

Métodos para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*

Techniques used for the *Helicobacter pylori* infection detection

Ludisleydis Bermúdez Díaz^I; Lino Ernesto Torres Domínguez^I; Boris Luis Rodríguez González^{II}

^I Licenciada en Bioquímica. Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba.

^{II} Doctor en Ciencias Biológicas. Licenciado en Bioquímica. Investigador Auxiliar. Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Helicobacter pylori es una bacteria que infecta la mucosa gástrica de más del 50 % de la población mundial y ha sido reconocida como el factor etiológico más importante en el desarrollo de diversas afecciones gástricas como gastritis, úlcera, cáncer gástrico y el linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa gástrica (linfoma MALT). Por el potencial patogénico de esta bacteria, resulta necesario contar con métodos eficaces para su detección. Las técnicas empleadas para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* se dividen en 2 grupos: técnicas invasivas, que requieren una endoscopia gástrica para la toma de biopsias y técnicas no invasivas que son menos agresivas para el paciente. Esta revisión constituye una actualización de las principales técnicas empleadas en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, las cuales continúan en constante perfeccionamiento.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, diagnóstico, métodos de detección.

ABSTRACT

Helicobacter pylori is a bacterium affecting gastric mucosa in more than 50% of world population, and has been recognized as the most important etiologic factor in the development of many gastric pathologies including gastritis, ulcer, gastric

cancer, and the gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALT lymphoma). Due to pathogenic potential of this bacterium, it is necessary to have effective methods for its detection. Techniques used for *Helicobacter pylori* infection detection are divided into two groups: invasive techniques, requiring a gastric endoscopy for biopsy obtention, and non-invasive techniques which are less aggressive for patient. This review is an updating of main techniques used in diagnosis of *Helicobacter pylori* infection, which are in a continuous improvement.

Key words: *Helicobacter pylori*, diagnosis, detection methods.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori (*H. pylori*), que fue aislado por primera vez en 1983, es un bacilo gramnegativo y microaerofílico que coloniza la mucosa gástrica humana.¹ Esta bacteria es el principal factor etiológico para el desarrollo de la gastritis crónica, la úlcera péptica y el adenocarcinoma gástrico y se estima que infecta a casi la mitad de la población mundial.² Por tal motivo, numerosos grupos de investigación han enfocado sus estudios en el desarrollo de técnicas diagnósticas cada vez más eficaces para detectar la presencia de este microorganismo. Las técnicas empleadas para el diagnóstico de *H. pylori* se pueden dividir en 2 grupos: técnicas invasivas (prueba rápida de la ureasa, tinciones histológicas, cultivo y la reacción en cadena de la polimerasa) y técnicas no invasivas (la prueba del aliento, serología y detección de antígenos en heces fecales)³ (fig.). Las técnicas invasivas son muy útiles porque permiten detectar directamente la bacteria y, por tanto, son altamente específicas, pero su sensibilidad está muchas veces comprometida por la heterogénea distribución de la bacteria en el estómago,⁴ lo que conlleva obtener falsos negativos. Por otra parte, las técnicas no invasivas poseen buena sensibilidad, pero es la especificidad la que resulta en ocasiones comprometida, en algunas de ellas se obtienen falsos positivos.

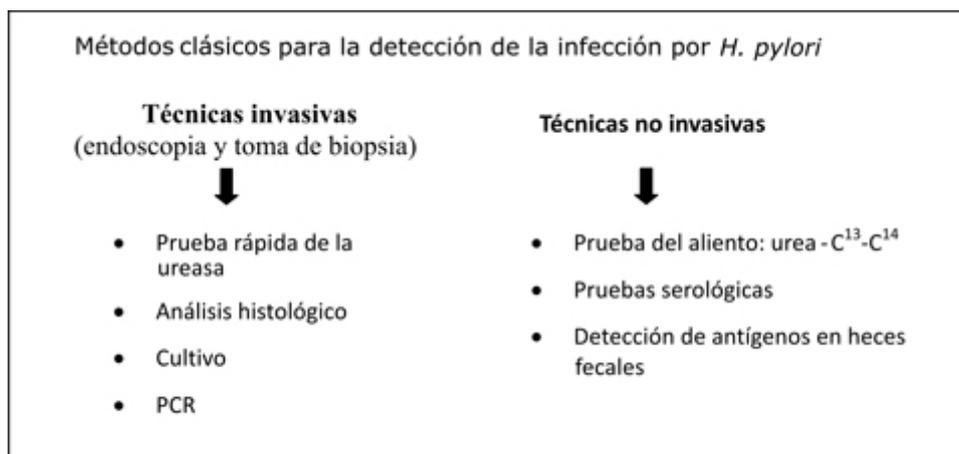


Fig. Principales métodos para la detección de la infección por *H. pylori*.

Dado que no existe un único método ideal para diagnosticar a los pacientes infectados por *H. pylori*, es necesario conocer todas las técnicas existentes, así como las ventajas y desventajas de cada una de ellas. Otro aspecto importante a la hora de elegir el método de detección a emplear es la estrategia que se va a seguir con cada paciente. Las Sociedades Americana y Europea de Gastroenterología, sugieren 2 estrategias básicas: la estrategia testar-endoscopar y la de testar y tratar.^{5,6} En la primera, se debe realizar el diagnóstico con una técnica no invasiva y si esta resulta positiva entonces se realiza endoscopia y toma de biopsia para confirmar el diagnóstico con un método directo antes de prescribir un tratamiento. Para esta estrategia, es imprescindible que la técnica no invasiva posea alta sensibilidad; sin embargo, su especificidad puede estar comprometida, ya que posteriormente se confirmará el diagnóstico por un método directo. La estrategia testar y tratar consiste en la detección de la infección por *H. pylori* empleando un método no invasivo y si el resultado es positivo entonces se prescribe un tratamiento para *H. pylori*. En este caso, la especificidad de la técnica que se emplee debe ser muy alta, de forma que se aplique el tratamiento solo a pacientes que estén realmente infectados. El empleo de esta variante ha sido recomendada sobre todo en personas jóvenes con síntomas epigástricos, ya que tienen grandes probabilidades de estar infectados con *H. pylori*.⁷

Teniendo en cuenta todo lo anterior, este trabajo tiene como objetivo hacer una revisión y actualización de los principales métodos desarrollados para detectar la infección por *H. pylori*, así como revisar el empleo de cada uno de ellos en nuestro país.

TÉCNICAS INVASIVAS

Prueba rápida de la ureasa

La prueba rápida de la ureasa es una técnica cualitativa que determina la actividad de la enzima ureasa en una pequeña muestra de mucosa gástrica, dicha prueba es universalmente empleada para detectar la presencia de este microorganismo. Se realiza colocando la pieza de biopsia en un tubo con urea que además contiene un indicador de cambio de pH. Si la muestra presenta actividad ureásica, se hidroliza la urea y se forman iones de amonio, los cuales aumentan el pH de la solución, produciendo el cambio de color. Entre los primeros juegos comerciales que se desarrollaron basados en esta técnica se encuentran CLO *test* y PyloriTek, con los que se han obtenido muy buenos resultados en el diagnóstico de la infección.⁷ En la actualidad existen otros juegos comerciales como GUT *test* y el MIU *test* (*motility indole urease test*). Para el GUT *test* se ha reportado 100 % de especificidad y una sensibilidad del 95,3 % a los 60 min de incubación de la muestra.⁸ Por otra parte, con el juego comercial MIU se reportó mayor sensibilidad que con el juego CLO, cuando se evaluó una sola muestra gástrica.⁹ Sin embargo, recientemente se demostró que al aumentar el número de muestras gástricas a 4, el juego CLO *test* incrementa notablemente su sensibilidad.¹⁰

La especificidad de esta prueba de la ureasa es alta por las siguientes razones fundamentales: el número de bacterias diferentes de *H. pylori* en la cavidad gástrica es muy escaso y los análisis se realizan a temperatura ambiente, lo cual limita la posible proliferación de otras bacterias durante la realización de la prueba.¹¹ Por su sencillez, rapidez y bajo costo, se considera como una técnica de elección para el diagnóstico inicial de la infección por *H. pylori* en aquellos pacientes que se someten a endoscopia.¹² Sin embargo, la sensibilidad de la prueba se ve afectada en los pacientes que han recibido tratamiento con antibióticos

(tratamiento no erradicador) y en los pacientes tratados con fármacos inhibidores de la bomba de protones.¹³ Esta prueba ha sido muy empleada para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en nuestra red asistencial de salud y en los estudios realizados nacionalmente sobre la infección con esta bacteria.^{14,15}

Histología

La observación de microorganismos de forma espiral en cortes histológicos con diferentes tinciones es un método sencillo para diagnosticar la infección por *H. pylori*, así como para determinar la densidad de la colonización. Entre los métodos de tinción utilizados, unos son simples y fáciles de realizar y otros son más complejos. En la actualidad se emplean las tinciones con hematoxilina-eosina,¹⁶ la de Warthin-Starry con nitrato de plata¹⁷ y la tinción con azul de metileno,¹⁸ aunque esta última ha sido sustituida por la tinción con Giemsa,¹⁹ probablemente una de las más populares, por ser fácil de realizar y económica y con buenos resultados en el diagnóstico.²⁰

Existen técnicas complementarias a la histología como la inmunohistoquímica y la técnica de FISH (*fluorescent in situ hybridization*) que han sido empleadas para la detección de *H. pylori* con esta última se ha reportado hasta 98 % de sensibilidad y 100 % de especificidad en la detección de la bacteria.²¹ A pesar de los buenos resultados que se han reportado con la técnica de FISH, la misma necesita un microscopio de fluorescencia, oligonucleótidos fluorescentes específicos y varios reactivos que encarecen la técnica sustancialmente.

Los análisis histológicos son importantes no sólo para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, sino fundamentalmente para determinar el nivel de daño hístico. Estos estudios brindan información sobre la presencia de polimorfonucleares y diagnostican la gravedad de la gastritis, metaplasia y/o de atrofia en el tejido analizado.²² Las principales desventajas del diagnóstico histológico en el caso de *H. pylori* son que el resultado está muy influenciado por la experiencia del patólogo y el tipo de tinción que se emplee. Por otra parte, existen algunos factores específicos que disminuyen su sensibilidad, como son: la baja densidad de microorganismos y la desigual distribución de la bacteria en el estómago;¹⁶ esto último afecta por igual a todos los métodos directos de detección y, por tanto, se recomienda tomar varias biopsias para aumentar la sensibilidad de la técnica en cuestión que se esté empleando.

A pesar de que aún no se ha podido visualizar *H. pylori* directamente en el epitelio gástrico al realizar las endoscopias, recientemente fue empleado un endocitoscopia Olympus XEC-120 para la visualización *ex vivo* de *H. pylori*. En este experimento se tomaron alícuotas de 20 μ L de cultivos semilíquidos del microorganismo, se colocaron en portaobjetos y se logró visualizar la bacteria en movimiento por al menos 5 min sin realizar ninguna tinción previa.²³ Este es el primer reporte del uso de un endocitoscopia para visualizar microorganismos vivos y, aunque el mismo no fue diseñado con este fin, se abre la posibilidad para que en un futuro cercano pueda construirse un instrumento que permita la observación de *H. pylori* directamente en la mucosa gástrica cuando se realiza la endoscopia.

La histología ha sido una de las técnicas más empleadas en la red hospitalaria cubana para la detección de *H. pylori*, así como en los estudios realizados en nuestro país sobre la infección con este microorganismo.²⁴⁻²⁷

Cultivo

Para efectuar el aislamiento de *H. pylori* se han utilizado varios medios de cultivo, entre los que se encuentran diferentes formulaciones que contienen agar, como caldo cerebro-corazón, Columbia, Brucella, Wilkins-Chalgren y Mueller-Hinton. Todos estos medios son suplementados con 5-10 % de sangre de caballo, carnero o humana u otros aditivos, como la hemina, isovitalex, ciclodextrina y almidón; además de una combinación de al menos 4 antibióticos selectivos.²⁸ De todos los medios de cultivo, la base de agar Columbia suplementada con 7 % de sangre y los antibióticos trimetoprima, vancomicina, cefsulodina y anfotericina B, ha sido el más empleado para el aislamiento de *H. pylori*.²⁹ Este microorganismo requiere una atmósfera de microaerofilia, alta humedad, temperatura de 35-37 °C y un tiempo de incubación de 5 a 10 d.³⁰

H. pylori se identifica sobre la base de su morfología colonial (colonias pequeñas, grisáceas y brillantes de aproximadamente 1 mm de diámetro), la tinción de Gram (organismos espiralados o esféricos, gramnegativos), y su positividad en las pruebas de actividad de la ureasa, la catalasa y la oxidasa.³¹

El cultivo microbiológico es necesario para la identificación definitiva del microorganismo y para determinar la sensibilidad a los agentes antimicrobianos.³² Además, esta técnica es la única que permite obtener y conservar cepas para la purificación de antígenos específicos y para realizar estudios posteriores de genómica y proteómica. La principal desventaja de esta técnica en el diagnóstico es su baja sensibilidad en condiciones no óptimas, por los exigentes requerimientos culturales de *H. pylori*.^{32,29} Lo anterior, en muchos casos, está influenciado por la experiencia del personal y la necesidad de tomar más de una muestra, dada la colonización en forma parchada de *H. pylori* en la mucosa gástrica, lo que encarece aún más su detección con esta técnica.

En nuestro país no se realizan cultivos de *H. pylori* de forma regular en ningún centro asistencial de salud y en muy pocos estudios se ha incluido el cultivo microbiológico como técnica para detectar la infección por *H. pylori*.^{33,26}

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Mediante la técnica de PCR es posible detectar el ácido desoxiribonucleico (ADN) de *H. pylori* en concentraciones mínimas, a partir de biopsias gástricas,³⁴ para lo cual se utilizan diferentes iniciadores de secuencias (cebadores) para amplificar varios genes como: el gen *ureA* que codifica para la subunidad A de la enzima ureasa,^{35,16} el gen *glmM* que codifica para una fosfoglucosamina mutasa³⁶ y secuencias altamente conservadas del gen que codifica para el ácido ribonucleico de la subunidad 16S del ribosoma (ARNr 16S).³⁷⁻³⁹ De todos los genes, el gen *glmM* ha sido el más empleado para el diagnóstico de *H. pylori*, y se reportan muy buenos valores de sensibilidad y especificidad con su uso.⁴⁰

La mayoría de los métodos basados en esta técnica tienen 100 % de sensibilidad, también varios estudios sugieren que la PCR es tan válida como el cultivo para confirmar la erradicación del microorganismo y para detectar los fallos de las múltiples terapias empleadas en la erradicación de este patógeno.⁴¹

La PCR también permite detectar los genes de factores de patogenia específicos de *H. pylori* como CagA y VacA.⁴² Es, además, un método rápido y aplicable a diferentes tipos de muestras.^{43,16} Su principal inconveniente lo constituye la

presencia en la muestra de restos de tejido gástrico, lípidos u otros componentes que inhiben la reacción de la PCR y que por tanto favorecen la obtención de falsos negativos. Al igual que para el cultivo y la histología, la sensibilidad de la PCR se ve afectada por la desigual colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori*.

Recientemente, se empleó un nuevo sistema para la identificación de *H. pylori* que consiste en la combinación de la técnica de endoscopia de barrido y el método LAMP (*loop-mediated isothermal amplification*). En este sistema se emplearon cebadores para el gen *glmM* y se logró 100 % de sensibilidad y especificidad.⁴⁴ Este procedimiento tiene la ventaja de no necesitar una muestra de biopsia gástrica, además, tiene menos requerimientos que la PCR estándar, pero se necesitarán mas estudios para corroborar su eficiencia en el diagnóstico de *H. pylori*.

La PCR no ha sido empleada hasta ahora en nuestra red asistencial de salud para el diagnóstico de *H. pylori* y solo en 2 estudios se ha usado como método de detección de la infección por *H. pylori*.^{33,26}

TÉCNICAS NO INVASIVAS

Prueba del aliento

La prueba del aliento se basa también en la actividad de la ureasa de *H. pylori*, pero en este caso con urea marcada. Como resultado de la ingestión de una suspensión de urea marcada con C¹³ o C¹⁴, ocurre la hidrólisis de la urea y se forma anhídrido carbónico que se absorbe en los tejidos, se difunde a la sangre, es transportado a los pulmones y de allí es exhalado a través del aliento.⁴⁵ La cantidad de CO₂ marcado que se exhala está en relación directa con la intensidad de la hidrólisis de la ureasa del microorganismo y, por tanto, con la presencia de *H. pylori*.⁴⁶ La prueba del aliento es un método cualitativo que, a diferencia de la prueba de la ureasa rápida, estudia toda la superficie del estómago, son muy altas su sensibilidad y especificidad, tanto en pacientes que no han sido tratados previamente, como en aquellos que sí han recibido un tratamiento erradicador.⁴⁷ También es considerada la más fidedigna de las técnicas no invasivas por su robustez.⁷ En contraste con otros métodos indirectos, como la serología, cuando su resultado es positivo indica infección actual.⁴⁸ Esta técnica es costosa y en su realización existen aspectos que pueden afectar el resultado, como son: las variaciones en cuanto al punto de corte utilizado para la positividad, la ingestión previa de algunos alimentos y el intervalo de tiempo para la toma de la muestra.⁴⁹ Además, la presencia de atrofia gástrica puede favorecer la obtención de falsos negativos, por lo que en estos casos se ha demostrado la utilidad de realizar además, pruebas serológicas para el diagnóstico de *H. pylori*.⁵⁰

Esta prueba, por ser tan costosa no se ha empleado en nuestro país para el diagnóstico de *H. pylori* en la red asistencial de salud y no hay reportes de su uso en estudios de esta infección.

Serología

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* se basan en la detección de anticuerpos séricos de clases IgG o IgA contra antígenos específicos de este microorganismo.⁵¹ Las técnicas más empleadas para la detección de anticuerpos son: ensayo inmunoenzimático de enzima ligada (ELISA), aglutinación

en látex, inmunoensayos sobre papel de nitrocelulosa (immunoblotting) e inmunocromatografías (ICM), entre otras.⁵²

La técnica más empleada, por más de 20 años, es el ELISA estándar y sus variantes.⁷ Son muchos los juegos comerciales basados en esta técnica, gran parte de los cuales contienen mezclas de antígenos específicos de *H. pylori*, con lo cual se ha disminuido la reactividad inespecífica, y por tanto se ha aumentado la especificidad de los ensayos hasta un 98 %.⁷

Los inmunoensayos sobre papel de nitrocelulosa (immunoblotting), como el Western Blot, son muy útiles para evaluar la respuesta inmune contra antígenos específicos, como VacA y CagA,⁵³ lo que permite establecer relaciones entre el desarrollo de patologías más severas y la presencia de determinados antígenos de *H. pylori*.⁵⁴ Uno de los juegos comerciales más empleados es el Helicoblot 2.1, que solo se comercializa para estudios de laboratorio.⁵⁵

Uno de los juegos comerciales basado en la inmunocromatografía es el Assure™ *H. pylori* Rapid Test. Al emplear este ensayo en estudios realizados en distintas poblaciones, se ha alcanzado una sensibilidad del 96 % y una especificidad del 94 %.⁵⁵

Las técnicas serológicas son generalmente simples, reproducibles y económicas, pero además, son las únicas que permiten realizar estudios epidemiológicos y determinar la prevalencia y la edad de adquisición de la infección por *H. pylori* en diferentes poblaciones.⁵⁶

La limitación principal de la serología es su incapacidad para distinguir entre la infección activa y una infección previa con *H. pylori*, ya que los niveles de anticuerpos persisten alrededor de 6 meses en sangre y esto puede determinar la obtención de falsos positivos.⁵⁷ Por otra parte, dada la heterogeneidad de las cepas que circulan en las diferentes zonas geográficas y las variaciones en las preparaciones antigénicas de los diferentes juegos serológicos comerciales, es necesario validar cada juego comercial en la población particular donde se pretenda hacer extensivo su empleo.⁵⁵

Hasta estos momentos no se ha empleado en nuestro país ningún juego serológico para el diagnóstico generalizado de la infección por *H. pylori* y tampoco se cuenta con un juego propio. No obstante, sí se han empleado varios juegos serológicos comerciales para el diagnóstico de la infección en algunos estudios realizados.^{26,27,58}

Detección de antígenos en heces fecales

La detección de antígenos de *H. pylori* en heces fecales, mediante técnicas inmunoenzimáticas, se ha empleado para el diagnóstico inicial de la bacteria y para confirmar la erradicación de la misma después del tratamiento. El primero de los juegos comerciales desarrollados fue el Premier Platinum HpSATM (Meridian Diagnostics), que constaba de una mezcla de anticuerpos policlonales para el reconocimiento de los antígenos y aunque su sensibilidad era buena, la especificidad no era suficiente.⁵⁹ Estos juegos han sido sustituidos por otros que contienen anticuerpos monoclonales, los cuales muestran una muy buena especificidad.⁶⁰ Esta técnica tiene la ventaja de ser totalmente no invasiva y por tanto muy útil para el diagnóstico de la infección en pacientes de cualquier edad, sobretodo en niños.⁶¹

Recientemente, un juego inmunocromatográfico que detecta a la enzima catalasa, en su estado nativo en heces fecales, fue desarrollado y empleado en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en niños asintomáticos y personas de edad avanzada.⁶² Aunque con este juego se obtuvieron muy buenos resultados, es necesario realizar otros estudios para corroborar su eficacia en el diagnóstico.

Los juegos comerciales basados en la detección de antígenos en heces fecales se ven afectados por varios factores, entre los que se destacan: la excreción de los antígenos muy diluidos o degradados, cuando hay problemas de diarreas u obstrucciones intestinales, respectivamente; lo que compromete la sensibilidad de estos juegos.⁷ Otro aspecto que limita su uso extensivo, son sus altos precios.

En nuestro país no se encuentran reportes del uso de estos juegos comerciales en la detección de *H. pylori*.

OTROS MÉTODOS DE DETECCIÓN

Detección de anticuerpos en orina

La detección de anticuerpos en orina ha sido empleada con éxito en el diagnóstico de varias enfermedades, como el cáncer de mama⁶³ y la aspergilosis invasora.⁶⁴ Cuando ocurre la infección por *H. pylori* se eliminan anticuerpos de clase IgG por la orina.⁶⁵ Basado en este principio, fueron desarrollados en Japón 2 juegos comerciales: un ELISA estándar denominado Urinelisa (*Otsuka Diagnostic*) y un juego basado en inmunocromatografía, denominado Rapirum (*Otsuka Diagnostic*). Estos juegos han sido empleados en diversos estudios y han demostrado tener buena sensibilidad, pero la especificidad ha sido muy variada y no siempre aceptable. La mayoría de estos estudios se han realizado en países orientales, principalmente en Japón,⁶⁶ por lo que a pesar de ser la orina una muestra no-invasiva promisoría, es necesario realizar más estudios para validar su factibilidad en el diagnóstico.⁷ Este método de detección tiene las mismas ventajas y desventajas que los métodos serológicos en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y no ha sido empleado en nuestro país con este propósito.

Detección de *H. pylori* en la cavidad oral

Varios estudios han evaluado la saliva y la placa dental como posibles muestras no invasivas para el diagnóstico de *H. pylori* empleando diversas técnicas. Juegos comerciales basados en la detección de anticuerpos anti-*H. pylori* en saliva se han empleado, pero los valores de sensibilidad y especificidad han sido inferiores al 90 %.⁶⁷ Por otra parte, el cultivo de la bacteria a partir de la cavidad oral pocas veces ha sido positivo.⁶⁸ Sin embargo, con la PCR se han reportado buenos resultados cuando se han empleado la saliva y la placa dental como muestras.⁶⁹ No obstante, dado el número de especies bacterianas que habitan en la cavidad oral, muchas de ellas no identificadas aún, no se consideran confiables los resultados que se obtengan al emplear un solo juego de cebadores en el diagnóstico por la PCR.⁷

En conclusión, la elección de la técnica apropiada para diagnosticar la infección por *H. pylori* depende de varios factores, como son: la sensibilidad y especificidad de la técnica, el costo y disponibilidad de la misma, así como la estrategia que se vaya a seguir con los pacientes. En la mayoría de los casos, cuando un paciente es sometido a endoscopia, la prueba rápida de la ureasa es la técnica más económica

y también valiosa para detectar la bacteria, siempre que se hayan validado los reactivos con anterioridad. Las circunstancias clínicas también influyen en la elección de la técnica a emplear en el diagnóstico. Por ejemplo, cuando se presentan pacientes que continúan con síntomas de infección, después de haber recibido un tratamiento erradicador, lo más recomendable es realizar endoscopia y tomar muestras gástricas para realizar el cultivo microbiológico y determinar la sensibilidad a los antibióticos de la cepa que infesta a cada individuo, sobretodo a aquellos antibióticos que se piensan emplear en la nueva terapia erradicadora. Si los pacientes se presentan con síntomas de alarma, como sangrado, pérdida de peso o sospecha de lesiones malignas, es recomendable tomar muestras de mucosa gástrica y realizar análisis histológicos, incluidos la detección del microorganismo. En los 2 escenarios anteriores, la detección de *H. pylori*, e incluso el análisis de sensibilidad a los antibióticos, se puede realizar también con la PCR. Por otra parte, para realizar estudios epidemiológicos y en el diagnóstico primario de niños y adultos sin síntomas de alarma, se recomiendan las técnicas no invasivas como: prueba del aliento, detección de antígenos en heces fecales y serología. La prueba del aliento es reconocida como la estándar entre las técnicas no invasivas, pero al igual que la detección de antígenos en heces, es muy costosa e imposible de asumir por un sistema de salud para estudiar a todos los individuos con síntomas. La serología sería entonces la técnica de elección para detectar la infección por *H. pylori* en un número grande de individuos, en cualquier país, si se tienen en cuenta su buen desempeño, su sencillez y su costo. Sin embargo, se debe tener en cuenta que esta técnica no es útil para evaluar la erradicación de la bacteria después de realizada la terapia específica y, además, cualquier juego serológico deberá siempre ser validado en la población donde se piensa hacer extensivo su uso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patient with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984;1:1311-5.
2. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16 Suppl 1:3-15.
3. Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Vaira D. Non-invasive techniques for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2003;9:489-96.
4. Bayerdorffer E, Oertel H, Lehn N, Kasper G, Mannes GA, Sauerbruch T et al. Topographic association between active gastritis and *Campylobacter pylori* colonisation. *J Clin Pathol*. 1989;42:834-9.
5. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C, Bell D, Bianchi PG, Deltenre M, et al. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection -the Maastricht Consensus Report. The European *Helicobacter Pylori* Study Group (EHPSG). *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997;9:1-2.
6. Howden CW, Hunt RH, Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. Ad Hoc Committee on Practice Parameters of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol*. 1998;93:2330-8.
7. Megraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:280-322.

8. Van KN, Van HE, de Boer WA. Validation of a new, commercially available dry rapid urease test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric biopsies. *Neth J Med*. 2006;64:329-33.
9. Kumala W. Evaluation of the motility indole urease (MIU) test to detect *Helicobacter pylori* infection. *South Asian J Trop Med Public Health*. 2006;37:966-9.
10. Siddique I, Al-Mekhaizeem K, Alateeqi N, Memon A, Hasan F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: improving the sensitivity of CLOtest by increasing the number of gastric antral biopsies. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42:56-360.
11. Laine L, Estrada R, Trujillo M, Emami S. Randomized comparison of ranitidine bismuth citrate-based triple therapies for *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol*. 1997;92:2213-5.
12. Megraud F. Comparison of non-invasive tests to detect *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: results of a multicenter European study. *J Pediatr*. 2005;146:198-203.
13. Habibullah CM, Habeeb MA, Ahmed N. The endangered gastric pathogen *Helicobacter pylori*: to eradicate or not? *Indian J Med Res*. 2005;122:93-5.
14. Brizuela RA, Fábregas C, Angulo O, Pérez M, García E, Díaz ME. *Helicobacter pylori* y enfermedad ulcerosa. *Rev Cubana Med Milit*. 1999;28:5-8.
15. Valmaseda T, Gisbert JP, Paniagua M, Pajares JM. *Helicobacter pylori* CagA antibodies in various gastroduodenal diseases from 2 different populations. *Med Clin (Barc.)*. 2002;118:90-3.
16. Fawcett PT, Vinette KM, Gibney KM, Proujansky R. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H. pylori* infection in pediatric patients. *BMC Microbiol*. 2004;4:5-10.
17. Raica M, Grigoras AM, Miutescu GE. Clinical value of *Helicobacter pylori* identification by histochemical methods in patients with chronic gastritis. *Rom J Morphol Embryol*. 1996;42:117-21.
18. Misra V, Misra SP, Singh MK, Singh PA, Dwivedi M. Prevalence of *H. pylori* in patients with gastric cancer. *Indian J Pathol Microbiol* 2007; 50: 702-707.
19. Trakarnvanich V. Methylene blue staining of gastric tissue for the identification of *Helicobacter pylori*. *South Asian J Trop Med Public Health*. 2007;38:78-81.
20. Kolts BE, Joseph B, Achem SR, Bianchi T, Monteiro C. *Helicobacter pylori* detection: a quality and cost analysis. *Am J Gastroenterol*. 1993;88:650-5.
21. Samarbaf-Zadeh AR, Tajbakhsh S, Moosavian SM, Sadeghi-Zadeh M, Azmi M, Hashemi J, et al. Application of fluorescent in situ hybridization (FISH) for the detection of *Helicobacter pylori*. *Med Sci Monit*. 2007;12:426-30.
22. Faigel DO, Furth EE, Childs M, Goin J, Metz DC. Histological predictors of active *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci*. 1996;41:937-43.

23. Kimura S, Inoue H, Sato Y, Aoyama Y, Shimojima M, Masuyama T et al. Ex vivo visualization of *Helicobacter pylori* using an endocytoscopic probe. *Biomed Res.* 2006;27:255-7.
24. Valdés LJ, González-Carbajal M, Ruiz A, Arteaga E, Borbolla E, Ricardo ME. Infección por *Helicobacter pylori* en un grupo de pacientes VIH/SIDA. *Rev Cubana Med Trop.* 2001;53:199-203.
25. Mandado S, Gra B, González-Carbajal M, Paniagua M, Piñol F, Domínguez C. Diagnóstico morfológico de *Helicobacter pylori* mediante citología gástrica por cepillado. *Rev Cubana Med.* 2003;42:27-33.
26. Roblejo Y, Samada M, Cansino J, Alfonso C, Martínez M, Marrero A. Comparación de métodos diagnósticos de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con desórdenes gastroduodenales. *Rev CNIC Ciencias Biológicas.* 2005;36:191-197.
27. Torres L.E, Bermúdez L, Roblejo Y, Moreno A, Samada M, Cansino J, et al. Desarrollo de un método serológico propio para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* y su comparación con dos juegos comerciales. *Rev CENIC Ciencias Biológicas.* 2008;39:100-106.
28. Lee S.G, Kim C, Chul H.Y. Successful cultivation of a potential pathogenic coccoid organism with tropism for gastric mucin. *Infect Immun.* 1997;65:49-54.
29. Chomvarin C, Kulsantiwong P, Chantarasuk Y, Chantrakooptungool S, Kanjanahareutai S. Comparison of media and antibiotic supplements for isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2006;37:1163-1169.
30. van der Hulst RW, Verheul SB, Weel JF, Gerrits Y, Ten Kate FJ, Dankert J, et al. Effect of specimen collection techniques, transport media, and incubation of cultures on the detection rate of *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15:211-215.
31. Alarcón T. Diagnóstico microbiológico de la infección producida por *Helicobacter pylori*. *Enferm Infecc Microbiol.* 1994;6:37-41.
32. Testerman TL, Conn PB, Mobley HL, McGee DJ. Nutritional requirements and antibiotic resistance patterns of *Helicobacter* species in chemically defined media. *J Clin Microbiol.* 2006;44:1650-1658.
33. Gutiérrez B, Vidal T, Valmaña CE, Camou-Juncas C, Santos A, Megraud F, et al. *Helicobacter pylori* infection in Havana, Cuba. Prevalence and *cagA* status of the strains. *VacciMonitor* 2005;2:15-19.
34. Brooks HJ, Ahmed D, McConnell MA, Barbezat GO. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by polymerase chain reaction: is it worth it? *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;50:1-5.
35. Clayton C, Kleanthous K, Tabaqchali S. Detection and identification of *Helicobacter pylori* by the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol.* 1991;44:515-516.

36. De Reuse H, Labigne A, Mengin-Lecreux D. The *Helicobacter pylori* ureC gene codes for a phosphoglucosamine mutase. *J Bacteriol.* 1997;179:3488-3493.
37. Ho SA, Hoyle JA, Lewis FA, Secker AD, Cross D, Mapstone NP, et al. Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. *J Clin Microbiol.* 1991;29:2543-9.
38. Thoreson AC, Borre MB, Andersen LP, Elsborg L, Holck S, Conway P, et al. Development of a PCR-based technique for detection of *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1995;10:325-33.
39. Yakoob J, Abid S, Jafri W, Abbas Z, Islam M, Ahmad Z. Comparison of biopsy-based methods for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Br J Biomed Sci.* 2006;63:159-62.
40. Lu JJ, Perng CL, Shyu RY, Chen CH, Lou Q, Chong SK, et al. Comparison of five PCR methods for detection of *Helicobacter pylori* DNA in gastric tissues. *J Clin Microbiol.* 1999;37:772-4.
41. Lottspeich C, Schwarzer A, Panthel K, Koletzko S, Russmann H. Evaluation of the Novel *H. pylori* ClariRes Real-Time PCR Assay for Detection and Clarithromycin Susceptibility Testing of *Helicobacter pylori* in Stool Specimens from Symptomatic Children. *J Clin Microbiol.* 2007;45(6):1718-22.
42. Dharme MS, Munot H, Pujari R, Kakrani AL, Palote MS, Shouche YS. *Helicobacter pylori* cagA, vacA and iceA genotypes in western Indian population of Maharashtra with varied gastroduodenal diseases. *Indian J Pathol Microbiol.* 2007;50:740-8.
43. Monteiro L, Gras N, Vidal R, Cabrita J, Megraud F. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in human feces by PCR: DNA stability and removal of inhibitors. *J Microbiol Methods* 2001;45:89-94.
44. Minami M, Ohta M, Ohkura T, Ando T, Torii K, Hasegawa T, et al. Use of a combination of brushing technique and the loop-mediated isothermal amplification method as a novel, rapid, and safe system for detection of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 2006;44:4032-7.
45. Logan R. Urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1995;5:S46-S49.
46. Schuman R, Rigas B, Prada A, Minoli G. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by the Lara system towards a simplified breath test. *Gastroenterology.* 1995;108:A921.
47. Vaira D, Gatta L, Ricci C, Miglioli M. Review article: diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16 Suppl 1:16-23.
48. Sharma BC, Bhasin DK, Pathak CM, Sinha SK, Ray P, Vaiphei K, et al. [14C]-urea breath test to confirm eradication of *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol.* 1999;14:309-12.
49. Gatta L, Ricci C, Stanghellini V, Ali A, Menegatti M, Morselli Labate AM, et al. Best cut-off values for [14C]-urea breath tests for *Helicobacter pylori* detection. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38:1144-8.

50. Korstanje A, den HG, Biemond I, Roelandse FW, Souverijn JH, Lamers CB. Role of *Helicobacter pylori* and autoimmunity in serological atrophic corpus gastritis in a Dutch primary care community. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18:911-6.
51. Sabbi T, De Angelis P, Colistro F, Dall'Oglio L, di Abriola GF, Castro M. Efficacy of noninvasive tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in pediatric patients. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005;159:238-41.
52. Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Vaira D. Non-invasive techniques for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2003;9:489-96.
53. Park CY, Cho YK, Kodama T, El Zimaity HM, Osato MS, Graham DY, et al. New serological assay for detection of putative *Helicobacter pylori* virulence factors. *J Clin Microbiol*. 2002;40:4753-6.
54. Vilaichone RK, Mahachai V, Kositchaiwat C, Graham DY, Yamaoka Y. Relation between seroreactivity to low-molecular-weight *Helicobacter pylori*-specific antigens and disease presentation. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10:1025-8.
55. Treepongkaruna S, Nopchinda S, Taweewongsounon A, Atisook K, Pienvichit P, Vithayasai N, et al. A rapid serologic test and immunoblotting for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *J Trop Pediatr*. 2006;52:267-71.
56. Megraud F. Comparison of non-invasive tests to detect *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: results of a multicenter European study. *J Pediatr*. 2005;146:198-203.
57. Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Vaira D. Non-invasive techniques for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2003;9:489-96.
58. Cabrera E, Tiberti C, Fuentes M, Perich P, Puig M, Vecchi E, et al. *Helicobacter pylori* y anticuerpos anti islotes pancreaticos en la diabetes mellitus. *Rev Cubana Endocrinol*. 2002;13:17-27.
59. Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, Axon AT. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by HpSA test. European *Helicobacter pylori* HpSA Study Group. *Lancet*. 1999;354:1732.
60. Gisbert JP, de la MF, 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.
61. Nares-Cisneros J, Jaramillo-Rodríguez Y, Martínez-Ordaz VA, Velasco-Rodríguez VM, Madero A, Mena-Arias G, et al. Immunochromatographic monoclonal test for detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool is useful in children from high-prevalence developing country. *Helicobacter*. 2007;12:354-8.
62. Cardenas VM, Dominguez DC, Puentes FA, Aragaki CC, Godman KJ, Graham DY, et al. Evaluation of a novel stool native catalase antigen test for *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic North American children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;46:399-402.
63. Pories SE, Zurakowski D, Roy R, Lamb CC, Raza S, Exarhopoulos A, et al. Urinary metalloproteinases: noninvasive biomarkers for breast cancer risk assessment. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17:1034-42.

64. Hao W, Pan YX, Ding YQ, Xiao S, Yin K, Wang YD, et al. Well-characterized monoclonal antibodies against cell wall antigen of *Aspergillus* species improve immunoassay specificity and sensitivity. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15:194-202.
- 65 Kato S, Tachikawa T, Ozawa K, Konno M, Okuda M, Fujisawa T, et al. Urine-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Pediatrics.* 2001;107:E87.
66. Hu HM, Kuo CH, Lo YC, Wu MT, Wu IC, Lu CY, et al. Evaluation of the two immunochromatographic methods for detecting urine and serum IgG antibodies to *Helicobacter pylori* and comparison of accuracy and clinical utility. *Hepatogastroenterology.* 2007;54:119-23.
67. Ballam LD, Mendall MA, Asante M, Morris J, Stranchan DP, Whincup PH, et al. Western blotting is useful in the salivary diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Pathol.* 2000;53:314-7.
68. Parsonnet J, Shmueli H, Haggerty T. Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. *JAMA.* 1999;282:2240-5.
69. Kignel S, de Almeida Pina F, André EA, Alves Mayer MP, Birman EG. Occurrence of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva of dyspeptic patients. *Oral Dis.* 2005;11:17-21.

Recibido: 7 de agosto de 2008.

Aprobado: 17 de noviembre de 2008.

Lic. *Ludisleydis Bermúdez Díaz*. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Departamento de Microbiología e Inmunología, Apartado Postal 6412, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: boris.rodriguez@cnic.edu.cu