

DETECCIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI* POR DIFERENTES MÉTODOS, EN PACIENTES CON TRASTORNOS GASTRODUODENALES, EN GRAL. PICO (LA PAMPA)

Riesco S. R.; Riesco O. F.; Testa D.; Ballari M.; Barrena M.

RESUMEN

La conferencia de consenso del NIH, en 1994, concluyó que *Helicobacter pylori* (Hp) era la principal causa de úlcera péptica y recomendó el tratamiento de erradicación de la bacteria en pacientes infectados. En el marco de esta recomendación, el objetivo del presente trabajo fue detectar Hp, en pacientes con sintomatología gastrointestinal, por métodos histopatológicos, microbiológicos e inmunológicos y proceder a una evaluación comparativa de los mismos. Se estudiaron 33 pacientes mayores de edad, de ambos sexos, que consultaron por trastornos gastrointestinales y que no habían sido tratados con inhibidores de bomba de protones ni antibióticos durante los últimos 6 meses. Nuestros resultados muestran en primer lugar, una tasa significativa de detección de *H pylori* en la patología estudiada; en segundo lugar, que la asociación de dos métodos mejoró la tasa de detección para la patología ulcerosa, y, por último, de las opciones probadas, la más rápida y económica fue Biopsia con Serología.

INTRODUCCIÓN

Hace más de 100 años se describió la presencia de organismos espiralados en el estómago de mamíferos.(1) Fue recién en 1982 cuando Marshall y Warren detectaron en el estómago humano un microorganismo con características del género *Campylobacter* que llamaron *Pyloridis*, demostrando que su presencia estaba relacionada con la enfermedad ulcerosa péptica. Si bien se ha comprobado globalmente, que más del 95% de pacientes con úlcera duodenal y más del 80% de pacientes con úlcera gástrica están infectados con *Helicobacter pylori* (Hp), (3), los trabajos realizados en nuestro país arrojan resultados sensiblemente menores (68 - 76%). (1,4). La conferencia de consenso del NIH, en 1994, concluyó que *Helicobacter pylori* era la principal causa de úlcera péptica y recomendó el tratamiento de erradicación de la bacteria en pacientes infectados. (2). La prevalencia de Hp en países en vías de desarrollo, oscila entre el 50% y 90% (1,2,5), casi todos los individuos contraen la enfermedad antes de los 10 años de edad. En países desarrollados, la tasa de infección es menor, entre el 25% y 50% (2). Tres posibles vías de transmisión son consideradas hasta la fecha: primero, la *iatrogénica*, a través de fibroendoscopios mal esterilizados; segundo, la *Fecal - oral*, es quizás la más importante, y, tercero la *oral - oral* que ha sido identificada en mujeres africanas que pre mastican el alimento de sus niños. *Helicobacter pylori*, además de ser asociado a las patologías antes mencionadas, presenta una fuerte relación con gastritis crónica y gastritis atrófica que son las precursoras del cáncer gástrico(6,7). Es una bacteria Gram negativa, espiralada, móvil, microaerofílica. Posee una enzima ureasa que hidroliza la urea formando amonio, creando un ambiente alcalino que la protege de la acidez gástrica. Quizás sea este su principal factor de virulencia. Entre otros factores podemos mencionar: a la citotoxina vacuolante VacA, lipopolisacaridasas, fosfolipasas, mucinasa, motilidad, catalasa, superóxido dismutasa, ATPasas, proteína CAG A, etc. La presencia de la VacA permite diferenciar dos grupos de *Helicobacter pylori*, la bacteria tipo I, expresa la citotoxina y la tipo II que no la expresa. Los pacientes con úlcera péptica siempre están colonizados por la tipo I (8). La infección de la mucosa gástrica con Hp promueve una respuesta sistémica y local que incluye el aumento de IgG e IgA específicas y aumentos locales de IgA secretoria e IgM. A los inmunoensayos usados para detectar la respuesta inmune se los consideran métodos globales ya que reflejan la infección en cualquier lugar del estómago y según algunos autores podría llegar a ser mejor *Gold estándar* que la búsqueda de Hp en biopsias de mucosa gástrica.(2) La respuesta inmunológica al tratamiento de erradicación, puesto en evidencia por la

caída de las IgG, es lento y se necesitan más de 6 meses para la confirmación de un éxito terapéutico por este método. El diagnóstico incluye una variedad de pruebas: el examen histológico, bacteriológico de muestras de biopsias endoscópicas, inmunológicas, Clo-test, prueba de 13C, 14C y prueba de PCR entre otras (2,3,4,5)..

Un estudio realizado en nuestro país, en el año 1997, reveló una prevalencia en individuos sanos del 38% (10), otro, realizado en nuestra provincia, particularmente en Gral. Pico y zona de influencia, reveló una prevalencia del 47,5% (5). Ambos valores coinciden con las estadísticas de países desarrollados (25% al 50%) a pesar de ser el nuestro un país en vías de desarrollo donde las estadísticas publicadas oscilan entre el 50% y el 90%. (2,3) Con respecto a los pacientes con sintomatología gastrointestinal solo se han informado datos obtenidos sobre muestras tomadas en Capital Federal y provincia de San Luis, no contándose con datos de la provincia de La Pampa. En el área de Capital federal se encontró una prevalencia del 70%. (11) y en San Luis, en general, fue del 76%.

OBJETIVOS

En el marco de lo antes dicho, el objetivo del presente trabajo fue: primero, detectar la prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes con sintomatología gastrointestinal, de nuestra provincia, mediante métodos histopatológicos, microbiológicos e inmunológicos y proceder a una evaluación comparativa entre ellos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Es un estudio descriptivo, comparativo, longitudinal y prospectivo. El universo muestral son 33 pacientes que consultaron por trastornos gastrointestinales en el Servicio de Gastroenterología de Clínica Regional SRL.

Criterios de inclusión:

- 1.- Ambos sexos.
- 2.- Mayores de edad.
- 3.- Radicación en Gral. Pico o zona de influencia
- 4.- No haber sido tratados con inhibidores de bomba de protones ni antibióticos durante los últimos 6 (seis) meses.

Criterios de exclusión:

- 1.- Embarazo.
- 2.- Insuficiencia mental.

A cada paciente se le extrae sangre, por punción venosa, para obtener suero y 4 (cuatro) muestra de biopsias de la región antral, a 5 centímetros aproximadamente del píloro con un fibroendoscopio *Pentax*. Dos muestras se colocaron en una solución de formol al 10% para realizar el estudio histopatológico. Las mismas se incluyeron en parafina y fueron coloreadas por Dos (2) técnicas: Giemsa y Hematoxilina - Eosina. Las dos restantes se enviaron al laboratorio en medio de transporte Stuart (Britania) para realizar el test de ureasa y cultivo. Los cortes histopatológicos se observaron microscópicamente tratando de detectar morfológica y cuantitativamente a las bacterias. Se observaron no menos de 100 campos microscópicos antes de descartar la muestra como negativa. Los cortes positivos se semicuantificaron, en función de la cantidad de bacterias observadas, de una a cuatro cruces, como muy escasas, escasa, regular y abundante cantidad. El medio de Christensen, (Britania) para la detección de Ureasa se dispuso con un volumen de 4 ml por tubo graduado. La muestra se inoculó en superficie y la primera lectura se realizará a las 2 hs y la lectura definitiva a las 24 hs. Se consideró el test de ureasa positivo, cuando se produjo el viraje del medio de amarillo a rosa intenso, hacia la profundidad del mismo, en más de 2 mm, y negativo cuando haya ausencia de viraje. El cultivo se realizó sobre Columbia Agar Base Oxoid con 7% (v/v) de sangre de carnero (Britania), suplementado con Hp Selective Supplement Oxoid cuyo contenido es una mezcla de Vancomicina 5 mg, Trimetoprima 2.5 mg., Cefzuldín 2.5 mg. y Anfotericina B 2.5 mg. por cada 500 ml de medio. Se incubó en jarra de anaerobiosis con catalizador y en ambiente microaerofílico generado por Generbox Microaer Biomerieux a 35 °C durante 10 días. El crecimiento se semicuantificó de una a cuatro cruces siguiendo la misma escala

que para el test de ureasa y se confirmará por la prueba de Oxidasa (Britania) y Ureasa (Britania). La prueba de oxidasa se realizó con una suspensión bacteriana de 10^8 de Mac Farland enfrentada al disco de oxidasa. La prueba se considerará positiva si se produce un viraje al azul intenso en el intervalo de dos minutos. La prueba de Ureasa se hizo siguiendo la norma antes descrita sin necesidad de cuantificar. Los sueros se congelaron a -20°C y se procesaron simultáneamente con el autoanizador IMMULITE usando IgG *H pylori*, inmunoensayo quimioluminiscente en fase sólida para la detección cualitativa de IgG específica, de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

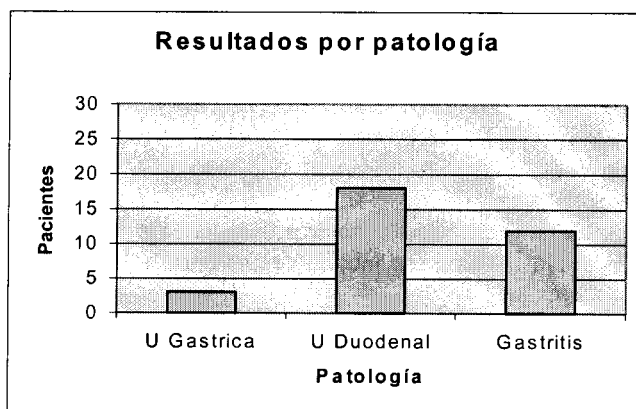
RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla

Tabla 1. Tasa de detección por método y combinaciones de ellos.

	n	Urea	Biop	Cultivo	Serolog	Biop+Cult	Biop+Serol
U gástrica	3	67 %	67 %	67 %	67 %	67 %	67 %
U duoden	18	56 %	61 %	61 %	61 %	67 %	67 %
Gastritis	12	42 %	58 %	42 %	42 %	58 %	-----

Gráfico 1. Distribución de detección de Hp por patologías



DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos demostraron por un lado, la presencia de Hp en un alto porcentaje en pacientes con patología gastroduodenal, y, por otro que los valores hallados fueron semejantes a trabajos publicados por autores de nuestro país, pero discretamente más bajos que en países desarrollados.

Los hallazgos fueron más importantes en pacientes con úlceras duodenales y gástricas (67%) que en pacientes con gastritis. A pesar que, la baja cantidad de datos no nos permite un tratamiento con peso estadístico, podemos inferir que la mejor correlación entre métodos la encontramos entre Biopsias, cultivos y serología; siendo la biopsia más serología la opción más rápida y económica. Los datos sugieren que la asociación de dos métodos mejora la tasa de detección.

La prueba de ureasa, cuya sensibilidad depende del número de microorganismos, fue positiva en un 42% en pacientes con gastritis, siendo menos sensible en la detección de Hp con respecto a Biopsias + Cultivo (58%). La prueba de ureasa a pesar de su menor sensibilidad, se constituye como una prueba económica y accesible por su simplicidad para los pequeños laboratorios e incluso, para el consultorio médico; no obstante, deberá tenerse en cuenta los falsos negativos al momento de realizar el diagnóstico.

A pesar de las dificultades propias del aislamiento de esta bacteria, el cultivo, si bien no sería recomendado como prueba primaria para la búsqueda de Hp, adquiere importancia como

herramienta para monitorear la resistencia a antibióticos como betalactámicos y macrólidos usados en el tratamiento de erradicación.

La prueba serológica de IgG, si bien algo más cara y con requerimientos de instrumental más sofisticados, también se presenta como un test que permite hacer un diagnóstico rápido y a costos razonables.

Bibliografía

- 1.- Corti, Rodolfo; y col. *Helicobacter Pylori, Epidemiología, diagnóstico y tratamiento*. 1998
- 2.- Dunn, Bruce E.; Hartley Cohen; Blaser, Martin J. *Helicobacter pylori. Clinical Microbiology Reviews*, Oct. 1997, p 720 - 741
- 3.- Walsh, Jhon H.; Peterson, Walter L.; The treatment of *Helicobacter pylori* infection in the management of péptico ulcer disease, *The New England Journal Disease of Medicine*, Oct. 1995, vol 333 N° 15, p 984 - 991.
- 4.- Cuadrado de A.M.A.; Vega, A.E.; Mattana, C.M.; Majul R.; Gómez P.; Centorbi de O.P.; Aislamientos de *Helicobacter Pylori* de pacientes con trastornos gastroduodenales en San Luis (Argentina), *Infectología & Microbiología Clínica*, Vol. 8 N° 2, 1996
- 5.- Riesco, Oscar; Riesco, Sergio; Detección de anticuerpos contra *H. pylori* en la Ciudad de Gral. Pico, *Revista del Departamento e Investigación de la Dirección de Recursos Humanos*, Ministerio de Bienestar Social, Pcia de La Pampa, Mayo 1997
- 6.- Blaser M. J.; *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation, *Jur. Infection Dis.* 1990, 161, p 626-633
- 7.- Parsonet J. G.; G.D. Friedman; D.P.Vandersteen, *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma, *N. England J. of Medicine*, 1991, 325: p 1127 - 1131
- 8.- Marchetti Marta; Burroni Daniela; Figura Natale; Rapuoli Rino; Development of a Mouse Model of *Helicobacter Pylori* Infection That Mimies Human Disease, *Science*, March 1995, Vol 267 (5204)
- 9.- IMMULITE IgG *H pylori*, technical information. DPC
- 10.- Olmos J.A.; Higa R.; Prevalence od *Helicobacter pylori* in Argentina. *Gastroenterology*. 112: A245, Abstract, 1997.
- 11.- Katz J.; Gonzalez B.; Cupula C.; Et al. Estudio Multicéntrico de Prevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes con patologías gastroduodenal crónica. *Acta Gastroent. Lat. Amer.* 25 (Abstract) 1995.
- 12.- Loy C.T.; Irwig L.M.; et al. Do comertial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy ? A meta-analysis. *Am.J. Gastroenterol*, 1996 Jun;91(6):1138-44