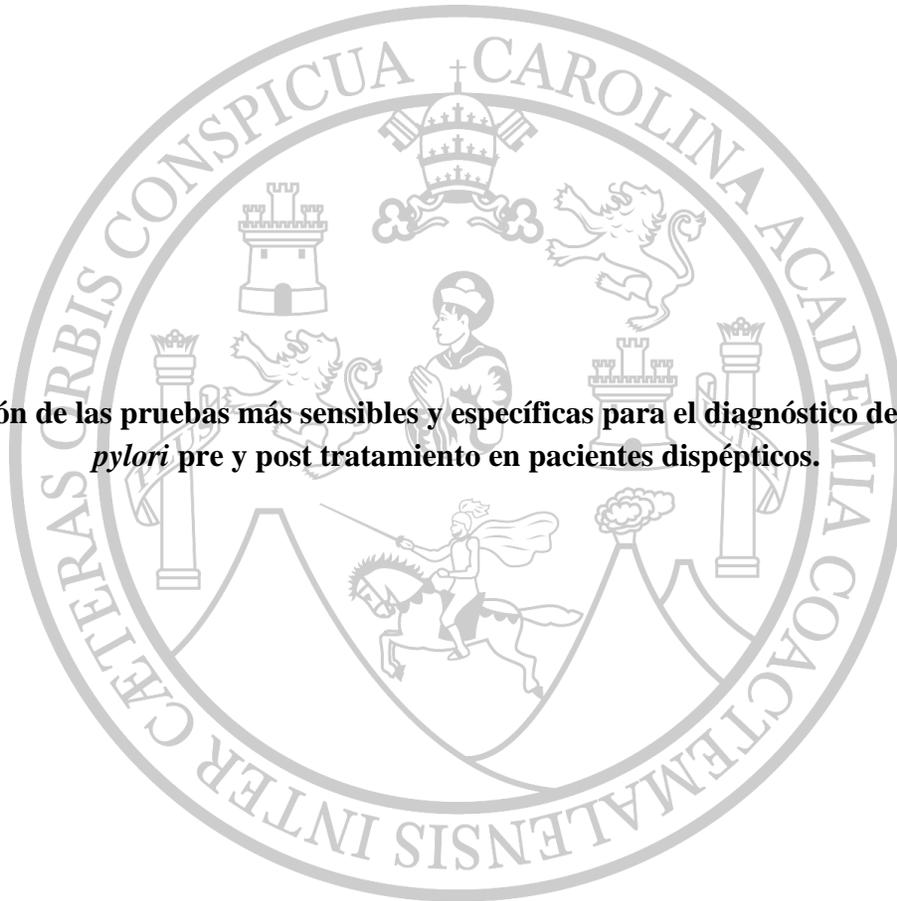


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Identificación de las pruebas más sensibles y específicas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* pre y post tratamiento en pacientes dispépticos.



Margarita Asunción Benito Zúñiga

Nadia Isabel Hornquist Hurtarte

Estuardo Alejandro Maldonado Rivera

Maria José Camó Ordóñez

QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, Octubre 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Identificación de las pruebas más sensibles y específicas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* pre y post tratamiento en pacientes dispépticos.

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

Margarita Asunción Benito Zúñiga

Nadia Isabel Hornquist Hurtarte

Estuardo Alejandro Maldonado Rivera

Maria José Camó Ordóñez

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, Octubre 2013

DEDICATORIA

A DIOS

Por darnos la fortaleza y sabiduría para culminar una de las metas de nuestra vida profesional.

A NUESTROS PADRES

Por su amor incondicional, apoyo y comprensión que nos han brindado desde siempre.

A UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, en especial a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Por brindarnos los conocimientos y enseñanzas necesarias para nuestra formación académica.

A MSc. VIVIAN MATTA, Licda. KARLA LANGE, Licda. MARIA LUISA ,Msc. MARIA EUGENIA PAREDES Y Lic. FEDERICO NAVE.

Por darnos la orientación y asesoría para el desarrollo de la investigación.

A EL DEPARTAMENTO DE CITOHIISTOLOGÍA, AL INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA (INCAN) Y CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONCYT)

Por permitir y proporcionar la ayuda necesaria para el desarrollo de la investigación.

INDICE

| | Página |
|---|-----------|
| I. AMBITO DE LA INVESTIGACION..... | 01 |
| II. RESUMEN..... | 02 |
| III. ANTECEDENTES | |
| A. Generalidades..... | 03 |
| B. Historia..... | 04 |
| C. Patogenicidad y factores de virulencia..... | 04 |
| D. Epidemiología..... | 07 |
| E. Ciclo evolutivo..... | 09 |
| F. Sintomatología..... | 09 |
| G. Diagnóstico..... | 10 |
| H. Relación de pepsinógeno I/II y gastrina..... | 18 |
| I. Tratamiento..... | 19 |
| IV. JUSTIFICACION..... | 26 |
| V. OBJETIVOS..... | 27 |
| VI. HIPOTESIS..... | 28 |
| VII. MATERIALES Y METODOS..... | 29 |
| VIII. RESULTADOS..... | 44 |
| IX. DISCUSION DE RESULTADOS..... | 51 |
| X. CONCLUSIONES..... | 57 |
| XI. RECOMENDACIONES..... | 58 |
| XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... | 59 |
| XIII. ANEXOS..... | 69 |

I. AMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente seminario forma parte del proyecto de investigación: "Evaluación de las alternativas de diagnóstico por *H. pylori*: búsqueda de alternativas de diagnóstico y evaluación de productos naturales para el tratamiento", Proyecto FODECYT 52-2009 financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT), el cual se llevó a cabo en el Instituto de Cancerología (INCAN) y en el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Así mismo, el análisis estadístico de los datos se llevó a cabo bajo la asesoría y revisión de la Unidad de Estadística y Biometría de la misma Facultad.

El seminario de investigación tuvo por objeto identificar dentro de un panel de pruebas diagnósticas la o las mejores pruebas que permitan identificar una infección activa por *Helicobacter pylori*. Para ello, a los pacientes que voluntariamente aceptaron participar se les realizaron varias pruebas diagnósticas no invasivas, las cuales permitieron la detección del antígeno y la identificación de anticuerpos específicos para *H. pylori* (IgA, IgM e IgG *cagA*). Además se determinó el valor del índice de pepsinógeno I/II, el cual evalúa la integridad de la mucosa gástrica (estado funcional). Posteriormente se evaluó la efectividad del tratamiento en base a la negativización de las pruebas de laboratorio para la cual se determinaron anticuerpos, antígeno e índice de pepsinógeno I/II cinco meses después de finalizar la dosis adecuada al tratamiento.

II. RESUMEN

Helicobacter pylori afecta al 50 % de la población mundial, especialmente en países en desarrollo como Guatemala. Es poco frecuente en niños y aumenta su frecuencia en función de la edad, llegando a alcanzar niveles de infección del 30 % a los 30 años de edad, valor que se mantiene constante a edades mayores (Pounder & NG, 1995).

Con el fin de determinar la mejor prueba de laboratorio para el diagnóstico pre y post-tratamiento, se evaluaron 178 pacientes dispépticos que acudieron al Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) para someterse a endoscopia. A dichos pacientes se les realizó como diagnóstico inicial la detección de antígeno fecal, un panel de pruebas serológicas que incluyó anticuerpos IgM, IgA, IgG *CagA* anti-*H. pylori* y pruebas enzimáticas (Pepsinógeno I y II). Sesenta y tres de los pacientes con diagnóstico positivo para *H. pylori* (63/36.9%), iniciaron terapia antibiótica y se les dio seguimiento por cinco meses para evaluar la mejoría en la sintomatología al finalizar este periodo. Posteriormente se realizó el mismo panel de pruebas ya descrito.

En la etapa pre-tratamiento se evaluó la especificidad y sensibilidad de cada una de las pruebas (antígeno fecal, anticuerpos IgM, IgA, IgG *CagA* anti-*H. pylori*) frente al estándar de oro que es la biopsia. Los resultados demostraron que la prueba de antígeno fecal fue la más específica para el diagnóstico (69.9%, $k=0.2005$) y entre las pruebas serológicas, la detección del anticuerpo IgA fue la más sensible (74.2%), sin embargo presentó una concordancia muy pobre ($k=0.1043$) con la biopsia. La integridad de la mucosa gástrica se evaluó a través de la relación del índice de pepsinógeno I/II, al finalizar el tratamiento, el número de pacientes con valores en la categoría "normal" aumentó del 60.6 % a 85.4%, lo cual demuestra la regeneración de la mucosa gástrica.

Se observó un aumento estadísticamente significativo de pacientes asintomáticos, de 1.12% en la etapa pre-tratamiento a 34.92% en la etapa post-tratamiento, lo cual pudiera ser indicativo de la eficacia del tratamiento.

Al evaluar los resultados obtenidos de las pruebas realizadas en ambas etapas se encontró que la prueba de antígeno fecal en conjunto con la prueba de anticuerpos IgA contra *H. pylori* son las recomendadas para hacer el diagnóstico de la infección primaria y la evaluación de la cura post-tratamiento. Así mismo, las pruebas enzimáticas que no están asociadas directamente a la infección reflejaron la restitución del estado de la mucosa en la etapa post-tratamiento.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es una bacteria que fue identificada a partir de biopsias intestinales humanas en 1983. Su nombre viene del latín “*pylorus*”, que significa “guardabarrera” y hace referencia al píloro. Este organismo es un patógeno asociado con gastritis, úlceras y cáncer gástrico (Madigan, Martinko, & Parker, 2004).

H. pylori (antes denominado *Campylobacter pyloridis*) es un bacilo corto espirilado en forma de “S”, multiflagelado (4-6 flagelos) lo que lo hace altamente móvil. Mide de 2.5 a 5.0 µm de largo por 0.5-1.0 µm de ancho. Es un microorganismo de crecimiento lento, se requiere de 5 a 7 días para poder visualizar las colonias, cuyo cultivo *in vitro* requiere condiciones de microaerofilia (10% de CO₂) y medios artificiales ricos en nutrientes como: peptona, triptona, extracto de levadura, glucosa, sales como cloruro de sodio y bisulfito de sodio, suplementados con sangre de caballo, suero bovino fetal (SFB) o ambos (Roe, Tiwari, Brown, Hayward, & Chem, 2002; Triana, 2001).

Esta bacteria posee la habilidad de presentarse tanto en forma cocoide como en forma espirilada siendo ésta última la morfología más común. La forma cocoide del *H. pylori* no se adhiere al epitelio y no induce la formación de interleucina. La conversión de la forma bacilar espirilada a la forma cocoide se ha visto en especies que han sido cultivadas en condiciones adversas, como aerobiosis, temperaturas altas, incubación prolongada, entre otras (Hernández, 2004).

H. pylori “perfora” literalmente y coloniza las mucosas no secretoras de ácido del estómago y de la parte alta del tracto intestinal, incluyendo el duodeno. Es el único organismo conocido que puede subsistir en un ambiente extremadamente ácido, debilitando el revestimiento mucoso, lo cual permite que el ácido afecte la superficie sensible que se halla por debajo de dicho revestimiento, irritándolo y produciendo úlceras. La bacteria se encuentra también implicada en la patogenia de la gastritis no atrófica, en la cual la mucosa es adelgazada y puede producirse un reemplazo de las glándulas características por glándulas de tipo pilórico (metaplasia pilórica); la gastritis multifocal atrófica, la cual afecta varias regiones del cuerpo gástrico en forma de numerosos focos dispersos y en casos extensos provoca aclorhidria y el riesgo de desarrollar cáncer gástrico y linfoma gástrico (Chey & Wong, 2007; González, 2000).

B. Historia

H. pylori fue redescubierta en 1983 por Warren y Marshall. Warren (anatómo-patólogo) observó la bacteria en el tejido inflamado de la mucosa gástrica, considerándola agente causal de dicha alteración; identificándola en úlcera gástrica y duodenal utilizando para dicho fin colorantes de plata y la microscopía electrónica (Chey & Wong, 2007).

Marshall (gastroenterólogo), logró cultivar la bacteria con la aplicación de medios de cultivo adecuados. Para cumplir el decisivo postulado de Koch, se auto inoculó ingiriendo el cultivo de *Helicobacter*, enfermándose de gastritis que posteriormente curó con antibióticos. Inició la terapéutica antiinfecciosa y planificó ensayos clínicos para conseguir pautas terapéuticas eficientes. En investigaciones posteriores (a partir de 1985) Marshall, aisló este microorganismo de las mucosas de estómagos humanos siendo el primero que consiguió cultivarla (Logan, 2001; Pajares, 2006; Pueyo, Hurtarte, & Jiménez, 2000).

Warren y Marshall propusieron el nombre de *Campylobacter pilórico*, sin embargo en 1989, los estudios de secuenciación del ARN ribosómico pusieron de manifiesto que *H. pylori* (que hoy día se reconoce como la especie de mayor interés en las gastropatías), era distinto del género *Campylobacter*. En base a estas investigaciones, se afirmó que muchas de las úlceras estomacales y gastritis eran causadas por dicha bacteria y no por estrés o comida picante como se sostenía hasta entonces (Pajares, 2006; Suerbaum, 2002).

C. Patogenicidad y factores de virulencia

1. Ureasa

Las enzimas metabólicas que posee *H. pylori* pueden ser utilizadas para producir daño en los tejidos y para defenderse de las condiciones adversas del ambiente en el que debe sobrevivir. Además, algunos autores indican que *H. pylori* posee otras características que le permiten colonizar la mucosa gástrica del estómago, inducir daños en los tejidos o liberarse de los mecanismos de defensa del hospedero (Hernández & Rivas, 2000).

El jugo gástrico normal posee un pH menor a 4, lo que le confiere un carácter bactericida y por tanto capaz de eliminar a muchas de las bacterias que llegan al estómago con la ingesta de agua y alimentos, por ello epidemiológicamente se hace referencia al estómago como la “barrera ácida”. La colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori*, implica la capacidad de esta bacteria para sobrevivir en ese ambiente ácido. La clave para la adaptación al pH gástrico

reside en la producción de ureasa. Esta enzima (urea amidohidrolasa) cataliza la hidrólisis de urea para proporcionar amonio y carbamato, el cual se descompone para producir otra molécula de amonio y ácido carbónico, que neutraliza el microambiente de las glándulas gástricas colonizadas. El efecto neto de esas reacciones es un aumento del pH (Álvarez, Mendoza, Márquez, & Rojas, 2003; Hernández & Rivas, 2000).

Por otra parte, el hidróxido de amonio generado durante la hidrólisis de urea contribuye significativamente al daño histológico asociado con esta infección; aunque debe hacerse énfasis que directamente el amonio no es tóxico, si no que el daño infringido es el resultado del ión hidróxido generado por el equilibrio del amonio con el agua. Éste desdobra el moco gástrico, haciéndolo más fluido, con lo cual la bacteria puede desplazarse más fácilmente para ganar los espacios intercelulares. El potencial de virulencia de esta enzima se refleja en la fuerte respuesta de inmunoglobulinas séricas generada contra ella, detectada en pacientes con gastritis activa debido a *H. pylori* (Hernández & Rivas, 2000).

2. Factores de adherencia

La colonización de la mucosa lleva implícito como paso previo, la capacidad de la bacteria para adherirse al epitelio gástrico, lo cual es esencial para la inducción de gastritis. Hernández y Rivas (2000) refiere que la adherencia ocurre mediante la interacción entre las adhesinas bacterianas y los receptores del hospedero que están representados por algunas proteínas de la matriz extracelular. De tal manera, que las lesiones inducidas por la adherencia son de tipo adhesión-necrosis y ultraestructuralmente son similares a las producidas por *E. coli* enteropatogénica (EPEC). Estas lesiones se caracterizan por la pérdida de las microvellosidades del epitelio gástrico en el sitio de adhesión.

La adhesión a la mucosa gástrica hace que la toxina se libere justo en el epitelio blando. Además, estudios *in vitro* demuestran que la adherencia es necesaria para la inducción y liberación de citocinas proinflamatorias; por lo tanto, la adherencia no debe ser considerada como un evento aislado si no más bien como parte de un proceso complejo que involucra la quimiotaxis. (Hernández & Rivas, 2000).

Los múltiples flagelos y la morfología espiral de *H. pylori* destacan la importancia del movimiento dirigido, el cual está determinado por la detección de quimiotoxinas específicas del hospedero (Hernández & Rivas, 2000).

3. Hemaglutininas

H. pylori es capaz de aglutinar eritrocitos debido a su interacción con las glucosaminas de grupos sanguíneos, algunos de los cuales también se expresan en células epiteliales, lo que indirectamente indica una función adherente (Hernández & Rivas, 2000).

Se ha intentado caracterizar dichas hemaglutininas (HA) bloqueándolas con azúcares o incubando las bacterias con enzimas cuya especificidad de sustrato es conocida: los resultados obtenidos sugieren que el mayor componente hemaglutinante de *H. pylori* es una proteína con una especificidad de receptor determinada por la configuración NeuAc (2-3) Gal del ácido siálico. Una mayor caracterización de la HA utilizando métodos complementarios ha permitido la identificación de dos proteínas, una con un peso de 20-25kDa y la otra de 57kDa (González, Serrano, & Harris, 2007; Moreira, 1998).

4. Genes *vacA* y *cagA*

H. pylori puede inducir la formación de vacuolas en una gran variedad de células eucariotas. Inicialmente se pensó que dicha acción no era de carácter tóxico, pues no era neutralizada por antitoxinas bacterianas; además, el amonio liberado por la actividad de la ureasa puede inducir un daño similar. Sin embargo, posteriormente se logró purificar la toxina responsable de tal alteración, la cual debido a su acción ha sido denominada “toxina vacuolizante”, ya que ella induce la formación de vacuolas en las células afectadas, hallazgo que también se ha constatado en biopsias de pacientes afectados. Contra esta toxina se han identificado anticuerpos séricos en personas infectadas con *H. pylori* (Hernández & Rivas, 2000; Hurtado, 2001).

El hallazgo de esa toxina es una característica fenotípica que podía ser detectada *in vitro*, lo que motivó a numerosos investigadores a estudiar aislamientos de pacientes con diferentes manifestaciones clínicas, que incluían desde cuadros leves como la gastritis superficial hasta úlceras, tratando de correlacionar ambos hechos: presencia de toxina y asociación con patología importante. Los resultados obtenidos indicaron que las cepas toxigénicas se aislaban significativamente con más frecuencia de pacientes con úlceras pépticas que de aquellos que sólo presentaban gastritis leves (Hernández & Rivas, 2000).

Esto permitió entonces contar con criterios para identificar las cepas más virulentas, lo que condujo a la búsqueda de métodos genéticos que permitieran identificar las cepas toxigénicas.

No obstante, la identificación del gen responsable de esa toxigenicidad llevó a resultados incongruentes, puesto que la mayoría de las cepas contenían ese gen, ahora conocido como *vacA* (gen asociado a vacuolización). Este gen ha sido clonado y su análisis sugiere que codifica una proteína que posee una señal aminoterminal corta, que es escindida para permitir su paso a través de la membrana citoplasmática y una carboxiterminal de 45kDa que actúa como poro. La secuencia de la toxina madura no demuestra homología con otras toxinas conocidas (Hernández & Rivas, 2000).

La búsqueda de una respuesta para la incongruencia entre la citotoxicidad y la presencia del gen *vacA*, llevó al hallazgo del gen *cagA* (gen asociado a toxicidad) cuya presencia se relaciona con la expresión del gen *vacA* y por lo tanto con la toxigenicidad. Además, está presente sólo en las cepas aisladas de pacientes sintomáticos (Hernández & Rivas, 2000).

Muchos estudios indican variaciones de la prevalencia del genotipo Hp *cagA*+ en diferentes regiones del mundo. En los países desarrollados el 60% de las cepas son *cagA*+; mientras que en los países en vías de desarrollo como en América del Sur, Central y los menos desarrollados de Europa y del Medio Oriente la proporción de *cagA*+ es mayor, como se observa en las prevalencias del 79.8 % reportada en Brasil, de 61.7 % en Turquía y del 68 % en Checoslovaquia. Dicha evidencia epidemiológica sugiere que la presencia del gen *cagA* en las cepas bacterianas aumenta el riesgo de padecer cáncer gástrico, debido a que dicho gen ocasiona un efecto lesivo sobre las células epiteliales, aumentando la permeabilidad de las membranas induciendo así la producción de interleucinas, lo que ocasiona más daño e inflamación (Hernández & Rivas, 2000; Martínez, González, Ferreira, & Mas, 2008; Ott EA, Mazzoleni LE, Edelweis, MI., 2005).

D. Epidemiología

Desde su descubrimiento, *H. pylori* ha sido objeto de varios estudios, los cuales han demostrado que es una bacteria de distribución mundial. Se estima que dos terceras partes de la población mundial se encuentra infectada por la bacteria y que muchos de los pacientes que la presentan son asintomáticos (Madigan et al., 2004).

La infección está asociada a diversos factores como el bajo estatus socioeconómico, por lo que se ha observado un alto número de afectados en países en vías de desarrollo, asimismo, los datos disponibles no muestran ninguna diferencia entre la prevalencia en hombres y mujeres, es decir que no hay relación con el género ni con la raza (Pajares, 2006).

La colonización de *H. pylori* depende de varios factores relacionados con la virulencia del microorganismo, susceptibilidad del hospedero y cuadro clínico específico. El síntoma que refieren con mayor frecuencia es dolor abdominal, dificultándose por ello el diagnóstico clínico e impidiendo el tratamiento específico a edad temprana (Logan, 2001; Pajares, 2006).

La prevalencia de *H. pylori* es un tema de importancia, debido que su presencia se relaciona a patologías tales como gastritis y cáncer de estómago, las cuales con el paso del tiempo se complican y pueden llegar a comprometer la vida del paciente si no son tratadas. La infección por *H. pylori* se asocia a gastritis activa crónica, pero solo 10% a 15% de los individuos afectados manifiestan una úlcera péptica evidente. Estudios sugieren que más del 90% de todas las úlceras duodenales están asociadas a *H. pylori*, pero la bacteria está presente solo en el 50% al 60% de individuos que presentan úlceras gástricas y el 70% de pacientes con úlcera duodenal (Paterson, Lockhart, Baker, Neumann, Baldwin, & Shulkes 2004; Harris, Godoy & Giraldes, 2001).

Aunque la infección por *H. pylori* es una de las más comunes en el mundo se desconoce como ingresó a la población humana y el mecanismo de infección en diferentes comunidades es desconocido (Alvarez et al., 2003).

El riesgo de infección a lo largo de toda la vida en las personas que viven en países desarrollados es de 40 a 60 %, pero puede llegar a ser de 90% o más en países en vías de desarrollo, en los cuales más del 50% de la población está infectada a los 10 años de vida, mientras que en países desarrollados, solamente del 5 al 10 % aparecen infectados a esta edad. Así mismo los inmigrantes de países en vías de desarrollo tienen más posibilidades de estar infectados que aquellos que vienen de países industrializados (González et al., 2007).

En Guatemala en el año 2000 se determinó la prevalencia de anticuerpos IgG en pacientes sin sintomatología péptica, concluyendo que la prevalencia de anticuerpos contra *H. pylori* es estadísticamente mayor en sujetos que asisten a clínicas públicas que los que asisten a clínicas privadas (79% vrs, 21%), mientras que la edad no se consideró un factor influyente. En el mismo año Oregel y cols. determinaron anticuerpos IgG anti *H. pylori* en recién nacidos y niños guatemaltecos de condición socioeconómica baja, reportando una prevalencia del 68% y una coincidencia del 100% entre la relación madre/recién nacido (Rodríguez, 2000; Oregel, 2000).

Ordóñez (2004) reportó que el 67.5% de los pacientes guatemaltecos con diagnóstico clínico de urticaria crónica idiopática presenta positividad de *H. pylori* en heces, con la limitante

de no poder establecer si la infección por *H. pylori* ocurre antes o después del padecimiento de la urticaria.

En el 2005 se realizó la comparación de anticuerpos séricos IgG y la biopsia gástrica como método diagnóstico de infección por *H. pylori*; el porcentaje de infección por *H. pylori* obtenido fue del 88% y se encontró que el 86.4% de los pacientes con anticuerpos séricos IgG para *H. pylori* tenían resultados de biopsia gástrica positivos para este microorganismo (Miranda, 2007).

En el 2008 se realizó una revisión de los datos reportados por los diferentes hospitales relacionados con el diagnóstico de la infección observando un porcentaje de positividad por detección de antígeno en heces del 23.2% y prevalencia de anticuerpos IgG del 57.7% (Hernández, 2008).

E. Ciclo evolutivo

H. pylori es moderadamente invasiva, coloniza la superficie de la mucosa gástrica. El microorganismo se protege de los ácidos estomacales gracias a la propia capa de mucus gástrico. Después de la colonización y una combinación entre la producción de sustancias patógenas y la propia respuesta del hospedero produce inflamación, destrucción de tejido y ulceración (Madigan et al., 2004).

F. Sintomatología:

Entre la gama de padecimientos gastrointestinales comunes en la población guatemalteca, están la esofagitis por reflujo, las úlceras pépticas y duodenales, el cáncer gástrico, la gastritis agudas entre otras (Hernández, 2008).

Generalmente se manifiestan una serie de síntomas como:

- a.** Dolor abdominal: Sordo o persistente que puede ocurrir dos o tres horas después de las comidas, aparece y desaparece por varios días o semanas, ocurre por la noche cuando el estómago está vacío y suele aliviarse con las comidas. Esto debido a que la bacteria al ser ingerida por un individuo coloniza las paredes del estómago y permanece entre las células del revestimiento gástrico produciendo inflamación, que le permite sobrevivir en el medio ácido que la rodea.
- b.** Pérdida de peso: Debido a la anorexia que causa, la persona afectada presenta una baja ingesta de alimentos.

- c. Eructos: Como consecuencia del malestar en la parte superior del abdomen o en el pecho lo cual puede acompañarse de ruidos abdominales aumentados (borborigmos).
- d. Dispepsia o indigestión: La dispepsia es la sensación de dolor o malestar en la parte superior del abdomen, por el reflujo gastroesofágico.
- e. Distensión y llenura: Se debe a causa de los gases que provoca.
- f. Diarrea: Debido a las lesiones que puede ocasionar en el epitelio no solo estomacal sino también duodenal, puede inducir a un síndrome de mala absorción.
- g. Náusea: Si se presenta puede ser leve y se alivia al vomitar. Se presenta debido a la irritación de las paredes estomacales.
- h. Úlceras gastroduodenales: En pacientes infectados por *H. pylori*, la secreción de gastrina es inapropiada ante un estímulo alimentario. La gastrinemia basal aumenta en un 50 % y la postprandial en un 100 %. Además, se ha demostrado la reducción de los niveles de gastrina tras los tratamientos de erradicación.
- i. Sentir mucha hambre de 1 a 3 horas después de comer: el dolor de estómago puede calmarse al comer y volver al cabo de una, dos o tres horas. El paciente puede despertarse de madrugada, si se presenta dolor tiene que comer o beber debido a las ulceraciones que puedan existir (Paterson, et al., 2004; Martínez, 2003; Rollan, Giancaspero, Acevedo, Fuster, & Hola, 2000).

G. Diagnóstico

La clasificación de los métodos de diagnóstico para *Helicobacter pylori* es:

1) Invasivos (endoscopia)

- a. Histología.
- b. Citología
- c. Prueba rápida de la ureasa
- d. Microbiología (cultivo)
- e. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

2) No Invasivos

- a. Pruebas serológicas
- b. Anticuerpos en saliva
- c. Antígeno en heces
- d. Prueba de aliento de ureasa (Gold et al. , 2000)

1. Métodos Invasivos (por endoscopia)

La endoscopia gastroduodenal se refiere al examen del tracto gastrointestinal superior y duodeno utilizando una fibra óptica sensible o video endoscopio. La visualización del esófago, estómago o duodeno es posible bajo sedación suave. Este procedimiento permite el diagnóstico del estado de la enfermedad, úlceras o cáncer (Bakka & Salih, 2002; Chey & Wong, 2007; Pajares, 2006; Vizcaíno, 2004).

La endoscopia alcanza una sensibilidad entre el 85% al 95%, por este método se evalúa el grado de inflamación aguda presente así como alteraciones epiteliales; las úlceras benignas muestran bordes regulares, redondeados con un fondo del cráter plano recubierto frecuentemente de exudado mientras que las úlceras malignas muestran pliegues de aspecto nodular que se fusionan o no llegan hasta el borde del cráter y los bordes del cráter son prominentes irregulares o engrosadas (Alvarado, 2007; Yamada, 2003).

Una de las desventajas de la endoscopia es el riesgo de hemorragia y perforación. Las cifras reportadas de mortalidad son de 0.01% y morbilidad de 0.43 %, por esta razón (según la estrategia propuesta por EHSG (European *Helicobacter pylori* Study Group, Maastricht) se recomienda que este examen se realice en personas mayores de 30 años, que tengan síntomas que alerten sobre la infección y en edades por encima de este rango. En niños o en jóvenes esta técnica no ha sido del todo aceptada ya que la mayoría de estos pacientes requieren anestesia (Hioki, Nakame & Yamamoto 2002).

Debido a que la localización de *H. pylori* es focal, es rara la presencia de falsos negativos, los cuales se deben principalmente a errores de muestreo, toma de muestra en áreas de metaplasia intestinal o de atrofia gástrica, presencia de un escaso número de bacterias en pacientes que han recibido tratamiento con inhibidores de la bomba de protones o de antibióticos antes de la endoscopia (Hioki et al., 2002).

a. Histología:

La histología constituye el patrón de oro para definir la ausencia o presencia de *H. pylori*. Se deben tomar como mínimo dos muestras de la región prepilórica (1-2 cm. del píloro) y del cuerpo gástrico (curvatura mayor, cara anterior y posterior, en la unión del tercio distal con los dos proximales), las cuales son introducidas de inmediato en solución formol o de Bouin para su fijación. Las biopsias serán dos para histología, una para ureasa y una para microbiología (cultivo) (Samitier, Manrique & Badia. 2000).

La tinción Hematoxilina-Eosina (HE) es la técnica más utilizada para el diagnóstico de las muestras embebidas en parafina. Su principal ventaja es que permite el diagnóstico y la evaluación de las lesiones histológicas asociadas, sin embargo aún es una técnica fácil de realizar de forma rutinaria en los laboratorios. Tiene la desventaja que requiere de una alta densidad de colonias bacterianas para que sea posible reconocer al microorganismo, el que puede confundirse con productos celulares y moco (Bakka & Salih, 2002).

Existen además otras tinciones para la identificación de *H. pylori*, tales como la tinción de *Violeta cresol* y *Warthim-Starry*, esta última emplea reactivos de plata con los que se logra una clara definición de los cuerpos bacterianos pero es una técnica de larga duración y de especiales cuidados para realizarla. Entre todas las tinciones destacan tinciones especiales como la de *Giemsa* modificada, que por la nitidez de imagen y su facilidad se ha convertido en el método rutinario, mostrando una sensibilidad de 85 al 90%, mientras su especificidad es del 100%, la cual puede verse afectada por la inexperiencia del patólogo, el tamaño de la biopsia y el área donde se tomó la muestra (Samitier et al., 2000).

b. Citología:

La presencia de esta bacteria a nivel gástrico se puede detectar mediante diversas técnicas citológicas entre ellas destaca: citología de cepillado, impronta o aplastamiento de la muestra. La extensión de la muestra puede hacerse rozando la biopsia sobre un portaobjetos de cristal, para definir la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori*, tiñendo la muestra con Giemsa. Debe tomarse la muestra en mucosa antral sana, evitando la región prepilórica y la parte más baja de la curva menor (Bakka & Salih, 2002).

c. Prueba rápida de la ureasa:

Este método se fundamenta en que *H. pylori* produce la enzima ureasa en grandes cantidades, la cual hidroliza la urea para convertirla en amonio y en anhídrido carbónico ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2\text{- ureasa} \rightarrow 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$). Esta reacción es alcalina, lo que modifica el color rojo del fenol añadido, siendo el método de elección en endoscopías por ser económico, fácil y rápido (5 minutos). Entre los reactivos comerciales tenemos el CLO-test y el CU- test. El CLO-test (prueba de campylobacter like organisms) fue ideado por Marshall y consiste en un gel que contiene la solución de urea, el indicador rojo fenol y una sustancia antibacteriana el cual cambia de color amarillo a rojo señalando así el resultado positivo (González et al., 2007; Harris et al. 2001).

La sensibilidad de la prueba de ureasa depende de la cantidad de colonias de bacterias contenidas en la muestra, se requiere 10,000 colonias como mínimo para que el resultado sea positivo. Cuando la muestra se toma del antro o de la úlcera duodenal, la sensibilidad es de 85% en la primera hora. Por lo general se estima un 90 a 95% si la prueba se realiza a las 24 horas. En la prueba de ureasa de la biopsia antral se puede obtener un resultado falso positivo, debido a que las pinzas o el endoscopio pueden estar contaminados (Deltenre, Glupczynski, & Nyst, 1989)

La prueba de la ureasa es aceptable para el diagnóstico primario y se recomienda que debiera estar ampliamente disponible, ya que no requiere condiciones especiales de transporte, sin embargo es más costosa que la serología (Yamada, 2003).

d. Cultivo:

Es el método de mayor especificidad (100%) y una sensibilidad del 80%, pero el más difícil de realizar. Por las dificultades de las técnicas microbiológicas, los resultados mejoran al incluir dos biopsias o al utilizar el medio de transporte (*Partagem-pylori*), almacenando la biopsia de 4 a 10 °C hasta que se cultiva (Erzin et al., 2000; Iribarren, 2000).

El cultivo puede realizarse en un medio no selectivo, basado en sangre (agar chocolate), o selectivo, como Skirrow, el cual es bastante utilizado. La desventaja es que es un método lento, ya que el resultado se obtiene de 3-4 hasta 10 días de incubación. La identificación se realiza por la actividad enzimática de las bacterias ureasa, oxidasa, catalasa y glutamiltranspeptidasa (Moreira, 1998).

Es difícil de cultivar en medio líquido aunque se logra con menor dificultad a partir de caldo Brucella, cerebro-corazón, Mueller-Hinton y tripticosa soya, todos ellos suplementados con nutrientes, siendo el más común el suero bovino fetal, es importante utilizar inhibidores para evitar el crecimiento de microorganismos inespecíficos, tales como sulfametoxazol, trimetoprim, cefsulodina y polimixina B; incubación en microaerofilia con 5-10% CO₂, una humedad del 95% y se debe incubar de 7 a 10 días (Carreño, 2009, Korstanje et al., 2000).

e. Reacción de la cadena de polimerasa (PCR):

Por su sensibilidad y especificidad la PCR puede detectar hasta una sola copia de ADN de *Helicobacter pylori*, pudiendo llegar a constituir el método estándar del futuro. Se puede realizar de la biopsia misma o de cualquier líquido orgánico (heces, orina, saliva, sangre, jugo

gástrico). Sin embargo la prueba podría dar falsos positivos debido a pinzas contaminadas, lavado del equipo y esterilización inadecuadas, entre otros (Samitier et al., 2000).

Esta técnica se ha empleado para el estudio de genes específicos como el gen de la ureasa (ureA o ureC), el gen 16S ARNr u otros genes y también para la detección de factores de virulencia. Sin embargo, estudios realizados actualmente por Velasco (2007) refieren que dicha técnica no tiene una clara aplicación, pues no permite caracterizar a una cepa como patógena.

2. Métodos no invasivos

a. Pruebas serológicas:

La infección por *H. pylori* en la mucosa gástrica resulta en la producción de una respuesta inmunológica tanto local como sistémica. Esto implica la elevación de los niveles de IgG e IgA específicas en el suero y elevados niveles de IgA e IgM secretorias en el estómago. Esto ha favorecido el desarrollo de métodos serológicos que permiten realizar el diagnóstico de la infección, y que tienen un valor especial en estudios epidemiológicos para tamizaje de poblaciones; principalmente por ser relativamente rápidos y sencillos de ejecutar y mas económicos que la endoscopía. Sin embargo en la clínica, la detección del anticuerpo IgG es suficiente para el diagnóstico al tratarse de una infección crónica (López, Martín, Alarcon, Acuña, Gimeno, et al., 1993).

Entre los métodos de laboratorio que permiten detectar *H. pylori* están: fijación del complemento, aglutinación en látex, inmunofluorescencia indirecta, inmunoblot y ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Harris et al., 2001; Xia et al., 2000).

La técnica de ELISA es un método diagnóstico sencillo y rápido que posibilita la realización de estudios epidemiológicos con la ventaja de poder obtener resultados cuantitativos, lo que permite establecer distintos valores de positividad para diferentes grupos poblacionales y evaluar la respuesta al tratamiento (Herbrink & Van Doorn, 2000).

En las diversas técnicas de ELISA desarrolladas para la detección de anticuerpos específicos frente a *H. pylori* se han empleado diferentes preparaciones antigénicas incluyendo organismos vivos, bacterias tratadas con formalina, sonicados bacterianos y tratados con calor, ultracentrifugado de sonicados bacterianos, antígenos termoestables, extractos antigénicos con glicerina ácida, preparaciones de ureasa bacteriana, antígeno de citotoxina, proteínas celulares de alto peso molecular y proteínas de membrana externa, entre otros (Dore et al., 2002)

Un estudio realizado en Guatemala determinó que la sensibilidad de las pruebas empleadas para la detección de los anticuerpos IgG fue de 86.4% y una especificidad de 41.8%, resultados que demuestran que la detección de anticuerpos séricos IgG es un buen método para tamizaje y diagnóstico inicial de infección por *H. pylori* en pacientes que nunca han sido tratados, pero no sustituye a la biopsia gástrica como método diagnóstico de elección (Miranda, 2007).

La eficacia de la serología en el seguimiento de la respuesta al tratamiento se relaciona directamente con el nivel de anticuerpos pretratamiento y el tiempo de seguimiento entre las muestras pre y postratamiento. Se recomienda realizar pruebas cuantitativas con los dos sueros del paciente (pre y postratamiento) analizados simultáneamente. En pacientes con altos títulos pretratamiento se observa un descenso significativo en el título de anticuerpos después de 3-6 meses de tratamiento efectivo. Este descenso de anticuerpos sólo se mantiene en pacientes curados (Schneider, Solís, Quiñónez, & Rodríguez, 1994).

Dentro de las ventajas que presentan las pruebas serológicas se encuentra el hecho de que sus resultados son menos susceptibles de ser alterados por el tratamiento reciente con antibióticos o inhibidores de la bomba de protones, los que pueden inducir falsos negativos con otros métodos. En ausencia de intervención terapéutica los niveles de anticuerpos se mantienen elevados, incluso durante la vida, reflejando la duración de la infección. Luego de la erradicación, los niveles de IgG e IgA tienden a disminuir a aproximadamente la mitad de los valores observados previos al tratamiento en aproximadamente seis meses. Sin embargo su principal problema radica en que no se puede diferenciar la infección activa de la exposición previa al microorganismo y también el hecho de que la respuesta de anticuerpos a las proteínas de *H. pylori* varía considerablemente entre individuos. Además se observan anticuerpos dirigidos contra diversos antígenos, por lo que se hace necesario el uso de múltiples antígenos para su detección. Por ello se recomienda que en la ejecución de las pruebas se utilicen diferentes niveles de corte, ya que los niños presentan una respuesta inmunológica cualitativamente diferente (López, Martín, Alarcon, Acuña, Gimeno, et al., 1993).

Según los criterios de Maastricht, una prueba serológica positiva, con histología y prueba del aliento con ¹³C-urea negativas puede sugerir la presencia de la infección por *H. pylori*, sin embargo deben realizarse las investigaciones adicionales para confirmar si la prueba serológica es falso positivo o refleja una infección activa. Un resultado falso positivo en las pruebas no invasivas son más comunes en las poblaciones de baja prevalencia y requieren una confirmación adicional antes de tratamiento (Malfertheiner et al., 2007).

Las pruebas serológicas se recomiendan para evaluar *H. pylori* en pacientes con una úlcera péptica y duodenal sangrante, ya que estudios hasta el momento revelan una fuerte asociación entre la colonización por la bacteria y la úlcera duodenal (100 %) y la úlcera gástrica, así como en condiciones asociadas con una baja densidad bacteriana (la mucosa extensa atrofiada y linfoma MALT). La prueba de ureasa rápida, cultivo e histología, así como la prueba del aliento de urea, han demostrado una sensibilidad limitada en pacientes con hemorragia aguda por úlcera péptica, sin embargo si la endoscopia informa la presencia de una úlcera duodenal, el test rápido de ureasa, confirmarán la presencia de *H. pylori*, pero no es recomendable en casos de sangrado activo pues posee una elevada tasa de resultados falsos negativos. Pruebas de antígenos policlonales en heces tienen una baja especificidad debido a reacciones cruzadas con los productos sanguíneos. Las pruebas serológicas y en particular, la detección de anticuerpos contra el antígeno específico CagA, que es detección inmunogénica y de larga duración, también son el mejor método para documentar la relación del cáncer gástrico con la infección por *H. pylori* (Malfertheiner, et al., 2007; Gisbert, et.al., 2005).

La serología debe ser considerada como una prueba de diagnóstico cuando las demás pruebas podrían dar un resultado falso negativo, como ocurre en pacientes con sangrado de úlceras, atrofia gástrica, linfoma MALT y el consumo reciente o actual de los Inhibidores de la bomba de protones y los antibióticos (Malfertheiner et al., 2007).

b. Anticuerpos en saliva:

Los anticuerpos anti *H. pylori* están presentes en la saliva en menor cantidad que en sangre. Se cree que los anticuerpos IgG salivales provienen de un transudado de la sangre al líquido gingival y no es excretado por las glándulas salivales parótidas. Debido a que la saliva es un líquido corporal que no requiere de punción para obtenerla, se ha adaptado un método diagnóstico con la misma. Sin embargo, la sensibilidad y especificidad son menores que las pruebas rápidas en sangre total, siendo del 84 y 64% para la saliva, de 85 y 78 % para la prueba rápida en sangre y 95 y 70 % para el suero, respectivamente (García, 2001).

c. Prueba en heces /Antígenos en heces:

La detección de antígenos fecales es quizá uno de los métodos más sencillos porque se puede realizar en pacientes de cualquier edad ya que es un método directo, no invasivo y no hay ningún inconveniente en el momento de tomar la muestra. Dicho método tiene una sensibilidad del 96.8% y especificidad del 99.2%. Este método fue aprobado por la FDA tanto para diagnóstico como para seguimiento de la efectividad y confirmación de la erradicación del

microorganismo, su positividad después de 1 a 2 meses de haber finalizado el tratamiento, indica fallo terapéutico (Cifuentes, 2002; García, 2001).

La detección de antígenos se puede realizar a través de inmunoblot o un ELISA tipo sandwich, en el que se utilizan anticuerpos de captura monoclonales o policlonales absorbidos en los pozos. Se añaden muestras diluidas de heces del paciente y un anticuerpo policlonal conjugado con peroxidasa, y el resultado se puede leer espectrofotométricamente. Esta prueba ofrece una sensibilidad del 94.3% y una especificidad del 91.8% según un estudio realizado a nivel internacional con 501 pacientes. Las ventajas de este método es que permite evaluar tratamientos anti *H. pylori* nuevos o ya establecidos, durante y después de la terapia para monitorear la efectividad de los mismos. En caso de hemorragia gastrointestinal, durante la ingesta de inhibidores de secreción gástrica y la ingesta de N-acetil cisteína no es recomendable efectuar el análisis, ya que los resultados pueden verse alterados y disminuir la sensibilidad y especificidad del método (Samitier et al., 2000).

De más reciente introducción es la técnica que emplea anticuerpos monoclonales, que según estudios comparativos presenta sensibilidad menor del 85% y una especificidad similar al empleo de anticuerpos policlonales. La recolección de la muestra se debe realizar de manera habitual, si no se procesa de inmediato se pueden conservar hasta 3 días a 2-8 °C o por tiempo indefinido a -20°C (Samitier et al., 2000, Gisbert JP, Abaira V., 2006).

d. Prueba del aliento con urea marcada con carbono isotópico (¹³C y ¹⁴C):

El test de aliento de urea es el preferido para confirmar la erradicación debido a que no solo es una prueba no invasiva simple y un método de diagnóstico preciso, sino que tiene un bajo índice de resultados falsos positivos en comparación con la prueba de antígenos en heces (Alarcón, Baquero, Domingo, López & Royo, 2004).

Las principales ventajas de la prueba de aliento con urea marcada son su sencillez y seguridad y a diferencia de las pruebas serológicas, un resultado positivo es indicativo de infección activa. Es una prueba inocua, bien tolerada por los pacientes, las muestras no precisan de condiciones especiales de conservación y al ser el ¹³C un isótopo no radioactivo, la prueba puede realizarse en mujeres embarazadas y niños (Gatta et al., 2003).

La prueba de la urea ¹³C en la respiración utiliza un isótopo de carbono natural, no radioactivo y estable. Un porcentaje de la ¹³C-urea administrada por vía oral se excreta de forma inalterada por vía renal. En presencia de *H. pylori* se metaboliza parcialmente la ¹³C-urea

a ^{13}C -dióxido de carbono y amonio en el estómago. El resto se integra en el ciclo de la urea. Durante los primeros 30 minutos que siguen a la ingestión de 100 mg de ^{13}C -urea, la proporción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado aumenta de forma significativa en los pacientes infectados. En estudios clínicos con voluntarios sanos no se ha observado un aumento apreciable del nitrógeno uréico sanguíneo (BUN) y del amonio en el suero o de la urea en la orina, incluso con dosis superiores de hasta 300 mg, de ^{13}C -urea (Barriga, Arumir, & Mercado, 2004; Ohata Kitauchi, & Yoshimura, 2004; Weingart, Russman, Koletzko, Weingart, Hochter, et al., 2004)

Cualquier tratamiento que interfiera con el estado de *H. pylori* o la actividad ureasa puede tener influencia sobre la prueba de aliento con urea. En particular no deben administrarse antibióticos, omeprazol u otro inhibidor de la bomba de protones en las 4 semanas anteriores a la prueba, ni antagonistas de la secreción de ácido en las 2 semanas anteriores (Weingart et al., 2004).

La prueba de aliento con urea alcanza una sensibilidad del 98,2% (IC del 95%: 94,8 al 99,6%) y una especificidad del 97,9% (IC del 95%: 88,9 al 99,9%) cuando se compara con un patrón de referencia basado en métodos invasivos. Sin embargo al compararla con estudios histopatológicos la prueba de aliento mostró 100% de sensibilidad y especificidad, no observándose diferencias estadísticas significativas en los valores obtenidos entre diferentes grupos de edades y géneros estudiados (Berardi, DiPiro, Talbert, & Yee, 2005; García, 2004).

H. Relación de pepsinógeno I y II y gastrina:

El pepsinógeno es el precursor de la pepsina y existe en dos formas: I y II; ambos se producen en las células principales y mucosas del cuello glandular del fondo gástrico y el tipo II se produce además en las glándulas pilóricas del antro. Los niveles de pepsinógeno I y II reflejan el estado funcional y morfológico de la mucosa gástrica. A medida que la gastritis atrófica se hace más severa, la función glandular se pierde. La medición de pepsinógeno I y II son de ayuda en el diagnóstico de gastritis atrófica y cáncer de estómago (Cordón, 2000).

Se ha reportado que los niveles mayores a 20 ng/mL de pepsinógeno I son específicos para los casos graves de gastritis atrófica. También se ha observado que los niveles séricos de pepsinógeno decaen al aumentar la gravedad de los daños en la mucosa en casos de gastritis atrófica. A medida que progresa la gastritis, la inflamación leve produce un aumento del pepsinógeno (I y II); cuando la atrofia se incrementa las células principales son reemplazadas por glándulas pilóricas, lo que hace que el pepsinógeno II permanezca inalterado y el

pepsinógeno I disminuya, por lo que la relación I/II se reduce. El pepsinógeno I se ha identificado como un buen indicador serológico de la gastritis atrófica especialmente en la detección de sujetos con gastritis atrófica extensa, la cual también se puede asociar a metaplasia intestinal como una respuesta a la agresión crónica, incrementando el riesgo de desarrollar cáncer gástrico, ya que el 70% de los pacientes con este tipo de cáncer son positivos para *H. pylori* (Korstanje et al., 2002; Weingart et al., 2004).

La gastrina es un péptido producido por células endocrinas G de la mucosa del antro en respuesta a una serie de estímulos asociados con digestión y la estimulación vagal, es el más potente estimulador de la secreción de ácido gástrico (Begos & Modlin, 1994).

La gastrina se sintetiza como una pre hormona para luego ser modificada por una alfa-amidación y dar lugar a formas activas de la gastrina (G34, G17 y la G13/14). En el hombre, la G-17 tiene una vida media en circulación de alrededor de 9 minutos, mientras que G34 que es la gastrina circulante en ayunas tiene una vida media de alrededor de 35 minutos. La concentración de gastrina en ayunas suele ser inferior a 30 pmol/L (equivalente a 62,9 pg / mL), mientras que los pacientes con síndrome de Zollinger-Ellison y gastrinomas tienen niveles superior a 1.000 pg/mL". Por lo que una hipergastrinemia en suero en combinación de un valor elevado de pepsinógeno I sugiere fuertemente la posibilidad de dicho síndrome (Paterson, et al., 2004).

La cafeína, el alcohol, hipoglucemia, los antiácidos y los niveles elevados de calcio también estimulan la secreción de gastrina. El aumento de los niveles de gastrina sérica están asociados con úlcera duodenal, infección por *H. pylori*, carcinoma colorrectal y otros tumores cancerosos (Begos & Modlin, 1994).

I. Tratamiento

El tratamiento contra la infección de *H. pylori* es muy complejo e incluso ha sido objeto de controversia durante muchos años. Actualmente, tras comprobar que la erradicación de *H. pylori* disminuye a corto y largo plazo, de forma notable las recidivas de las úlceras, y las complicaciones de éstas, su papel dentro del desarrollo y tratamiento de la enfermedad es universalmente aceptado, debido a la efectividad para la erradicación de la bacteria (Berardi et al., 2004; Welage et al., 2005; Ramirez et al., 2003).

Hasta la fecha, el tratamiento más eficaz para el *H. pylori* incluye los regímenes de tres y de cuatro drogas, especialmente aquellos que contienen un inhibidor de la bomba de protones

(IBP) y dos antibióticos, ya que las tasas de curación son típicamente más altas con estas terapias. Dos regímenes de drogas tienden a tener una menor tasa de curación y no deben utilizarse. Por lo tanto, un régimen de tres drogas o posiblemente un pre-envasado, son recomendados como el medio más eficaz para el tratamiento de las úlceras causadas por *H. pylori* (Gisbert, Calvert, Gomollon, & Monés, 2005).

La primera pauta eficaz utilizada fue la "triple clásica" que asocia un imidazol (metronidazol o tinidazol) con tetraciclina y amoxicilina durante dos semanas. Ésta fue sustituida por otras que combinan un IBP (normalmente omeprazol) con dos antibióticos (fundamentalmente amoxicilina, claritromicina o metronidazol) son más fáciles y cómodas para el paciente, logrando tasas de erradicación superiores al 90%. La asociación de un IBP (generalmente omeprazol) con claritromicina y amoxicilina (conocida como la OCA) es la pauta más utilizada. También se puede utilizar una triple terapia con un IBP, amoxicilina y metronidazol. Es preferible reservar la pauta que incluye IBP con metronidazol y claritromicina como de segunda línea para evitar que se pueda desarrollar resistencia a los dos antimicrobianos (Ramírez et al., 2003).

El tratamiento triple, aunque es eficaz, tiene diversas limitaciones, entre las que se incluyen el riesgo de incumplimiento del paciente y la aparición de efectos secundarios como estreñimiento y náuseas en un 20 a 30% de los pacientes. Los regímenes más sencillos (dos fármacos) y más cortos (7 a 10 días) no son tan eficaces como el tratamiento triple durante 14 días. Actualmente se dispone de dos formulaciones que contienen el tratamiento completo contra *H. pylori* como Helidac[®] (Metronidazole-Tetraciclina-Bismuto), Prevpac[®] (amoxicilina, claritromicina, y lansoprazol), que se administra cuatro veces al día junto con un medicamento anti secretor durante al menos 14 días, y Pylera[®] (metoclopramide) que también es eficaz en el tratamiento de úlcera inducida. El uso de estos productos, se consideran las mejores opciones en eficacia, favoreciendo el cumplimiento de los regímenes de tratamiento; sin embargo el costo es más elevado (Berardi et al. 2005; Harrison, 2001).

En Guatemala se investigó la efectividad de diferentes esquemas de triple terapia para erradicar la infección gástrica por *H. pylori* en adultos sintomáticos. La triple terapia usada contenía 2 componentes estables, Amoxicilina (Amox, 500 mg PO c/8 hrs.) y Tinidazol (250 mg PO c/12 hrs), a los que se les agregó una sal de bismuto (Bi) fuera Subsalicilato de Bi (SSB, 525 mg PO qid) o Subcitrato de Bi (SCB 120 mg POD qid). Dicho estudio demostró que la erradicación de *H. pylori* fue mayor en los esquemas que duraron 30 días que en los de 20 días, así como también en los esquemas conteniendo SCB se asociaron de un grado mayor de erradicación que aquellos con SSB (Schneider et al., 1994).

En caso de que la triple terapia no erradique a *H. pylori* por tratarse de una cepa resistente al metronidazol, claritromicina, amoxicilina y tetraciclina, el paso siguiente es el uso de una terapia cuádruple en la cual el metronidazol es sustituido por claritromicina (o viceversa). Se ha utilizado con buenos resultados la combinación de pantoprazol, amoxicilina y rifabutina durante 10 días, observándose un índice de curación de un 86% en personas infectadas con cepas resistentes. Algunos autores señalan que la discrepancia entre la efectividad de la terapia puede indicar que la bacteria no está distribuida de manera uniforme en el estómago e incluso 20% de los pacientes pueden dar positivo a *H. pylori* 6 semanas después de la administración de una triple terapia (García, 2004; Harrison, 2001).

Recientemente se han propuesto pautas que asocian un IBP con fármacos como rifabutina o levofloxacina y amoxicilina, aunque con ellas se tiene todavía poca experiencia (García, 2004).

Algunos antibióticos han sido efectivos en el tratamiento de *H. pylori* a continuación se describen algunos de los más importantes:

1. Antibióticos betalactámicos: han tenido buena respuesta, sobre todo la amoxicilina, que ha sido utilizada con éxito en doble y triple terapia; además es uno de los antibióticos que, se ha comprobado que no ha creado resistencias (Gil, 2002).
2. Macrólidos: en principio presentaron una excelente actividad "*in vitro*" pero "*in vivo*" presentan poca eficacia. Recientemente, la claritromicina ha obtenido gran aceptación, sobre todo en tratamientos triples, siendo actualmente el antibiótico de elección en casi todas las pautas empleadas. Su resistencia es escasa, aunque se han encontrado algunos casos (4%) (Berardi et al. 2005).
3. Tetraciclinas: se han mostrado eficaces tanto "*in vitro*" como "*in vivo*", sobre todo en tratamientos de terapia triple; su problema lo constituye la intolerancia al medicamento y su dificultad o imposibilidad de tratamiento pediátrico debido a los problemas de crecimiento y en el esmalte de los dientes (Berardi et al., 2005).
4. Nitroimidazoles: se han utilizado de forma amplia en el tratamiento de esta infección; junto a tetraciclinas y sales de bismuto, obteniendo una de las tasas más altas de erradicación. También se usa en combinación con omeprazol y claritromicina o amoxicilina obteniendo brillantes resultados. Su utilidad viene limitada por la aparición frecuente de resistencias que en Perú han llegado a ser alrededor del 25% (Weingart et al., 2004).

5. Fluorquinolonas: son los que han tenido menos éxito en la práctica diaria, siendo la ciprofloxacina la que más eficacia ha mostrado hasta el momento (Gisbert *et al.* 2005).

Otros antibióticos: rifampicina, aminoglucósidos, vancomicina, trimetoprim y sulfametoxazol no han resultado eficaces (Weingart *et al.* 2004).

También se utilizan otros tratamientos en busca de erradicar la bacteria, algunos de los más importantes son:

- a. Sales de bismuto: alcanzan buenas concentraciones en la mucosa gástrica y se han mostrado útiles, sobre todo, en triple terapia y además lo son también, en el tratamiento de la enfermedad ulcerosa
- b. Bloqueadores de los receptores H₂ de la histamina: a pesar de que Hentschal y col. publicaron en 1993 un estudio en el que comunicaban que obtuvieron un 89% de éxitos con ranitidina, amoxicilina y metronidazol, el resto de trabajos reportados en la literatura no avala la utilización de estos fármacos en el tratamiento de la infección por *H. pylori*. En el 2005 se elaboró un preparado de bismuto, asociado a ranitidina y citrato para formar ranitidato de bismuto-citrato que, asociado a antibióticos, da buenos resultados.
- c. Omeprazol: es un fármaco que reduce la secreción de ácido gástrico a través de un mecanismo altamente selectivo. Es un IBP en la célula parietal gástrica. Actúa rápidamente y produce un control mediante la inhibición reversible de la secreción ácida del estómago con sólo una dosis diaria (Cifuentes, 2002). Actualmente es uno de los fármacos más utilizados, tanto en triple como en doble terapia. De igual manera, también se han empleado, con resultados similares, otros IBP como lansoprazol y pantoprazol (Gisbert *et al.* 2005).

La erradicación de *H. pylori* con omeprazol y antibióticos va asociada a un rápido alivio de los síntomas, una elevada tasa de cicatrización de las lesiones en la mucosa y una remisión prolongada de las úlceras pépticas, reduciéndose así la aparición de complicaciones como el sangrado gastrointestinal y la necesidad de la administración prolongada de antiseoretos (Gatta, 2003).

El objetivo principal del tratamiento para las úlceras causadas por *H. pylori* es erradicar o destruir las bacterias, en general, se desea tener un régimen de tratamiento que proporcione al menos un 80% de tasa de curación. La reinfección después de la erradicación con éxito de la bacteria es rara en Estados Unidos, siendo menor al 1%/año (Paterson, *et al.*, 2004; Berardi *et al.* 2005).

Para el tratamiento también se pueden usar combinaciones con regímenes de dos, tres, y cuatro drogas o la combinación de varios medicamentos (Cuadro 1).

Tabla 1. Clases de fármacos usados para tratar la infección por *H. pylori*

| Tipo | Drogas |
|---|--|
| Antibióticos | amoxicilina, claritromicina, metronidazol, tetraciclina |
| Bloqueadores de receptores H ² - Inhibidores de la bomba de protones (IBP) | cimetidina, famotidine, nizatidine, ranitidina esomeprazol, lansoprazol, omeprazol, pantoprazole, rabeprazol |
| Agentes cytoprotectivo | subsalicilato de bismuto, subcitrato de bismuto potasio, sucralfato |
| Productos de combinación | Helidac [®] , Prevpac [®] , Pylera [®] |

Fuente: García R. Tratamiento sobre la infección por *Helicobacter pylori*. Revista Sistema Sanitario de Navarra. 2004 Vol. 21 Suplemento 2.

La duración de la terapia necesaria aún es motivo de controversia. Algunos médicos favorecen realizar 7 días de tratamiento, mientras que otros médicos opinan que se mantenga el tratamiento de 10 a 14 días. Un tratamiento de corta duración puede tener buenos resultados en algunos casos. Sin embargo, la duración del tratamiento depende de la respuesta obtenida. Si el primer tratamiento no tuvo éxito, se necesitará extender el mismo a 14 días de duración, según lo recomendado por el Colegio Americano de Gastroenterología. No obstante, si la terapia con 14 días falla, probablemente la bacteria es resistente a los antibióticos, en estos casos es necesario realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana (Berardi et al. 2005; García, 2004).

El LOPRAL HELIPACK[®] aprobado en junio de 2007 es un tratamiento que tiene como función la erradicación de *H. pylori*. Está compuesto por un blister que contiene 30mg de lansoprazol, 500mg de amoxicilina y 500mg de claritromicina, el cual se realiza en 10 días. Gutierrez y otros (2009), determinaron que al emplear esta triple terapia, *H. pylori* fue erradicado en 90,5% de los pacientes evaluables (por protocolo) y en 88,5% por intención de tratar, obteniendo una tasa de erradicación de más del 90%, siendo más costo-eficaz que otros esquemas (IMVIMA, 2007).

a. Efectos secundarios a los antibióticos

Como en cualquier otro tipo de tratamiento antimicrobiano, el uso de antibióticos, además de provocar posibles alergias, presenta una serie de efectos secundarios o adversos, que pueden

ser una importante causa de abandonar el mismo, fracasando así la erradicación. Los efectos adversos son especialmente frecuentes (21%) en la terapia triple clásica (bismuto, tetraciclina y metronidazol) y más raros en los tratamientos en donde se utiliza el omeprazol (6%). Estos efectos, sobradamente conocidos consisten habitualmente en cefaleas, náuseas, vómitos, sensación de mareo, que en ocasiones provocan la encefalopatía por bismuto y problemas en el crecimiento óseo y del esmalte de los dientes producidos por el uso de tetraciclinas en niños (Weingart et al. 2004).

b. Resistencia a los antibióticos

Las cepas resistentes a antibióticos son la causa más frecuente del fracaso al tratamiento para erradicar la infección por *H. pylori* de hasta el 20%. En la actualidad, estudios han evidenciado que la principal causa de resistencia es metronidazol, con alrededor del 25-30%. En países en vías de desarrollo se reportan hasta un 95% de resistencia en cepas aisladas en América del norte y Asia. Además, se han descrito resistencias de 4%, con claritromicina y hasta un 10% en las personas en Estados Unidos (Paterson et al., 2004; Weingart et al., 2004).

Díaz- Regañón (2006), en España, investigó el patrón de sensibilidad a los antibióticos, para lo cual analizaron 36 aislamientos clínicos de *H. pylori*. Se determinó la CMI por difusión y dilución en agar y la detección de los genes *vaca* y *cagA* se realizó por PCR convencional. Todas las cepas fueron sensibles a la amoxicilina y la tetraciclina. La resistencia al metronidazol por difusión y por dilución fue del 35,7% y el 36,1%, y a la claritromicina del 21,4% y el 22,3%, respectivamente. Hubo una cepa con resistencia intermedia a la claritromicina (CMI de 0,38 mg/l) por el método de difusión en agar, que se incluyó entre las cepas resistentes.

Daiva Dailidienė (2002), en Washington, determinó que la tetraciclina es útil en las terapias combinadas contra *H. pylori*. El estudio demostró que menos del 1% de las cepas aisladas fueron tetraciclina-resistente (TetR). Los autores sugieren que la rareza de la resistencia a la tetraciclina entre los aislados clínicos refleja la ocurrencia de múltiples mutaciones ribosomales, sin embargo señalan que contribuye de forma importante la especificidad de huésped y la virulencia genética de la bacteria.

Contreras (1999), investigó en Guatemala la susceptibilidad antibiótica de *H. pylori*, determinándose que de 120 cepas que se aislaron, el 90% fue susceptible a claritromicina, el 98.3% a tetraciclina, y el 100% de eritromicina. Así también se pudo observar que hubo resistencia a amoxicilina y metronidazol de 24.2% y 41.7%, respectivamente.

3. **Contraindicaciones:**

No se recomienda tratamiento en los siguientes casos:

- a. El tratamiento con antibióticos no debe administrarse a menos que una prueba de diagnóstico de *H. pylori* sea positiva. La ausencia de *H. pylori* en la úlcera péptica es un diagnóstico inusual y puede ser indicativo de una etiología más grave.
- b. Niños con resultado positivo y enfermedad no ulcerosa o dolor abdominal recurrente. Niños positivos asintomáticos con historia familiar de úlceras o cáncer gástrico. Niños positivos con talla baja y anemia de origen no gástrico.
- c. Si la persona sospecha o está embarazada, debe informar a su médico para que pueda tomar la decisión de no tratar su infección por *H. pylori* o utilizar una combinación especial de la terapia antimicrobiana.
- d. Si el tratamiento fracasa, su médico debe tratar de no utilizar la misma combinación de los antibióticos de nuevo. *H. pylori* fácilmente se convierte en resistentes a metronidazol y claritromicina por tanto, estos agentes no deben ser usados dos veces. Después de la terapia para confirmar su erradicación, se deben evitar los agentes antimicrobianos durante 4 semanas y omeprazol durante una semana antes de realizar una prueba de diagnóstico (García, 2004).
- e. En Guatemala los tratamientos a largo plazo con preparaciones antiácidas han dado éxito, aunque la mayoría de los pacientes han recaído en el siguiente año. Sin embargo el tratamiento de las úlceras como enfermedad infecciosa, ha hecho posible la cura permanente de la misma. El tratamiento de las infecciones de *H. pylori* habitualmente consiste en una combinación de fármacos que incluye metronidazol, un segundo antibiótico como la tetraciclina o la amoxicilina y una preparación antiácida que contenga bismuto. El tratamiento combinado mantenido durante 14 días, elimina la infección de *H. pylori* y determina una curación duradera de las úlceras (Hernández, 2009).

IV. JUSTIFICACION

Helicobacter pylori es una bacteria que afecta a más del 50% de la población mundial. Se ha clasificado como carcinógeno tipo I debido a que es agente causal de patologías gástricas como úlcera péptica, linfomas y adenocarcinomas gástricos (Triana, 2001).

En los países desarrollados, la infección por este agente patógeno es poco frecuente en niños y aumenta gradualmente en función de la edad, llegando a alcanzar niveles del 30 % de infección a los 30 años de edad. En cambio en los países en desarrollo, la mayor parte de sus habitantes se encuentran infectados independientemente de la edad, llegando esta infección a valores cercanos al 70 %, lo cual demuestra la existencia de una relación inversa entre el grado de infección con esta bacteria y el nivel socioeconómico de la región (Triana, 2001).

Guatemala, al ser un país en vías de desarrollo, presenta altos porcentajes de infección asociada a *H. pylori*. Estudios realizados indican que adultos sanos menores de 40 años tienen una positividad de anticuerpos IgG del 79% y en adultos mayores de 40 años del 87% (Rodríguez, 2000).

En la actualidad, dicha bacteria es diagnosticada principalmente por métodos no invasivos (determinación sérica de anticuerpos y de antígeno fecal) los cuales pueden presentar variabilidad en su sensibilidad y especificidad. El presente estudio tuvo como principal objetivo determinar dentro del panel de pruebas, la más sensible y específica en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, y posteriormente evaluar la efectividad del tratamiento con base a la negativización de las pruebas de anticuerpos específicos y el antígeno fecal. Así también se asociaron los niveles del índice de pepsinógeno I/II con la sintomatología para evaluar el estado funcional de la mucosa gástrica.

En Guatemala, no existen datos que demuestren la comparación de sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas y antígeno fecal utilizadas en la fase pre –tratamiento y post-tratamiento, por lo que fue importante evaluarlas tanto para establecer la mejor prueba para el diagnóstico inicial de la infección como para la evaluación de la erradicación de la infección posterior a la administración del tratamiento. Para ello, en la etapa pre-tratamiento las pruebas fueron comparadas con el resultado histológico de la biopsia como estándar de oro.

V. OBJETIVOS

A. General:

Identificar las pruebas no invasivas más sensibles y específicas en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos sometidos a biopsia.

B. Específicos:

1. Evaluar la sensibilidad y especificidad de las pruebas de antígeno fecal, anticuerpos IgM, IgG (cagA) e IgA para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*.
2. Determinar el grado de concordancia de cada prueba evaluada respecto al resultado de la biopsia.
3. Determinar la efectividad del tratamiento con base en la comparación de la presencia del antígeno fecal y anticuerpos IgM, IgG (cagA) e IgA en la etapa pre y post-tratamiento.
4. Asociar los niveles del índice de pepsinógeno I /II con la sintomatología del paciente antes y después del tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*.

VI. Hipótesis:

Debido a que el presente estudio es de tipo descriptivo, no se incluye hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo: Pacientes dispépticos que consultaron el área de endoscopia del Instituto de Cancerología (INCAN).

Muestra: 178 pacientes dispépticos sometidos a endoscopia. Los participantes voluntarios cumplieron los siguientes criterios:

a. Criterios de inclusión

1. Ser mayor de edad
2. Presentar síntomas de dispepsia: dolor o molestia en la parte alta del abdomen, náuseas, distensión o hinchazón del abdomen, plenitud o saciedad precoz con la ingesta de alimentos.
3. Pacientes citados para realizarse endoscopia.
4. Firmar el consentimiento informado.
5. Estar dispuesto a participar en el seguimiento por cinco meses.

El paciente financió el costo de la endoscopia y sus medicamentos.

b. Criterios de exclusión:

1. Vivir fuera del perímetro capitalino.
2. No tener refrigeradora para guardar la muestra de heces un día antes de llevarla al laboratorio, en caso de ser necesario.
3. No estar en la disposición de completar el tratamiento después del diagnóstico.
4. Pacientes que estuvieron bajo tratamiento con antibióticos.

c. Consentimiento informado:

A cada uno de los pacientes que asistieron para la realización de endoscopia se les realizó un consentimiento informado, basado en lineamientos éticos, en el cual se informó los mecanismos de toma de muestra y análisis a realizar, etc (Anexo 1).

B. Recursos

1. Humanos:

- a. Investigadores.
Nadia Isabel Hornquist Hurtarte
Margarita Asunción Benito Zúñiga
Estuardo Alejandro Maldonado
María José Camó Ordoñez
- b. Asesores:
MSc. Vivian Matta de García
Licda. Karla Lange

2. Institucionales:

- a. Instituto Nacional de Cancerología (INCAN).
- b. Unidad de Inmunopatología de Enfermedades Tropicales, Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- c. Unidad de Estadística y Biométrica.
- d. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT).

3. Físicos:

a. Materiales:

- Tubos vacutainer sin aditivo (tapón rojo) de 5mL
- Tubos vacutainer con EDTA 0.5% (tapón morado) de 4mL
- Tubos de vidrio desechables de 12 x 75 mm
- Recipientes plásticos para toma de muestra de heces
- Papel parafilm
- Bolsas rojas para descarte de desechos bioinfecciosos
- Bolsa negra para desechos comunes
- Bolsas blancas para desechos especiales
- Descartadores de punzocortantes
- Hielera para transporte de muestras
- Pipetas automáticas (20 – 200 uL y 200 – 1000 uL)
- Pipetas Pasteur
- viales de criopreservación
- Camisas para vacutainer

- Puntas para pipetas
- Botella de lavado o un sistema de lavado automático
- Ligadura
- Algodón
- Papel aluminio
- Hielo o refrigerante
- Marcador indeleble
- Lapiceros
- Agua desmineralizada
- Hoja de registro de pacientes
- Guantes
- Aguja vacutainer 21x ½
- Gradillas

2. Equipo:

- Centrífuga a -1 °C
- Refrigeradora a -20 °C
- Refrigerador de 2 a 8 °C (almacenamiento de reactivos)
- Lector de ELISA con filtros de 450 nm / 630nm / 405 nm
- Agitador de microplacas
- Vortex
- Cronómetros
- Incubadora

c. Reactivos:

- Kit de IgG cagA International Immunodiagnostics[®]
- Kit de IgM International Immunodiagnostics[®]
- Kit de IgA International Immunodiagnostics[®]
- Kit Pepsinógeno I International Immunodiagnostics[®]
- Kit Pepsinógeno II International Immunodiagnostics[®]
- Kit de antígeno fecal Anarapid[®] ANALYT, S.A.
- Isopropanol al 70%

C. Procedimientos y Metodología

1. Selección del paciente

Se seleccionaron a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión previamente mencionados.

2. Ficha epidemiológica de los pacientes y ficha de resultados de análisis de laboratorio

Se completó una ficha epidemiológica por cada paciente obteniendo información de datos personales, sintomatología y antecedentes familiares relacionado a la infección por *H. pylori* (Anexo 2).

Con el objetivo de llevar un control en el seguimiento de los pacientes, se utilizó una ficha de resultados de análisis de laboratorio, incluyendo información de las pruebas serológicas, antígeno fecal y resultados microbiológicos de las biopsias obtenidas en la endoscopia de los pacientes participantes, debido a que se trabajó en conjunto con el seminario “Aislamiento de *H. pylori* e inhibición de la bacteria por diez extractos de plantas medicinales utilizadas popularmente en el tratamiento de infecciones gastrointestinales” que formó parte del proyecto de investigación “Evaluación de las alternativas de diagnóstico por *H. pylori*: Búsqueda de alternativas de diagnóstico y evaluación de productos naturales para el tratamiento” (Anexo 3).

3. Toma de Muestra

a. Muestra de sangre: a cada paciente, luego de haber firmado el consentimiento informado y antes de realizarle la endoscopia, se le extrajeron 5 mL de sangre venosa a través del sistema vacutainer®, para la determinación de anticuerpos anti *H. pylori* IgM, IgG (*cagA*) e IgA, pepsinógeno I y II. Las muestras fueron centrifugadas y alicuotadas a temperatura ambiente y luego transportadas en cadena de frío al laboratorio, para posteriormente conservarse a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de realizar las pruebas. Cada una de las muestras fue debidamente rotulada con la fecha de toma de muestra, código del paciente, el cual fue asignado al momento de la toma de datos para la ficha epidemiológica (a la cual se le asignó un número de orden correlativo).

El mismo procedimiento se realizó cinco meses después de haber finalizado el tratamiento. Se utilizó el mismo código, agregándole anteriormente la letra “P” que indicaba la fase post-tratamiento.

- b. **Muestra de heces:** Los pacientes proporcionaron una muestra de heces, la cual fue transportada en cadena de frío al laboratorio para su posterior análisis. El mismo procedimiento se realizó cinco meses después de haber finalizado el tratamiento.

4. Pruebas diagnósticas

A cada paciente del estudio se le realizó un panel de pruebas que incluyó:

- a. Anticuerpos IgM anti *H. pylori*
- b. Anticuerpos IgA anti *H. pylori*
- c. Anticuerpos IgG anti *H. pylori cag A*
- d. Antígeno de *H. pylori* en heces
- e. Niveles de pepsinógeno I
- f. Niveles de pepsinógeno II

a. Determinación de anticuerpos IgM por ensayo inmunoenzimático (ELISA)

Preparación de reactivos:

1. Todas las muestras y los reactivos del kit fueron llevadas a temperatura ambiente (20-25 °C) y se mezclaron suavemente antes de utilizarlos.
2. Solución de lavado (10x): Se preparó el tampón de lavado mediante la adición de agua desmineralizada a la solución de lavado concentrada (10x) para obtener un volumen final de 1 litro: 100 mL de solución de lavado 10x + 900 mL de agua desmineralizada.

Procesamiento de muestras:

1. Micropozos:
A1: Blanco
B1: control negativo
C1: control positivo
D1: Calibrador Cut-off
E1 en adelante: muestras
2. Se colocó el número deseado de pozos en la microplaca de soporte.
3. Se preparó dilución 1:40 (pipetear 5uL de la muestra, control negativo, control positivo y calibrador + 200uL de la solución sorbente) y se mezcló bien.
4. Se pipeteó 100uL de la dilución del suero, calibrador y controles en los pozos apropiados y se identificaron. Para el blanco de reactivo se agregó 100uL de la solución sorbente en la posición 1A de la microplaca.

Nota: Se eliminaron las burbujas de aire del líquido golpeando suavemente la microplaca y se mezcló bien.

5. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente (25 °C)
6. Se removió el líquido de todos los pozos y se realizó lavado tres veces con el buffer de lavado: 350 uL/pozo en cada ciclo. Tiempo de remojo de 20 segundos entre ciclos.
7. Se agregó 100ul de conjugado enzimático a todos los pozos.
8. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente (25 °C).
9. Se removió el conjugado enzimático de todos los pozos y se repitió el lavado por tres veces con el buffer de lavado: 350 uL/pozo en cada ciclo. Tiempo de remojo de 20 segundos entre ciclos.
10. Se agregó 100ul de substrato TMB cromogénico a todos los pozos.
11. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente.
12. Se agregó 100ul de HCl 2 N para detener la reacción.

Nota: Se eliminaron las burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.

13. Se leyeron a 450 nm con un lector de microplaca.

Cálculo de los resultados

- A partir de cada una de las absorbancias obtenidas de la lectura del equipo, se calculó la DO (Densidad Óptica) crudo restando a todas las absorbancias de las muestras, controles y calibrador, la absorbancia del blanco de reactivo.
- Se calculó la DO neto de cada determinación, dividiendo la DO cruda de cada muestra dentro del factor del ensayo (el valor del calibrador cut -off por el factor especificado por el fabricante).

Interpretación

- Negativo: índice menor o igual a 0.90
- Indefinido: índice de 0.91 a 0.99
- Positivo: índice mayor o igual a 1.00

b. Determinación de anticuerpos IgA por ensayo inmunoenzimático (ELISA)

Preparación de Reactivos:

1. Todas las muestras y los reactivos del kit fueron llevados a temperatura ambiente (20-25 °C) y mezclados suavemente antes de utilizarlos.

2. Solución de lavado (10x): Se preparó tampón de lavado mediante la adición de agua desmineralizada a la solución de lavado concentrada (10x) para obtener un volumen final de 1 litro: 100 mL de Solución de lavado 10x + 900 mL de agua desmineralizada.

Procesamiento de muestras:

1. Micropozos:
A1: Blanco
B1: control negativo
C1: control positivo
D1: Calibrador Cut-off
E1 en adelante: muestras.
2. Se colocó el número deseado de tiras recubiertas en el soporte.
3. Se preparó dilución 1:40, adicionando 5ul de la muestra, control negativo, control positivo y calibrador en 200ul de la solución sorbente y se mezcló bien.
4. Se agregó 100ul de la dilución del suero, calibrador y controles en los pozos apropiados e identificados. Para el blanco de reactivo agregar 100ul de la solución sorbente en la posición 1A de la microplaca.
Nota: Se eliminaron las burbujas de aire del líquido golpeando suavemente la microplaca y se mezcló bien.
5. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente (25°C).
6. Se removió el líquido de todos los pozos y se realizó tres ciclos de lavado con buffer de lavado (350uL/pozo)
7. Se agregó 100ul de conjugado enzimático a cada pozo.
8. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente (25°C)
9. Se removió el conjugado enzimático de todos los pozos y se realizó tres ciclos de lavado con buffer de lavado (350uL/pozo)
10. Se agregó 100ul de substrato TMB cromogénico a todos los pozos.
11. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente.
12. Se agregó 100ul de solución de parada (HCl 2N).
Nota: Se eliminaron las burbujas de aire en cada pozo antes de la lectura.
13. Se leyeron a 450 nm con un lector de microplacas.

Cálculo de los resultados

- A partir de cada una de las absorbancias obtenidas de la lectura del equipo, se calculó la DO cruda restando a todas las absorbancias de las muestras, controles y calibrador, la absorbancia del blanco de reactivo.

- Se calculó la DO neta de cada determinación, dividiendo la DO crudo de cada muestra dentro del factor del ensayo (el valor del calibrador cut-off por el factor especificado por el fabricante).

Interpretación

- Negativo: índice menor o igual a 0.90
- Indefinido: índice de 0.91 a 0.99
- Positivo: índice mayor o igual a 1.00

c. Determinación de anticuerpos IgG (*cagA*) por ensayo inmunoenzimático (ELISA)

Preparación de los reactivos

1. Previo a utilizar la microplaca fue llevada a temperatura ambiente (alrededor de 1 hora) antes de utilizarlas.
2. Previo a utilizar los componentes para la curva de calibración se mezclaron cuidadosamente en el vortex.
3. Se reconstituyó el suero control, añadiendo 2 mL de agua desmineralizada al polvo liofilizado. Se dejó disolver completamente y luego se mezclaron suavemente en vortex. Para conservarlas se congelaron en alícuotas a -20 °C.
4. Se realizaron diluciones de la solución tampón de lavado concentrada (20x) con agua destilada y se mezclaron suavemente de extremo a extremo antes de su uso.

Nota: Durante la preparación se debió evitar la formación de espuma o burbujas ya que pudo tener un impacto en la eficiencia de los ciclos de lavado.

Nota: Una vez diluida, la solución de lavado es estable durante 1 semana a 2 a 8 ° C.

Procesamiento de Muestras (Determinación cuantitativa):

Se diluyeron las muestras de 1:101 en un tubo de dilución adecuadamente rotulado (pipetear 1000 µL diluyente a + 10 µL de muestra) y se mezclaron con cuidado en vortex.

Nota: los calibradores están listos para usar, no deben diluirse.

1. Se colocó el número de pocillos necesarios en la microplaca y se dejaron los pocillos A1 y B1 vacío para el blanco.
2. Se pipeteó 100 µL de los calibradores y 100 µL de suero control por duplicado. Luego se pipetearon 100 µL de muestras diluidas en cada pocillo debidamente identificado.

3. Se incubó la microplaca durante 60 minutos a 37 °C, sellando con adhesivo.
4. Se lavaron los pocillos (4-5 ciclos de lavado dispensando 350ul/pozo de solución de lavado = 1 ciclo, esperar de 20-30 segundos entre cada ciclo).
5. Se pipetearon 100 µL de conjugado enzimático en cada pocillo, excepto A1 y B1 (pozos del blanco) y se cubrieron con el sellador.
6. Se incubó la microplaca durante 60 minutos a 37 °C.
7. Se lavaron los pocillos como en el paso 5.
8. Se pipetearon 100 µL de mezcla cromógeno / sustrato en cada pocillo, incluyendo los pozos A1 y B1. Se incubó la microplaca a temperatura ambiente (18-24°C) durante 20 minutos.

Nota: No exponga la microplaca y el reactivo a la luz directa.

9. Se pipeteó 100 µL de ácido sulfúrico para detener la reacción enzimática en todos los pozos con la secuencia de pipeteo mismo que en el paso 9. El control positivo y las muestras positivas viran del color azul al amarillo.
10. Se midió la intensidad del color de la solución en cada pocillo en el lector de microplacas con un filtro de lectura de 450 nm y un segundo filtro entre 620-630nm.

Cálculo de resultados:

A partir de la absorbancia obtenida de los 6 calibradores del kit se graficó una curva de absorbancia versus concentración, obteniendo a través de una regresión lineal la ecuación de la recta ($y=mx + b$), en la cual se sustituye el valor de absorbancia de la muestra para obtener la concentración en arb U/mL.

Interpretación:

- Negativo: concentración inferior al 5 arb U/mL.
- Positivo: concentración superior al 5 arb U/mL.

d. Antígeno de *H. pylori* en heces por inmunocromatografía (Prueba rápida)

Preparación de Reactivos:

- No necesitan preparación previa, ya que se almacenan a temperatura ambiente (25°C).

Procesamiento de muestras:

1. Se colectó suficiente cantidad de heces (1-2 mL o gr) en un envase colector de muestras limpio y seco para obtener la cantidad importante de antígenos.

Para procesar muestras fecales

2. Muestras sólidas: se introdujo el aplicador dentro de la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes para coleccionar aproximadamente 50 mg de heces.
3. Muestras líquidas: se sostuvo el gotero verticalmente y se aspiró la muestra fecal, transfiriendo 2 gotas (aproximadamente 80 µL) dentro del tubo colector de la muestra que contiene el buffer de extracción.
4. Se ajustó la tapa del tubo colector de la muestra y se agitó vigorosamente el tubo para mezclar la muestra con el buffer de extracción y dejando el tubo reposando por 2 minutos.
5. Antes de abrir el sobre estos se llevaron a temperatura ambiente. Nota: Remover la placa del sobre laminado y usarlo tan pronto sea posible. Los mejores resultados se obtienen cuando el examen se realiza inmediatamente después de abrirse el sobre laminado.
6. Se rompió la punta del tubo colector de la muestra, transfiriendo 2 gotas completas de la muestra extraída al pozo de la muestra (S) de la placa de examen.
7. Se leyeron los resultados a los 10 minutos después de haber dispensado las gotas de la muestra. Se recomienda no leer los resultados después de 20 minutos.

Interpretación:

- Positivo: se observó una línea coloreada en el control (C) y la otra en prueba (T).
- Negativo: solo se observó línea coloreada en el control (C).

e. Detección de Pepsinógeno I (ELISA).

Preparación de los reactivos

1. Antes de usar todos los reactivos se llevaron a temperatura ambiente.
2. Solución de lavado concentrada (30x): Se preparó la solución de lavado con 20 mL de solución de lavado concentrada (30x) + 580 mL agua desmineralizada.
3. Se reconstituyó los controles positivo y negativo agregando 1mL de agua desmineralizada.
4. Calibradores/ estándares:
 - Estándar 1: Se reconstituyeron con 1.0 mL de agua destilada.
 - Estándar 2 -6: Se reconstituyeron con 0.5 mL de agua destilada.
5. Mezcla de anticuerpos (Ac) trazador/captura: (para una tira de micropozos): en un tubo se agregó 1mL de diluyente trazador + 50 uL de Ac trazador + 50 uL de Ac. Captura.
Nota: Debe utilizarse una preparación fresca cada vez que se corra la prueba.
6. Sustrato HPR (peroxidasa de rábano): listo para usar.
7. Ácido Sulfúrico 0.5M (Solución Stop): listo para usar.

* Todos los estándares y controles se deben dejar reposar por 10 minutos después mezclar bien y suavemente.

NOTA: Asegurarse que el sólido de los estándares y controles se disuelva por completo antes de usar. Las diluciones se almacenaron a -10°C. No superar los tres ciclos congelación-descongelación.

Procesamiento de muestras:

1. En las placas recubiertas de estreptavidina se colocaron los estándares, los controles y las muestras desconocidas, en el siguiente orden:
 - A1 – F1: Estándares del 1 al 5.
 - G1–H1: Controles
 - A2 en adelante: Muestras
2. Preparación de la solución de trabajo: se agregó: 1mL de diluyente trazador + 50 uL de Ac trazador + 50 uL de Ac. Captura.
3. Se agregó en los micropozos correspondientes 25 uL de estándares, controles y muestras de los pacientes.
4. Se añadió 100 uL de la mezcla de anticuerpos trazador/ captura en cada pozo.
5. Se mezclaron suavemente y se cubrieron con papel aluminio para evitar la exposición a la luz.
6. Se incubó la placa a temperatura ambiente (25 °C) por 60 minutos.
7. Se aspiró el contenido de cada pozo y se lavó cada micropozo 5 veces, con 350uL de la suspensión de lavado .
8. Se agregó 100uL del sustrato HRP (peroxidasa de rábano) en cada micropozo.
9. Se cubrió nuevamente la placa con un sellador y con papel aluminio para evitar la luz.
10. Se incubó a temperatura ambiente (25 °C) por 20 minutos.
11. Se agregó 100 uL de solución de parada en cada pozo.
12. Se leyó la absorbancia a 450nm dentro de 10 minutos en un lector de microplacas.

Cálculo de resultados:

El lector de placas se calibró previamente para que a partir de la absorbancia obtenida de los 6 estándares del kit se plotara una curva de absorbancia versus concentración y automáticamente se obtuviera la concentración en ng/mL, por regresión lineal.

Interpretación:

Concentraciones fuera del valor de referencia (16.2 - 118 ng/mL) reflejaron daño en el cuerpo gástrico.

f. Detección de Pepsinógeno II (ELISA)

Preparación de los reactivos

1. Antes de usar los reactivos, se llevaron a temperatura ambiente (25°C)
2. Solución de lavado concentrada (30x): Se preparó la solución de lavado: 20 mL de solución de lavado concentrada (30x) + 580 mL agua desmineralizada.
3. Se reconstituyeron los controles positivo y negativo agregando 0.5mL de agua desmineralizada.
4. Calibradores/ estándares:
 - Estándar 1: Se reconstituyeron con 1.0 mL de agua desmineralizada.
 - Estándar 2 -6: Se reconstituyeron con 0.5 mL de agua desmineralizada.

* Ya reconstituídos se almacenaron los controles y estándares en alícuotas de 100-200 uL a -20 °C.
5. Mezcla de anticuerpos (Ac) trazador/captura: (para una tira de micropozos):
En un tubo se agregó: 1mL de diluyente trazador + 50 uL de Ac trazador + 50 uL de Ac. Captura.
Nota: Se utilizó una preparación fresca cada vez que se corriera la prueba.
6. Sustrato HPR (peroxidasa de rábano): listo para usar.
7. Ácido Sulfúrico 0.5M (Solución de parada): listo para usar.

Procesamiento de muestras

1. En las placas recubiertas de estreptavidina se colocaron los estándares, los controles y las muestras desconocidas, en el siguiente orden:
 - A1 – F1: Estándares del 1 al 5.
 - G1–H1: Controles
 - A2 en adelante: Muestras
2. Se preparó la solución de trabajo agregando: 1mL de diluyente trazador + 50 uL de Ac trazador + 50 uL de Ac. captura.
3. Se agregó en los micropozos correspondientes 25 uL de estándares, controles y muestras de los pacientes.
4. Se añadió 100 uL de la mezcla de anticuerpos trazador/ captura en cada pozo.
5. Se mezcló suavemente y se cubrió la placa con papel aluminio para evitar la exposición a la luz.
6. Se incubó la placa a temperatura ambiente (25 °C) por 120 minutos.

7. Se aspiró el contenido de cada pozo y se lavó cada micropozo 5 veces, con 350uL de la suspensión de lavado.
8. Se agregaron 100uL del sustrato HRP (peroxidasa de rábano) en cada micropozo.
9. Se cubrió nuevamente la placa con un sellador y con papel aluminio para evitar la luz.
10. Se incubó a temperatura ambiente (25 °C) por 20 minutos.
11. Se agregó 100 uL de solución de parada en cada pozo.
12. Se leyó la absorbancia a 450nm dentro de 10 minutos en un lector de microplacas.

Cálculo de resultados:

El lector de placas se calibró previamente para que a partir de la absorbancia obtenida de los 6 estándares del kit se ploteara una curva de absorbancia versus concentración y automáticamente se obtuviera la concentración en el espectrofotómetro en ng/mL por regresión lineal.

Interpretación:

Concentraciones aumentadas o disminuidas respecto al valor de referencia (6.8 - 25.6 ng/mL) reflejaron alteraciones en el estado funcional de la mucosa gástrica. En presencia de daño gástrico, las células principales son remplazadas por las glándulas antrales (productoras de Pepsinógeno II), produciendo aumento inicial en el valor del mismo y por tanto una disminución en la relación de Pep I/II.

5. Criterios de positividad para la administración de tratamiento:

- Resultado positivo en la biopsia
- Resultado positivo para antígeno fecal
- Resultado positivo en al menos dos o más anticuerpos (IgG, IgA e IgM combinados) aún con resultado de biopsia negativo, con base en los criterios de Maastricht.

De cada uno de los pacientes se anotó el resultado tanto de la endoscopia como de la biopsia. A los pacientes que cumplieron con los criterios de positividad en las pruebas de laboratorio, se les realizó un seguimiento durante cinco meses para evaluar el curso de la infección y cambios en la sintomatología.

Al finalizar el tratamiento se realizó el mismo panel de pruebas descritas en el inciso (C.4).

Los resultados de las pruebas serológicas (anticuerpos IgM, IgA e IgG *cag A* anti *H. pylori*) y antígeno fecal fueron comparados con el estándar de oro (biopsia), para determinar la sensibilidad y especificidad de dichas pruebas en la etapa pre-tratamiento.

6. Entrega de informe de resultados

El informe de resultados de las pruebas realizadas a los pacientes tanto pre-tratamiento y post-tratamiento se entregó posteriormente al procesamiento de las muestras. Al paciente se le programó una cita para la entrega de resultados y si el resultado fue positivo se refirió con el gastroenterólogo para la entrega de receta médica.

D. Diseño estadístico

1. Tipo de estudio: estudio de cohorte prospectivo.

2. Número de muestras:

n= número de pacientes que cumplen con los criterios de inclusión.

n= 125 pacientes (por conveniencia)

3. Análisis estadístico: las cuatro pruebas diagnósticas para *H. pylori* se compararon con el estándar de oro (biopsia).

A cada uno de los pacientes se le realizó el panel completo de pruebas. A dichas pruebas se les evaluó la sensibilidad y especificidad a través de tablas de contingencia de 2 x 2 comparando el resultado de la prueba contra el resultado de la biopsia. Esto permitió obtener el número de falsos positivos y falsos negativos. Así también, se evaluó la concordancia entre resultados por medio del índice kappa.

A los 63 pacientes que cumplieron con los criterios de positividad, se les dio seguimiento durante cinco meses después de finalizado el tratamiento y se les realizó el mismo panel de pruebas al final de dicho período. Debido a que en la segunda etapa no hubo patrón de comparación (biopsia), se evaluó la concordancia entre el panel de pruebas por medio de un índice kappa ponderado. Así mismo, se realizó el análisis descriptivo de los niveles del índice de pepsinógeno I/ II respecto a la sintomatología pre y post-tratamiento de los pacientes en forma aislada.

Por medio de la prueba de McNemar se compararon los resultados de la primera y segunda fase en función de identificar cambios estadísticamente significativos en los resultados obtenidos de las pruebas de antígeno fecal, anticuerpos IgM, IgG e IgA anti *H. pylori*, evaluando la erradicación de *H. pylori* a través de la negativización de los resultados de dichas pruebas en la etapa post-tratamiento.

XIII. RESULTADOS

La muestra de estudio estuvo conformada por un total de 178 pacientes, de ambos géneros, comprendidos entre 18-75 años, residentes en el área metropolitana y lugares aledaños. No se tomó en cuenta la etnia, ni estatus socioeconómico (Cuadro 1).

De los 178 pacientes que participaron en el estudio, 135 (75.8%) pacientes son de sexo femenino, mientras que 43 (24.1 %) de sexo masculino. En lo que se refiere a la distribución etaria, el grupo de pacientes entre 51-55 años fue el que más participó 16.8% (30/178) y el menor fue el grupo menores de 20 años (2/1.1%). No se logró obtener la información de 14 (7.9%) pacientes del estudio (Cuadro 1).

Cuadro 1. Perfil demográfico de los pacientes en estudio

| Características | Frecuencia | Porcentaje % |
|-------------------------------|-------------------|---------------------|
| 1. Género | | |
| a. Femenino | 135 | 75.8 |
| b. Masculino | 43 | 24.1 |
| 2. Edades (años) | | |
| <20 | 2 | 1.1 |
| 20-25 | 5 | 2.8 |
| 26-30 | 6 | 3.4 |
| 31-35 | 15 | 8.4 |
| 36-40 | 18 | 10.1 |
| 41-45 | 20 | 11.2 |
| 46-50 | 18 | 10.1 |
| 51-55 | 30 | 16.8 |
| 56-60 | 25 | 14.0 |
| 61-65 | 15 | 8.4 |
| 66-70 | 8 | 4.5 |
| 71-75 | 2 | 1.1 |
| No proporcionaron información | 14 | 7.9 |

Datos experimentales

A. Resultados de la evaluación clínica y de laboratorio en etapa pre-tratamiento

Según datos de la encuesta realizada a los 178 pacientes en la etapa inicial del estudio, los síntomas más frecuentes fueron reflujo (139/78.08%), dolor abdominal (118/66.29%) y flatulencia (111/62.35%) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia de la sintomatología de pacientes en etapa pre-tratamiento.

| Síntomas | Pre-tratamiento n=178 | |
|-----------------|--------------------------|-------|
| | Frecuencia | % |
| Reflujo | 139 | 78.08 |
| Dolor abdominal | 118 | 66.29 |
| Flatulencia | 111 | 62.35 |
| Inflamación | 110 | 61.79 |
| Llenura | 92 | 51.68 |
| Diarrea | 49 | 27.52 |
| Tos | 46 | 27.05 |
| Otros | 12 | 6.74 |
| Asintomáticos | 2 | 1.12 |

Datos experimentales

Los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio realizadas en la fase pre-tratamiento se presentan en el Cuadro 3. De los 178 pacientes participantes en el estudio, se observó que los anticuerpos IgA (118/66.3%) e IgG *CagA* (100/56.2%) presentaron la mayor positividad, en comparación a los anticuerpos IgM (76/42.7%) y antígeno fecal (55/30.9%). De la misma manera se puede observar que la mayoría de pacientes presentó un valor normal de índice de pepsinógeno I/II (43/60.6%).

Por problemas técnicos con el reactivo no fue posible determinar el índice de pepsinógeno I/II a la totalidad de pacientes.

Cuadro 3. Pruebas de laboratorio pre-tratamiento.

| Características | Pre- tratamiento n =178 | |
|-----------------------------------|----------------------------|------|
| | Muestras positivas | |
| | Frecuencia | % |
| 1. Pruebas diagnósticas | | |
| a. Anticuerpos IgA | 118 | 66.3 |
| b. Anticuerpos IgG(<i>CagA</i>) | 100 | 56.2 |
| c. Anticuerpos IgM | 76 | 42.7 |
| d. Antígeno fecal | 55 | 30.9 |
| 2. Índice Pepsinógeno I/II | Frecuencia | % |
| • Alto | 3 | 4.2 |
| • Disminuido | 25 | 35.2 |
| • Normal | 43 | 60.6 |

Datos experimentales

Los resultados histológicos de la biopsia de los pacientes sometidos a endoscopia, obtenidos en el departamento de patología del INCAN, demostraron que la mayoría de pacientes presentaban gastritis crónica en ausencia de *H. pylori* (73/41%). Cincuenta y seis pacientes presentaron una biopsia positiva para *H. pylori*, la mayoría de ellos también presentó gastritis crónica (53/ 29.8 %), seguido por gastritis aguda en menor porcentaje (3/ 1.7%) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Comparación entre resultado histológico de *H. pylori* y patología según biopsia.

| Resultado histológico | | <i>H. pylori</i> en biopsia <i>n</i> =178 | | | |
|-----------------------|-------------------------|--|------|----------|------|
| | | Presencia | | Ausencia | |
| | | No. | % | No. | % |
| Patología | Gastritis crónica | 53 | 29.8 | 73 | 41.0 |
| | Gastritis aguda | 3 | 1.7 | 0 | 0 |
| | Otra patología | 0 | 0 | 6 | 3.4 |
| | Sin patología asociadas | 0 | 0 | 43 | 24.1 |
| Total | | 56 | 31.5 | 122 | 68.5 |

Datos obtenidos del Departamento de Patología del INCAN

B. Evaluación de sensibilidad y especificidad

Al comparar los resultados obtenidos de las pruebas serológicas con el resultado obtenido de la biopsia, se obtuvo el cálculo de sensibilidad y especificidad. Se encontró que la detección de anticuerpos IgA contra *H. pylori* presentó una mayor sensibilidad (74.2%) y la prueba de antígeno fecal la mayor especificidad (69.9%), respecto a las demás pruebas evaluadas en la fase pre-tratamiento. Dichos resultados se obtuvieron a través de la evaluación de tablas de contingencia 2x2 entre las pruebas diagnósticas no invasivas (IgA, IgM, IgG *CagA* y antígeno fecal) comparado con el resultado de *H. pylori* de la biopsia (Anexo 6). Así mismo, se utilizó el índice kappa (valor < 0.20, IC 95.%) para establecer la concordancia entre las pruebas de anticuerpos y la biopsia, obteniendo valores de índice bajos, lo cual demuestra que no existe relación entre las pruebas con excepción de antígeno fecal que presentó una concordancia débil (Cuadro 5).

Cuadro 5. Sensibilidad, especificidad e índice kappa de cada prueba diagnóstica de *H. pylori*

| Prueba | Sensibilidad (%) | Especificidad (%) | Kappa |
|----------------|------------------|-------------------|--------|
| Antígeno fecal | 50.0 | 69.9 | 0.2005 |
| IgM | 48.5 | 62.6 | 0.1103 |
| IgA | 74.2 | 37.4 | 0.1043 |
| IgG | 63.6 | 47.5 | 0.1038 |

Datos experimentales

C. Evaluación clínica y de laboratorio de pacientes en seguimiento

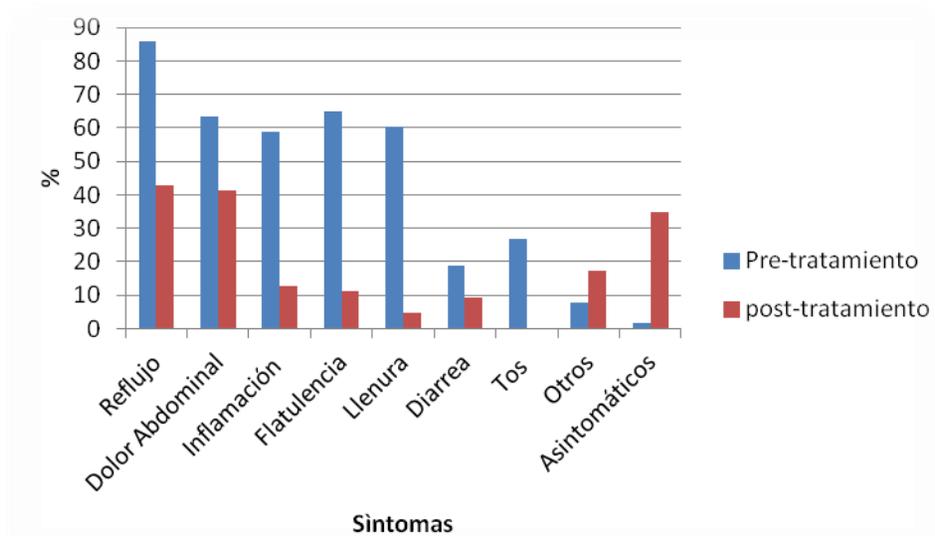
Sesenta y tres pacientes positivos a la infección recibieron tratamiento específico. Durante cinco meses posteriores a la finalización del tratamiento, se les preguntó en relación a la sintomatología, observando que los más frecuentes en ambas etapas fueron el reflujo y dolor abdominal. Sin embargo se observó una disminución en la frecuencia de los mismos en la etapa post-tratamiento (85.7% vs. 42.9%; 63.5 % vs. 41.3%) respectivamente. En la etapa post-tratamiento todos los síntomas disminuyeron significativamente, observándose que el número de pacientes asintomáticos aumentó de 1.6 % en la etapa pre-tratamiento a 34.9% en la etapa post-tratamiento, lo cual puede ser significativo de una respuesta positiva al tratamiento (Cuadro 6, Gráfica 1).

Cuadro 6. Comparación de la sintomatología de pacientes en seguimiento en etapas pre y post –tratamiento.

| Síntoma | Pre-tratamiento n=63 | | Post tratamiento n=63 | |
|-----------------|-------------------------|------|--------------------------|------|
| | Frecuencia | % | Frecuencia | % |
| Reflujo | 54 | 85.7 | 27 | 42.9 |
| Dolor Abdominal | 40 | 63.5 | 26 | 41.3 |
| Inflamación | 37 | 58.7 | 8 | 12.7 |
| Flatulencia | 41 | 65.1 | 7 | 11.1 |
| Llenura | 38 | 60.3 | 3 | 4.8 |
| Diarrea | 12 | 19.0 | 6 | 9.5 |
| Tos | 17 | 27.0 | 0 | 0.0 |
| Otros | 5 | 7.9 | 11 | 17.5 |
| Asintomáticos | 1 | 1.6 | 22 | 34.9 |

Datos experimentales

Gráfica 1. Comparación de la sintomatología de pacientes en seguimiento en etapas pre y post -tratamiento



Datos experimentales

En los 63 pacientes en seguimiento, se observó poca variación entre los porcentajes de positividad de los anticuerpos en la etapa post-tratamiento con respecto a la etapa pre-tratamiento. Los anticuerpos IgA e IgG *cagA*, si bien manifiestan disminución, esta no fue estadísticamente significativa (63.5% vs. 60.3%; 63.5% vs 57.1%). Así también, se observó una disminución significativa en el porcentaje de positividad en la prueba de antígeno fecal (46.0% a 17.5%), lo que demuestra la respuesta efectiva al tratamiento (Cuadro 7, gráfica 2).

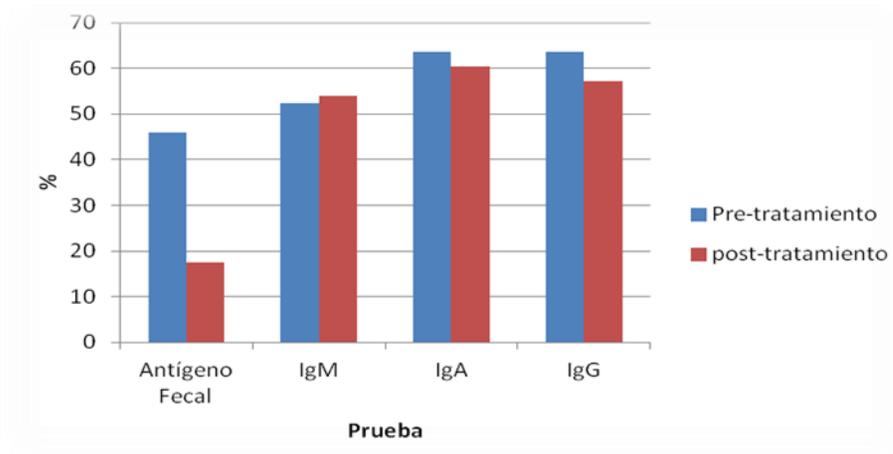
Cuadro 7. Comparación de pruebas de laboratorio de pacientes en seguimiento en etapas pre y post -tratamiento.

| Prueba | Pre tratamiento | | Post-tratamiento | |
|----------------|-----------------|------|------------------|------|
| | n= 63 | | n= 63 | |
| | No. Positivos | % | No. Positivos | % |
| Antígeno fecal | 29 | 46.0 | 11 | 17.5 |
| IgM | 33 | 52.3 | 34 | 54.0 |
| IgA | 40 | 63.5 | 38 | 60.3 |
| IgG | 40 | 63.5 | 36 | 57.1 |

Datos experimentales

Para la evaluación del cambio en porcentaje de positividad de las pruebas durante las etapas pre y post-tratamiento se realizó la prueba de χ^2 de McNemar, en la cual se puede observar que el antígeno fecal presentó un cambio estadísticamente significativo ($\chi^2 < 0.0001$) luego del tratamiento. Los anticuerpos, si bien presentaron cambios, éstos no fueron significativos (IgM χ^2 0.9999, IgA χ^2 0.9999, IgG χ^2 0.057).

Gráfica 2. Comparación de pruebas de laboratorio de pacientes en seguimiento en etapas pre y post-tratamiento



Datos experimentales

D. Asociación de índice de pepsinógeno I/II con sintomatología en fase pre y post-tratamiento.

Posteriormente, se realizó una evaluación de los síntomas más frecuentes en la etapa pre y post-tratamiento de los pacientes positivos a *H. pylori* y a quienes se les administró tratamiento. Al relacionar el índice de pepsinógeno I/II, se observa que los síntomas siempre se manifestaron en un mayor porcentaje en los pacientes que presentaron un valor normal de dicho índice. Se puede observar que el número de pacientes con síntomas aumentó en la fase post-tratamiento, sin embargo al realizar la evaluación con la prueba estadística de χ^2 esta diferencia no fue significativa (Cuadro 8).

Cuadro 8. Asociación del índice de pepsinógeno I/II con la sintomatología de pacientes en seguimiento en fase pre y post-tratamiento.

| Pepsinógeno I/II | Síntomas n=63 | | | | | |
|-------------------------|--------------------------|-------------|------------------------|-------------|--------------------|-------------|
| | Dolor (%) | | Inflamación (%) | | Reflujo (%) | |
| | Pre | Post | Pre | Post | Pre | Post |
| Alto | 8.0 | 9.5 | 9.1 | 0 | 5.7 | 4.3 |
| Normal | 52.0 | 76.2 | 50.0 | 100 | 60.0 | 82.6 |
| Disminuido | 40.0 | 14.3 | 40.9 | 0 | 34.3 | 13 |

Datos experimentales

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Dentro de la primera etapa (pre-tratamiento) de esta investigación se reclutaron 181 pacientes de ambos géneros y mayores de edad, que asistieron a la jornada de detección temprana de cáncer de esófago, estómago, colon y recto realizadas en el Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) en el período de enero a marzo de los años 2010 y 2011, a las cuales asistieron un total de 594 personas. Del total de pacientes entrevistados, 3 se retiraron voluntariamente del estudio obteniéndose un total de 178 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión.

La mayoría de ellos fueron del género femenino (75.8%), lo cual probablemente se deba a que los hombres realizan actividades laborales fuera de casa y presentan menor disponibilidad de tiempo para asistir a citas médicas.

Respecto a la edad varios autores indican que la infección aumenta gradualmente en función de la edad, y que los títulos de anticuerpos son mayores en personas adultas, sin embargo en este estudio no fue posible determinarlo (Figueroa, G., Troncoso, M., Acuña, R., 2006; Pounder & NG, 2005; Figueroa, G. *et. al* 2000).

De los pacientes entrevistados el 98.8% (176) indicaron presentar sintomatología al momento de ingresar al estudio, siendo esta en orden descendente de frecuencia la siguiente: reflujo, dolor abdominal, flatulencia e inflamación. Estos síntomas son los más frecuentemente reportados en la infección gastrointestinal causada por *H. pylori* (cuadro 2) Sin embargo, otros estudios refieren que la infección bacteriana puede pasar desapercibida por varios años (Hernández, 2001).

De los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio realizadas a los 178 pacientes en la fase pre-tratamiento, el anticuerpo que presentó un mayor porcentaje de positividad fue el tipo IgA anti *H. pylori* (118/66.3%). Este constituye el principal anticuerpo implicado en la respuesta inmune a nivel local, jugando un papel importante como primera línea de defensa ya que neutraliza el antígeno con el objetivo de impedir la infección, por lo que su elevación en suero indica un grado más severo de inflamación de la mucosa (Cavazzaa, M., *et al.*, 2005) .

Como se puede observar en el cuadro 3, el anticuerpo IgG (*cagA*) presentó un porcentaje de positividad significativo (100/56.2%), dichos anticuerpos se elevan aproximadamente al décimo día luego de la exposición primaria al antígeno y sus niveles séricos decaen aproximadamente al veintavo día. Estos anticuerpos pueden permanecer inactivos pero al exponerse el paciente nuevamente al antígeno se elevan a un nivel más alto, como respuesta secundaria,

permaneciendo elevados por un periodo más prolongado constituyendo así una inmunidad de memoria (Male, Brostoff, Roth, Roitt, 2007). Los resultados obtenidos en este estudio posiblemente indican que la mayoría de pacientes se expusieron previamente a la infección por *H. pylori*.

Los anticuerpos IgM, constituyen parte de la respuesta primaria, elevando sus niveles aproximadamente al quinto día luego de la exposición a la bacteria. Sin embargo, la utilidad diagnóstica de anticuerpos IgM anti *H. pylori* parece ser limitada debido a que los macrófagos, que actúan como células presentadoras de antígeno no resisten el ácido clorhídrico, por lo que se ve impedida la fagocitosis para eliminar a la bacteria. Esto hace que los anticuerpos no sean lo suficientemente efectivos para controlar la invasión bacteriana, por lo que la respuesta inmune produce un aumento transitorio de los títulos de anticuerpos en fase inicial de la infección, descendiendo durante la colonización y en una posterior recolonización. (Delgado I, Alonso LO, Hernández-Guerrero A, Sobrino CS, Herrera-Goefner R, Rosales SA, Martínez F., 2002; Male, D., et.al, 2007). En este estudio el 42.7% (76/178) de los pacientes mostraron valores elevados de dichos anticuerpos, indicando probablemente que dichos pacientes presentaban una infección en etapa inicial, permitiendo que los valores fueran detectados.

La detección de la bacteria se realizó a través de la prueba de antígeno fecal. Del total de pacientes evaluados (178) solamente se obtuvo 148 muestras de heces, debido a que no todos los pacientes proporcionaron su muestra el día que se realizaron la endoscopia como se les solicitó. En esta prueba, se obtuvo un (55/178) 30.9% de positividad, lo cual es indicativo de una infección activa en el paciente. Dicho resultado se comparó con el obtenido en la biopsia y se observó que concordaron, lo cual apoya la presencia de una infección activa causada por *H. pylori*.

El índice sérico de pepsinógeno I/II es utilizado para evaluar la integridad de las células y de glándulas oxínticas en el cuerpo del estómago, por lo que su determinación puede servir como un instrumento no invasivo que refleja el grado de atrofia ocasionado por la bacteria a este nivel. Inicialmente la inflamación leve produce valores elevados de pepsinógeno I y II, sin embargo conforme la gastritis progresa, la mucosa del fondo gástrico cambia a mucosa tipo antral y por lo tanto ya no secreta pepsinógeno I mientras que la concentración de pepsinógeno II permanece elevada, reflejando un índice de pepsinógeno I/II disminuido (Germana, Di Mario, Cavallaro, Moussa, Lecis, et.al., 2005).

En este estudio, la determinación del índice de pepsinógeno I/II en la fase pre-tratamiento, demostró que la mayoría de pacientes (43/ 60.6%) presentaron un valor normal, lo cual indica

que en estos pacientes todavía no presentan alteración en el estado funcional de la mucosa gástrica. Sin embargo, es importante mencionar que el 35.2% de los pacientes presentaron un valor del índice disminuido ocasionado por el reemplazo de células principales por glándulas pilóricas como consecuencia del progreso de la gastritis, lo cual se relaciona con los hallazgos obtenidos en la biopsia, que reflejan que la mayoría de pacientes presentan gastritis crónica en presencia de *H. pylori* (53/29.8%). Los resultados obtenidos de la biopsia, coinciden con lo referido por Osorio, quien reportó que los pacientes con un diagnóstico positivo para *H. pylori* tienen un 3.73 veces más probabilidad de padecer gastritis crónica, planteando que dicha bacteria es la causante de aproximadamente el 85% de los casos de gastritis crónica en el ser humano y el factor causal más importante de esta (Martínez, J., Henao, S. & Granados, C. 2007, Osorio, F., 2010).

Con base a los resultados obtenidos en las pruebas diagnósticas no invasivas (IgA, IgM, IgG CagA y antígeno fecal) se obtuvo la sensibilidad, especificidad y el índice kappa; para lo cual los resultados fueron comparados con el resultado histológico de *H. pylori* por biopsia (estándar de oro). Según el análisis kappa se determinó que ningún anticuerpo presentó concordancia con respecto a la biopsia excepto el antígeno fecal que tuvo una concordancia débil (kappa: 0.2005), lo cual probablemente se debe a que ambas pruebas detectan directamente la presencia de la bacteria. Así mismo, la prueba de antígeno fecal fue la prueba diagnóstica más específica (69.9%), lo cual concuerda con lo reportado en otros estudios (Calvet, X., 2003). En este estudio se obtuvo una sensibilidad del 50.0%, aumentando la probabilidad de obtener resultados falsos negativos y por consiguiente incrementando la posibilidad de que pacientes con posible infección que no reciban tratamiento.

Respecto a los tres anticuerpos analizados, el que presentó una mejor sensibilidad fue el anticuerpo IgA (74.20%), este anticuerpo es el resultado de la respuesta inmune derivada de la invasión de la bacteria a la mucosa gástrica, ocasionando que algunos pacientes manifiesten una respuesta inflamatoria persistente sin daños mayores, y otros manifiesten una más agresiva relacionada con una infección crónica. Al evaluar de forma aislada las patologías asociadas se observó que pacientes con gastritis crónica activa presentaron niveles altos de anticuerpos IgA, ya que según estudios previos la gastritis crónica activa es la principal patología asociada a *H. pylori*. Las pruebas que presentaron menor porcentaje de especificidad para infección activa fueron los anticuerpos IgG (cagA) e IgA (47.50% $k=0.1038$; 37.40% $k=0.1043$) respectivamente (Quintana, Chavez, Achí, Davidovich, & Schosinsky, 2002., She, Wilson, & Litwin, 2009; Cavazzaa, Correntib, Ortiza, Perronec, Daoudd, *et al.*, 2005).

Con relación a la sintomatología reportada por los pacientes en la etapa pre-tratamiento y al compararla con la de la etapa post-tratamiento, se observó un cambio significativo en el porcentaje de pacientes sintomáticos (98.4% a 65.1%) (cuadro 6). Por consiguiente, el número de pacientes asintomáticos aumentó de 1.6% en la etapa pre-tratamiento a 34.9% en la post-tratamiento, lo cual puede considerarse como una mejoría derivada del tratamiento como lo refiere Gatta, *et.al.*, señalando que la erradicación de *H. pylori* con antibióticos está asociada a un rápido alivio de los síntomas, una elevada tasa de cicatrización de las lesiones en la mucosa y una remisión prolongada de las úlceras pépticas. Las razones por las cuales los síntomas persistieron en 41 (65.1 %) de los pacientes en la etapa post-tratamiento pueden ser por la falta de apego al tratamiento, la posible resistencia antimicrobiana, y la presencia del gen *CagA* en las cepas bacterianas, ya que dicho gen ocasiona un efecto lesivo sobre las células epiteliales, aumentando la permeabilidad de las membranas induciendo así la producción de interleucinas lo que ocasiona más daño e inflamación (Ott EA, Mazzoleni LE, Edelweis, MI., 2005).

Al evaluar los resultados de la prueba de antígeno fecal de los 63 pacientes a quienes se les dio seguimiento se observó que fue la única prueba que manifestó una diferencia estadísticamente significativa, según el análisis estadístico de McNemar ($p < 0.0001$), disminuyendo de 46.0% a 17.5%, lo cual demuestra el éxito en el tratamiento. Se ha revisado la exactitud diagnóstica de la detección de antígeno fecal anti *H. pylori* cuando la prueba se realiza al menos cuatro semanas después de completar el tratamiento observando resultados confiables, sin embargo si se realiza por un tiempo más prolongado los resultados son igualmente prometedores (sensibilidad 94% y especificidad 92%). En algunos casos, es posible encontrar la positividad del antígeno fecal aún después de la administración de la terapia antibiótica, ya que según diversos estudios existen tasas de resistencia a antibióticos como la claritromicina de 2.2% a 25% (Álvarez, Moncayo, Santacruz, Corredor, Reinos, et al., 2009, Gisbert J, Pajares, J., 2001).

Los anticuerpos de tipo IgM no presentaron ningún cambio significativo entre ambas etapas (33/ 52.3%, 34/ 54.0%) lo cual probablemente se deba a la presencia de diferentes estímulos antigénicos repetidos causados por las diferentes cepas que llegan a la cavidad gástrica y a la respuesta inmune secundaria, por lo cual se considera que dicha prueba posee una utilidad limitada para estudios de este tipo ya que los niveles de anticuerpos IgM circulantes pueden ser consecuencia de una reinfección. (Quintana, Chavez, Achí, Davidovich, & Schosinsky, 2002; She, Wilson, & Litwin, 2009).

La positividad del anticuerpo IgG (*cagA*) cambió de 63.5% a 57.1% ($p= 0.057$), probablemente se debe a que los anticuerpos IgG permanecen elevados por un tiempo prolongado, constituyendo así una inmunidad de memoria. Estos pueden persistir por lo menos durante 6 meses incluso después de que el tratamiento haya sido exitoso, como lo demuestra el análisis prospectivo de los sueros de individuos sometidos a terapia antibiótica para *H. pylori*, en el que se observó una disminución no significativa (6%) de los títulos de anticuerpos IgG séricos (Acuña, Raúl; Figueroa, G.; Troncoso H Toledo, M., Bernal, R., 2007)

El porcentaje de positividad de los anticuerpos de tipo IgG en la etapa post-tratamiento (36/ 57.1%), posiblemente se deba tanto a la influencia del nivel basal de éstos antes del tratamiento, a la dosis del antígeno y a la posibilidad de exposiciones secundarias; así también a la presencia del gen *cagA*, importante marcador de las cepas patógenas, que le confiere una capacidad de permanencia con un riesgo incrementado para el desarrollo de úlcera péptica y cáncer gástrico, aunado a otros factores intrínsecos del hospedero (Nomura, Pérez, Lee, Stemmermann, & Blaser, 2002; Perrone, Leopoldo, Camorlinga, Correnti, Cavazza, et al., 2005).

En otros estudios realizados se han presentado muchas discrepancias con la proteína *CagA* anti *H. pylori*, probablemente porque no se expone lo suficiente al sistema inmune del paciente, debido a que la cepa que le infecta desarrolla un sistema secretor defectuoso, variabilidad de la proteína *CagA* ó que la respuesta inmunológica no se produzca de forma detectable por estar obstaculizada por factores del hospedero (Agudo, 2010).

El porcentaje de positividad de los anticuerpos IgA (40/ 63.5% vrs 38/60.3%) varió muy poco, probablemente asociado a factores intrínsecos de los pacientes con padecimiento de gastritis o patologías asociadas.

Al realizar la asociación entre los valores del índice de pepsinógeno I/II en las categorías de alto, normal y bajo, con la sintomatología más frecuente (dolor, inflamación y reflujo, respectivamente) en los 63 pacientes en seguimiento, se encontró que en varios de los pacientes que presentaron un índice disminuido en la fase pre-tratamiento, en la fase post-tratamiento este índice se normalizó lo que significa la posible regeneración de la mucosa gástrica en dichos pacientes (cuadro 8). Sin embargo, también se observó un aumento de los síntomas en pacientes con índice de pepsinógeno normal, a pesar de la administración de la terapia antibiótica, por lo tanto se puede considerar que no existe asociación entre los valores del índice de pepsinógeno I/II y la sintomatología.

La persistencia de los síntomas en algunos de los pacientes, aún después del tratamiento, puede deberse a patologías asociadas, gastritis crónica o a otra causa fisiológica del paciente que conlleva a la persistencia de las manifestaciones clínicas, como lo indicado por Carmona (2011), quien analizó el beneficio terapéutico de la erradicación de la infección por *H. pylori* en la dispepsia funcional aportando resultados contradictorios, ya que no se halló ninguna diferencia en la sintomatología de los pacientes en los que se ha erradicado la bacteria respecto a aquellos en los que permanecía activa la infección, tanto a corto como a largo plazo.

Actualmente no existe una recomendación formal para tratar indiscriminadamente a cualquier persona con infección por *H. pylori* que presente dispepsia no ulcerosa. Así mismo no existe indicación de erradicación de la infección por *H. pylori* en pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico, ya que la erradicación no sólo no se acompaña de mejoría de esta enfermedad, sino que en casos de úlcera duodenal erradicados existen evidencias de que pueden aparecer síntomas de reflujo previamente no detectados o intensificación de los previamente existentes.

X. CONCLUSIONES

1. De la evaluación de la sensibilidad de las pruebas no invasivas se observó que la prueba más sensible para la detección de la infección por *H. pylori* fue IgA (74.2%) y el antígeno fecal *H. pylori* la más específica (69.9%), por lo tanto se recomienda usar conjuntamente ambas pruebas para el diagnóstico de la infección.
2. Según el análisis estadístico no existe concordancia entre cada una de las pruebas evaluadas en este estudio con relación a la biopsia.
3. Con la administración del tratamiento se logró una reducción significativa de positividad de la prueba de antígeno fecal (46.0% a 17.5%), lo que demuestra el posible éxito del tratamiento y confirma la erradicación de la infección.
4. No existe asociación significativa entre la sintomatología y el valor del índice de pepsinógeno I/II en ambas etapas del estudio.
5. La sintomatología más frecuente en orden descendente fue el reflujo, dolor abdominal, inflamación y flatulencia tanto en la fase pre como post-tratamiento. Además se observó un cambio estadísticamente significativo en los pacientes asintomáticos de 1.6% a 34.9% entre las etapas pre y post-tratamiento, demostrando un éxito terapéutico.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar el panel de pruebas serológicas para comprobar la erradicación de *H. pylori* a plazo entre 6 y 8 meses después de haber finalizado el tratamiento para que sean un mejor predictor de la erradicación.
2. Evaluar la utilidad diagnóstica de las pruebas evaluadas en este estudio comparándolas con métodos más sensibles y específicos como la detección de PCR en biopsia o en jugo gástrico.
3. Realizar otro estudio evaluando la cura post-tratamiento utilizando únicamente la combinación de antígeno de *H. pylori* en heces, anticuerpos IgA anti-*H. pylori* e índice de pepsinógeno I/II comparando con una biopsia antes y después del tratamiento.
4. No emplear la prueba de antígeno fecal de *H. pylori* en forma aislada para fines diagnósticos de la infección, sino que acompañada de alguna prueba serológica.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Aguilar, C., Aliaga R, E., Bussalleu, A., Cano, R., Cok, J., Saavedra, P., et al. (2007) "Estudio de la prueba de la ureasa o test de aliento (TA) y correlación con biopsia gástrica para la detección de *Helicobacter Pylori* (Hp) en pacientes dispépticos del Hospital Nacional Cayetano Heredia. *Revista de Gastroenterología*, 27 (2).

Alarcón, T., Baquero, M., Domingo, D., López, M. & Royo, G. (2004). Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Infecciosas y microbiología clínica*, 17.

Alvarado, J. (2007). *Gastroenterología y hepatología* (2da. ed). Celsus.

Álvarez, A., Moncayo, J., Santacruz, J., Corredor, L., Reinoso, E., et al. (2009). Resistencia a metronidazol y claritromicina en aislamientos de *Helicobacter pylori* de pacientes dispépticos en Colombia *Revista Médica de Chile*, 137 (10), 1309-1314

Álvarez, L., Mendoza, M. Márquez, L. & Rojas, E. (2003). Infección por *Helicobacter pylori* en niños que acuden a la emergencia del hospital "José Gregorio Hernández" de Trujillo, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 23 (1).

Bakka A., & Salih B. (2002). Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic subjects in Libya. *Diagnostic Microbiology Infection Disease*, 43 (8), 265-268.

Barriga G., Arumir, C. & Mercado, F. (2004). La prueba de aliento en el diagnóstico de la infección con *Helicobacter pylori*. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 51 (4), 194-199.

Begos, D. & Modlin, I. (1994). Laparoscopic Cholecystectomy: From Gimmick To Gold Standard *Clinical Gastroenterology*, 19 (4), 325-30.

Berardi, R., DiPiro, J., Talbert, R. & Yee, G.(2005). *Peptic Ulcer Disease. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach* (2nd ed.) New York, USA.

Calvet, X., Quesada M., Sanfeliu.I., Montserrat, A., Brullet, E., Real, J., et al. (2003) Evaluación de un test rápido (ImmunoCard STAT HpSA) para la detección de *Helicobacter pylori* en heces.

Unidad de Enfermedades Digestivas. Hospital de Sabadell Barcelona. España.
Gastroenterology Hepatology, 26(9), 531-4

Carmona, R. (2011). Enfermedad por reflujo gastroesofágico: síndromes extra-esofágicos
Revista de Gastroenterología de México, 1(76), 15-18.

Carreño, Y., (2009). *Características operativas de las pruebas de antígenos fecales (ELISA) y test de aliento de la ureasa frente a la tinción de Hematoxilina y Giemsa en histología para el diagnóstico de Helicobacter pylori* (Tesis, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia). Obtenido de: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis310.pdf>

Cavazzaa, M., Correntib, M., Ortiza, D., Perronec, M., Daoudd, G., Urrestarazua, M., et al. (2005) Evaluación de los niveles de IgA secretora anti-*Helicobacter pylori* en población infantil venezolana. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 25 (1)

Chey, W. & Wong, B. (2007). American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *American Journal of Gastroenterology*, 102(8), 1808-1825.

Cifuentes, P. (2002). Validación de un test de ureasa rápido para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. *Revista Gastroenterológica Latinoamericana*, 32 (2).

Contreras, J. (1999). *Sensibilidad Antibiótica de H. pylori en Guatemala*. (Tesis, Universidad Francisco Marroquín, Guatemala). Obtenido de: <http://medicina.usac.edu.gt/fasell/semiologia/incl/libfile.php?PHPSESSID=acoif3bp8ms15pf0flpl22fc54&path=Hepatica-gastrointestinal%2F&filename=>

Cordón E. (2000). *Comparación de un test serológico de ELISA vrs. biopsia gástrica para la detección de Helicobacter pylori*. (Tesis) Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.

Dailidienne, D, Bertoli, M., Miciulevicien, J., Mukhopadhyay, A., Dailide, G., Pasacasio, M., et al. (2002). Emergence of Tetracycline Resistance in *Helicobacter pylori*: Multiple Mutational Changes in 16S Ribosomal DNA and Other Genetic Loci. *American Society of Microbiology*, 46 (12), 3940–3946.

Delgado I, Alonso LO, Hernández-Guerrero A, Sobrino CS, Herrera-Goefner R, Rosales SA, Martínez F. Linfoma gástrico primario tipo MALT (MALTOMAS) Rev Gastroenterol Mex 2002; 67 (Supl 3): 162

Deltenre, M., Glupczynski, Y. & Nyst, J. (1989). Assessment of four modalities of the urease test in the diagnosis and follow up of *Campylobacter pylori* associated to gastritis. 96, 117

Dore, M., Piana, A., Carta, M., Atzei, A., Are, M, Realdi, G., et al. (2002). Amoxicillin resistance is one reason for failure of amoxicillin Omeprazol treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16,167-80.

Erzin, Y., Altun, S., Dobrucali, A., Aslan, M., Erdamar, S., Dirican, A., et al (2004). Comparison of two Different Stool Antigen Tests for the Primary Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Turkish Patients with Dyspepsia. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 9 (6), 657-662.

Figueroa, G., Acuña, R., Troncoso, M., Portell, D., Toledo, M., Albornoz, V. et al. (2000). Low H. pylori re-infection rate after triple therapy in Chilean duodenal ulcer patients. *The American Journal of Gastroenterology*, 91:1395-9.

Figueroa G, Acuna R, Troncoso M, et al. *Helicobacter pylori* infection in Chile. *Clin Infect Dis* 2006; 25: 983–9

Fochesatto, N., Guayan, V. & Morán, E. (2004). *Helicobacter pylori* enfermedad gastroduodenal. Bases para el Diagnóstico y Tratamiento. *Revista de Medicina*, (138), 35-40.

García, M. (2001). Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudios de factores de riesgo asociados. Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Santiago de Compostela. 17 , 45-51.

García. R. (2004). Tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Sistema Sanitario Navarra*, 21 (2).

Gatta, L., Vakild, N., Ricci, C., Osborn, J., Tampieri, A., Perna, F., et al. (2003). A rapid, low-dose, 13C-urea tablet for the detection of *Helicobacter pylori* infection before and after treatment. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 17, 793–798

Germana, B., Di, M., Cavallaro, L., Moussa, A., Lecis, P., Liatoupolou, S. et al (2005). Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrina-17 and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. *Digestive Liver diseases*, 37, 501-8.

Gisbert JP, Abaira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:1921-30.

Gisbert J., Calvert, X., Gomollon, F. & Monés, J. (2005). Tratamiento erradicador de *Helicobacter pylori*. Recomendaciones de la II Conferencia Española de consenso. *Medicina Clínica. Barcelona*, 125 (8), 301-16.

Gold, B., Colletti, R., Abbott, M., Czinn, S., Elitsur, Y., Hassall, E., et al. (2000). The North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *Helicobacter pylori* infection in children: recomendations for diagnosis and treatment. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 31 (5) 490-497.

González D. (2000). Urticaria crónica y *Helicobacter pylori*. Servicio de Inmunoalergia. *Alergología e Inmunología Clínica*, (15), 366-373.

González, M., Rojas, F. & Avalos, R. (2004). Prevalencia de la infección por *H. pylori* en pacientes dispépticos. *Revista Panamericana de Infectología*, 6(4) 15.

González, C., Serrano, C. & Harris, P. (2007). Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños mediante la detección de antígenos en deposiciones. *Revista Médica de Chile*, 135(2), 182-188.

Gutiérrez , O., Otero, W., Cardona, H., Quintero, F., Orozco, C. & Sánchez, L. (2003) Terapia cuádruple con furazolidona como tratamiento de rescate para la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 18 (4) 222-227.

Gutierrez, O., Otero, W., Paez, O., Roldán, L., Lima, E., Bernal, R., Borbolla, J., & Zhang, J. (2009). Terapia triple con lansoprazol, amoxicilina y claritromicina durante 10 días (LAC-10) erradica *Helicobacter pylori*. *Revista de Gastroenterología*, 16, 132.135

Guzmán, O., Newton, R., Bustos, B., Guzmán, A., & Barajas, M. (2008) Seropositividad a *Helicobacter pylori* entre estudiantes universitarios y sus familias. Estudio comparativo. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100 (9), 540-544

Harris, P., Godoy, A. & Giraldes, E. (2001). Dolor abdominal, dispepsia y gastritis en pediatría: rol de *H. pylori*. *Revista Chilena de Pediatría*, 72 (2), 81-91.

Harrison. (2001). *Infección por H. pylori. Principios de Medicina Interna* (15th ed.) Madrid, España: McGraw-Hill.

Herbrink P., & Van Doorn L. (2000). Serological methods for diagnosis of *H. pylori* infection and monitoring of eradication therapy. *European Journal of clinical microbiology and infectious disease*, 19 (3) 164-173.

Hernández, E. (2009, Octubre 12) “Cacería de Bacterias”, *Estudios de la Universidad de San Carlos de Guatemala sobre la bacteria Helicobacter pylori*. Prensa Libre. Guatemala.

Hernández, F. & Rivas, F.(2000). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. *Revista Biomedica*, 11 (3), 187-205.

Hernández, I. (2008). *Frecuencia de la positividad del antígeno de Helicobacter pylori en heces de pacientes que acudieron a los laboratorios clínicos privados de la ciudad de Guatemala, durante el período de enero del 2005 al 2008. (Tesis)*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Hernández, R. (2004). Detección de los Genes de Virulencia de Cepas de *Helicobacter pylori* en biopsias de Pacientes Guatemaltecos con Cáncer Gástrico. *Revista Científica*, 1(17), 84

Hioki k, Nakame Y. & Yamamoto M. (2002). Surgical strategy for early gastric cancer. *New England Journal of Medicine*, 7 (4), 1330-1334.

Hurtado, M. (2001). Gastrostomía: evolución de un concepto, *Revista de Gastroenterología*, 16, 123-124.

Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (2007) INVIMA. Ministerio de la Protección Social. Sala Especializada en Medicamentos. LOPRAL HELIPACK. Colombia.

Díaz, J., Alarcón, T., Domingo, D. & López, M. (2006). Sensibilidad de 36 aislamientos de *Helicobacter pylori* a cuatro antibióticos de primera línea y características de virulencia. *Revista Española*. 19 (1), 34-38.

Korstanje, A., Van Eeden, S., Offerhaus, G., Sabbe, L., Den, G., Biemond, I., & Lamers, C. (2006). The 13 carbon urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in subjects with atrophic gastritis: evaluation in a primary care setting. *Journal Compilation*, 24, 643-650.

Logan, R. (2001). Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Revista Brasileiro de Medicina*, 323, 920-922.

López, M., Martín, E., Alarcón, T., Acuña, M., Gimeno, M. & Sanz, J. (1993). Seguimiento de la respuesta serológica cuantitativa al tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 11 (1), 33-35.

Madigan, M., Martinko, J. & Parker, J. (2004). *Biología de los Microorganismos* (10ª. Ed.). Madrid, España: Pearson Prentice Hall.

Macenlle, R. (2007). *Prevalencia de la infección por Helicobacter pylori en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudios de factores de riesgo asociados (tesis)*, Universidad de Santiago de Compostela.

Malfertheiner, P., Megraud, F., Morain, C., Bazzoli, F. I-Omar, E., Graham, D. et al. (2007). Current concepts in the management of *H. pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report.

Martínez, M. (2003). Gastritis y úlcus. Infección por *Helicobacter pylori*. *Revista de Pediatría integral. Sección de Gastroenterología*. 93-98.

Martínez, M., González, M., Ferreira, R. & Mas, J. (2008). Genotipo cag A⁺ en cepas de *Helicobacter pylori* asociadas a úlcera péptica, gastritis crónica y cáncer gástrico. *Habana, Cuba*. 673 (3).

Martínez, J., Henao, S. & Granados, C. (2007). La gastritis crónica atrófica corporal, síntomas y la edad. *Revista de Gastroenterología*, 22(1), 20-23.

Miranda, C. (2007). Comparación entre la medición de anticuerpos séricos IgG y la biopsia gástrica para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*. *Revista de Facultad de Ciencias Médicas*, 1, 4-6.

Morales, A., Hurtado, C. & Madrid, A. (2006) Prueba de Elisa en deposición para detectar infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Médica de Chile*, 130, 61-5.

Moreira J. (1998). *Prevalencia de Helicobacter pylori en pacientes con enfermedad gástrica*. (Tesis), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Néstor, A., Gómez, M., Salvador, A., Vargas, P., Zapatier, J. & Alvarez, J. (2004). Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en la población infantil ecuatoriana. *Revista de Gastroenterología*, 24 (3), 230-233.

Nomura, A. , Pérez, G., Lee, J., Stemmermann, G. & Blaser, M. J. (2002). Relation between *Helicobacter pylori* cagA status and risk of peptic ulcer disease. *American Journal Epidemiology* 155, 1054–1059

Ohata H, Kitauchi, S. & Yoshimura, N. (2004). Progression of chronic atrophic gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection increases risk of gastric cancer. *International Journal of Cancer*, 109, 138-43.

Ordoñez, M. (2004). Prevalencia de antígeno de *Helicobacter pylori* en heces en pacientes con diagnóstico de urticaria crónica idiopática (Tesis) Universidad Francisco Marroquín, Guatemala.

Oregel, S. (2002). Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Helicobacter pylori* en niños menores de años de baja condición socioeconómica (Tesis) Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.

Osorio, M., Moré, A., Cáceres, L., Pasos, J., Ortega, Al., (2010) Seguimiento evolutivo mediante estudio endoscópico-histológico e infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con úlcera gástrica, *MediSur* (8)1 Chile.

Pajares J. (2006). Descubrimiento de la bacteria *Helicobacter pylori* y su impacto en las enfermedades gastroduodenales. *Revista de Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 72, 139-164.

Paterson, A., Lockhart, S., Baker, J., Neumann, G., Baldwin, G & Shulkes, A. (2004). *Identity and regulation of stored and secreted progastrin-derived peptides in sheep*. Australia: University of Melbourne.

Perrone, M., Muñoz, L., Camorlinga, M., Correnti, M., Cavazza, M., Lecuna, V. et al. (2005) Importancia de la respuesta humoral de IgG anti-CagA de *Helicobacter pylori* en pacientes venezolanos con enfermedades de las vías digestivas superiores, *Investigación clínica*, 46 (4).

Pounder, R.E. & NG, D. (1995). The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in diferentes countries. *Blackwell Science Journal*, 9, 33-39.

Pueyo M, Huarte, M. & Jiménez, C. (2000). Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 21 (2), 9-17

Quintana, E., Salas, P., Achí, R., Davidovich, H. & Schosinsky, K. (2002) Valor diagnóstico de anticuerpos anti *Helicobacter pylori* en pacientes referidos al Servicio de Endoscopia Digestiva del Hospital San Vicente de Paul, Costa Rica. *Revista Biomedica*.

Ramirez, A. (2003). *Helicobacter pylori*. *Epidemiología – Diagnóstico – Tratamiento, Perú*, 177-195.

Rodríguez, M. (2000). *Prevalencia de Anticuerpos IgG contra H. pylori en adultos sanos en Guatemala* (Tesis sin publicación), Universidad Francisco Marroquín. Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.

Roe, J., Tiwari, A., Brown, R., Hayward, L. & Chem, B. (2002). Association of the myeloperoxidase -463G- Apolymorphism with development of atropy in *Helicobacter pylori* - Infected gastritis, 97,1629-1634.

Rojas, V., Garza, E., Fuentes, H., Galván, P., Flores, J., González, J. et al. (2011). Diagnóstico no invasivo de gastritis atrófica en pacientes adultos dispépticos. *Medicina Universitaria*, 13 (50), 31-36

Rollan, A., Giancaspero, R., Acevedo, C., Fuster, F. & Hola, K. (2000). Tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con úlcera duodenal: Estudio de costo-beneficio, *Revista médica de Chile*, 128 (4), 367-377.

Samitier, S., Manrique, M. & Badia, P. (2000). *Enfermedades del estómago y del duodeno*. (14ª ed.) Madrid, España: Harcourt.

Schneider, R., Solís, C., Quiñónez, N. & Rodríguez, E. (1994). Grado de erradicación logrado por diferentes esquemas de triple terapia en adultos guatemaltecos con infección gástrica por *H. pylori* y de diferente condición socio-económica: superioridad de la triple terapia conteniendo subcitrato de Bi, *Revista de medicina Interna*. 5 (2), 60-63

Seiichi, K., Kyoko, O., Masumi., Yoshiko, N., Norikazu, Y., Mutsuko, K., et al. (2000). Multicenter Comparison of rapid lateral flow stool Antigen Immunoassay and stool Antigen Enzyme immunoassay for Diagnosis of *Helicobacter pylori* in children, 9 (6), 669-673.

She, R., Wilson, A. & Litwin, C. (2009). Evaluation of *Helicobacter pylori* Immunoglobulin G (IgG), IgA, and IgM Serologic Testing Compared to Stool, Antigen Testing. *Clinical Vaccine Immunology*, 16 (8), 1253–1255.

Suerbaum, S. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *Journal Medicine*, (347), 1175-1186.

Triana, M. (2001). *Helicobacter pylori*. La bacteria que más afecta al ser humano. *Revista Cubana alimentaria*, 15 (1), 42-54.

Velasco, C., Fernández, M. & Rodríguez, N. (2007). Diagnóstico serológico de *Helicobacter pylori* en endoscopias. *Revista Española de enfermedades digestivas*, 99 (2).

Vizcaíno, A. (2004). *Helicobacter pylori* y enfermedad gastroduodenal. Bases para el Diagnóstico y Tratamiento. *Revista De Postgrado de la VI Cátedra de Medicina*. (138), 11-17.

Weingart, V., Russman, H., Koletzko, S. Weingart, J. Hochter, W. & Sackmann, M (2004). Sensivity of a Novel Stool Adult Out patients before and after Eradication Therapy. *Journal of clinical Microbiology*. 42 (3), 1319-1321

Xia H., Kalantar, J., Wyatt, J., Adams, S., Cheung, K., Eslick, G. & Talley, N. (2000). High sensitivity and specificity of a laboratory-based serological test, pylori Dtect ELISA, for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Diagnostic Microbiology Infection Disease*, 36 (2), 69-74.

Yamada T, (2003) *In: Yamada's textbook of gastroenterology*. Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 4th edición. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Gut* 1997;41;8-13, doi:10.1136/gut.41.1.8

Zapatier, N., Gómez, P., Vargas, S. & Maya, V. (2007) Valoración de la serología como metododiagnóstico de *Helicobacter pylori* en la población local de la ciudad de Guayaquil. *Gastroenterologia de Latinoamerica*, 37, 104-109



XIII. ANEXOS



ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Código: _____

I. Información general

La infección por *Helicobacter pylori* se transmite por contacto entre personas, por el consumo de alimentos contaminados con heces o ambos. Esta infección es un factor de riesgo para desarrollar gastritis crónica, úlcera péptica y duodenal, así como linfomas y adenocarcinomas gástricos. En Guatemala, los estudios que se han realizado han demostrado que alrededor del 65% de la población ha padecido de la infección. Este estudio desea establecer el panel de pruebas de laboratorio que permitan con mayor sensibilidad y especificidad detectar la infección y luego al terminar el tratamiento indicado se evaluará por el médico si se curó la infección por esta bacteria.

II. Beneficios

- Usted recibirá su boleta con el informe de laboratorio serológico y microbiológico respectivo.

III. Confidencialidad

- Todos los registros que lo identifiquen como participante se mantendrán en TOTAL CONFIDENCIALIDAD y, hasta donde lo permiten las leyes y/o regulaciones aplicables, NO se harán del conocimiento público.
- La publicación de los resultados del estudio mantendrá completamente confidencial su identidad como participante.

IV. Participación

- Usted hace uso de su derecho de decisión, siendo VOLUNTARIO el enrolamiento en este estudio, el cual carece de pago alguno.
- NO se brindará el tratamiento necesario en caso de requerirlo.
- Usted tiene DERECHO a retirarse, por lo que de aceptar participar, se COMPROMETE al seguimiento que el protocolo del estudio requiere: llamadas mensuales y repetición del panel de pruebas de laboratorio.

Yo _____ estoy de acuerdo en participar en el estudio. Sé que mi participación es completamente **voluntaria y confidencial**. **Me comprometo a responder al seguimiento que el estudio requiere**. Se me ha explicado la naturaleza y los objetivos de lo que se me propone, incluyendo procedimientos con sus beneficios y riesgos. Estoy satisfecho con esas explicaciones y las he comprendido.

Fecha _____ Edad _____

Dirección _____

Teléfono (s) _____

Firma _____

Por la presente certifico que he explicado la naturaleza, propósito, beneficios y riesgos del procedimiento propuesto, me he ofrecido a contestar cualquier pregunta y he contestado completamente todas las preguntas hechas, por lo que considero que los interesados han comprendido completamente lo que he explicado y contestado.

Nombre y firma del investigador

I. INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori*

- 1) ¿Ha tomado algún antibiótico en los últimos dos meses?
Sí _____
No _____ **Si la respuesta es SI, no continuar.**
- 2) ¿Ha presentado usted alguno de los siguientes síntomas?
(en caso necesario elegir más de una opción)
- Dolor en la región superior del abdomen
 - Inflamación abdominal
 - Reflujo / acidez / ardor / agrura
 - Náuseas
 - Flatulencia (gas)
 - Diarrea
 - Tos
 - Sensación de llenura rápida con la ingesta de alimentos
 - Otro (especifique): _____
 - Asintomático
- 3) ¿Ha sido diagnosticado con infección por la bacteria *H. pylori*?
Sí _____ ¿Cuándo? _____
No _____
- 4) ¿Cómo le hicieron el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*?
(en caso necesario elegir más de una opción)
- Evaluación clínica únicamente
 - Análisis de sangre
 - Análisis de heces
 - Prueba del aliento
 - Biopsia
 - Otro (especifique): _____
 - No sabe
- 5) ¿Cuál fue el costo aproximado del diagnóstico que se le realizó?

- 6) ¿Recibió tratamiento luego de ser diagnosticado con infección por *Helicobacter pylori*?
Sí _____
No _____ **Si la respuesta es NO, pasar a la pregunta 9.**
- 7) ¿Qué tipo de medicamento utilizó y por cuánto tiempo lo tomó?
- Antibióticos Tiempo: _____
 - Antiácidos Tiempo: _____
 - Inhibidor de la bomba de protones Tiempo: _____
 - Antidiarreicos Tiempo: _____
 - Otro (especifique): _____
 - No sabe
- 8) ¿Cuál fue el costo aproximado del tratamiento que se realizó?

9) ¿Ha tenido usted necesidad de ausentarse de sus labores por las molestias descritas en la pregunta # 2?

Sí _____ ¿Cuántos días? _____

No _____ **Si la respuesta es NO, pasar a la pregunta 11.**

10) Si se ha ausentado de sus labores, ¿ha necesitado que algún miembro de la familia se ausente de sus labores para cuidar de usted en casa?

Sí _____

No _____

11) ¿Ha tenido necesidad de hospitalizarse por las molestias descritas en la pregunta # 2?

Sí _____ ¿Cuántos días? _____

No _____

12) ¿Alguna persona cercana a usted ha sido diagnosticada con infección por *Helicobacter pylori*?

Sí _____

No _____

No sabe _____

13) ¿Algún familiar ha sido diagnosticado con cáncer de estómago?

Sí _____

No _____

No sabe _____



ANEXO 3. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Código: _____

LABORATORIO: SEROLOGÍA

- Antígeno en heces (prueba rápida): Positivo Negativo
- Pepsinógeno I: _____ (25-200 ng/mL)
- Pepsinógeno II: _____ (2.3-20 ng/mL)
- Relación Pepsinógeno I/II: _____ (3-32)
- Gastrina: _____ (0-100 ng/mL)
- Anticuerpos anti-*H. pylori* IgM
- Anticuerpos anti-*H. pylori* IgA
- Anticuerpos anti-*H. pylori* CagA IgG

LABORATORIO: MICROBIOLOGÍA

• Aislamiento primario

Agar Sangre de Carnero (descripción de colonias): _____

Tinción de Gram: _____

Catalasa: Positivo Negativo

Oxidasa: Positivo Negativo

Urea: Positivo Negativo

• Aislamiento secundario

Agar Sangre de Carnero (descripción de colonias): _____

Tinción de Gram: _____

Catalasa: Positivo Negativo

Oxidasa: Positivo Negativo

Urea: Positivo Negativo

REPORTE: _____

BIOPSIA

• Sitio anatómico: _____

• Descripción histológica: _____

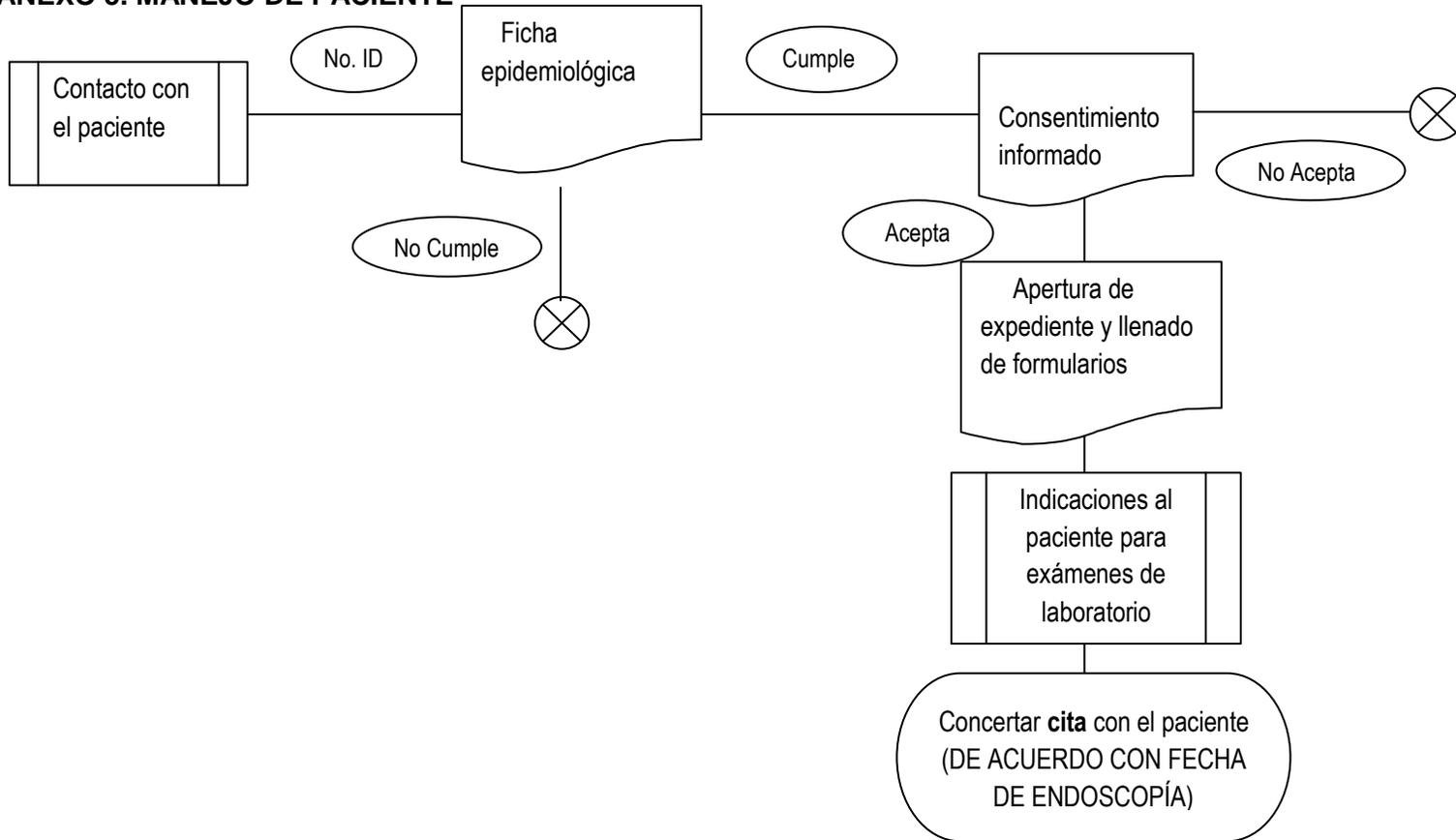
• Diagnóstico patológico: _____

ANEXO 4. Cronograma

| MES | Año 2010 | | | | | | | Año 2011 | | | | | | | | | | | Hrs | |
|--|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | MAY | JUN | JUL | AGT | SEP | OCT | NOV | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL | AGT | SEP | OCT | NOV | | |
| Organización | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20 |
| Elaboración de plan de trabajo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Entrega de primera revisión de plan de trabajo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Realizar correcciones | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 40 |
| Entrega de correcciones del plan de trabajo | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estandarización de la metodología | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 250 |
| Gestión para la toma de muestra | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Toma de muestra (pre-tratamiento) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 80 |
| *Procesamiento de muestras (pre-tratamiento) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Toma de muestra (post-tratamiento) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 200 |
| *Procesamiento de muestras (post-tratamiento) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tabulación de datos experimentales | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 30 |
| Análisis de Resultados | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 30 |
| Elaboración de Informe Final | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 30 |
| Entrega de informes parciales | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20 |
| Informe final | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 30 |

*La muestras serológicas se almacenan y procesan semanalmente. Las muestras de heces se procesan inmediatamente.

ANEXO 5. MANEJO DE PACIENTE



Proyecto CONCYT 52-2009 “Estudios sobre la infección por H. pylori: Búsqueda de alternativas de diagnóstico y evaluación de productos naturales para el tratamiento”

Fecha de elaboración:
10/12/2009

**D. MANEJO DE
PACIENTES**

Proceso: 01-52-2009



ANEXOS 6. TABLAS DE CONTINGENCIA

Tabla 1. Tablas de contingencia 2x2 entre prueba de antígeno fecal y biopsia

| Antígeno fecal | Biopsia | | Total | Sensibilidad: 50.0 % Especificidad: 69.9 % Kappa: 0.2005 Concordancia: Débil |
|-----------------------|----------------|-----------|--------------|---|
| | Positivo | Negativo | | |
| Positivo | 23 | 3 | 26 | |
| Negativo | 38 | 86 | 124 | |
| Total | 61 | 89 | 150 | |

Datos experimentales

Tabla 2. Tablas de contingencia 2x2 entre anticuerpos IgA y biopsia

| Anticuerpos IgA | Biopsia | | Total | Sensibilidad: 74.2 % Especificidad: 37.4 % Kappa: 0.1043 Concordancia: Mala |
|------------------------|----------------|-----------|--------------|--|
| | Positivo | Negativo | | |
| Positivo | 49 | 61 | 110 | |
| Negativo | 17 | 37 | 54 | |
| Total | 66 | 98 | 164 | |

Datos experimentales

Tabla 3. Tablas de contingencia 2x2 entre anticuerpos IgM y biopsia

| Anticuerpos IgM | Biopsia | | Total | Sensibilidad: 48.5 Especificidad: 62.6 Kappa: 0.1103 Concordancia: Mala |
|------------------------|----------------|-----------|--------------|--|
| | Positivo | Negativo | | |
| Positivo | 32 | 37 | 69 | |
| Negativo | 34 | 62 | 96 | |
| Total | 66 | 99 | 165 | |

Datos experimentales

Tabla 4. Tablas de contingencia 2x2 entre anticuerpos IgG cagA y biopsia

| Anticuerpos IgG cagA | Biopsia | | Total | Sensibilidad: 63.6 % Especificidad: 47.5 % Kappa: 0.1038 Concordancia: Mala |
|---------------------------------|----------------|-----------|--------------|--|
| | Positivo | Negativo | | |
| Positivo | 42 | 52 | 94 | |
| Negativo | 24 | 47 | 71 | |
| Total | 66 | 99 | 165 | |

Datos experimentales

Margarita Asunción Bentio Zúñiga
Autora

Nadia Isabel Hornquist Hurtarte
Autora

Estuardo Alejandro Maldonado Rivera
Autor

María José Camó Ordóñez
Autora

MSc. Vivian Matta
Asesora

Licda. Karla Lange
Asesora

MSc. Maria Eugenia Paredes
Revisora

MSc. Maria Eugenia Paredes
Directora

Dr. Oscar Cobar Pinto
Decano