

# Sensibilidad y especificidad de E-test para la determinación de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori*

Marcela Rey Arévalo<sup>1</sup>, Jenny Mireya Ávila Coy<sup>1</sup>,  
Alba Alicia Trespalacios Rangel<sup>2</sup>, Olga Raquel Villamizar Beltrán<sup>3</sup>,  
William Otero Regino<sup>4</sup>, Marcela María Mercado Reyes<sup>5</sup>

1. Estudiante de Bacteriología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
2. Profesor Asociado MSc. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
3. Profesor Auxiliar Esp. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
4. Profesor Asociado de Medicina MD. Coordinador de Gastroenterología. Universidad Nacional de Colombia, Gastroenterólogo Clínica Fundadores. Bogotá, Colombia.
5. Profesor Asistente MSc. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.

Correspondencia: mmercado@javeriana.edu.co

**Recibido:** 20-08-08 / **Aceptado:** 25-11-08

## Resumen

Numerosos métodos han sido desarrollados para detectar la resistencia de *Helicobacter pylori* a los antimicrobianos. Aunque la dilución en agar es el método de referencia recomendado por el Clinical Laboratory Standards Institute, no es una técnica que resulte fácil de ejecutar en laboratorios de rutina. Por esta razón diversas técnicas surgen como alternativa de análisis, entre ellas la prueba de E-test. El objetivo de esta investigación fue comparar las características operativas del E-test con la prueba de referencia dilución en agar, para la determinación de susceptibilidad de *Helicobacter pylori* a amoxicilina, claritromicina y levofloxacina. Las características operativas de los estudios fueron obtenidas por medio de tablas de contingencia, el análisis se realizó en el programa RevMan 5<sup>®</sup>.

Un total de 68 referencias fueron analizadas; 8 cumplieron con los criterios de inclusión. Se analizaron como medidas de resumen "overall" la sensibilidad y especificidad de la prueba del E-test. El 87% de los artículos mostraron sensibilidad de 100%, y el 75% especificidad de 100%. La medida de resumen obtenida para sensibilidad fue de 99% (IC 95% 98 - 99%) y especificidad de 98% (IC95% 97 - 99%). El test de heterogeneidad mostró estudios homogéneos en sensibilidad y especificidad ( $p = 0.82$ ) ( $p = 0.99$ ). Las gráficas de "Funnel Plot" revelaron asimetría. La sensibilidad (99%) y especificidad (98%) de la técnica de E-test presentó excelente acuerdo, en especial para el antibiótico claritromicina, sin embargo no existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que más del 90% de la literatura seleccionada, reporte valores de sensibilidad y especificidad del E-test superiores al 95% comparadas con la dilución en agar.

Palabras clave: dilución en agar, E-test, *Helicobacter pylori*, susceptibilidad antimicrobiana.

## Abstract

### **E-Test sensitivity and specificity for determination of antimicrobial susceptibility in clinical isolation of *Helicobacter pylori***

Numerous methods have been developed to detect *Helicobacter pylori* resistance to antimicrobials. The agar dilution is the reference method recommended by the Clinical Laboratory Standards Institute. However, it is not an easy technique that could be implemented at the laboratory routine. It must have sufficient time for preparation and handling of many culture mediums with different antibiotic concentrations. For that reason, several techniques emerge as an alternative of analysis, including E-test: an agar diffusion method, which consists of a strip with an antibiotic concentration gradient, which by reading an ellipse inhibition allows knowing the minimum inhibitory concentrations (MICs). These studies' operative characteristics were obtained by means of contingency tables. The analysis was done using the program RevMan 5<sup>®</sup>.

From a total of 68 analyzed references, 8 reached the inclusion criteria. E-test sensitivity and specificity were analyzed as overall summary measures. 87% of the articles showed 100% sensitivity, and 75% showed 100% specificity. The summary measured obtained for sensitivity was 99% (IC 95% 98 – 99%) and 98% specificity (IC95% 97 - 99%). Heterogeneity tests showed homogenous studies in sensitivity and specificity ( $p = 0.82$ ) ( $p = 0.99$ ). Funnel Plot graphics showed asymmetry. E-test sensitivity (99%) and specificity (98%) showed excellent agreement, especially for claritromicine; however, there is no significant statistical evidence to conclude that more than 90% of the selected literature reports values of E-test sensitivity and specificity higher than 90% when compared to Agar dilution.

Keywords: agar dilution, antimicrobial susceptibility, E-test, *Helicobacter pylori*.

## Introducción

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) desde su descubrimiento por Marshall y Warren en 1983 (1) ha sido uno de los acontecimientos científicos de mayor importancia en la literatura biomédica mundial. Esta bacteria se considera el agente causal de la gastritis aguda y crónica; se encuentra asociada con úlcera péptica, carcinoma y linfoma gástrico. Se estima que entre el 50% y el 60% de la población mundial está infectada por esta bacteria, pero la distribución es diferente entre países, razas y nivel socioeconómico (3). La colonización por *H. pylori* aumenta con la edad y la infección aparece en personas en condición socioeconómica baja y en países en vías de desarrollo, con deficientes condiciones sanitarias (2,3).

El tratamiento de las infecciones producidas por *H. pylori* puede realizarse con la combinación de diferentes antibióticos, entre ellos claritromicina, amoxicilina, tetraciclina y metronidazol y un inhibidor de la bomba de protones que disminuye la secreción clorhídrica del estómago. Las

monoterapias no han demostrado utilidad clínica y se recomienda el empleo de terapias dobles, triples o incluso cuádruples (4).

Los medicamentos que generan más resistencia antimicrobiana son los nitroimidazoles (metronidazol y tinidazol), presentando una tasa de resistencia aproximada del 35% en los países industrializados (5). En países como Colombia, donde el uso indiscriminado de antibióticos es muy frecuente, la tasa de resistencia es mucho mayor, razón por la cual algunos grupos no utilizan este medicamento en la terapia de erradicación contra *H. pylori*.

Por la anteriormente descrito uno de los factores implicados en el fallo terapéutico es la resistencia a los antimicrobianos utilizados, por lo que es de vital importancia determinar la sensibilidad antimicrobiana mediante pruebas basadas en cultivo como la difusión en disco, microdilución en caldo, E-test y la dilución en agar (DA). Este último establecido como método de referencia por el *National Committee for Clinical Laboratory Standards*

(NCCLS) y actualmente *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) (6). El E-test (método epsilómetro) es altamente concordante con el método de referencia y su uso está recomendado por la *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) (7).

Las ventajas de la prueba de DA incluyen la reproducibilidad de los resultados y el desarrollo satisfactorio de la mayoría de los microorganismos de difícil crecimiento. Sin embargo, entre sus desventajas están la compleja metodología requerida para su desarrollo y el alto costo por prueba. Generalmente la DA no se realiza en laboratorios clínicos de rutina pero es ideal para laboratorios regionales de referencia o laboratorios de investigación que analizan un gran número de cepas (8). En contraste, el E-test, descrito recientemente, es el método de elección para uso en laboratorios de rutina e investigación y se basa en la combinación de las pruebas de difusión en disco y DA entregando una sofisticada pero fácil y reproducible metodología.

El tema de la reproducibilidad de las pruebas y su adecuada utilización es de gran importancia al momento de realizar diagnósticos certeros sobre la sensibilidad o resistencia de un microorganismo hacia los antimicrobianos, por tanto es necesario establecer si las pruebas utilizadas para tal fin reúnen las condiciones necesarias para seleccionarla como prueba de rutina capaz

de generar resultados confiables que ayuden a direccionar el tratamiento adecuado basado en la susceptibilidad y no en lo que se recomienda comúnmente.

El presente estudio evaluó si las características operativas de sensibilidad y especificidad de la prueba E-test, eran iguales o superiores en un 95% a las del estándar de referencia DA, en al menos el 90% de la literatura científica seleccionada para los antibióticos más utilizados en la terapia erradicadora de primera línea de *H. pylori* en Colombia (claritromicina, amoxicilina y levofloxacina).

Para la realización de esta investigación se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura que permitió conocer el estado del arte mundial de las pruebas basadas en cultivo, con miras a explorar la posibilidad de implementar el E-test en nuestro país, como prueba de rutina hospitalaria en la determinación de resistencia a los antimicrobianos más utilizados para la erradicación de este microorganismo.

## Materiales y métodos

La revisión sistemática de la literatura es un tipo de diseño de investigación que recopila y sintetiza los resultados de múltiples investigaciones con el objetivo de realizar una evaluación crítica que permite resumir el efecto de una intervención clínica o una prueba diagnóstica. Son

Tabla 1. Etapas de la revisión sistemática (14)

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Definir pregunta de investigación.</li> <li>2. Definir los criterios de inclusión y exclusión.             <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Participante.</li> <li>b. Intervenciones y comparaciones.</li> <li>c. Información externa.</li> <li>d. Diseño del estudio y metodología.</li> </ol> </li> <li>3. Localización de los estudios.             <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Registros.</li> <li>b. Bases electrónicas.</li> <li>c. Listas de chequeo y verificación.</li> <li>d. Información personal de expertos acreditados en el tema.</li> </ol> </li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. Selección del estudio.             <ol style="list-style-type: none"> <li>a. Debe poderse verificar por más de un Observador.</li> <li>b. Debe resolver desacuerdos como desarrollo de Estrategias.</li> <li>c. Deben eliminar estudios por razón de exclusión.</li> </ol> </li> <li>5. Evaluación de la calidad de los estudios: formatos predeterminados o listas de chequeo.</li> <li>6. Extracción de datos: gráfica de efectividad clínica "forest plot".</li> <li>7. Análisis estadístico: exploración de heterogeneidad y sesgos de publicación "funnel plot".</li> <li>8. Interpretación de resultados: publicaciones incluidas, sesgos implicaciones económicas y futuros estudios.</li> </ol>
--	---

Tabla 2. Estrategia de búsqueda en SCIENCE DIRECT, MEDLINE y MEDLINE (ebscohot)-(ovid) y librería Cochrane

Se realizó mediante la combinación de los siguientes encabezados temáticos:

#1: Antimicrobial agents.

#2: Testing susceptibilities.

#3: Agar dilution.

#4: E-test.

#5: Susceptibility testing of *Helicobacter pylori*.

#6: Agar dilution AND E-test of *Helicobacter pylori*.

#7: Clarithromycin

#8: Amoxicillin.

#9: Levofloxacion.

#10: COMPARATIVE - STUDY-TRIAL

#11: #1 or #2 or #3 or #4 or #5 or #6 or #7 or #8 or #9 or #10 # 11

#12: (#3 AND #4)

**Operador booleano:** AND

**Age group:** all the groups

**(Egger et al., 2003).**

parte esencial de la medicina basada en la evidencia por su rigurosa metodología, logrando identificar los estudios relevantes para responder preguntas específicas de la práctica clínica, Tabla 1 (12,13).

### Selección de artículos

Se incluyeron artículos de pruebas diagnósticas publicados entre 1995 y 2008, que determinaron la susceptibilidad de *H. pylori* a claritromicina, levofloxacina y amoxicilina por las técnicas de E-test y DA. Sólo se incluyeron artículos en donde fueran descritas las características operativas de estas pruebas. No se contempló restricción en cuanto a las edades, tratamientos y patologías gástricas asociadas a *H. pylori* de los participantes así como de las concentraciones y combinaciones de los antibióticos en estudio.

La búsqueda de los estudios se realizó en las bases de datos de MEDLINE, SCIENCE DIRECT, OVID y librería COCHRANE (CCTR) desde 1995 hasta el 2008. Además de la búsqueda computarizada se realizó una búsqueda manual en revistas de gastroenterología desde 1995. Para la indagación se utilizó una combinación de encabezados temáticos y términos relacionados con la detección de pruebas basadas en cultivos para susceptibilidad antimicrobiana de *H. pylori*. Las estrategias de búsqueda utilizadas para todas las bases de datos se presentan en la Tabla 2.

### Selección de datos

Después de la selección de los artículos se sacaron de forma independiente los datos de cada estudio en un formato previamente estandarizado y revisado por expertos. De cada uno de los estudios elegidos se obtuvieron datos para el cálculo de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo mediante el uso de tablas de contingencia en caso de que no fueran expuestos por los autores. La medida de resumen "overall" fue calculada con un intervalo de confianza del 95% para cada una de las características operativas de las pruebas. El conjunto de resultados de las características operativas de cada estudio fue analizado mediante el uso del programa RevMan 5<sup>o</sup> de la Biblioteca COCHRANE.

### Evaluación de la calidad metodológica

La calidad de los artículos fue evaluada mediante el uso de una lista de chequeo basada en los parámetros de las guías para usuarios de la literatura médica (14). Los ítems de evaluación de la calidad se muestran en la Tabla 3. Dos observadores realizaron de forma independiente la evaluación de la calidad de los artículos, asignándole un puntaje final a cada uno de ellos. Los desacuerdos fueron resueltos con la ayuda de expertos por medio de discusión de acuerdo a los criterios establecidos.

Tabla 3. Lista de chequeo utilizada para los estudios

1. Son validos los resultados del estudio:
a) ¿existió una comparación de la prueba con un patrón de referencia?
b) ¿Redescribieron los métodos para realizar el examen con suficiente detalle para su reproducción?
c) ¿Los resultados de las pruebas modifican el tratamiento de un paciente?
d) ¿Se ha descrito claramente la prueba?
e) ¿El tamaño de muestra de los estudios fue?
2. ¿Se estableció la susceptibilidad y resistencia de cada unas de las pruebas para <i>Helicobacter pylori</i> a los antimicrobianos claritromicina, amoxicilina y levofloxacina?
3. ¿Se estableció la sensibilidad y especificidad de las pruebas a estudio o datos que permitieran calcularlos?
4. ¿Se evitaron sesgos en la selección de los estudios?
5. ¿Fueron reportadas las conclusiones hechas por el autor con los datos y/o análisis reportados en la revisión?
6. ¿Cómo califica la calidad científica de esta revisión? (escala de 1 a 5, observando si las fallas fueron extensas, mayores, menores y mínimas.
*Parámetro tomado de las guías para usuarios de literaturas medicas parte B. (14)

## Análisis estadístico

Se calcularon los parámetros diagnósticos de las pruebas E-test y DA para cada estudio. La variación entre los resultados de diferentes estudios se determinó con el test de heterogeneidad (Forest plot), mediante el modelo de efectos aleatorios con un alfa de 0.05 utilizando una prueba de Chi cuadrado. Para analizar hasta qué punto los resultados de los diferentes estudios podían combinarse en una única medida, se realizó la evaluación del grado de heterogeneidad, mediante el cálculo del estadístico de  $Q$  utilizando la siguiente fórmula: (22)

$$Q = \sum_{i=1}^k W_i (Ef_i - Ef)^2$$

Fórmula: de Heterogeneidad (18).

Donde:

$Ef_i$ : representa el estimador del tamaño del efecto del  $i$ -ésimo ensayo.

$Ef$ : representa el promedio de los estimadores del tamaño del efecto de los  $k$  ensayos combinados.

$W_i$ : representa el inverso de la varianza del tamaño del efecto de  $i$ -ésimo ensayo clínico (varianza de cada  $Ef_i$ ).

El estadístico  $Q$  se distribuye como una función de distribución  $\chi^2$  con  $k-1$  grados de libertad y la hipótesis nula indica que los tamaños del efecto a través de los

ensayos clínicos son homogéneos (23). La exploración gráfica de las características operativas, se evaluó mediante la elaboración de la curva ROC con sensibilidad vs 1 – especificidad y la búsqueda de sesgo de publicación se analizó mediante el uso del método gráfico del embudo “Funnel Plot”. Los artículos excluidos se resumieron en una tabla que contenía el nombre del estudio, autor, año de publicación y el motivo de la exclusión.

## Resultados

### Selección de datos

La búsqueda de literatura electrónica arrojó un total de 68 artículos, los cuales fueron sometidos a evaluación por parte de expertos. De éstos, 28 cumplieron los criterios de inclusión previamente establecidos. Se excluyeron aquellos artículos en los que sólo se utilizaba una de las dos técnicas evaluadas, además de aquellos en los que no se evaluó ninguno de los tres antibióticos en estudio (claritromicina, amoxicilina y levofloxacina). Después de esta primera selección se analizaron por lectura completa cada uno de los artículos por dos evaluadores, quienes diligenciaron la lista de chequeo previamente establecida para este fin y resolvieron por discusión los posibles desacuerdos. En número final de artículos que cumplieron estas características fue de 8: Best, Dzieranowka, Khan, Megraud, Osato, Piccolomimi, Wang y Dore, Tabla 4 (11,15-21).

Tabla 4. Características de los estudios que comparan el E-test con la Dilución en Agar.

Autor	Año	País de Origen	Pruebas Realizadas	No. Muestra	Tipo de Muestra	Antibióticos Evaluados	Características Operativas			
							S (IC 95%)	E (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)
Best. ML.	2003	Canada	E-test - DA.	13	AC	Claritromicina	100%	100%	100%	100%
Dore. P	1999	USA - Italia	E-test - DA.	16	AC	Amoxicilina	100%	67%	92%	100%
Dzierzonawka	2001	Polonia	E-test - DA.	98	AC	Claritromicina	100%	100%	100%	100%
Khan Rasel	2004	Bangladesh	E-test - DA.	16	AC	Claritromicina	100%	100%	100%	100%
Megraud. F.	1999	Francia	E-test - DA.	474	AC	Claritromicina	100%	100%	100%	100%
Osato. M.	2001	USA	E-test - DA.	332	AC	Claritromicina	93,40%	98,30%	95,50%	97,50%
Piccolomini	1997	Italia	E-test - DA.	71	AC	Claritromicina	100%	100%	100%	100%
Piccolomini	1997	Italia	E-test - DA.	71	AC	Amoxicilina	100%	ND	100%	ND
Wang W.H.	2000	Hong kong	E-test - DA.	87	AC	Claritromicina	100%	100%	100%	100%

S: sensibilidad, E: especificada, VPP: valor predictivo positivo y VPN: valor predictivo negativo. AC: aislamientos clínicos a partir de patologías gástricas, DA: dilución en Agar y ND: no hay dato.

Los datos de las características operativas (sensibilidad y especificidad) sacados de los artículos seleccionados fueron consignados en tablas de contingencia y posteriormente procesados en el programa RevMan 5<sup>o</sup>, Figura 1.

### Evaluación de la calidad metodológica

La calidad de cada uno de los estudios fue valorada mediante el uso de la lista de chequeo previamente

mencionada. La Figura 2 muestra que la calidad de los estudios fue buena en la mayoría de los aspectos evaluados; 7 (87%) de los estudios fueron ensayos clínicos de pruebas diagnósticas, todos compararon la prueba E-test con el patrón de referencia y contenían los datos para calcular la sensibilidad y especificidad y 1 (12%) se basó en la recopilación de datos a partir de historias clínicas. 5(62%) artículos presentaron un espectro superior al 50% y 3 no

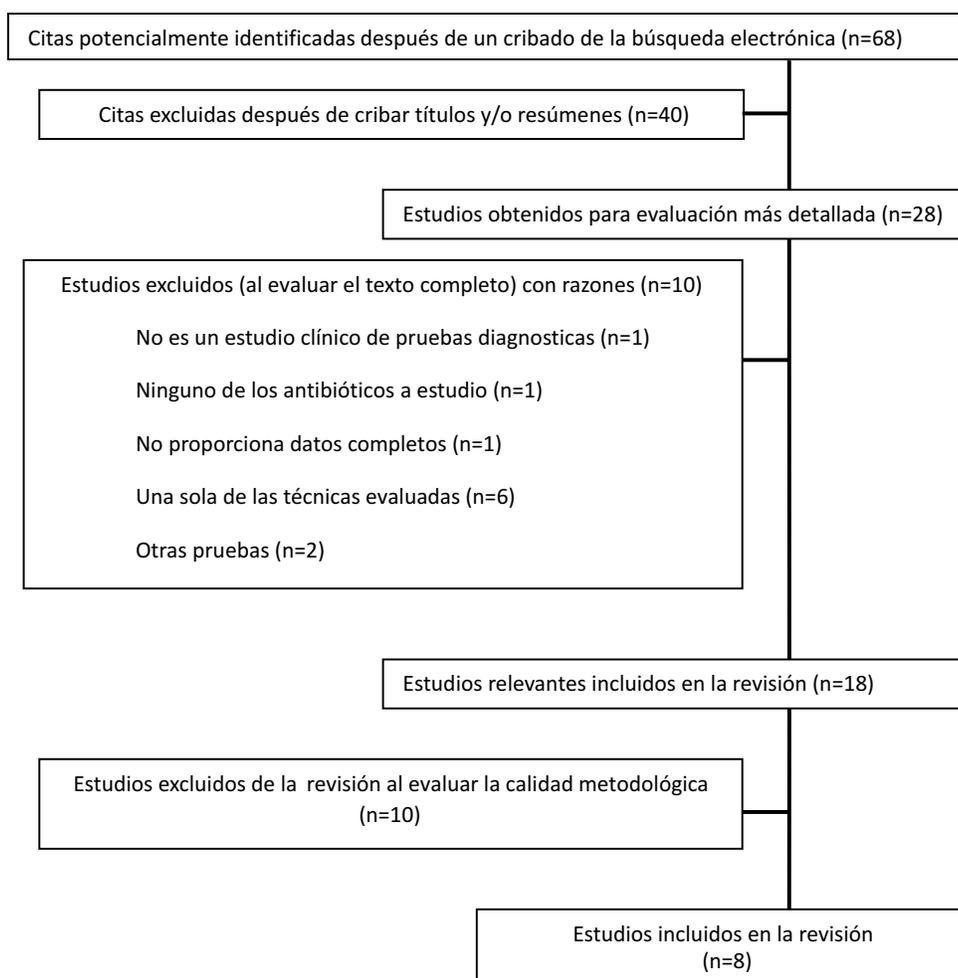


Figura 1. Selección de los estudios

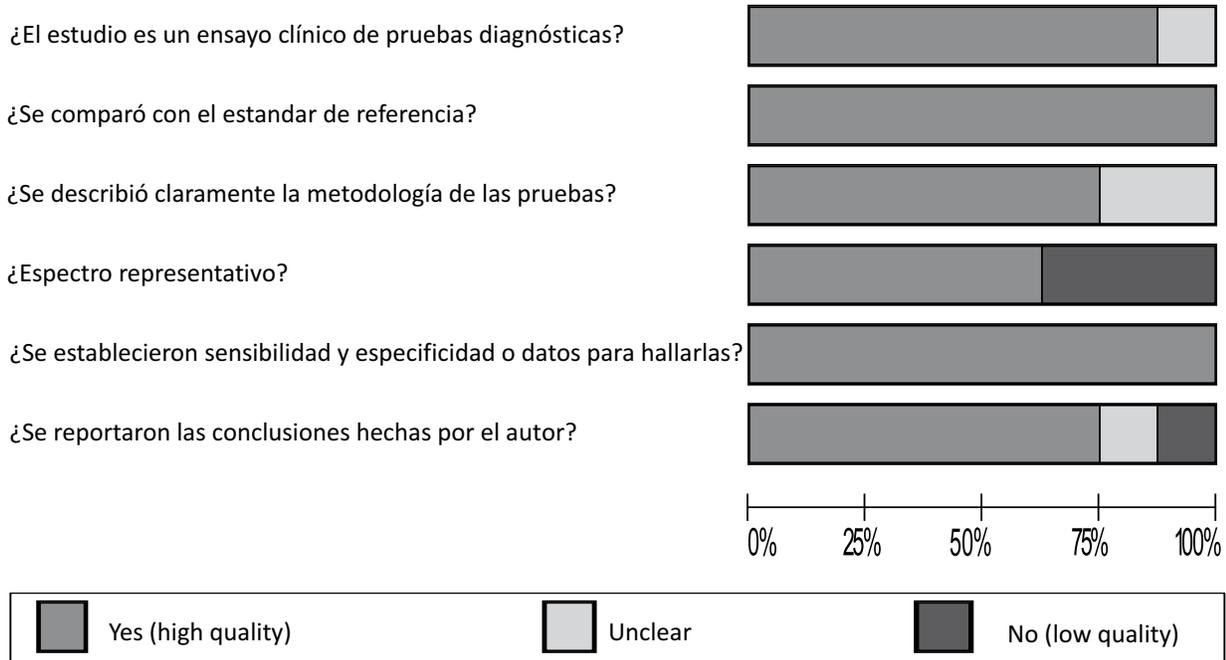


Figura 2. Evaluación de la calidad de los estudios.

reportaron las conclusiones hechas por el autor, Figura 2.

Ninguno de los artículos incluidos en este estudio proporcionó las características operativas de las pruebas de forma explícita, pero si los datos para llegar al cálculo de las mismas. De los 8 artículos, sólo el de Piccolomini (11), para el antibiótico amoxicilina, suministró datos para sensibilidad.

### Análisis de heterogeneidad

En el gráfico Forest Plot se observó que el 87% de los artículos (7/8) presentaron sensibilidad de 100% y el 75% (6/8) especificidad del 100%, Figura 3. Se calculó una medida de resumen global “overall” para las características operativas, el cual entregó los siguientes datos: sensibilidad 99% (IC95% 0.98-0.99) y especificidad 98% (IC95% 0.97-0.99)  $p < 0,0001$ , Figura 3.

El cálculo del estadístico  $Q$  permitió estimar el grado de heterogeneidad para las características operativas, arrojando los siguientes valores: sensibilidad ( $Q=0.87$ ;  $p=0.82$ ) y especificidad ( $Q=7$ ;  $p=0.99$ ). Según los datos obtenidos se observó que no existió evidencia estadísticamente significativa para afirmar que los estudios son heterogéneos.

En el 25% de los estudios (2/8) se observó una variabilidad en los intervalos de confianza entre las características operativas para los estudios de: Rasel Khan, Shamsun Nahar, Jinath Sultana, Mian Mashhud Ahmad y Motiur Rahman (17) (29%-100%) y María P. Dore, Michael S. Osato, Giuseppe Realdi, Ida Mura, David Y. Graham y Antonia R. Sepúlveda (21) (9%-99%), debido posiblemente al reducido tamaño de muestra de los artículos relacionados.

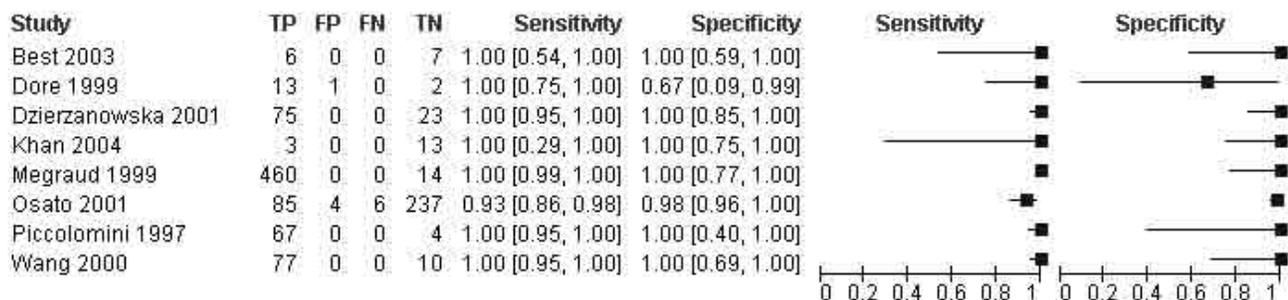


Figura 3. Forest plot: características operativas de E-test vs. Dilución en agar para todos los estudios.

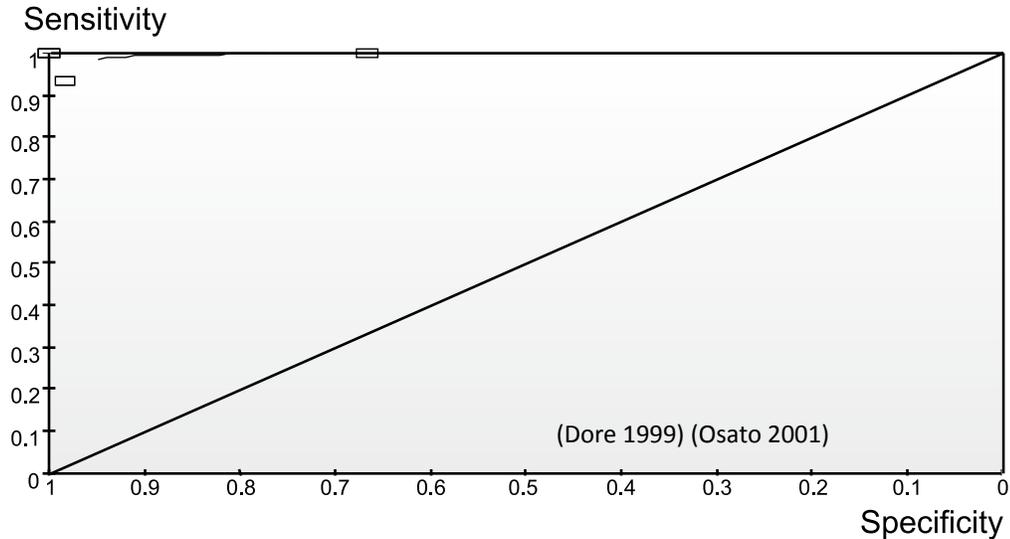


Figura 4. Curva ROC: Características operativas de E-test vs. Dilución en agar para todos los estudios.

### Evaluación de las características operativas por medio de curvas ROC

En la curva ROC se observó que el 87% de los estudios (7/8) presentaron mayor área bajo la curva, esto se debió a que la sensibilidad y especificidad de estos estudios eran mayores al 95%, mientras que sólo un estudio presentó una especificidad baja. El estudio que mostró un menor valor de área bajo la curva fue el de María P. Dore y colaboradores, 2001, Figura 4 (21).

### Sesgos de publicación

La presencia de sesgos en este estudio fue evaluada utilizando el gráfico de embudo (Funnel Plot) (24) o también llamado gráfico de dispersión (scatter plots). El Funnel Plot grafica el error estándar (precisión de la muestra) vs la sensibilidad y la especificidad de cada estudio (tamaño del efecto evaluado). El gráfico de embudo mostró ausencia de simetría hacia la izquierda,

lo que indica posible presencia de sesgos de publicación, Figura 5 y 6.

### Análisis por grupo antimicrobiano

En el 87% (7/8) del total de los estudios se encontró que el antibiótico de mayor investigación para las prueba E-test y el método de referencia fue la claritromicina, en el gráfico forest plot se observa que el 86% (6/7) de los artículos que exploraron dicho antibiótico presentaron sensibilidad y especificidad del 100%, Figura 7

El segundo antibiótico encontrado en esta revisión fue la amoxicilina, con una sensibilidad del 100% para sólo dos artículos. El estudio de Raffaele Piccolomini, Giovanni Di Bonaventura, Giovanni Catamo, Flavia Carbone y Matteo Neri (11) no proporcionó datos que permitieran calcular especificidad y el estudio de María P. Dore y colaboradores (21), mostró un intervalo de confianza poco preciso, Figura 8.

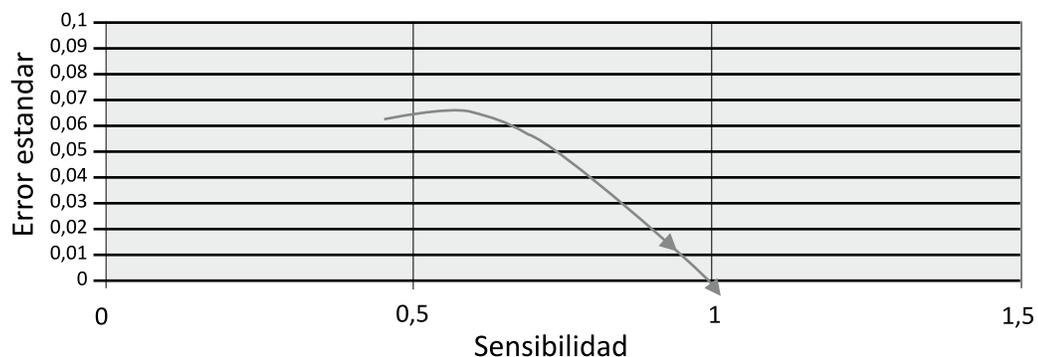


Figura 5. Funnel plot para sensibilidad.

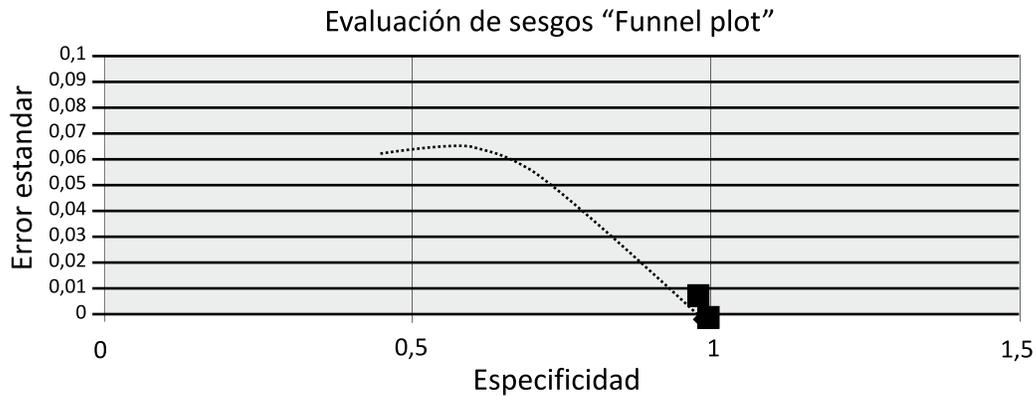


Figura 6. Funnel plot para especificidad

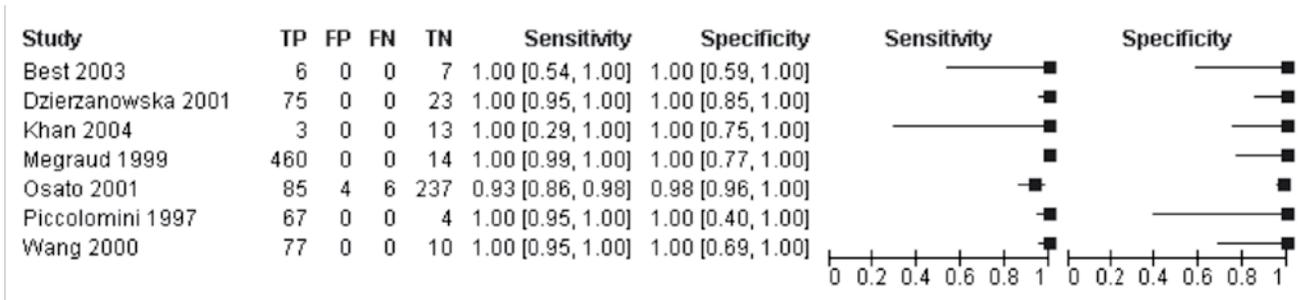


Figura 7. Características operativas E-test vs. dilución en agar para la claritromicina.

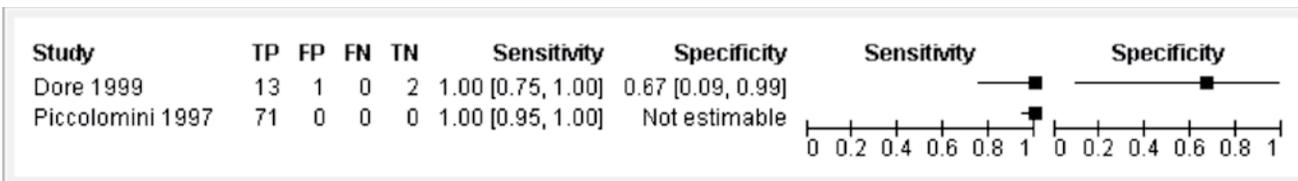


Figura 8. Características operativas E-test vs. dilución en agar para la amoxicilina.

No se encontraron estudios que exploraran las características operativas de las pruebas E-test y DA para la levofloxacina. En cuanto a la hipótesis formulada para este estudio, se demostró que no existe evidencia estadísticamente significativa para concluir que más del 90% de la literatura seleccionada reporta valores de sensibilidad y especificidad del E-test frente a la DA superiores al 95%. ( $P > 0.05$ ).

### Discusión

Hasta el momento en Colombia no se han realizado estudios experimentales que comparen las características operativas de la prueba E-test con la DA para determinar susceptibilidad antimicrobiana para *H. pylori*. Parece lógico pensar que la prueba E-test resulta igual de eficiente que el método de DA para la mayoría de los antibióticos, en nuestro caso, en especial para la claritromicina (18).

Esta afirmación debe ser demostrada en la terapia de erradicación para *H. pylori* en nuestro país antes de recomendar su uso, por tanto fue necesario realizar una revisión sistemática.

Lo primero a destacar en esta revisión es la escasez de publicaciones encontradas sobre este tema, también se observó que dichos estudios no eran recientes debido a que las pruebas utilizadas ya han sido exploradas y actualmente se utilizan de forma individual en otras regiones, razón por la cual en la mayoría de artículos excluidos sólo se utilizaba la técnica de E-test (11).

De los artículos analizados se observó que la exploración de las pruebas se realizó con pocos pacientes pero con similares diseños metodológicos y resultados muy homogéneos. La metodología experimental utilizada en general fue la misma: medios de cultivo (Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre de oveja), tiempos y

atmosferas incubación (72 h a 37 °C en frasco campyGen), casa comerciales (AB Biodisk – Abbott) y preparación del inóculos (Escala de Mcfarland No. 2 o 3). La DA para todos los estudios siguió el protocolo de la NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) actualmente CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) (8).

Durante la búsqueda de los artículos se encontró que la claritromicina fue el antibiótico más explorado por la prueba E-test y DA, seguido por amoxicilina. No se encontraron artículos donde se utilizaran estas técnicas para evaluación de sensibilidad a levofloxacin, esto debido a que su uso en el tratamiento contra *H. pylori* no es muy frecuente y por ende su tasa de resistencia es baja (5). Por tal motivo no se pudo realizar un análisis de esta prueba.

En la búsqueda también se observó que las pruebas motivo de este estudio se compararon con más frecuencia para metronidazol, este antibiótico no fue contemplado en este análisis, puesto que *H. pylori* presenta gran resistencia a nivel mundial a este medicamento. Este antibiótico mostró baja correlación al momento de detectar sensibilidad y resistencia entre las pruebas estudiadas, limitando aún más la búsqueda de artículos (25).

El hecho de comparar las características operativas del E-test con la DA hace que los resultados de la prueba sean más confiables y válidos al momento de detectar susceptibilidad antimicrobiana, puesto que sus resultados están respaldados con una prueba, que aunque de difícil manipulación, proporciona excelentes datos de sensibilidad y resistencia para microorganismos de difícil crecimiento (independiente de su desenlace).

Ninguno de los estudios incluidos en el trabajo proporcionó datos expuestos en valores de sensibilidad y especificidad de las dos pruebas, por lo tanto fue necesario calcularlos. Sin embargo, un artículo que evaluaba la susceptibilidad a amoxicilina, no permitió calcular la especificidad debido a que no se suministró el valor total de cepas resistentes, es decir los verdaderos negativos para ambas pruebas. Aunque la amoxicilina presentó buena correlación entre las pruebas para sensibilidad, no se encontró suficiente literatura que confirmara esta afirmación.

En la mayoría de los estudios se observó que el antibiótico de mayor exploración en esta revisión y que presentó las mejores características operativas fue

la claritromicina 7/8 (87%); sin embargo, los datos no fueron estadísticamente significativos para recomendar completamente el uso de esta prueba, esto quiere decir que el E-test mostró buenas características operativas pero no supera las del método de referencia.

El estudio de María Dore y colaboradores (21) a pesar de suministrar una sensibilidad del 100%, presentó una especificidad del 67%, lo que originó el área bajo la curva de menor superficie observado en el gráfico ROC; esto debido a la obtención de resultados falsos positivos y al reducido número de muestras analizado en el artículo mencionado.

Las gráficas de embudo “Funnel Plot” fueron asimétricas, tanto para sensibilidad como especificidad. Uno de los parámetros que evalúa este tipo de gráficas es el sesgo de publicación; dentro de las posibles causas de este error sistemático está la falta de difusión de estudios negativos, poco interesantes, de pequeña escala o de baja calidad metodológica, lo que conlleva a encontrar estudios con desenlaces positivos (24). Una de las razones de haber encontrado estudios positivos puede ser la presencia del sesgo del lenguaje (publicación de estudios que no tienen hallazgos significativos en otros idiomas diferentes al inglés) lo que hace menos probable que se encuentren dichos estudios "negativos", ya que la mayoría de estudios “positivos” se publican en inglés. Otra posible causa del sesgo de publicación es la ausencia de estudios con tamaños de muestras no representativos, lo que aumentaría aún más la apreciación de positividad de las pruebas evaluadas.

En esta revisión se rechazó la hipótesis planteada de que más del 90% de la bibliografía revisada reportara características operativas de sensibilidad y especificidad de la prueba E-test iguales o superiores en un 95%. Aunque el acuerdo entre las dos pruebas en estudio fue muy bueno, solamente el 87% de los estudios lograron cumplir la hipótesis, debido en parte a la falta de estandarización del E-test en antibióticos diferentes a la claritromicina y a la poca utilización de estas técnicas en conjunto (DA y E-test) en particular en laboratorios de rutina.

A manera de conclusión, se puede anotar que la prueba de E-test demostró tener buen acuerdo en sensibilidad y especificidad para detectar susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *H. pylori*, sin embargo no

igual a ni supera las características operativas del método de referencia. El E-test puede ser utilizado de manera rutinaria para evaluar susceptibilidad de *H. pylori* a claritromicina y amoxicilina, pero deben realizarse más estudios para evaluar si esta técnica puede ser útil en la evaluación de susceptibilidad de *H. pylori* a levofloxacina.



## Referencias

- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311-1315.
- Axon A. Helicobacter pylori: what do we still need to know? *J Clin Gastroenterol* 2006; 40:15-19.
- Malaty HM. Epidemiology of Helicobacter pylori. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007;21:205-214.
- Cervantes E. Helicobacter pylori e infecciones asociadas. *Rev Fac Med UNAM* 2006;49:163-167.
- Malferteiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham DY, et al. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III, consensus Report. *Gut* 2007;56:772-781.
- Fariña N, Kasamatsu E, Samudio M, Morán M, Sanabria R, Laspina F. Susceptibilidad a antibióticos de cepas paraguayas de Helicobacter pylori aisladas de pacientes con enfermedad gastro-duodenal, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay, *Rev Méd Chile* 2007;135:1009-1014.
- Gerrits MM, van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters. JG. Helicobacter pylori and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Lancet Infect Dis* 2006;6:699-709.
- Matthew W. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement. Pan American Health Organization. 2008. Alarcón T, Baquero M, Domingo D, Lopez-Brea M, Royo G. Diagnóstico microbiológico de la infección por Helicobacter pylori, Procedimientos en Microbiología Clínica, Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2004.
- Coyle M. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Department of Laboratory Medicine and Microbiology. Organización panamericana de la salud, University of Washington Edit, Editora Coordinadora. Washington-U.S.A 2000. Capítulo 5.
- Piccolomini R, Di Bonaventura G, Catamo G, Carbone F, Neri M. Comparative evaluation of the E test, agar dilution, and broth microdilution for testing susceptibilities of Helicobacter pylori strains to 20 antimicrobial agents. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:1842-1846.
- Egger. M, Smith GD y Altman DG. *Sistematic Reviews in Health Care: Meta-Analysis in Context*. Edit. BMJ Publishing Group. Segunda edición 2001; 23- 459.
- Beltran O. Revisiones sistemáticas de la literatura. *Rev Col Gastroenterol* 2005; 20: 60-69.
- Jaeschke R, Gordon H, Guyatt MD y Sackett DL. Guías para usuarios de la literatura medica, parte A ¿son validos los resultados del estudio?. Ed. España 1997. pg. 389-391.
- Dersimonian R, Kacker R.. Random-effects model for meta-analysis of clinical trials: An update. *Contemp Clin Trials.* 2007;28:105-114.
- Bermúdez. M, Pérez. A y Morillo. LE. Apreciación crítica de un artículo que presenta una revisión sistemática de la literatura en salud. Programa de actualización médica permanente. 2000; 52:2-15.
- Best LM, Haldane DJ, Keelan M, Taylor DE, Thomson AB, Loo V, et al. Multilaboratory Comparison of Proficiencies in Susceptibility Testing of Helicobacter pylori and Correlation between Agar Dilution and E Test Methods. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47:3138-3144.
- Dzierzanowska-Fangrat K, Rozynek E, Józwiak P, Celińska-Cedro D, Madaliński K, Dzierzanowska D. Primary resistance to clarithromycin in clinical strains of Helicobacter pylori isolated from children in Poland. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;18:387-390.
- Khan R, Nahar S, Sultana J, Ahmad MM, Rahman M. T2182C Mutation in 23S rRNA Is Associated with Clarithromycin Resistance in Helicobacter pylori Isolates Obtained in Bangladesh. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48:3567-3569.
- Mégraud F, Lehn N, Lind T, Bayerdörffer E, O'Morain C, Spiller R, et al. Antimicrobial Susceptibility Testing of Helicobacter pylori in a Large Multicenter Trial: the MACH 2 Study. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:2747-2752.
- Osato MS, Reddy R, Reddy SG, Penland RL, Graham DY. Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant Helicobacter pylori. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;17:39-44.
- Wang WH, Wong BC, Mukhopadhyay AK, Berg DE, Cho CH, Lai KC, et al. High prevalence of Helicobacter pylori infection with dual resistance to metronidazole and clarithromycin in Hong Kong. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14:901-910.
- Dore MP, Osato MS, Realdi G, Mura I, Graham DY, Sepulveda AR. Amoxycillin tolerance in Helicobacter pylori. *J Antimicrob Chemother.* 1999;43:47-54.
- Clarke M, Oxman AD. editores. Manual de Revisores Cochrane 4.1.6. Actualización <http://www.cochrane.dk/cochrane/handbook.htm> (con acceso el 31 de enero de 2003).
- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Microbiología Médica*. 4 ed. Madrid, España: Elsevier; 2002.