Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños mediante la detección de antígenos en deposiciones

Carmen Gloria González F^a, Carolina Serrano H^b, Paul R. Harris.

Diagnosis of Helicobacter pylori infection in children based on stool antigen test

Background: During infancy, preventive, diagnostic and therapeutic efforts for *Helicobacter pylori* infection should be made. **Aim:** To evaluate non-invasive diagnostic methods such as stool antigen test (HpSA) and serum anti-*H pylori* antibody detection (IgG e IgA), compared to endoscopy-based invasive methods (histology and urease test) for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Patients and Methods:** Thirty nine children (aged 3 to 14 years, 20 males) referred for upper gastrointestinal endoscopy, were studied. The gold standard to diagnose *Helicobacter pylori* infection was defined as a positive invasive diagnostic test (histology and/or urease test). Sensitivity (S), specificity (E) and positive (PPV) and negative (NPV) predictive values were obtained for HpSA and serum antibodies. **Results:** Ten children (26%) were infected with *H pylori*. S, E, PPV and NPV for HpSA were 90, 100, 100 and 97%, respectively. The figures for serum IgG were 81, 97, 89 and 93%, respectively and for IgA, 90, 76, 36 and 96%, respectively. **Conclusions:** HpSA was sensitive and specific as a clinical and epidemiological tool to evaluate *H pylori* infection in children. Serology was not as accurate, but IgG had a better performance than IgA (Rev Méd Chile 2007; 135: 182-8).

(Key words: Antibodies, bacterial; *Helicobacter pylori*; Immunoglobulins)

Recibido el 19 de marzo, 2006. Aceptado el 16 de agosto, 2006.

Trabajo parcialmente apoyado por Fondecyt #1030401 y NIH #DK-54495.

Departamento de Pediatría, Sección de Gastroenterología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica. Santiago de Chile.

^aEstudiante de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

^bLicenciada en Ciencias Biológicas

Correspondencia a: Dr. Paul Harris D. Departamento de Pediatría, Hospital Clínico Universidad Católica. Centro de Investigaciones Médicas (CIM). Marcoleta 391. Santiago de Chile. Teléfono: (562) 3548177. Fax: (562) 6331457. E mail: pharris@med.puc.cl

La infección por *Helicobacter pylori* alcanza prevalencias de 70% a 90% en países en desarrollo^{1,2}, adquiriéndose a edades tempranas y persistiendo de manera crónica, a menos que sea erradicada con un tratamiento antibiótico específico. La mayoría de los infectados permanecen asintomáticos, sin embargo, 20% de ellos desarrollará alguna de las complicaciones propias de la infección, tales como úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico o linfoma asociado a mucosas^{2,3}.

La ruta de transmisión de la bacteria es controversial, se han propuesto principalmente dos vías; la oro-oral, puesto que se ha podido identificar la presencia de *H. pylori* en la placa dental⁴ y la vía oro-fecal, ya que se ha logrado aislar la bacteria a partir de muestras de deposiciones de sujetos infectados⁵. Independiente de la ruta de transmisión, existe evidencia acerca de la asociación que representaría el pertenecer a niveles socioeconómicos bajos respecto de la prevalencia de la infección⁶.

El diagnóstico de la infección se realiza mediante métodos invasivos, que incluyen la biopsia obtenida por endoscopia, entre ellos se incluyen: cultivo, histología, test de ureasa y PCR; y los métodos no invasivos, que prescinden de la biopsia, tales como serología (para IgG e IgA), test de urea en aire espirado y la detección de antígenos de *H. pylori* en las deposiciones. A pesar de existir muchos métodos diagnósticos, ninguno es considerado como estándar y generalmente la infección se establece con la combinación de algunos tests invasivos para propósitos clínicos y no invasivos para fines epidemiológicos.

El diagnóstico de la infección por *H. pylori* ha probado ser más difícil en niños que en adultos⁷. Revisiones extensas han descrito la existencia de pocos estudios que validan la efectividad de los distintos métodos no invasivos para establecer el diagnóstico de la infección en niños⁸. Por tanto, es necesaria la búsqueda de métodos diagnósticos no invasivos que sean indolores, seguros, de bajo costo y de fácil uso en población pediátrica, tanto con fines epidemiológicos como clínicos. De este modo, el objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad diagnóstica de la detección de antígenos de *H. pylori* en deposiciones (HpSA) y compararla con los métodos invasivos: histología, test de ureasa y serológicos (IgG e IgA), estableciendo así, el real aporte de estos métodos

en el diagnóstico de la infección en población pediátrica chilena.

PACIENTES Y MÉTODO

Pacientes. En forma prospectiva, fueron incluidos en forma consecutiva en este estudio un total de 39 niños referidos a endoscopia digestiva alta, previo consentimiento informado de los padres y de acuerdo a las normas éticas internacionales y al comité de ética local. El criterio de inclusión para los pacientes consistió en la sospecha de enfermedad péptica que comprendiese al menos uno de los siguientes antecedentes: hematemesis, pirosis/epigastralgia, dolor abdominal nocturno, vómitos crónicos asociados a la alimentación, sospecha de recidiva de úlcera péptica o dolor abdominal recurrente en un niño con un familiar directo con úlcera péptica. Se excluyó a aquellos pacientes que hubieran recibido alguna terapia previa con antibióticos o inhibidores de la bomba de protones en el último mes. Los procedimientos endoscópicos fueron realizados en el Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica en Santiago de Chile.

Diagnóstico de la infección por *H. pylori* por métodos invasivos. Durante la endoscopia, se obtuvieron 2 biopsias antrales para determinar la presencia de infección mediante el test de ureasa y la tinción histológica. El test de ureasa (Prontodry, Ecifarma) se incubó a temperatura ambiente, considerando un resultado positivo el cambio de color de amarillo a rojo, 24 h después de tomada la muestra. Para la histología, se prepararon frotis a partir de secciones de tejido gástrico fijados en formalina y embebidos en parafina, teñidos con hematoxilina-eosina. Los frotis fueron examinados por dos patólogos para determinar la presencia de *H. pylori* y patologías asociadas, en desconocimiento del resultado del test de ureasa. La identificación de la bacteria se realizó a partir de sus características morfológicas y su ubicación anatómica.

Test de antígenos en deposiciones (HpSA). Las muestras frescas de deposiciones fueron traídas por los padres de los menores la semana siguiente a la endoscopia y refrigeradas a -20°C hasta el

momento de la realización del test. El test HpSA ELISA (*Premier Platinum HpSA, Meridian Diagnostics*, Ohio; EEUU) se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los resultados fueron medidos espectrofotométricamente a 450/620 nm. El valor de corte para considerar la muestra positiva fue $\geq 0,120$ nm de densidad óptica.

Evaluación de la respuesta inmune para *H pylori*. Las muestras de sangre se obtuvieron al inicio de la endoscopia al momento de ser puncionado el niño para la sedación endovenosa, siendo los sueros refrigerados a -70°C hasta el momento del desarrollo del test. Los anticuerpos IgA e IgG específicos anti- *H pylori* se midieron con el método ELISA (*ImmunoLISA H pylori Organics*, Massachussets, EEUU), siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados fueron obtenidos espectrofotométricamente a 450/620 nm y luego calculadas las concentraciones mediante extrapolación en una curva estándar. Los valores de corte para los tests fueron obtenidos mediante curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic Curves*), en: $>5,4$ UA/ml para IgA y $>20,4$ UA/ml para IgG.

Estadística. Los valores de sensibilidad (S), especificidad (E) y valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) para test de antígenos en deposiciones HpSA y el test de ELISA para IgG e IgA se calcularon mediante la determinación de curvas ROC, respecto del criterio descrito para determinar la infección por *H pylori* por los métodos invasivos.

RESULTADOS

Pacientes e infección por *H pylori*. Se incluyó un total de 39 pacientes (19 mujeres y 20 hombres) con una edad promedio de $9,8\pm 3,2$ años y un rango de edad de 3 a 14 años. La edad promedio de los niños infectados fue de $10,1\pm 4,0$ años y la de los no infectados fue de $9,7\pm 2,9$ años. La prevalencia de la infección, determinada por métodos invasivos, en esta muestra fue de 25,6% (10 niños *H pylori* positivos y 29 *H pylori* negativos). Los principales hallazgos endoscópicos se resumen en la Tabla 1.

Test HpSA. Con los valores de corte determinados por el fabricante ($\geq 0,120$ nm), se obtuvieron valores de S, E, VPP y VPN de 90%, 93%, 82% y 96%, respectivamente. Sin embargo, al ajustar los valores de corte del test para nuestra población pediátrica por medio de curvas ROC, los nuevos valores de S, E, VPP y VPN fueron de 90%, 100% 100% y 96,7%, respectivamente (Tabla 2); con un valor de absorbancia $>0,151$ nm para determinar la infección y un área bajo la curva (AURC) de 0,976. El test HpSA detectó la presencia de antígenos en las deposiciones de 9 de los 10 pacientes infectados; y no se detectó el antígeno en los 29 pacientes no infectados.

Inmunoglobulinas en suero. Para IgG anti *H pylori* se consideró como infectado a todo aquel niño con un valor mayor de 20,4016 UA/ml, obteniéndose los siguientes valores para el total de la

Tabla 1. Correlación entre los pacientes infectados y no infectados por *Helicobacter pylori* y los respectivos hallazgos endoscópicos

Características	<i>H pylori</i> positivo	<i>H pylori</i> negativo	Total
Nº pacientes	10	29	39
Masculino/Femenino	7/3	13/16	20/19
Edad (años), promedio $\pm$ 1 DE	$10,1\pm 4,0$	$9,7\pm 2,9$	$9,8\pm 3,2$
Hallazgos endoscópicos:			
Normal	0	19	19
Gastropatía	2	5	7
Nodularidad antral	7	1	8
Úlcera activa/cicatrizada	1	1	2
Otros	0	3	3

Tabla 2. Detección de *Helicobacter pylori* en deposiciones y en suero, sensibilidad, especificidad y valores predictivos, utilizando métodos diagnóstico invasivos como estándar

	Sensibilidad%	Especificidad%	VPPc%	VPNd%
HpSA ($\geq 0,120$ nm) ^a	90	93	82	96
HpSA ($\geq 0,150$) ^b	90	100	100	96,7
IgA	90	75,9	56,3	95,7
IgG	80	96,6	88,9	93,3

^aValor de corte establecido. ^bValor de corte determinado para la muestra. ^cValor predictivo positivo.

^dValor predictivo negativo.

muestra: S de 80%, E de 96,6%, VPP y VPN de 88,9% y de 93,3%, respectivamente (Tabla 2). La medición de anticuerpos IgA anti *H. pylori* en población pediátrica chilena obtuvo los siguientes valores diagnósticos: S 90%, E 75,9%, VPP 56,3% y VPN 95,7% (Tabla 2); con valores mayores a 5,3398 UA/ml para determinar la infección.

DISCUSIÓN

La infección por *H. pylori* ocurre temprano en la vida en los países en desarrollo, presentando las más altas tasas de infección antes de los 10 años de edad⁹, lo que hace aconsejable que las estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección estén dirigidas a los niños². La validación de nuevos métodos diagnósticos no invasivos es esencial en la población pediátrica, ya que la endoscopia es una técnica cuya realización en niños pequeños es difícil, incómoda, no utilizable como método de tamizaje y que además no está ampliamente disponible en todos los centros de menor complejidad del país. En la actualidad, no existen estudios que exploren la epidemiología de la infección por *H. pylori* en población pediátrica. En la Encuesta Nacional de Salud llevada a cabo en el año 2003, se caracterizó de forma representativa a la población de chilenos mayores de 17 años, grupo en el cual la prevalencia estimada de la infección alcanzó 73% (www.minsal.cl).

La prevalencia de la infección en este estudio fue de 25,6%, cifra que se encuentra dentro del rango de las prevalencias descritas en otros

trabajos, las cuales se disponen entre 12% y 42%^{7,10,16-19}. Esto último es concordante con el cambio epidemiológico que estaría presentando la infección por *H. pylori*, la cual tendería a disminuir en el futuro.

Numerosos estudios validan la utilidad del HpSA (Tabla 3) como método para diagnosticar la infección y monitorizar la eficacia del tratamiento^{7,10-19}. En Chile, el único estudio sobre esta materia hasta la fecha, fue llevado a cabo por Morales y cols¹¹, en el cual se reclutaron 104 pacientes cuyas edades se distribuían entre los 6 y 78 años. A los pacientes se les realizaron tests de ureasa e histología para determinar la infección por *H. pylori*. El test para detectar la presencia de antígenos en deposiciones (HpSA) obtuvo valores de S de 97,6%, E de 76,2%, siendo el VPP de 92,4% y el VPN de 88,9%. Si bien el estudio incluyó a niños desde los 6 años, los autores no evaluaron a los pacientes por categorías etáreas (por lo tanto, no hace referencia al número de niños incluidos ni a como fueron reclutados para el estudio), lo que dificulta el análisis de los resultados del test para poblaciones de edades determinadas. A partir de esto y al compararlo con nuestros resultados, es que se evidencia la importancia que tiene el obtener valores de corte validados no sólo en poblaciones geográficas específicas, sino también en grupos etáreos específicos. Los resultados obtenidos por nuestro grupo, son similares a los descritos en otros estudios realizados en población pediátrica, los que demuestran que el test HpSA es un método de diagnóstico confiable, con altos valores de S y E en niños^{10,16-19}. Existen otros tests en adición al

Tabla 3. Resumen de los estudios de sensibilidad, especificidad y valores predictivos para el test HpSA

Autor (Referencia)	n	rango edad años	Estándar diagnóstico	S ^a	E ^b	VPP ^c	VPN ^d
Elitsur (7)	121	0,5-17	RUT y H	37	99	86	97
Konstantopoulos (10)	145	0,5-19,8	C o H o RUT	88,9	94	87	94,9
Morales (11)	104	6-78	H y RUT	97,6	76,2	94	89
Matsuda (12)	82	21-81	C o RUT o Se o H	90,4	100	100	43,7
Tanaka (13)	136	19-79	C o H y RUT	98,3	95	99,1	90,5
Vaira (14)	272	17-88	C o H y RUT	94	92	97	92
Monteiro (15)	104	17-87	C o H y RUT	88,9	94,4	90,9	90,7
Kato (16)	264	2-17	C13-UBT	96	96,8	92,2	98,4
De Carvalho (17)	210	1-18	C o H y RUT	96,9	100	100	98
Bonamico (18)	190	0,9-17	C o H y RUT	91,5	89,6	76	96,5
Hauser (19)	43	3,5-17,5	RUT	94,4	100	100	96,2
González	39	3-14	H o RUT	90	100	100	96,7

^aSensibilidad, ^bEspecificidad, ^cValor predictivo positivo, ^dValor predictivo negativo

C =cultivo, H =histología, RUT =test de ureasa, Se =serología UBT= test de urea en aire espirado.

HpSA, que también detectan la presencia de antígenos de *H pylori* en deposiciones, algunos de ellos utilizan anticuerpos monoclonales (Femto-Lab *H pylori*) a diferencia del test HpSA que utiliza anticuerpos policlonales. Dichos tests no han sido aún validados, pero sus resultados preliminares son promisorios.

El diagnóstico serológico de la infección alcanza sus valores máximos en población adulta, con valores de S y E que superan el 90%⁸, por lo contrario, existen antecedentes de que esta técnica diagnóstica pierde mucho de su valor al aplicarse en niños, sobre todo en menores de 10 años, grupo en el cual se han descrito valores de S de hasta 21%²⁰. En este estudio, el test de ELISA para medir la presencia de IgG específicos anti *H pylori* obtuvo menores valores diagnósticos que el test HpSA, con una S de 80% y una E de 96,6%, siendo estos valores similares a los que se describen en la literatura¹⁸⁻²⁵. El test de ELISA para IgA específica anti *H pylori* fue el test no invasivo que obtuvo los valores diagnósticos más bajos (S de 90% y E de 75,9%), lo cual es concordante con lo descrito en los diferentes estudios, sin embargo,

los valores diagnósticos obtenidos para IgA anti *H pylori* por nuestro grupo son mejores a los descritos, con valores de S de entre 32% y 71%^{20,26}.

En resumen, en pacientes sin tratamiento previo, los tests serológicos ofrecen una alternativa razonable para aproximarse al diagnóstico de la infección por *H pylori*, pero se debe estar conciente de que estos tests poseen valores de S y E insuficientes para ser utilizados como único método diagnóstico, reservando su mayor utilidad como técnicas para el estudio epidemiológico de la infección.

Los resultados exhibidos por el test HpSA posicionan a este método diagnóstico como una excelente herramienta clínica y epidemiológica para estudiar a niños con sospecha de infección por *H pylori*. Sin embargo, aún es necesario realizar más estudios y que se incluya un mayor número de pacientes, para así poder asentar a este nuevo método diagnóstico como una posibilidad real de establecer la presencia o ausencia de la infección por *H pylori* en niños sin la necesidad de realizar una endoscopia.

REFERENCIAS

1. DUNN BE, COHEN H, BLASER MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 720-40.
2. YÁÑEZ P, MADRAZO DE LA GARZA A, PÉREZ-PÉREZ G, CABRERA L, MUÑOZ O, TORRES J. Comparison of Invasive and Noninvasive methods for the diagnosis and evaluation of eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. *Arch Med Res* 2000; 31: 415-21.
3. HARRIS P, GODOY A, GUIRALDES E. Dolor abdominal, dispepsia y gastritis en pediatría. Rol del *Helicobacter pylori*. *Rev Chil Pediatr* 2001; 72: 81-91.
4. SHAMES B, KRAIDEN S, FUKSA M, BADIDA C, PENNER JL. Evidence for the occurrence of the same strain of *Campylobacter pylori* in the stomach and dental plaque. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2849-50.
5. THOMAS JE, GIBSON GR, DARBOE MK, DALE A, WEAVER LT. Isolation of *Helicobacter pylori* from human feces. *Lancet* 1992; 340: 1194-5.
6. DOMINICI P, BELLENTANI S, DI BIASE AR, SACCOCCIO G, LE ROSE A, MASUTTI F ET AL. Familial clustering of *Helicobacter pylori* infection: population based study. *BMJ* 1999; 319: 537-41.
7. ELITSUR Y, LAWRENCE Z, HILL I. Stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children with symptomatic disease: a prospective study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39: 64-7.
8. HARRIS PR, SERRANO C, GONZÁLEZ CG. Utilidad del diagnóstico serológico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Rev Chil Ped* 2005; 76: 241-51.
9. MALATY HM, EL-KASABANY A, GRAHAM D, MILLER CC, REDDY SG, SRINIVASAN SR ET AL. Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: a follow-up study from infancy to adulthood. *Lancet* 2002; 359: 931-35.
10. KONSTANTOPOULOS N, RUSSMANN H, TASCH C, SAUERWALD T, DEMMELMIR H, AUTENRIETH I ET AL. Evaluation of the *Helicobacter pylori* stool antigen test (HpSA) for detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 677-83.
11. MORALES A, HURTADO C, MADRID AM, PIMENTEL C, ESPINOSA MN. Prueba de Elisa en deposición para detectar la infección por *Helicobacter pylori*. *Rev Méd Chile* 2002; 130: 61-5.
12. MATSUDA M, NODA Y, TAKEMORI Y. Utility and limitations of a method for detecting *Helicobacter pylori* specific antigens in stool. *J Gastroenterol* 2003; 38: 222-28.
13. TANAKA A, WATANABE K, TOKUNAGA K, HOSHIYA S, IMASE K, SUGANO H ET AL. Evaluation of *Helicobacter pylori* stool antigen test before and after eradication therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 732-38.
14. VAIRA D, MALFERTHEINER P, MEGRAUD F, AXON AT. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new noninvasive antigen-based assay. *Lancet* 1999; 354: 30-3.
15. MONTEIRO L, DE MASCAREL A, SARRASQUETA AM, BERGEY B, BARBERIS C, TALBY P ET AL. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: noninvasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 353-8.
16. KATO S, OZAWA K, OKUDA M, FUJISAWA T, KAGIMOTO S, KONNO M ET AL. Accuracy of the stool antigen test for the diagnosis of childhood *Helicobacter pylori* infection: A multicenter Japanese study. *Am J Gastroenterol* 2003; 38: 296-300.
17. DE CARVALHO COSTA CARDINALI L, ROCHA GA, ROCHA AM, DE MOURA SB, DE FIGUEIREDO SOARES T, ESTEVES AM ET AL. Evaluation of (13C) urea breath test and *Helicobacter pylori* stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children from a developing country. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3334-5.
18. BONAMICO M, STRAPPINI PM, BONCI E, FERRI M, CRISOGIANI M, GUIDO M ET AL. Evaluation of stool antigen test, PCR and oral simples and serology for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter* 2004; 9: 69-76.
19. HAUSER B, WYBO I, TSHIBUABUA G, PIERARD D, VANDENPLAS I. Multiple step policlonal versus one step monoclonal enzyme immunoassay in the detection of *Helicobacter pylori* antigen in the stools of children. *Acta Paed* 2006; 95: 297-301.
20. HARRIS PR, GODOY A, ARENILLAS S, RIERA F, GARCÍA D, EINISMAN H ET AL. Seroprevalence to CagA as Marker of Virulence in Chilean Patients Colonized with *Helicobacter pylori*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 596-602.
21. HARRIS P, PÉREZ-PÉREZ G, ZYLBERBERG A, ROLLÁN A, SERRANO C, RIERA F ET AL. Relevance of adjusted cut-off values in commercial serological immunoassays for *Helicobacter pylori* infection in children. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 2103-9.
22. KINDERMANN A, KONSTANTOPOULOS N, LEHN N, DEMMELMIR H, KOLETZKO S. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays, testing immunoglobulin G (IgG) and IgA responses, for diagnosis of *Helico-*

- bacter pylori* infection in children. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3591-96.
23. KHANNA B, CUTLER A, ISRAEL NR, PERRY M, LASTOVICA A, FIELDS PI ET AL. Use caution with serologic testing for *Helicobacter pylori* infection in children. *J Inf Dis* 1998; 178: 460-5.
24. BEST LM, VELDHUYZEN VAN ZANTEN SJ, SHERMAN PM, BEZANSON GS. Serological detection of *Helicobacter pylori* Antibodies in Children and Their Parents. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1193-96.
25. HODGSON MI, PANTOJA H, LATORRE JJ, VIAL P, HENRÍQUEZ A, WENGER J ET AL. *Helicobacter pylori* Associated Gastroduodenal Disease in Symptomatic Chilean Children: Diagnostic Value of Serological Assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 263-8.
26. CUTLER A, HAVSTAD S, CHEN K, BLASER M, PÉREZ-PÉREZ G, SCHUBERT T. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol* 1995; 109: 136-41.