

Estudio comparativo de dos pruebas rápidas de ureasa elaboradas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Tecnológica de Pereira frente a una comercial para detección de *H pylori* en biopsia gástrica.

José Ignacio Moncayo Ortiz
Magíster en Microbiología. Profesor
Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad Tecnológica de Pereira.

Jorge Javier Santacruz I.
Magíster en Microbiología. Profesor
Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad Tecnológica de Pereira.

Adalucy Álvarez A.
Bacterióloga. Asistente de Investigación,
Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad Tecnológica de Pereira.

Elizabeth Cristina Reinoso J.
Estudiante Programa de Medicina,
Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad Tecnológica de Pereira.

Emiro Meissel Ch.
Médico Gastroenterólogo,
Centro de Especialistas de Risaralda

Fabio Salazar J.
Médico, Gastroenterólogo,
Centro de Especialistas de Risaralda

Herman Serrano López.
Ph.D. Matemáticas. Profesor
Facultad de Ciencias Básicas,
Universidad Tecnológica de Pereira.

Resumen

*El *H. pylori* es un bacilo Gram negativo que coloniza la mucosa gástrica del hombre, causando gastritis crónica, úlcera gástrica y duodenal, se asocia con carcinoma gástrico y linfoma gástrico tipo MALT. Existen diferentes métodos diagnósticos para detectar la infección por *Helicobacter pylori*. Uno de los más utilizados es la prueba rápida de la ureasa (PRU), ya que se realiza en la misma unidad de endoscopia. El propósito del presente estudio fue determinar la sensibilidad y especificidad de dos pruebas de ureasa fabricadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Tecnológica de Pereira frente a una prueba rápida de ureasa comercial de reconocida sensibilidad y especificidad tomada como patrón de referencia (Serim PYLORITEK TEST KIT 5140D).*

A 53 pacientes que consultaron por síntomas dispépticos y por diagnóstico endoscópico que ameritaron ser incluidos en el estudio, se les tomaron tres biopsias antrales por paciente. Cada una de ellas se utilizaron en las respectivas pruebas de ureasa.

De los 53 pacientes estudiados, 22 presentaron las tres pruebas de ureasa positivas simultáneamente. En ningún paciente una o dos pruebas dieron positivas. Generalmente se acepta que el tiempo de lectura de las pruebas rápidas de ureasa se hace hasta las 24 horas. Cuando el tiempo de lectura de las pruebas fabricadas en el laboratorio fue de 24 horas, presentaron una sensibilidad y especificidad del 100% con respecto a la prueba comercial. A las 5 horas, la sensibilidad para la prueba sólida fue del 100% y para la prueba líquida de 91%. A las 2 horas, las sensibilidades disminuyeron a 82% y 86% respectivamente y a una hora, la sensibilidad disminuyó a 77% para la prueba sólida y 82% para la líquida. La disminución de la sensibilidad a través del tiempo de lectura en las pruebas fabricadas en el laboratorio esta acorde con los resultados obtenidos por otros investigadores cuando compararon las pruebas comerciales CLO-

Test, Hpfast y Pyloritek. La especificidad se mantuvo en el 100% en todas las medidas del tiempo de lectura.

En conclusión, los resultados de las pruebas caseras muestran que para obtener un 95% de confiabilidad se requiere al menos un rango de tiempo de lectura entre 10 minutos a 5 horas.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, ureasa, prueba rápida de ureasa, Pyloritek Test, biopsia gástrica

Summary

Helicobacter pylori is a gram-negative bacillus that colonizes the human gastric mucosa, causing chronic gastritis, gastric and duodenal ulcer, and associates with gastric carcinoma and gastric linfoma (MALT type). There are several methods of diagnosis in order to detect the infection of Helicobacter pylori. One of the most utilized is the rapid urease test (RUT). The purpose of the present study was to compare the sensibility and specificity of

two rapid urease tests prepared in the Laboratory of Microbiology of the Technological University of Pereira with a commercial rapid urease test, taken like reference which has recognized sensibility and specificity (Serim PYLORITEK TEST KIT 5140D).

To 53 patients that consulted for dispeptic symptoms and by endoscopic diagnosis they deserved to be included in the study was taken them three antral biopsies by patient. Each one biopsy were utilized in the repetitive urease test. From the 53 patients studied, 22 patients were positives for the three urease tests simultaneously, not one patients gave one or two tests positives. Generally it is accepted that the time of reading of the RUT is done to the 24 hours. When the time of reading of the manufactured tests in the laboratory was 24 hours, they had a 100% sensibility and 100% specificity with regard to the commercial test. At five hours, the sensibility for de so-

lid test was 100% and liquid test was 91%. At two hours, the sensibilities diminished to 82% and 86% respectively and one hour, the sensibilities diminished to 77% for the solid test and 82% for the liquid test. The decrease of the sensibility across the time of reading in the tests manufactured in the laboratory were similar with the results obtained by others investigators when they compared the commercial test CLOTest, Hpfast y Pyloritek. The specificity was maintained in 100% in all measures of the time of reading.

In conclusion, the results of the laboratory tests show that it is necessary a range of time of reading between ten minutes to five hours in order to get a 95% of sensibility.

Key words: *Helicobacter pylori*, urease, rapid urease test, Pyloritek Test, gastric biopsy

Recibido para publicación:
15-03-2007

Aceptado para publicación:
09-05-2007

Introducción

El *H. pylori* es un bacilo Gram negativo en forma de espiral o curvado, siendo estas bacterias móviles con flagelos múltiples envainados en un polo de la célula, no esporulados que colonizan la mucosa gástrica del hombre. La infección por *H. pylori* es una de las más comunes en el mundo, la bacteria infecta a más de la mitad de la población mundial, causa gastritis crónica, úlcera gástri-

ca y duodenal, y se asocia con carcinoma gástrico y linfoma gástrico tipo MALT (1-5).

Existen muchos factores de virulencia de *H. pylori* que contribuyen a su patogenicidad. Estos factores incluyen presencia de flagelos y forma de espiral, producción de enzimas y proteínas adaptativas, habilidad para adherirse al moco y células de la mucosa gástrica (6, 7), más recientemente se ha descrito captación de potasio mediado por canales que son esenciales en la colonización de la mucosa gástrica (6). El *H. pylori* una vez unido a la mucosa gástrica, puede eventualmente causar daño a los tejidos por una cascada de eventos complejos que dependen tanto del microorganismo como del huésped. Aunque hay muchos factores de virulencia de *H. pylori* que han sido involucrados en la patogénesis de la enfermedad gastroduodenal, es importante mencionar los productos de

los genes *ure* (ureasa), *vacA* (gen A de la citotoxina vacuolizante), *cagA* (gen asociado a citotoxina) e *iceA* (gen A inducido por contacto con el epitelio) como los más estudiados (8-11).

La ureasa de *H. pylori* es esencial en la colonización del estómago y le permite a la bacteria vivir en condiciones del medio ácido del estómago. La ureasa nativa tiene un PM aproximado de 540KDa y es una molécula hexamérica que contiene níquel, constituida por dos subunidades de UreA (30 KDa) y una de UreB (62 KDa) en una relación molar 1:1. La producción de la enzima está codificada por un grupo de 9 genes, incluyendo *ureA* y *ureB* como genes estructurales y los demás son genes reguladores involucrados en la síntesis y ensamblaje de la holoenzima (12). La ureasa hidroliza la urea presente en el estómago produciendo amonio y carbamato, éste último espontáneamente se descompone para formar otra molécula de amonio y ácido carbónico. El amoniaco que se produce por la acción de la enzima difunde hacia el periplasma causando un efecto amortiguador que protege la bacteria del medio ácido del estómago. En solución el ácido carbónico liberado y las dos moléculas de amonio están en equilibrio con sus formas protonadas y desprotonadas respectivamente. El efecto en red de esta reacción incrementa en el pH (12).

La reacción de la ureasa resulta en un aumento del pH, esto ha permitido desarrollar métodos pH-dependientes para detectar su actividad en biopsia gástrica (12, 13).

Para el diagnóstico de la infección hay varios métodos que se pueden emplear a fin de descubrir la presencia de *H. pylori*. Los métodos invasivos como el cultivo, la prueba rápida de ureasa (PRU) y el examen histológico que requieren endoscopia y biopsia y los no invasivos que no necesitan endoscopia, como la prueba del aliento (urea breath test: UBT), la demostración de antígenos de *H. pylori* en materia fecal (*H. pylori* stool antigen test, HpSA test); y las pruebas serológicas que se basan en el descubrimiento específico de anticuerpos anti- *H. pylori*, los cuales no pueden discriminar entre infecciones activas y de exposición previa, puesto que los niveles de anticuerpos pueden persistir por largo tiempo en individuos curados de la infección (14-16).

Existen básicamente tres métodos de rutina (cultivo, prueba rápida de la ureasa y el examen histológico) y métodos moleculares para hacer diagnóstico de la infección. El primer método de rutina es el bacteriológico basado en el cultivo con 100% de especificidad cuando se trata de material gástrico obtenido mediante biopsia. Sin embargo, requiere de medios de cultivo especiales, condiciones de incubación microaerófila e incubación de 5 a 7 días. La sensibilidad del cultivo es alta, entre un 70 a 95%. La tasa de resultados negativos del cultivo puede ser minimizada con la toma de dos biopsias antrales u obteniendo una tercera del cuerpo o fundus del estómago (17-21).

El segundo método de rutina es la prueba rápida de la ureasa, que se utiliza para demostrar la presencia de la actividad enzimática derivada del metabolismo bacteriano (12, 13). Cualquier actividad enzimática de la ureasa en biopsias de la mucosa gástrica se considera positiva para *H.*

pylori. Varias pruebas rápidas de ureasa están disponibles comercialmente (CLO Test, Pyloritek, Hp-fast). Estas pruebas tienen sensibilidad de 90 a 95% y especificidad de 95 a 98% en biopsia y un resultado positivo puede ser tomado como una evidencia concluyente de la presencia de *H. pylori* (13).

Adicionalmente, existen otros métodos que detectan la actividad enzimática de la ureasa y no son métodos de rutina, uno de éstos es la prueba de urea en el aliento (UBT:Urea Breath Test). Este método mide el CO₂ producido cuando la ureasa de *H. pylori* metaboliza urea marcada con carbono ¹³C o ¹⁴C, tiene una sensibilidad y especificidad de 95 a 99%, es útil para confirmar la cura de la infección después de cuatro semanas de haber completado el tratamiento. Falsos negativos son posibles como en el caso de la biopsia gástrica. Es una técnica especializada y costosa (7, 14, 22).

El tercer método de rutina es el estudio histológico a través del cual se puede demostrar directamente la presencia del germen en una muestra de biopsia gástrica, el cual también permite la evaluación de la gastritis subyacente (13).

En la actualidad se dispone de varias técnicas moleculares para la detección de *H. pylori* las cuales ofrecen excelentes posibilidades para un diagnóstico preciso. En los últimos años, se han aplicado métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) clásica y en tiempo real para la detección de *H. pylori* en mues-

tras de biopsia, jugo gástrico, saliva, placa dental y heces. Los ensayos basados en la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se han empleado para detectar la presencia de ADN de *H. pylori* usando como blanco varios tipos de genes 16S rRNA, *ureC*, *cagA*, gen de adhesinas (23-29).

De los métodos de rutina, la prueba rápida de ureasa (PRU) es la más utilizada en el diagnóstico de la infección y es ejecutado en la misma sala de endoscopia, convirtiéndose en una herramienta muy útil para el diagnóstico de la infección. La sensibilidad puede ser reducida bajo ciertas circunstancias como sangrado reciente o activo del tracto gastrointestinal superior (30) e ingestión reciente de inhibidores de la bomba de protones, antagonistas del receptor- H_2 , antibióticos o compuestos que contengan bismuto (22). También, los resultados se ven afectados por el tipo de prueba disponible en la unidad de endoscopia y el tiempo de lectura de la prueba (20 minutos, 1 hora o 24 horas o más). Las pruebas comerciales son costosas y en ocasiones no están disponibles en las unidades endoscópicas, especialmente en países en vía de desarrollo. Adicionalmente, varias de las pruebas de ureasa de fabricación a nivel local, aunque son muy fáciles de preparar y poco costosas, algunas de ellas no han sido sometidas a una rigurosa evaluación en su sensibilidad y especificidad frente a pruebas de reconocido prestigio internacional.

Por consiguiente, siendo la prueba rápida de ureasa uno de los mé-

todos más utilizados en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* es importante fabricar una PRU más sensible y específica que las utilizadas hasta el momento en las unidades endoscópicas de nuestro medio; por las razones expuestas anteriormente. El propósito del presente estudio fue determinar la sensibilidad y especificidad de dos pruebas de ureasa fabricadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Tecnológica de Pereira frente a una prueba rápida de ureasa comercial de reconocida sensibilidad y especificidad tomada como patrón de referencia (Serim PYLORITEK TEST KIT 5140D, S: 94.4%, E: 95.6%, VPP: 95.8% y VPN: 93.8%).

Materiales y métodos

Pacientes: Se estudiaron 53 pacientes de cualquier edad y sexo que asistieron a los consultorios 301 y 801 de gastroenterología del Centro de Especialistas de Risaralda, cumplieron con los criterios de inclusión [pacientes que no hubiesen ingerido antibióticos durante las seis (6) semanas antes de la endoscopia y que no hubiesen ingerido inhibidores de la bomba de protones o bismuto, durante los quince (15) días antes de la endoscopia] y estuvieron de acuerdo en participar en el estudio, firmando el respectivo consentimiento informado.

Endoscopia gastroduodenal: De cada paciente con enfermedad gastroduodenal y que al examen endoscópico ameritaban ser incluidos en el estudio, se tomaron tres biopsias de la región antral, cada biopsia fue sometida a la PRU respectiva (líquida, sólida y comercial).

Prueba rápida de ureasa (PRU): La primera biopsia se sumergió en la fase líquida de la PRU fabricada en el laboratorio de Microbiología, la segunda biopsia se puso en la superficie de la fase sólida en la PRU también elaborada en el laboratorio de Microbiología y la tercera se puso en la tirilla de la PRU de origen comercial siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las pruebas fabricadas en el laboratorio, se considerarán positivas por un cambio de color de anaranjado a fucsia, y negativa cuando no cambió de color. La prueba comercial, según el fabricante, es positiva si se presenta un color púrpura intenso o azul similar al control positivo y la aparición de un azul pálido o un gris débil sobre la biopsia se considera negativa.

Tiempo de lectura de las PRUs: Para las pruebas fabricadas en el laboratorio se realizaron 12 lecturas desde uno hasta 1440 minutos (24 horas), distribuidas de la siguiente forma: 1, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 120, 300, 600, 900 y 1440 minutos. Si al cabo de 24 horas (1440 minutos) de observación no hubo cambio de color se consideraron como negativas. Para la prueba comercial se realizaron siete lecturas desde un minuto hasta 60 minutos (1, 5, 10, 15, 20, 30 y 60 minutos). El tiempo de lectura estipulado por el fabricante de esta prueba es de 60 minutos.

Preparación de la PRUs caseras:

a) Prueba líquida

Se preparó una solución buffer fosfato 0.1 M de Na_2HPO_4 y NaH_2PO_4 a pH 6.8 y una solución de rojo de fenol al 0.1% en etanol al 70%. La solución de trabajo (buffer fosfato 0.09M, urea al 10% y rojo de fenol 0.01% a pH 6.8) se preparó mezclando 10mL de la solución de rojo de fenol al 0.1% con 90mL de la solución buffer fosfato y se le adicionó 10gr de urea.

La solución de trabajo se envasó en un frasco gotero. Una de las tres biopsias antrales de cada paciente se introdujo en un tubo eppendorf de 0.5mL y se le agregó una gota (aproximadamente 100 μ L) de la solución de trabajo.

b) Preparación prueba sólida en papel absorbente

Se preparó una solución buffer fosfato 0.1 M de Na_2HPO_4 y NaH_2PO_4 a pH 6.8 y una solución de rojo de fenol al 0.1% en etanol al 70%. La solución reveladora (buffer fosfato 0.09M y rojo de fenol 0.01% a pH 6.8) se preparó mezclando 10mL de la solución de rojo de fenol al 0.1% con 90mL de buffer pH 6.8.

Se recortaron tirillas de papel absorbente (3M, Whatman) de 2 cm de largo por 1.5 cm de ancho, se empacaron y esterilizaron en la autoclave por 15 minutos a 121 °C; luego se impregnaron con 100 μ L de una solución agua-urea al 10%, se dejaron secar a 37 °C por 30 minutos para ser utilizadas posteriormente en la sala de endoscopia.

Otra de las tres biopsias antrales de cada paciente se puso sobre la tirilla en una cámara húmeda y se agregó dos gotas (aproximadamente 200 μ L) de la solución reveladora.

Resultados

De los 53 pacientes estudiados con síntomas dispépticos y donde se obtuvieron las biopsias, 22 pacientes fueron positivos para las tres pruebas de ureasa simultáneamente. En ningún caso se presentó que una o dos pruebas dieran positivas en el mismo paciente. De acuerdo a la metodología planteada en el estudio, el tiempo de lectura de las pruebas de ureasa fabricadas en el labo-

torio fue hasta las 24 horas. La prueba comercial, PiloriteK estipula un tiempo máximo de lectura de 1 hora. En la tabla 1 se muestran las frecuencias de cada una de las pruebas; para la comercial el máximo rango de lectura estuvo en 60 minutos en un paciente, para la prueba sólida el máximo tiempo fue de 300 minutos en 4 pacientes y para la líquida un paciente en 900 minutos.

En las pruebas fabricadas en el laboratorio, cuando se les permitió reaccionar hasta por un tiempo de 24 horas, tuvieron una sensibilidad y especificidad del 100%, comparadas con la prueba comercial; es decir, no hubo falsos negativos ni falsos positivos (22 pacientes fueron positivos simultáneamente por las tres pruebas y 31 negativos).

Con éstos resultados, las pruebas fabricadas en el laboratorio son equivalentes a la prueba comercial, y ofrecen las mismas garantías de confiabilidad cuando el tiempo de lectura es hasta las 24 horas (tabla 2).

Tabla 1. Frecuencias de pruebas positivas según el tiempo de lectura durante las 24 horas

Tiempo de lectura (minutos)													
Tipo de prueba	1	5	10	15	20	30	60	120	300	600	900	1440	Total
Líquida	0	0	0	2	7	3	6	1	1	1	1	0	22
Sólida	0	0	4	2	6	0	5	1	4	0	0	0	22
Comercial	5	7	5	2	1	1	1	0	0	0	0	0	22

Tabla 2. Comparación entre la prueba comercial y las pruebas de fase sólida y líquida en cualquier tiempo de lectura dentro de las 24 horas.

	Prueba comercial		Prueba de fase sólida		Prueba líquida	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	22	0	22	0	22	0
Negativo	0	31	0	31	0	31
Especificidad		100%		100%		100%
Sensibilidad		100%		100%		100%

Comprobada la sensibilidad y especificidad de las pruebas fabricadas en el laboratorio frente a la comercial, se consideró el tiempo de lectura de las pruebas fabricadas en el laboratorio frente al tiempo de lectura recomendado por el fabricante de la prueba comercial (60 minutos). En este aspecto sí se diferencia la prueba comercial de las fabricadas en el laboratorio. Tomando como patrón los 60 minutos se vió que las pruebas caseras redujeron la sensibilidad a 77% para la prueba sólida y a 82% para la líquida (tabla 3).

Tabla 3. Comparación entre la prueba comercial y las pruebas sólida y líquida a tiempo de lectura de 60 minutos.

	Prueba comercial		Prueba fase sólida		Prueba líquida	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	22	0	17	5	18	4
Negativo	0	31	0	31	0	31
Especificidad		100%		100%		100%
Sensibilidad		100%		77%		82%

Si se extiende a 120 minutos el tiempo de lectura, se obtiene que las sensibilidades son de 82% para la fase sólida y 86% para la líquida (tabla 4) y para un tiempo de lectura de 300, la sensibilidad para la prueba de fase sólida fue del 100% y para la prueba líquida de 91% (tabla 5). La especificidad del 100% no cambió a través de los diferentes tiempos de lectura.

Tabla 4. Comparación entre la prueba comercial y las pruebas de fase sólida y líquida a 120 minutos de tiempo de lectura.

	Prueba comercial		Prueba de fase sólida		Prueba líquida	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	22	0	18	4	19	3
Negativo	0	31	0	31	0	31
Especificidad		100%		100%		100%
Sensibilidad		100%		82%		86%

Tabla 5. Comparación entre la prueba comercial y las pruebas de fase sólida y líquida a 300 minutos de tiempo de lectura.

	Prueba comercial		Pruebade fase sólida		Prueba líquida	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Positivo	22	0	22	0	20	2
Negativo	0	31	0	31	0	31
Especificidad		100%		100%		100%
Sensibilidad		100%		100%		91%

Cuando se comparan las dos pruebas fabricadas en el laboratorio, se puede afirmar que el desempeño de la prueba líquida es un poco mejor que el de la sólida, excepto por los dos casos extremos en los que la prueba líquida reaccionó a 600 y 900 minutos, pero en los restantes casos del tiempo de lectura fue mucho menor que la prueba sólida.

Los resultados de las pruebas fabricadas en el laboratorio muestran que para obtener un 95% de sensibilidad se requiere al menos un tiempo de lectura mínimo de 300 minutos.

Discusión

La ureasa de *H. pylori* es esencial para la colonización del estómago y le permite a la bacteria vivir en condiciones del medio ácido del estómago. Esta bacteria ha desarrollado un mecanismo único de control de acceso del sustrato a la ureasa intracelular. Posee canales para urea (Urel) en la membrana interna que son abiertos a niveles de pH menores de 6.5, permitiendo la entrada de urea. El amoniaco que se produce por la acción de la enzima difunde hacia el periplasma causando un efecto amortiguador (12, 31, 32).

Existen diferentes métodos diagnósticos de rutina (cultivo, examen histológico y prueba rápida de ureasa) y moleculares (PCR) para detectar la bacteria. La prueba de la ureasa es el método que se utiliza para demostrar la presencia de la actividad enzimática del *H. pylori* con una sensibilidad de 90 a 95% en biopsia (4, 12, 29). Cuando la endoscopia está clínicamente indicada, el método de elección es la prueba rápida de la ureasa (PRU) en biopsia antral. Varias pruebas rápidas de ureasa están disponibles comercialmente (CLO Test, Pyloritek, Hp-fast). Estas pruebas tienen excelente especificidad y un resultado positivo puede ser tomado como una evidencia concluyente de infección con *H. pylori* (13, 22, 33).

Los resultados obtenidos con las PRUs elaboradas en el Laboratorio de Microbiología de la UTP mostraron una sensibilidad y especificidad del 100% cuando se comparó con la prueba comercial sin tener en cuenta el tiempo de lectura. Sin embargo, cuando la comparación tuvo en cuenta el tiempo de lectura, las pruebas fabricadas en el laboratorio mostraron diferencias de sensibilidad con respecto a la comercial; el tiempo de lectura fue superior al estipulado en la prueba comercial, esto llevó a una disminución en la sensibilidad aunque no hubo modificación con respecto a la especificidad. Sin embargo, en un estudio realizado por Laine et al (34) donde se comparó la sensibilidad y especificidad de tres pruebas comerciales (CLOtest, Hpfast y Pyloritek), en conjunto las sensibilidades fueron equivalentes de 88 a 93% y las especificidades fueron excelentes, 99 a 100%. Cuando se realizó el comparativo a 60 minutos (punto de corte del Pyloritek), las sensibilidades del CLOtest y Hpfast fueron significativamente más bajas (66 a 71%), similar a los resultados obtenidos en este estudio, 77% para la prueba de fase sólida y 82% para la líquida.

Aunque las pruebas fabricadas en el Laboratorio de Microbiología de la UTP mostraron una sensibilidad y especificidad del 100% a las 24 horas, requieren aún mejorar su sensibilidad a los 60 minutos pues esta disminuyó a 77% para la prueba sólida y 82% para la líquida. Este es un requisito indispensable para que sean viables comercialmente. El tiempo de lectura que garantiza un 100% de sensibilidad en la prueba sólida y en la prueba líquida es de 5 y 15 horas, respectivamente. Sin embargo, el hecho que no tengan una sensibilidad por encima del 95% en un tiempo de lectura de 60 minutos, no las descarta como pruebas útiles en detectar la bacteria; aquí, únicamente se está teniendo en cuenta el "tiempo" que dispone el gastroenterólogo en la consulta. De esta manera si se tiene en cuenta lo anterior, la escogencia de la prueba podría ser basada en costos, disponibilidad de la prueba, preferencia del gastroenterólogo y tiempo disponible de lectura en la unidad de endoscopia.

Lo anterior, nos lleva a afirmar que cuando se usen pruebas fabricadas localmente (hecho que es muy común en las unidades de endoscopia donde utilizan un "CLO-test" que no es el comercial sino elaborado por algunos laboratorios locales o nacionales), deben ser primero evaluadas en su sensibilidad y especificidad y definir con exactitud el tiempo de lectura necesaria para que el resultado sea confiable.

Finalmente, demostrada la sensibilidad y especificidad de las pruebas de ureasa elaboradas en el Laboratorio de Microbiología

de la UTP, nos queda mejorar el tiempo de lectura para que sea comercialmente atractiva. Nosotros creemos que uno de los factores que pudo haber influido en la disminución de la sensibilidad es el rango amplio del cambio de pH del indicador rojo de fenol que está entre 6.8-8.4 y no la concentración del sustrato, pues la ureasa de *H. pylori* exhibe un comportamiento cinético tipo Michaelis-Menten y presenta uno de las K_m más bajas de las ureasas bacterianas (0.17mM), lo que significa que tiene una alta afinidad por el sustrato y por lo tanto la velocidad de reacción no se va a aumentar así se aumente la concentración del sustrato.

Agradecimientos:

El grupo investigador expresa los más sinceros agradecimientos a la Universidad Tecnológica de Pereira, al personal de apoyo de las unidades de endoscopia del Centro de Especialistas de Risaralda por su generosa colaboración, a los pacientes y al señor Arcángel Mesa M. como auxiliar de laboratorio.

Referencias bibliográficas

1. Dooley C, Cohen H. *Helicobacter pylori* infection: Background and historical considerations of *H. pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 1-4.
2. Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1:1310-1314.
3. Stewart G, Worsley B. *Helicobacter pylori* infection: Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 5-19.
4. Dunn BE. *Helicobacter pylori* infection: pathogenic mechanisms of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 43-57.
5. Figura N. *Helicobacter pylori* factors involved in the development of gastroduodenal mucosal damage and ulceration. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25: 1 (Suppl): 149-163.
6. Moran AP. Pathogenic properties of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1996; Suppl, 215:22-31.
7. Hardin F, Writght R. *Helicobacter pylori*: Review and Update. *Hospital Physician*. 2002; pp 23-31.
8. Nguyen TN, Barkun AN, Fallone C, et al. Host determinants of *Helicobacter pylori* infection and its clinical outcome. *Helicobacter*, 1999; 4(3):185-197.
9. Graham DY, et al. Scope and consequences of peptic ulcer disease. How important is asymptomatic *Helicobacter pylori* infection? *Postgraduate Medicine*, 1999; 105(3):100-110.
10. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*, 2002; 347(15):1175-1186.
11. Figura N, Guglielmetti P, Rossolini A, et al. Cytotoxin production by *Camphylobacter pylori* strains isolated from patients with peptic ulcer and from patients with chronic gastritis only. *J Clin Microbiol* 1989; 27:225-226.
12. Mobley H, Island M, Hausinger R, et al. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiol Rev*, 1995; 59:451-480.
13. Dunn BE, Cohen H, Blaser M. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*, 1997; 10(4):720-741.
14. Vakil N, Vaira D. Non-invasive tests for the diagnosis of *H. pylori* infection. *Rev Gastroenterol Disord*, 2004; 4(1):1-6.
15. Weingart V, Russmann H, Koletzko S, Weingart J, Hochter W, Sackmann M. Sensitivity of a novel stool antigen test for detection of *Helicobacter pylori* in adult outpatients before eradication therapy. *J Clin Microbiol* 2004; 42(3): 1319-1321.
16. Li YH, Guo H, Zhang PB, Zhao XY, Da SP. Clinical value of *Helicobacter pylori* stool antigen test, immunocard STAT HpSA, for detecting *H. pylori* infection. *World J Gastroenterol*, 2004; 10(6):913-914.
17. Scherer C, Müller KD, Rath PM, Ansorg R. Influence of culture conditions on the fatty acid profiles of laboratory-adapted and freshly isolated strains of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*, 2003; 41(3):1114-1117.

18. Yousfi M, Reddy R, Osato M, Graham D. Is antrum or corpus the best site for culture of *Helicobacter pylori*? *Helicobacter*, 1996; 1(2):88-91.
19. Roosendaal R, et al. Recovery of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimens is not dependent on the transport medium used. *J Clin Microbiol*, 1995; 33(10):2798-2800.
20. Albertson N, Wenngren I, Sjoström JE. Growth and survival of *Helicobacter pylori* in defined medium and susceptibility to Brij 78. *J Clin Microbiol*, 1998; 6(5):1232-1235.
21. Fresnadillo MJ, et al. Comparative evaluation of selective and nonselective media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. *Helicobacter*, 1997; 2(1):36-39.
22. Howen C, Hunt R. Practice guidelines: Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol*, 1998; 93(12):2330-38.
23. Schabereiter-Gurtner C, Hirschl AM, Dragosics B, Hufnagl P, Puz S, Kovách Z, et al. Novel Real-Time PCR assay for detection of *Helicobacter pylori* infection and simultaneous clarithromycin susceptibility testing of stool and biopsy specimens. *J Clin Microbiol*, 2004; 42(10): 4512-4518.
24. Van Zwet A, Thijs A, Frierson H, Powel S. Sensitivity of culture compared with that of polymerase chain reaction for detection of *Helicobacter pylori* from antral biopsy samples. *J Clin Microbiol*, 1993; 31(7):1918-1920.
25. Wesblom T, Phadnis S, Yang P, Czinn S. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by means of a polymerase chain reaction assay for gastric juice aspirates. *Clin Infect Dis*, 1993; 16:367-371.
26. Furuta T, Kaneko E, Suzuki M, Arai H, Futami H. Quantitative study of *Helicobacter pylori* in gastric mucus by competitive PCR using synthetic DNA fragments. *J Clin Microbiol*, 1996; 34(10):2421-2425.
27. Van Zwet A, Thijs A, Frierson H, Powel S. Use of PCR with feces for detection of *Helicobacter pylori* infections in patients. *J Clin Microbiol*, 1994;32(5):1346-1348.
28. Gramley WA, et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in fecal samples from infected individuals. *J Clin Microbiol*, 1999; 37(7):2236-2240.
29. Lage A, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, Butzler JP, Bollen A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: Comparison with other invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol*, 1995; 33(10):2752-2756.
30. Lai KC, Hui WM, Lam SK. Bleeding ulcers have high false negative rates for antral *H. pylori* when tested with urease test. *Gastroenterology*, 1996; 110:A167 (abstract).
31. Mcgee D, May C, Garner R, Himpls J, Mobley H. Isolation of *Helicobacter pylori* Genes That Modulate Urease Activity. *J Bacteriol*, 1999; 181(8): 2477-2484.
32. Dunn B, Campbell G, Pérez-Pérez G, Blaser M. Purification and characterization of urease from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem*, 1990; 265(16):9464-9469.
33. Van Doorn L, Henskens Y, Nouhan N, Verschuuren A, Vreede R, Herbink P, et al. The efficacy of laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* infections in gastric biopsy specimens is related to bacterial density and *vacA*, *cagA* and *iceA* genotypes. *J Clin Microbiol*, 2000; 38(1): 13-17.
34. Laine Lewin D, Maritoku W, Estrada R, Cohen H. Prospective comparison of commercially available rapid urease tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc*, 1996; 44:523-526.

