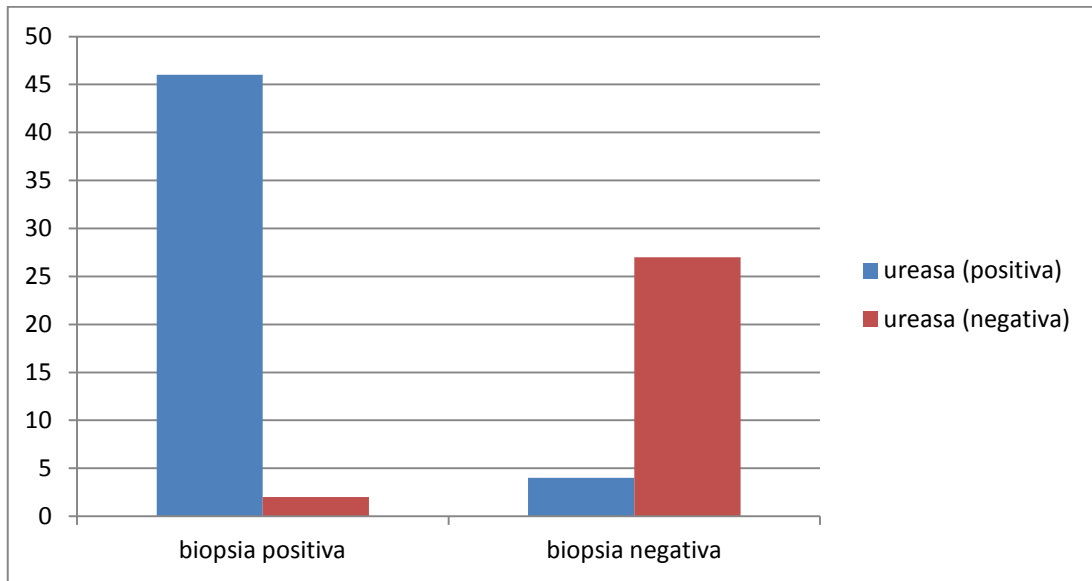
Cuadro 6: Reporte de pruebas de ureasa positivas contra biopsia histopatologica (con tabla de 2 x 2)

	<b>Biopsia Histopatológica</b>	<b>Positivas</b>	<b>Negativas</b>	<b>Total</b>
<b>Prueba de Ureasa</b>				
Positivas		46	4	50
Negativas		2	27	29
<b>Total</b>		<b>48</b>	<b>31</b>	<b>79</b>

P< 0.0001 (Chi)2 RR: 0.18 (-4.4 a 4.75)

Con esto encontramos por tanto que existe una dependencia de ambos resultados, es decir que el resultado de la biopsia depende totalmente de la ureasa. Con un riesgo relativo que nos indica que no hay diferencia entre ambas técnicas.

Grafica 3. Reporte de prueba de ureasa contra biopsia histopatológica



Con estos resultados, considerandolos como dicotómicos, con un intervalo de confianza del 95% se obtienen los siguientes resultados:

- A. SENSIBILIDAD: Se obtiene una sensibilidad del 95.8% de la prueba de ureasa comparada contra biopsia histopatológica, lo que significa que el 95.8% de los pacientes con prueba de ureasa positiva tendrán presente la bacteria.
- B. ESPECIFICIDAD: Se obtiene una especificidad del 87.1% de la prueba de ureasa comparada contra biopsia histopatológica, lo que nos habla de la utilidad de la prueba.
- C. VALOR PREDICTIVO POSITIVO: Se obtuvo un valor predictivo positivo del 92.0%, lo que indica la probabilidad de que un paciente tenga la bacteria helicobacter, si la prueba de ureasa es positiva.

- D. VALOR PREDICTIVO NEGATIVO: Se obtuvo un valor predictivo negativo del 93.1% lo que indica la probabilidad de que un paciente no tenga la bacteria helicobacter, si la prueba de ureasa es negativa.
- E. PROPORCION DE FALSOS POSITIVOS: Se obtuvo una proporción de falsos positivos del 12.9%, que es la probabilidad de que la prueba de ureasa sea positiva entre pacientes que no tienen la bacteria helicobacter.
- F. PROPORCION DE FALSOS NEGATIVOS: Se obtuvo una proporción de falsos positivos del 4.2%, que es la probabilidad de que la prueba de ureasa sea negativa entre pacientes que tengan presente la bacteria de helicobacter.
- G. EXACTITUD: Se obtuvo una exactitud de la prueba de ureasa del 92.4%, que es la probabilidad de que la prueba clasifique correctamente a los pacientes.
- H. INDICE DE YOURDEN: Se obtiene de 0.8, lo que indica la seguridad diagnóstica, cuando se aproxima a 1, mayor es la calidad del resultado obtenido al realizar la prueba de ureasa al paciente.
- I. COCIENTE DE PROBABILIDAD: Se obtiene un cociente de probabilidad de 7.43, (likelihood ratio) que es el cociente entre la probabilidad de un resultado en los pacientes que tienen la bacteria y los que no la tienen. Nos permite calcular la probabilidad postprueba, en este caso representa cambios con incrementos moderados.
- J. PROBABILIDAD PRE-PRUEBA: Se obtiene una probabilidad pre-prueba de 60.8%, y que representa la prevalencia de los pacientes que presentan la prueba de ureasa positiva en el estudio

Cuadro 7: Reporte de resultados paramétricos.

	<b>PORCENTAJE</b>	<b>Graduados</b>
SENSIBILIDAD	95.8%	86 a 98.82 %
ESPECIFICIDAD	87.1%	71.1 a 94.9 %
VALOR PREDICTIVO POSITIVO	92.0%	81.1 a 96.8 %
VALOR PREDICTIVO NEGATIVO	93.1%	78.0 a 98.1 %
PROPORCION DE FALSOS POSITIVOS	12.9%	5.1 a 28.9 %
PROPORCION DE FALSOS NEGATIVOS	4.2 %	1.2 a 14.0 %
EXACTITUD	92.4%	84.4 a 96.5 %
ODDS RATIO DIAGNOSTICA	155.25	26.64 a 904.79
INDICE J DE YOUTDEN	0.8	
CPP o LR (+)	7.43	2.97 a 18.57
CPN o LR (-)	0.05	0.01 a 0.19
<b>PROBABILIDAD PRE-PRUEBA (PREVALENCIA)</b>	<b>60.8%</b>	

Realizando el cálculo de probabilidades post-prueba con probabilidad pre-prueba estimada del 83% se obtienen los siguientes resultados según el Teorema de Bayes:

- A. **PROBABILIDAD POST-PRUEBA POSITIVA:** Se obtiene una probabilidad post-prueba positiva de 97.3% que indica la probabilidad condicional de que el paciente tenga la bacteria helicobacter si la prueba de ureasa es positiva.
- B. **1 MENOS PROBABILIDAD PRE-PRUEBA POSITIVA.** Se obtiene la probabilidad pre-prueba estimada de 2.7% que es la propabilidad condicional de que un paciente no tenga la presencia de bacteria helicobacter si la prueba es positiva.
- C. **1 MENOS PROBABILIDAD PRE-PRUEBA POSITIVA:** Se obtiene la probabilidad pre-prueba estimada del 81.1% que nos indica la

probabilidad condicional de que un paciente no tenga la bacteria, si la prueba es negativa.

D. **PROBABILIDAD POST-PRUEBA NEGATIVA (PPPN)** Se obtiene una probabilidad post-prueba negativa de 18.9% que nos indica la probabilidad condicional de que el paciente tenga la bacteria si la prueba de ureasa es negativa.

Cuadro 8: Cálculo de probabilidades post-prueba  
(Teorema de Bayes)

Probabilidad pre-prueba estimada	83%	<i>IC 95%</i>	
		88,5%	a
Probabilidad post-prueba positiva (PPPP)	97,3%	99,4%	
		0,6%	a
1 – PPPP	2,7%	11,5%	
		63,5%	a
1 – PPPN	81,1%	91,3%	
		8,7%	a
Probabilidad post-prueba negativa (PPPN)	18,9%	36,5%	

Se realizó un índice de concordancia de los tiempos de reacción de los dos reactivos obteniéndose un valor de 0.020.

Esto significa que al contrastar las dos concentraciones de reactivos, se considero una variabilidad total del 2%, lo que se considera aceptable desde el punto de vista técnico.

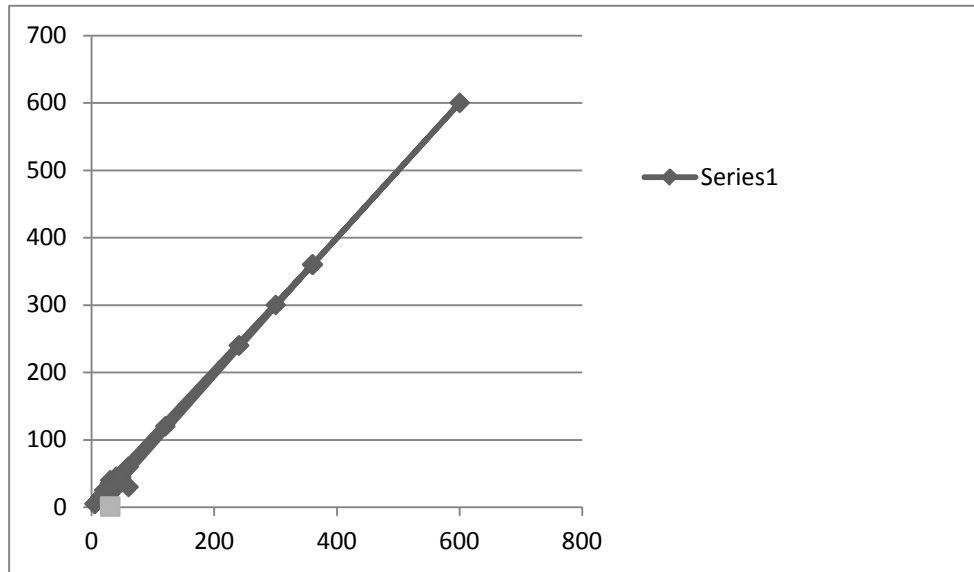
Tabla 1: Cociente de tiempos obtenidos en ambas pruebas de ureasa

Urea 100%	Urea 50 %	Cociente
30	30	1
30	30	1
60	60	1
30	30	1
60	60	1
60	30	2
30	20	1.5
30	30	1
45	45	1
360	360	1
30	40	0.75
30	30	1
20	20	1
20	20	1
30	30	1
35	37	0.94
40	45	.8
30	35	.8
20	25	.8
360	360	1
10	10	1
42	32	1.3
360	360	1
360	360	1
15	15	1
300	300	1
600	600	1
30	30	1
30	35	.8
30	35	.8
15	15	1
240	240	1
240	240	1
15	15	1
20	15	1.33
30	35	.8
5	5	1
10	10	1
120	120	1
15	15	1
38	42	.9
45	45	1
30	32	0.9
30	30	1
5	5	1
40	45	0.8
5	5	1
45	45	1
28	30	0.9
30	30	1
Promedio		1,02857143

Se realizó el coeficiente de variación de ambos tiempos obteniendo un coeficiente de variación de Pearson de 0.999.



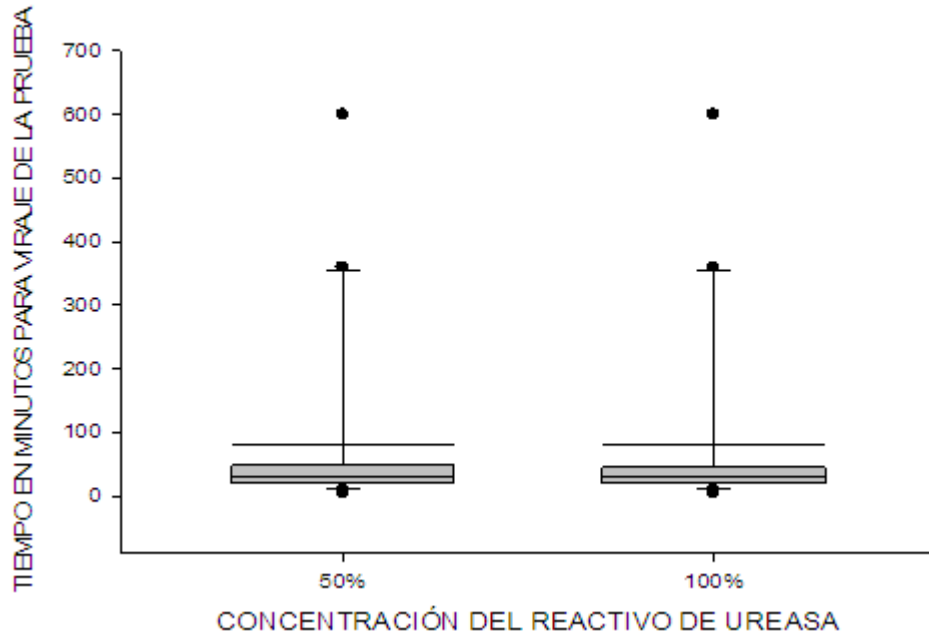
Grafica 4. Coeficiente de correlacion de Pearson y regresión lineal.



Esto significa que el 99.99% de la variación de urea al 100% se explica por la variación de urea al 50% de manera directamente proporcional, y el contraste mediante regresión lineal de ambas pruebas sera un  $r^2 = 0.998$  con una valor de  $p < 0.0001$ .

Lo que significa que la correlacion entre ambas pruebas es estadisticamente significativa y que no hay diferencias entre las mismas, lo que se demuestra en la Grafica 4..

Gráfica 5. Intervalos de confianza al 95% y valores extremos de la pruebas.



### C. EVALUACION DE SEGURIDAD DE LOS PROCEDIMIENTOS DIAGNOSTICOS.

Durante el procedimiento endoscópico, no existió ninguna complicación con la toma de biopsias para nuestro estudio, por lo cual el procedimiento endoscópico con toma de biopsias se considera de alta seguridad.

### D. COMPLICACIONES TECNICAS DE LOS PROCEDIMIENTOS.

#### 1. Del reactivo

Fué necesario recalcular la fórmula para la elaboración de la prueba líquida de ureasa, pues con la recomendada por la bibliografía no fue posible obtener un reactivo ambar, específicamente con los

colorantes, el rojo fenol y azul de bromotimol, disminuyendo desde un 50, 25 hasta 12.5% de la referida en la literatura.

## 2. Problema de esterilización y contaminación

Durante la prueba piloto realizada antes de protocolo, se observó que el reactivo de ureasa a pesar de prepararse con agua destilada esterilizada, en recipientes esteriles y conservarse la muestra en refrigeración, la solución formaba esporas, por lo que fue necesario someter la solución de urea a un proceso de esterilización con luz ultravioleta y evitar la contaminación y sobrecrecimiento bacteriano cada 3 días así como evitar que alterara las propiedades del reactivo. Una vez efectuado este proceso fué factible conservar el reactivo hasta por 8 días.

## 3. De la prueba de ureasa al 100% comparada con la dilución al 50%.

Se obtuvo que no hay diferencias entre la respuesta de una concentración al 100% y otra al 50%, ya que los dos reactivos siempre viraron ante la presencia de la bacteria.

## 11. DISCUSION.

La infección por helicobacter pylori ha constituido un reto para los gastroenterólogos, por la sintomatología tan común en dispepsia y reflujo gastroesofágico. Sin embargo su detección se ha demostrado con este estudio que es factible realizarlo con los recursos habituales de instituciones hospitalarias, al no presentar dificultades técnicas para su preparación y en cuanto a su conservación, es decir esterilización, considerar que la mayoría de las campanas de flujo laminar utilizada en los laboratorios de los hospitales cuentan con luz ultravioleta.

En lo que respecta a el costo de elaboración de la solución de urea, éste es muy bajo y los reactivos requeridos para la misma no representan una dificultad para su adquisición, así como los colorantes, por lo cual también puede ser reproducible.

Este trabajo comparativo y transversal ha demostrado utilidad, ya que se esperaba que la dilución al 50% de la prueba de ureasa agregando azul de bromotimol fuera tan efectiva como la concentración habitual, lo cual fué demostrado realizando la correlación de Pearson que reportó que no existían diferencias significativas en el tiempo de reacción de ambas soluciones, y que siempre existió reacción ante las dos soluciones preparadas.

Sin embargo no fue factible acelerar la reacción, traducida en la reducción del tiempo de respuesta de la solución, por lo que ante una posibilidad de una perspectiva de otros estudios la solución habitual de ureasa habitual 3-4% podría agregarse azul de bromotimol y posiblemente nos daría acortamiento del tiempo de reacción.

Se observó además que a pesar de que existió contaminación por esporas, posiblemente gram positivos o gram negativos intrahospitalarios, las soluciones de urea preparadas nunca viraron a fucsia, por lo que la prueba demostró una sensibilidad de 95.5% y una especificidad de 87.1%, lo

cual la hace muy específica para la bacteria de helicobacter. Y esta sensibilidad encontrada en nuestro estudio es mayor comparada a la reportada en la literatura como se menciona en los antecedentes.

Se espera que con la realización del presente estudio y al demostrarse que su utilidad y la factibilidad de ser reproducible, pueda establecerse como protocolo habitual en el servicio de Endoscopia del Hospital Central Militar, así como en los escalones sanitarios en los que se realicen procedimientos de endoscopia con toma de biopsias, para beneficio de los pacientes, lo cual se traduciría en establecer un diagnóstico de manera oportuna y un tratamiento adecuado ante la presencia de la bacteria.

De mayor importancia son sobre todo aquellos pacientes que acuden a realizarse el estudio y que son de Estados de la República Mexicana alejados, llamémosle foráneos, quienes tienen que esperar al reporte de endoscopia para iniciar su tratamiento, en el mejor de los casos y en otros, que el paciente pudiera perder su seguimiento y por lo tanto encontrarse ante el riesgo de gastritis, úlceras, e incluso casos más severos como el cáncer gástrico.

En cuanto a los reportes de las observaciones que se alejaron de tiempo mayor de 180 min, esto podría corresponder a diferentes causas, entre ellas una baja carga bacteriana, lo cual retrasaría el tiempo de reacción y la observación de cambio de viraje. Otra causa considerada, es que a pesar de que se descartaron pacientes con antecedente de ingesta de inhibidores de bomba de protones, de antiácidos y bloqueadores de bomba de protones, algunos pacientes estaban tomando desde antihipertensivos, antidiabéticos orales que pudieran cambiar el pH gástrico y con esto retrasar la reacción. Otra probable causa aunque no se demuestra en los reportes es la presencia de atrofia gástrica o la edad de los pacientes.

## 12. CONCLUSIONES.

- A. La prueba ureasa al 50% es igual de eficaz como la prueba de ureasa al 100%, y puede ser elaborada en cualquier nivel de atención.
- B. La sensibilidad y especificidad comparada con la biopsia histopatológicas son altas comparadas con la técnica de ureasa.
- C. No existió una disminución del tiempo de reacción de la prueba de ureasa en las dos concentraciones propuestas, encontrándose un rango desde los 5 min hasta las 10 hrs, sin embargo no hubo ningún reporte mayor de 24 hrs.
- D. Los resultados obtenidos son equiparables a los reportados en la literatura en cuanto a sensibilidad y especificidad, por lo que se considera que el reactivo elaborado en nuestra institución puede ser reproducible en cualquier otra.
- E. La toma de biopsias por medio de endoscopia sigue considerándose un procedimiento seguro a pesar de ser invasivo

### **13. PERSPECTIVAS.**

Los resultados de este estudio han sido satisfactorios, sin embargo, nos permitiría iniciar líneas de investigación con diversas rutas como se mencionan:

1. Es importante evaluar las condiciones farmacológicas, es decir los medicamentos que podrían afectar el tiempo de reacción de la prueba.
2. En cuanto al costo del procedimiento endoscópico, desde que el paciente es referido a una especialidad, como pasar por el servicio de medicina interna, riesgo cardíaco, gastroenterología, la toma de estudios de laboratorio, el apoyo anestésico para la sedación, cuyos costos son elevados y sería importante realizar el estudio de costos y determinar si la prueba de ureasa líquida, podría abreviar esta secuencia.
3. Otra línea importante sería analizar los tipos de bacterias, hongos o virus que afectaron las soluciones de urea preparadas así como medir el tiempo de vida media de la solución preparada.

## 14. BIBLIOGRAFIA.

1. BJ Marshall, Jr. Warren. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1 (8336):, 1983: 1273-125.
2. BJ Marshall, Jr. Warren. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1 (8390):, 1984: 1311-1315.
3. S. Hernandez Tratamiento de la ulcera peptica por helicobacter pylori. *Farm Hosp* 1996; 20(1): 17-22.
4. Gisbert J.P., Vazquez M.A., Cantero J.y. Pajares J.M. Estudio de validez de la serologia rapida para el diagnostico de la infeccion por helicobacter pylori. *Atencion Primaria* 2002. 30(8): 501-506.
5. Castro F. M, Sanchez M. D, García D.E, Galán J. M.V. y Rodriguez A.C. Diagnosis of helicobacter pylori infection using ureasa rapid test in patients with bleeding duodenal ulcer: influence of endoscopic signs and simultaneous corporal and antral biopsies. *Esp. Enferm. Dig (Madrid)* .2004: 96(9): 599-605
6. Belkind-Gerson Jaime et al. Incidencia de infección por Helicobacter pylori en una cohorte de lactantes en el estado de Morelos. *Salud pública Méx* [online]. 2001, vol.43, n.2 [citado 2011-06-15], pp. 122-126. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342001000200007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342001000200007&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0036-3634.
7. Barry V. Sagar V. Rapid Urease Test to diagnose helicobacter pylori infection. *Journal of Medical Education and Research* . 2006 8 (2) 2, April – June
8. Martinez L.Gonzalez M, Helicobacter Pylori. Una puesta al día. GIBSON W. GENE TREES REVEAL DISEASE ORIGINS. *SCIENCE*



2001; 290; 705-706.  
<http://www.sld.cu/sitios/gastroenterologia/temas.php?idv=18247>

9. Stackebrant E. The Prokaryotes Unifying phylogeny and phenotypic diversity en: ballows a, trüper hg, dworkinnn m., 2<sup>nd</sup> ed. Springer Verlag, New York 1993; 19-47.
10. Dunn B, Cohen H, Blaser M. Helicobacter pylori. Clinical Microbiology Reviews, Oct. 1997: 720-741.
11. Sainz R, Borda F, Dominguez E. et al. Diagnostico y tratamiento de la infeccion por helicobacter pylori.. Conferencia Española de Concenso por Helicobacter pylori. Rev. Esp. Enferm. Dig. 1999;91;777-784
12. Fry L, Curioso W, Rickes S, Horton S. Comparasion or <sup>13</sup>C-urea blood test to <sup>13</sup>C - breath test and rapid urease test for the diagnosis of helicobacter pylori infection. Act Gastroenterol Latinoam 2005;35 225-229. 35(4) .
13. Martinez Leyva. Carbajal P., Rojas F, Oramas G, Busquet B, El helicobacter pylori en la patologia gastroduodenal, prevalencia de la infeccion por helicobacter pylori en pacientes dispepticos, Rev Panam Infectol 2004;6 (4): 8-14.
14. Gonzalez C., Bello M. Helicobacter Pylori (El Tercer Dogma). En su: Diagnostico por la infeccion de helicobacter pylori . España .Valle del Ebro. 2003: 201-219 y s.b.n.:84-2065-1-2.
15. Laine L., Chun D, Stein C. et al. Influencia del tamaño y numero de biopsias sobre resultados de test de ureasa rapido: un estudio prospectivo. Gastrointestinal Endoscopy 1996; 43: 49-53.
16. Sayi D. The value of the urease test in diagnosis or helicobacter pylori. Endoskopi 1992 5-11.
17. Bravo E., Guzman P., Gallegos R. Corzo M., Zegarra A., Surco Y., Piscocoya A., Huerta J., Utilidad del test rapido de ureasa para la deteccion de helicobacter pylori en la hemorragia digestiva alta por ulcera peptica. Rev. Gastroenterol Peru; 2011; 31-1: 1720.
18. Alarcon T., Vaquero M, Domingo D., Lopez M., Royo G., Diagnóstico Microbiologico de la infeccion por helicobacter pylori. En su:

Procedimientos en Microbiología Clínica. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Editorial Elsevier. 2004,

19. Islam M., Rahman S., Muazzam S., Kibria S. A comparative study among different invasive methods for the diagnosis of helicobacter pylori. Faridpur Med. Col. Journal. 2010. 5(1): 21-24
20. Dyspepsia: management of dyspepsia in adults in primary care. Nice Guideline. National Institute for Health and Clinical Excellence (nice). 2007 (6 junio 11). Disponible en: <http://guidance.nice.org.uk/CG17>
21. Ford A, Delaney B, Forman D, Moayyedi P. Tratamiento de erradicación de la úlcera péptica en pacientes con pruebas positivas para el helicobacter pylori. (revisión Cochrane traducida). Bibliotheca Cochrane Plus. Oxford, 2008 ; 3 : update software ltd.
22. Fuccio I, Laterza I, Zagari R, Cennamo V, Grilli D, Bazzoli F. Treatment of helicobacter infection. BJM 2008 15;337: a 1454.
23. Malfertheiner P, Megraud F, Morain C, Bazzoli F, Omar E, Graham D, et al. Current Concepts in the Management of Helicobacter pylori infection: The Maastricht III Consensus Report. Gut 2007, 56:772-81.
24. Rodgers C, BSc, Veldhuizen S. A meta-analysis of the success rate of helicobacter pylori therapy in Canada. Can J Gastroenterol. 2007 May;21 (5): 295-300.
25. Megraud F. H. pylori antibiotic resistance: prevalence, importance and advances in testing. Gut 2004;53:1374-84.
26. Peterson W, Fendrick A, Cave D., Peura D, Arabedian-ruffalo S., Laine I. Helicobacter pylori-related disease. Guidelines for testing and treatment. Arch Intern Med 2000,160; 9: 1285-1291
27. Barbieri Pedro. Bioseguridad en quirófano. Rev. Arg. Anest. 1995;53:3: 147-160.
28. Tratamiento de las enfermedades gastroenterológicas. Asociación Española de gastroenterología. (AEG), 2011. Elsevier, 3/a Edic, Sección II. Estómago, capítulo 10, úlcera péptica e infección por Helicobacter Pylori. Pag. 109 a 121.

29. Gisbert JP. Enfermedades relacionadas con H. Pylori: dispepsia, úlcera y cáncer gástrico. *Gastroenterol Hepatol.* 2008; 31(supl 4): 18-28
30. 23 years of the discovery of *Helicobacter pylori*: Is the debate over? *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 2005. 4:17
31. Vaira D, Holton J, Soosay G, Polydorou A, Cairns SR, Dowsett JF, Dánastasio C, salmon PR. Giemsa, Gram an Hematoxylin eosin, gastric brushing satin vs. histology, culture and CP test for detecting *Campylobacter pylori*. *Gastroenterology.* 94: A474, 1988.
32. Arvind AS, Cook RS, Tabaqchali S, Farthing MJG. One-minute endoscopy room test for *Campylobacter pylori*. *Lancet i:* 704, 331:704, 1988.
33. Ruiz B, Janney A, Diavolitsis S, Correa P. One minute test for *campylobacter pylori*. *Am J. gastrenterol.* 84: 202, 1989.
34. Rafols Crestani A, Salanas Saura P, Ramio Pujolras G, Suelves Esteban N, Rodriguez Gonzalez C, Gonzales Pastor C, Pallares Segarra M. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en atención primaria. *Aten Primaria.* 2000 May 15; 25(8)563-7.
35. *Helicobacter Pylori*: clínica, diagnóstico y tratamiento. Alba P RS, Toledo RA, Viana M *Revista Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina - N° 158 – Junio 2006 Pág. 9-12*
36. Higiene y educación. Esterilización y desinfección. Rafael Vignoli. Cap 20
37. Control de las poblaciones microbianas. Esterilización y desinfección. Pedro F. Mateos. Departamento de Microbiología y genética. Cap IV. 3. Radiaciones. 2009

## 15. ANEXOS

### **Anexo A. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Lomas de Sotelo, México Distrito Federal a \_\_\_\_ de \_\_\_\_ del 2011.

En el servicio de endoscopia del Hospital Central Militar se está llevando a cabo el estudio EFICACIA DIAGNOSTICA PARA HELICOBACTER PYLORY COMPARANDO PRUEBA DE UREASA CONTRA BIOPSIA HISTOPATOLOGICA, a fin de instaurarlo como protocolo de diagnóstico a los estudios realizados en ese servicio y establecer de manera oportuna a que pacientes se les aplicara un tratamiento de erradicación para helicobacter.

El estudio consiste en que durante el procedimiento que se le realizara llamado endoscopia, el cual ya tiene programado, se tomaran dos biopsias adicionales de su estómago llamado antro gástrico, que es el sitio donde se encuentra la mayor cantidad de bacterias, las cuales se colocaran en dos tubos que contienen un reactivo llamado urea con un indicador llamado rojo fenol y otro al 50% más un colorante llamado azul de bromotimol, que cambia de color en caso de que este presente la bacteria, a fin de valorar mayor rapidez de la prueba.

La ventaja de participar sera que se determinará con prontitud si se le indicará a los pacientes que tengan la prueba positiva un tratamiento de erradicación, así como establecer como procedimiento habitual en el Servicio de Endoscopía la realización de la prueba de ureasa en pacientes con sospecha de presencia de helicobacter.

La desventaja es que en caso de no tener suficiente cantidad de bacterias en la biopsia tomada podria reportarse negativa la prueba y tener el diagnóstico definitivo hasta que se entregue el reporte definitivo de la pieza histologica. No existe riesgo alguno con la prueba ya que esta se realiza fuera del paciente.

Los riesgo de realizar dos biopsias adicionales durante su estudio es la posibilidad de sangrado, de dolor y en muy raros casos la posibilidad de perforación gástrica. Sin embargo ante alguna de estas eventualidades se actuara de manera inmediata para resolverlas en el mismo servicio de endoscopía y de ser necesario se llevara al paciente al servicio de Urgencias de este mismo Hospital.

Si usted tiene duda antes de aceptar ingresar al estudio o durante el desarrollo del estudio, la investigadora principal, residente de gastroenterología Mayor Médico Cirujano Adriana Alejandra Azpeitia Bravo (A-10020213) (CP 2737348) perteneciente a la Escuela Militar de Graduados de sanidad, está en disposición de aclarar y explicar lo que usted requiera saber en la extensión 2214 o 1660 en la sala de gastroenterología de este Hospital.

Todos los pacientes de este estudio seguirán recibiendo la atención médica habitual en su escalon sanitario correspondiente. Los resultados que se obtengan serán absolutamente confidenciales.

Yo:

(Nombre)

Matricula \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar en el protocolo descrito arriba cuyo objetivo, procedimiento, beneficio y riesgos se me explicaron. Es de mi conocimiento que los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que, al momento de firmar la presente, no hubiere expresado o que surja durante el desarrollo de la investigación.

Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento de participar en cualquier momento sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione se vea afectada por este hecho. Además de que el participar en este estudio no repercutirá en la atención médica que se me deba brindar y que toda la información que se otorgue de mi identidad y participación será confidencial, excepto cuando yo lo autorice.

En caso de que yo decida retirarlo deberá seguir las siguientes indicaciones:

---

---

---

Para los fines que se estime conveniente firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos más, conservando una copia del consentimiento informado y la información proporcionada para obtener mi autorización.

Participante: \_\_\_\_\_ FIRMA \_\_\_\_\_

Investigador \_\_\_\_\_ FIRMA \_\_\_\_\_

Testigo por el paciente \_\_\_\_\_ FIRMA \_\_\_\_\_

Testigo por el investigador \_\_\_\_\_ FIRMA \_\_\_\_\_

## Anexo B. FORMATO DE RECOLECCION DE DATOS

### EFICACIA DIAGNÓSTICA PARA HELICOBACTER PYLORY COMPARANDO PRUEBA DE UREASA CONTRA BIOPSIA HISTOPATOLÓGICA.

RESPONSABLE PRINCIPAL DE LA INVESTIGACION: MAYOR MEDICO CIRUJANO  
ADRIANA ALEJANDRA AZPEITIA BRAVO (A-10020213) (CP 2737348)

FICHA DE IDENTIFICACION:

FECHA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_

NOMBRE DEL PACIENTE: \_\_\_\_\_

MATRICULA \_\_\_\_\_ EDAD \_\_\_\_\_ SEXO \_\_\_\_\_

No. DE PACIENTE: \_\_\_\_\_

PADECIMIENTO ACTUAL.

SINTOMAS PRINCIPALES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

ANTECEDENTES: HEREDO-FAMILIARES: \_\_\_\_\_

PERSONALES PATOLOGICOS: \_\_\_\_\_ NO

PERSONALES PATOLOGICOS: \_\_\_\_\_

DIAGNOSTICO DE REFERENCIA: \_\_\_\_\_

EXPLORACION FISICA:

PESO: \_\_\_\_\_ TALLA \_\_\_\_\_ IMC \_\_\_\_\_ TENSION ARTERIAL \_\_\_\_\_

FREC CARDIACA \_\_\_\_\_ FREC RESP \_\_\_\_\_ TEMP \_\_\_\_\_ SAT O2 AA \_\_\_\_\_

ESTUDIOS DE LABORATORIO:

BH: Leucoc: \_\_\_\_\_ Hb \_\_\_\_\_ Hto \_\_\_\_\_ Plaq \_\_\_\_\_ Neutrof \_\_\_\_\_ Linfoc \_\_\_\_\_

PTH: TP \_\_\_\_\_ TTP \_\_\_\_\_ INR \_\_\_\_\_ PERF LIP: Colest \_\_\_\_\_ TG \_\_\_\_\_

1. Reporte de la endoscopia:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

2. Reporte de la biopsia histopatológica

---

---

3. Tiempo de reacción de la prueba de ureasa

5 min \_\_\_\_\_ 15 min \_\_\_\_\_ 30 min \_\_\_\_\_ 60 min \_\_\_\_\_

120 min \_\_\_\_\_ 180 min \_\_\_\_\_ 240 min \_\_\_\_\_

Más de 24 hrs \_\_\_\_\_

4. Tiempo de reacción de la prueba de ureasa al 50% más azul de bromotimol.

5 min \_\_\_\_\_ 15 min \_\_\_\_\_ 30 min \_\_\_\_\_ 60 min \_\_\_\_\_

120 min \_\_\_\_\_ 180 min \_\_\_\_\_ 240 min \_\_\_\_\_

Más de 24 hrs \_\_\_\_\_