¿Es el enterotest una alternativa válida a la gastroscopia con biopsias para la detección de *H. pylori?*

A. J. del Pozo García y J. P. Gisbert[1]

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Guadalajara y [1]Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori (H. pylori)* puede realizarse a través de diversos métodos, "directos" e "indirectos" (1). Los primeros se basan en la demostración "directa" del microorganismo mediante el estudio histopatológico y microbiológico de muestras obtenidas por biopsia gástrica. Por tanto, precisan de la realización de una endoscopia, lo que resulta ciertamente molesto para el enfermo. Esa incomodidad y el relativo alto coste de la endoscopia ha estimulado la búsqueda de alternativas más sencillas, especialmente en los países en vías de desarrollo (2). Los métodos "indirectos" se basan en el estudio y la detección de ciertas características de la bacteria, como son su capacidad para hidrolizar la urea –propiedad en la que se basa la prueba del aliento con ^{13}C-urea (1)– o la respuesta del sistema inmune del huésped frente a la infección (detección de anticuerpos específicos mediante las pruebas serológicas). Por tanto, estas técnicas "no invasoras" añaden como ventaja a su precisión diagnóstica su menor agresividad y mejor tolerancia por parte de los pacientes, aunque también el inconveniente de no poder estudiar la virulencia o el patrón de resistencia de la cepa bacteriana.

Hasta ahora, cuando el objetivo era obtener *H. pylori* para realizar técnicas más o menos complejas como microscopía, cultivo, análisis de ADN, detección de citotoxinas, diferenciación de cepas o análisis de susceptibilidad antimicrobiana, la realización de una endoscopia con toma de biopsias de la mucosa gástrica resultaba imperativa. El alarmante y progresivo aumento de los índices de resistencia bacteriana ha derivado en unas cada vez mayores tasas de fracaso erradicador, de aproximadamente el 20% de los individuos tratados por primera vez (3). Esta pérdida de eficacia hace en ocasiones aconsejable la obtención de muestras que puedan ser cultivadas para realizar un antibiograma e iniciar así el tratamiento más efectivo en función de la susceptibilidad bacteriana. En relación con ello, existe un cierto consenso en realizar cultivo de *H. pylori* tras un segundo fracaso erradicador (4), aunque algunos autores lo han aconsejado incluso previamente a la administración del tratamiento inicial, basándose en una mayor relación coste-beneficio de esta estrategia (5).

Se ha sugerido que a medida que las tasas de resistencia aumenten se hará más necesaria la obtención de una prueba rutinaria de susceptibilidad antimicrobiana pretratamiento, que sea lo menos agresiva posible y a la vez lo suficientemente eficiente para la detección de *H. pylori*. El enterotest o prueba del hilo es un método que consiste en la ingestión de una cápsula adherida a un hilo y su posterior extracción y análisis de las secreciones gástri-

cas que lo impregnan. En la presente revisión se pretende evaluar cuál es el papel del enterotest en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

El enterotest o prueba del hilo es una técnica que fue diseñada hace décadas para recoger fluidos procedentes de tramos superiores del intestino delgado a través del estómago, por lo que se empleaba principalmente en pediatría para recolectar trofozoítos en el estudio de las giardiasis y otras parasitosis. En 1995 algunos autores (6,7) comenzaron a utilizarlo para cultivar *H. pylori*. La prueba consiste en la ingestión en ayunas de una cápsula de gelatina de pequeño tamaño (7 mm) adherida a un hilo de nylon de 90-140 cm de largo, altamente absorbente en sus 60 cm distales, situado en el interior de la cápsula, que se despliega durante la ingestión. Una vez que la cápsula llega al estómago, la gelatina se disuelve y el hilo, desplegado en su totalidad, absorbe las secreciones gástricas (aproximadamente 0,5 ml cada 10 cm de hilo) (8). Tras un intervalo de entre 30 y 180 minutos, en el cual el paciente sólo puede ingerir agua y debe permanecer en reposo relativo, el hilo se extrae por vía oral, impregnado en los jugos gástricos. Dicha extracción debe realizarse evitando el contacto con la lengua y las piezas dentarias; para ello se debe traccionar del hilo con un continuo y suave tirón, en lugar de ir extrayéndolo a intervalos, manteniendo el paciente la boca totalmente abierta durante la extracción. Para evitar la contaminación de la muestra se recomienda, previamente a la extracción, hacer enjuagues con soluciones antisépticas además de la manipulación cuidadosa y en condiciones estériles de la misma (8,9). En un reciente estudio del grupo de Marshall, los pacientes que se enjuagaron la boca con clorhexidina previamente a la extracción del hilo mejoraron las tasas de eficacia del cultivo para *H. pylori* de un 39 a un 75% (9). Una vez extraído, se corta el hilo por su extremo proximal, desechando los primeros 30 cm del mismo, no absorbentes y con frecuencia contaminados por la flora nasofaríngea.

No existe aún un protocolo definido para el procesamiento de las muestras, aunque desde hace tiempo se sabe que por debajo de 10 ºC, *H. pylori* puede sobrevivir más allá de 48 horas previamente a ser cultivado, y que se obtienen mayores tasas de éxito en dicho cultivo cuando se minimiza la exposición aérea durante el procesamiento, la manipulación y el transporte de las muestras (10). El procedimiento descrito por Samuels y cols. podría ser empleado, dada su exhaustividad y buen resultado obtenido (11). En dicho método se sumerge el resto del hilo en un tubo estéril con 5-10 ml de solución salina isotónica durante un minuto, lo que consigue reducir la colonización bacteriana, aunque a costa de disminuir también el número de colonias de *H. pylori*. La muestra se almacena a -70 ºC hasta el momento de su procesamiento, en que será descongelada en 10 ml de suero salino, centrifugándose a 3.000 g durante 10 min. El sobrenadante se desecha y la cápsula se resuspende en 0,5 ml de suero salino, empleándola para cultivo y/o reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La prueba del hilo suele ser bien tolerada, si bien pueden producirse ligeras molestias orofaríngeas (tos e irritación de garganta) durante o tras la prueba, o náuseas, generalmente durante la extracción. En un estudio, el 73% de los pacientes declaró preferir el enterotest a la gastroscopia (12).

FIABILIDAD DEL ENTEROTEST EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *H. PYLORI*

Según los estudios publicados hasta el momento, la sensibilidad del enterotest para detectar *H. pylori* oscila entre el 37 y el 97%, aunque varía mucho en función de la técnica de realización y procesamiento (6,8,9,11-20) (Tabla I), así como de las diferentes pruebas del hilo comercializadas. La especificidad del cultivo a partir de las muestras obtenidas mediante enterotest alcanza el 100%. La baja sensibilidad obtenida por algunos autores se ha atribuido a diferentes variables, como: a) el sobrecrecimiento bacteriano por la flora comensal; b) el fracaso en la recolección de un número suficiente de colonias de microorganismos por el hilo; y c) la muerte de los microorganismos durante la manipulación y el procesamiento (19). Para tratar de prevenir el sobrecrecimiento de la flora bacteriana oro y nasofaríngea se deben emplear medios de cultivo selectivos para *H. pylori* (9,11), además de realizar la técnica de extracción de la manera comentada previamente.

ENTEROTEST Y CULTIVO

El primer estudio que comparó la eficacia del cultivo de *H. pylori* entre enterotest y biopsias antrales fue descrito por Pérez-Trallero y cols. en 1995 (6). Se compararon ambas técnicas de manera simultánea en 36 pacientes adultos con sospecha clínica de úlcera péptica o gastritis crónica. Las muestras obtenidas por las dos técnicas fueron cultivadas en medio agar *Brucella* suplementado con 7% de sangre hemolizada equina, y 1% de Vitox (Oxoide), selectivo para vancomicina (15 μg/ml) y trimethoprim (5 μg/ml), y en el mismo medio pero sin antibióticos. Las placas se incubaron a 37 ºC en condiciones microaerófilas con 5% de oxígeno, 7% de dióxido de carbono, 2% de hidrógeno, y 86% de nitrógeno, a una humedad del 80%, durante 7 días. El cultivo se interpretó como positivo cuando crecieron colonias con morfología típica de *H. pylori* y actividad positiva para oxidasa, catalasa y ureasa, tras su tinción con naranja de acridina. Los resultados obtenidos mostraron una sensibilidad mayor en el grupo en

Tabla I. Eficacia diagnóstica obtenida por el enterotest en los diferentes estudios publicados hasta el momento

Autor	*Año*	*Nº de pacientes*	*Técnica*	*Sensibilidad (%)*	*Especificidad (%)*	*VPP (%)*	*VPN (%)*
Domínguez et al. (15)	2000	29	PCR	79	100	100	75
Ferguson et al. (14)	1999	22	Cultivo	59	92	83	77
			PCR	63	100	100	80
Kopanski et al. (12)	1996	128	Cultivo	66	100	100	40
Leodolter et al. (22)	2005	42	Cultivo	81	100	100	88
Leong et al. (18)	2003	30	Cultivo	38	100	100	41
Parejo et al. (13)	1998	27	Cultivo	37	100	100	57
		27	PCR	93	100	100	92
Pérez-Trallero et al. (6)	1995	43	Cultivo	58	100	100	70
Roth et al. (17)	2001	40	PCR	70	100	100	37
Samuels et al. (11)	2000	33	Cultivo	97	100	100	86
Torres et al. (16)	2001	16	Cultivo	75	100	100	75
Wang et al. (19)	2003	34	PCR	94	96	92	86
Windsor et al. (9)	2005	45	Cultivo	75	100	100	0
Yoshida et al. (8)	1998	114	PCR	76	97	97	71
Total (*)		386	Cultivo	65	99	98	59
Total (*)		266	PCR	79	99	98	73
Total (*)		652	Cultivo y PCR	70	99	98	65

VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; PCR: reacción en cadena de la polimerasa (*): media ponderada.

el que las muestras gástricas fueron obtenidas por biopsia y la concordancia entre ambas pruebas fue moderada (21). El cultivo del enterotest obtuvo un mayor crecimiento de flora distinta a *H. pylori* que el de las biopsias. Se pudo observar que la adición de 10 μg/ml de ácido nalidíxico al medio selectivo incrementaba la sensibilidad en el grupo del enterotest. A partir de esta observación, se ha evaluado la eficacia diagnóstica del enterotest empleando diferentes medios de cultivo selectivos para *H. pylori*, con lo que se han obtenido resultados dispares. Tras revisar la literatura, hemos calculado una sensibilidad media del cultivo de las muestras obtenidas por enterotest del 65% (Tabla I), que resulta bastante pobre si la comparamos con la sensibilidad de los métodos diagnósticos habituales. Sin embargo, el estudio de Amy Samuels y cols. (11) obtuvo una elevada sensibilidad, del 97%, gracias a su cuidada metodología y el empleo de tres medios de cultivo selectivos: agar Wilkins-Chalgren con suplemento Dent (Oxoide), agar colistina-ácido nalidíxico con suplemento Dent y agar Skirrow.

ENTEROTEST Y PCR

La demostración previa de que la aplicación de la PCR en biopsias gástricas, basada en el polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción (RFLP), puede usarse para tipar e identificar las cepas de *H. pylori* que infectan el estómago (22), ha hecho que esta técnica se haya comenzado a utilizar a partir de las muestras obtenidas por enterotest. La aplicación de la PCR en el enterotest mejora considerablemente la sensibilidad mediante la secuenciación del ADN específico de *H. pylori* (12,14-16,18,23), llegando a incrementar la misma en un reciente estudio desde el 37% cuando se realizó únicamente cultivo hasta al 93% cuando se empleó además PCR (13). Así, tras revisar la literatura hemos calculado que la sensibilidad media de la PCR realizada sobre muestras obtenidas por enterotest para detectar *H. pylori* es del 79%, aumentando en un 14% la sensibilidad del cultivo. Como ventaja adicional, la PCR permite diferenciar entre recrudescencias y verdaderas reinfecciones tras la erradicación de *H. pylori*, al comparar las cepas del microorganismo antes y después del tratamiento (23,24).

El principal inconveniente de la PCR es que no puede realizarse en todos los centros hospitalarios, ya que precisa equipamiento sofisticado y personal experimentado, y, además, su empleo incrementa notablemente los costes. Por otra parte, la PCR, a diferencia del cultivo, no permite realizar estudios de susceptibilidad microbiana (19).

Por el contrario, el que la PCR pueda tipificar las diferentes cepas de *H. pylori* puede contribuir a determinar la diferente virulencia de las mismas y a evaluar los posibles mecanismos de transmisión de la infección.

INDICACIONES PARA LA UTILIZACIÓN DEL ENTEROTEST

La existencia de una prueba "indirecta" para el diagnóstico de *H. pylori* como la prueba del aliento con urea marcada con ^{13}C, rápida, sin apenas efectos adversos, bien tolerada y no excesivamente cara (25,26), limitaría el empleo del enterotest a unas pocas indicaciones. De este modo, en pacientes aún sin diagnosticar, parece aconsejable realizar previamente una prueba del aliento para confirmar la presencia de la bacteria, reservando el enterotest para los casos en los que se conozca la existencia de la infección (12). Pero, ¿en qué circunstancias sería de utilidad? Existen algunas situaciones clínicas en las

que el enterotest podría jugar un papel: a) tras el fracaso del tratamiento erradicador de *H. pylori*, con objeto de realizar cultivo y antibiograma para poder así elegir racionalmente los antibióticos más adecuados, evitando así la práctica de una gastroscopia (7); b) cuando se precise realizar PCR por cualquier motivo, sin tener que hacer gastroscopia; y c) en estudios epidemiológicos poblacionales, para determinar de modo mínimamente invasivo la prevalencia de la infección en individuos sanos en determinadas poblaciones que no dispongan de la tecnología para realizar la prueba del aliento, aunque en estos casos la serología representa una opción más sencilla.

Existe un cierto consenso en indicar cultivo y antibiograma, como se comentó previamente, tras dos fracasos en la erradicación de *H. pylori* (4). Hasta ahora, en estas circunstancias, se sometía al paciente a una nueva gastroscopia con obtención de biopsias gástricas para realizar cultivo de las mismas. El enterotest podría plantearse como alternativa a la gastroscopia, debido a su escasa agresividad y mejor tolerancia, sobre todo en aquellos pacientes que no deseen someterse a una endoscopia o que tengan alto riesgo de complicaciones, por su situación previa: alteraciones anatómicas (divertículo de Zenker) o comorbilidad asociada (tratamiento anticoagulante, diátesis hemorrágica, alteraciones cardiorrespiratorias graves o inmunodeficiencias). Un reciente estudio (22) ha comparado la eficacia del cultivo de *H. pylori* y el análisis de susceptibilidad bacteriana para claritromicina y metronidazol en pacientes con fracaso erradicador comprobado por prueba del aliento, entre muestras extraídas por enterotest y biopsias endoscópicas, encontrando escasas diferencias a favor de las biopsias y concluyendo que el empleo del enterotest en estas circunstancias podría disminuir hasta en un 80% el número de endoscopias, con un considerable ahorro económico.

El papel del enterotest para comprobar de manera directa el éxito erradicador aún no ha sido evaluado, aunque es obvio que la prueba del aliento parte con ventaja, al ser un método sin efectos adversos, de fácil realización y con costes asumibles una vez realizada la elevada inversión inicial (espectrómetro de masas). De cualquier forma, si se consiguiese optimizar la sensibilidad del enterotest sin necesidad de realizar PCR, el papel de esta prueba podría adquirir una mayor preponderancia.

La estrategia *"test and treat"* (diagnosticar la infección por *H. pylori* y tratarla) se basa en el empleo inicial de una prueba indirecta (serología o prueba del aliento) (27). Cada vez van apareciendo más argumentos, tanto basados en modelos de análisis de decisión como en estudios prospectivos, que apoyan el empleo de dicha estrategia, ya que se asocia a una disminución del número de endoscopias y a un considerable ahorro económico (27). Por ello, la II Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *H. pylori* (28) ha respaldado recientemente la estrategia "test and treat" como alternativa válida ante un paciente joven con dispepsia y sin signos de "alarma". El papel del enterotest como parte inicial de dicha estrategia podría ser planteado. Algunos autores (29,30) abogan por la realización de una prueba rápida de ureasa (CLOtest) sobre las muestras extraídas con el enterotest en lugar de realizar previamente una prueba del aliento, con objeto de estudiar solamente las muestras positivas y disminuir así los costes. No obstante, esta última alternativa parece limitada por la posibilidad de obtener falsos positivos debido a la presencia de flora contaminante procedente del tracto respiratorio superior (30,31).

CONCLUSIONES

En resumen, el enterotest es una técnica mínimamente invasiva que se ha empezado a aplicar para la detección de *H. pylori* en los últimos años, y que podría ocupar un lugar en el diagnóstico de esta infección, debido a su facilidad de realización (puede ser empleado tanto en edad pediátrica como geriátrica), su inocuidad y buena aceptación por parte de los pacientes y su reducido coste (siempre que no se emplee una PCR asociada). No obstante, por el momento, y hasta su validación definitiva, su empleo debería restringirse a estudios de investigación. La realización de cultivo antimicrobiano a partir de la obtención de muestras por enterotest en pacientes con fracaso erradicador comprobado por prueba del aliento y en los que se desee evitar la gastroscopia puede ser una indicación a considerar. Por último, la reciente obtención de mayores tasas de sensibilidad en el cultivo del enterotest, así como la progresiva simplificación en el procesamiento de las muestras y el abaratamiento de los costes de la PCR, podrían ampliar el papel futuro del enterotest en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión ha sido realizada en parte gracias a una beca concedida por el Instituto de Salud Carlos III (C03/02).