

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI”

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Modalidad: Artículo Científico

Autora: Martínez Tocagon, Katherin Mabel

Tutor: Mcs. Vilcacundo Córdova, Mario Fernando

Ambato – Ecuador

Febrero - 2025

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Artículo Científico sobre el tema:

"**TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI**" desarrollado por Martínez Tocagon Katherin Mabel, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos técnicos, científicos y corresponden a lo establecido en las normas legales para el proceso de graduación de la Institución; por lo mencionado autorizo la presentación de la investigación ante el organismo pertinente, para que sea sometido a la evaluación de docentes calificadores designados por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Febrero 2025

EL TUTOR

Firmado electrónicamente por:
MARIO FERNANDO
VILCACUNDO CORDOVA

.....

Vilcacundo Córdova, Mario Fernando

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Los criterios emitidos en el Artículo de Revisión "**TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI**", como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones, son de autoría y exclusiva responsabilidad de la compareciente, los fundamentos de la investigación se han realizado en base a recopilación bibliográfica y antecedentes investigativos

Ambato, Febrero 2025

LA AUTORA

Firmado electrónicamente por:
KATHERIN MABEL
MARTINEZ TOCAGON

.....

Martínez Tocagon, Katherin Mabel

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Msc. Vilcacundo Córdova Mario Fernando con CC: 1802932580 en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "**TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI**", Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Artículo de Revisión o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Artículo de Revisión a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora, sirviendo como instrumento legal este documento como fe de mi completo consentimiento.

Ambato, Febrero 2025



Firmado electrónicamente por:
MARIO FERNANDO
VILCACUNDO CORDOVA

.....

Vilcacundo Córdova, Mario Fernando

CC: 1802932580

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Martínez Tocagon Katherin Mabel con CC: 0550279228 en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **"TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI**", Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Artículo de Revisión o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Artículo de Revisión a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora, sirviendo como instrumento legal este documento como fe de mi completo consentimiento.

Ambato, Febrero 2025

Firmado electrónicamente por:
KATHERIN MABEL
MARTINEZ TOCAGON

.....

Martínez Tocagon, Katherin Mabel

CC: 0550279228

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador, aprueban en el informe del Proyecto de Investigación: "**TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI",** de Martínez Tocagon Katherin Mabel, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Febrero 2025

Parar su constancia firma

……

Presidente

...…… ..…….

1er Vocal 2 do Vocal

Revista Científica de Salud
BIOSANA
e-ISSN: 2960-8481
https://soeici.org/index.php/biosana

Revista Científica de Salud

CARTA DE ACEPTACIÓN PARA PUBLICACIÓN DE ARTÍCULO

Dr. C. Sucel Rodríguez Moreno
Directora del Comité Editorial-Jefe
revistabiosana@gmail.com

Ecuador, 12 de Noviembre de 2024

SOCIEDAD ECUATORIANA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Estimados colegas:

Mabel Martínez Tocagon[1] , Mario Vilcacundo Córdova[2]

[1] Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias de la Salud. Ambato-Ecuador. Correo: kmartinez9228@uta.edu.ec
[2] Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias de la Salud. Ambato-Ecuador. Correo: mf.vilcacundo@uta.edu.ec

Me complace informarle que después del proceso de revisión por pares, el artículo **"Técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico de *Helicobacter pylori*"**, ha sido **ACEPTADO** para ser publicado por la Revista Científica de Salud **BIOSANA** en su Vol. 4, No.5 (Octubre-Diciembre), 2024. e-ISSN: 2960-8481.

Saludos cordiales

Dr. C. Sucel Rodríguez Moreno
Revista Científica de Salud BIOSANA
Directora del Comité Editorial-Jefe

DEDICATORIA

El presente artículo de revisión lo dedico a:

A mis padres…

A mi mamita Inés en el cielo, mi ángel que siempre está presente en mi corazón y mi memoria ya que con sus bendiciones me han permitido alcanzar este importante logro. A mi papá Lorenzo, que ha sido mi apoyo constante en cada una de mis decisiones, sus consejos y su amor incondicional me han guiado para alcanzar esta meta.

A mis hermanos y sobrinos…

A mis hermanos, Richard, Cristian y Wilmer, por siempre creer en mí, por ser mi más grande motivación y demostrarme su apoyo incondicionalmente. A mi hermanita Jazmín, quién es mi compañera y mi amiga desde siempre y por sacarme una sonrisa en los momentos difíciles. A mis sobrinos, David y Ezequiel que son la alegría y energía de nuestra familia.

A mi familia por siempre apoyarme, por compartir con alegría cada uno de mis logros, su compañía y motivación han sido fundamental en este proceso.

A mis amigos…

A mi mejor amiga, Joselyn que a pesar de la distancia siempre está conmigo, por cada risa, momento y anécdota compartida llenando este camino de experiencias únicas.

A mis amig@s, Jenny, Monse e Ismael quienes me han brindado su amistad, su apoyo incondicional, por crear juntos recuerdos inolvidables y por hacer de esta travesía una aventura increíble. Agradezco su presencia en mi vida han hecho de esta etapa una de las mejores experiencias.

Katherin Mabel Martínez Tocagon

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiarme y bendecirme en este camino, por brindarme sabiduría y nunca soltar mi mano en los momentos difíciles, su amor y misericordia han permitido que este sueño sea una realidad.

A mi familia por siempre estar a mi lado, cada uno de ustedes han sido fuente de inspiración y motivación en mi vida, impulsándome a conseguir cada uno de mis objetivos.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a las autoridades y docentes de la Facultad de Ciencias de la Salud, especialmente a la carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato, quienes han sido mis guías y mentores en este proceso de enseñanza, su dedicación, sabiduría y paciencia han impulsado a construir poco a poco mi formación profesional.

A mi tutor, Msc. Vilcacundo Córdova Mario Fernando, por impartir sus conocimientos, por el tiempo y la paciencia brindada, siendo mi guía en todo este proceso y poder culminar con éxito este trabajo.

Katherin Mabel Martínez Tocagon

“TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI”

RESUMEN

Helicobacter pylori es una bacteria implicada en diversas patologías gastrointestinales, incluyendo la gastritis crónica, la úlcera péptica y el cáncer gástrico. El diagnóstico preciso y oportuno de esta infección es fundamental para su manejo clínico especialmente en regiones con alta prevalencia, por esa razón las técnicas moleculares han emergido como herramientas esenciales para detectar de manera más sensible y específica la presencia de *H. pylori*, superando las limitaciones de los métodos tradicionales, como el cultivo bacteriano y las pruebas serológicas. Los objetivos del presente estudio fue describir e identificar las técnicas moleculares aplicadas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, analizar la eficacia de las mismas y determinar el impacto en el manejo de pacientes con esta patología. Este artículo de revisión describe las principales técnicas moleculares utilizadas, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus variantes, como la PCR en tiempo real (qPCR), PCR multiplex, además de otras técnicas innovadoras como la PCR basada en CRISPR-Cas13a y secuenciación de próxima generación (NGS), incluyendo tanto la importancia así como la sensibilidad y especificidad de las mismas de diferentes estudios realizados.

PALABRAS CLAVES: TÉCNICAS MOLECULARES, HELICOBACTER PYLORI, DIAGNÓSTICO, SECUENCIACIÓN DE PRÓXIMA GENERACIÓN, CRISPR-CAS13A

“TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS AL DIAGNÓSTICO DE HELICOBACTER PYLORI”

ABSTRACT

Helicobacter pylori is a bacterium implicated in various gastrointestinal pathologies, including chronic gastritis, peptic ulcer and gastric cancer. Accurate and timely diagnosis of this infection is essential for its clinical management, especially in regions with high prevalence. For this reason, molecular techniques have emerged as essential tools to detect the presence of *H. pylori* in a more sensitive and specific manner, overcoming the limitations of traditional methods, such as bacterial culture and serological tests. The objectives of the present study were to describe and identify the molecular techniques applied for the diagnosis of *Helicobacter pylori*, to analyze their efficacy, and to determine their impact on the management of patients with this pathology. This review article describes the main molecular techniques used, such as polymerase chain reaction (PCR) and its variants, such as real-time PCR (qPCR), multiplex PCR, as well as other innovative techniques such as CRISPR-Cas13a-based PCR and next-generation sequencing (NGS), including their importance as well as their sensitivity and specificity from different studies.

KEY WORDS: MOLECULAR TECHNIQUES, HELICOBACTER PYLORI, DIAGNOSIS, NEXT GENERATION SEQUENCING, CRISPR-CAS13A.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori, un bacilo gram negativo, caracterizado por presentar formas tanto espiral y cocoide con varios flagelos unipolares, se coloniza de manera selectiva en el epitelio gástrico, además de codificar enzimas como la catalasa, oxidasa y ureasa importantes para una mejor adaptación en el entorno gástrico (1).

Este patógeno gástrico reconocido como agente causal de gastritis a nivel mundial, además, de ser un agente etiológico desencadenante de múltiples procesos que a partir de una gastritis crónica, puede conllevar a lesiones preneoplásicas como la metaplasia intestinal, displasia y hasta adenocarcinoma gástrico (2). Asimismo, es considerada una de las infecciones bacterianas más comunes tanto en adultos como en niños lo que puede provocar enfermedad péptica gastroduodenal y se presenta como esofagitis, gastropatías y úlceras gástricas o duodenales (3).

Entre los posibles factores de riesgo se relaciona principalmente con la higiene y la primera década de vida humana por otro lado, los pacientes con una mayor producción de ácido estomacal tienden a ser más propensos a sufrir gastritis con predisposición a úlceras duodenales (4).

Entre los principales factores no dependientes que influyen en la reincidencia de *H. pylori* se encuentran el contacto directo con personas infectadas, malas condiciones de higiene, agua contaminada y consumo frecuente de comida fuera de casa (5)

Para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* se realiza comúnmente mediante métodos inmunológicos, bacteriológicos y moleculares, entre las pruebas inmunológicas, la serología se caracteriza por ser rápida y no invasiva, sin embargo presentan limitaciones al no diferenciar infecciones pasadas de las activas, lo que reduce su eficacia en ciertas regiones. Las pruebas bacteriológicas, como el cultivo de biopsias, permiten un diagnóstico directo y el análisis de resistencia a antibióticos, no obstante son invasivas, costosas y requieren tiempo para obtener resultados (6).

Las técnicas moleculares, como la PCR, son altamente sensibles y específicas, detectando *H. pylori* incluso en muestras no invasivas, como heces y permiten identificar cepas resistentes. Sin embargo, su implementación se ve limitada por los costos y la infraestructura técnica necesaria, a pesar de estas barreras, los métodos moleculares son cada vez más preferidos por su precisión y

capacidad para guiar el manejo clínico del paciente (7). Una de las ventajas es que permiten realizar diagnósticos de forma más temprana y confiable, al tiempo que posibilitan el monitoreo de la enfermedad, establecer su pronóstico y aumentar la supervivencia (8).

Asimismo, es importante tener en cuenta los genes de virulencia de *H. pylori* entre ellos se encuentran:

Producto génico asociado a la citotoxina (cagA): Se introduce en las células huésped a través de un sistema de secreción de tipo IV, una vez dentro el gen cagA altera las vías de señalización celular, lo que provoca cambios en la forma celular, inflamación y un mayor riesgo de carcinogénesis (9). CagA es uno de los factores de virulencia más importantes; las cepas de *H. pylori* que poseen el gen CagA se consideran de alta virulencia porque expresan las proteínas VacA y CagA, mientras que las cepas sin el gen CagA se clasifican como de baja virulencia al no expresar estas proteínas (10).

Citotoxina A vacuolante (vacA): Induce la formación de vacuolas en las células epiteliales gástricas, lo que provoca daño celular, también puede promover la apoptosis de los macrófagos al inhibir la señalización de IFN-γ e inhibir la activación de las células T, lo que debilita la respuesta inmunitaria del huésped y permite la infección crónica (11) (9). Presenta un alto grado de polimorfismo, y sus diversas variantes se han asociado con distintos niveles de actividad de la citotoxina vacuolizante, lo cual puede afectar los resultados clínicos e histopatológicos en pacientes infectados (12).

Adhesina A de unión al antigeno del grupo sanguíneo (babA): Al unirse a los antígenos de Lewis B, facilita la colonización inicial persistente (12) que es esencial para la naturaleza crónica de las infecciones por *H. pylori*. Esta presencia prolongada contribuye a la capacidad de la bacteria para causar gastritis, úlceras pépticas y aumentar el riesgo de cáncer gástrico (9). Dicho gen presenta dos regiones α-helicoidales llamadas región de mango y cabeza y un motivo de lámina β denominado corona (13)

Adhesión a la unión al ácido siálico (sabA): SabA juega un papel clave al unirse a antígenos en tejidos inflamados, facilitando la adherencia en etapas avanzadas de la infección, lo que aumenta la capacidad de colonización y persistencia de la bacteria en el huésped, a diferencia de BabA, SabA no posee la corona de lámina β anti paralela, importante en los sitios de unión de Leb (13).

Por otro lado, los genes de resistencia resultan ser de gran importancia debido a que determinan la capacidad de la bacteria para sobrevivir frente al tratamiento de los antimicrobianos, entre ellos están:

Gen ARNr 23S: Confiere resistencia a los macrólidos, las mutaciones puntuales en el gen ARNr 23S (específicamente en las posiciones A2142G, A2142C o A2143G) bloquean la unión de la claritromicina al ribosoma bacteriano, lo que impide que el fármaco inhiba la síntesis de proteínas, este es uno de los mecanismos de resistencia más comunes, especialmente en regiones con un alto uso de claritromicina (14).

Genes gyrA y gyrB: Proporciona resistencia a las fluoroquinolonas, las mutaciones en los genes gyrA y gyrB, que codifican las subunidades de la ADN girasa, reducen la afinidad de unión de las fluoroquinolonas, que tienen como objetivo inhibir la replicación del ADN bacteriano. La resistencia está vinculada principalmente a la mutación del gen gyrA en los codones 87 y 91 (15).

Genes rdxA y frxA: Genera resistencia al metronidazol, en donde estos genes codifican una oxidoreductasa importante para la activación dentro de la bacteria, los genes rdxA (NADPH nitroreductasa insensible al oxígeno) y frxA (NAD (P) H-flavina oxidorreductasa) desempeñan papeles clave en este proceso. Las mutaciones en estos genes impiden la activación adecuada del fármaco, lo que genera resistencia (16)

Gen ARNr 16S: Se destaca que las mutaciones en dicho gen generan resistencia a la tetraciclina, frecuentemente en las posiciones 926 y 928 afectando la estructura del ribosoma bacteriano, por lo que presenta dificultad para unirse al ribosoma e inhibir la síntesis proteica, por ende reduce su actividad antimicrobiana (17).

El objetivo de la presente investigación fue describir las técnicas de biología molecular más empleadas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, debido a la creciente incidencia de infecciones asociadas con esta bacteria y su impacto en la salud gástrica.

MÉTODOS

Para la revisión bibliográfica se realizó una investigación descriptiva y documental debido a que se basa en el análisis de información obtenida de distintas fuentes bibliográficas, con un enfoque cualitativo porque permite profundizar en el análisis de los estudios existentes sobre las técnicas

moleculares para el diagnóstico de *H. pylori*, se empleó diferentes bases de datos como Pubmed, Repositorios Universitarios, WileyOnline Library, Scielo, Latindex y Google académico. Asimismo, se empleó el uso de operadores booleanos “AND” y “OR” a partir de la siguiente estructura:

(((*Helicobacter pylori* OR Helicobacter infect) AND (Molecular diagnostic OR Polymerase chain react OR Nucleic acid amplification)) AND (Diagnóstico clínico OR Clinical diagnostics)) AND (Biomarker diagnostics OR Genetics techniques OR Molecular techniques)

Este método facilitará la selección de artículos relacionados con el tema en cuestión, donde se resalte la eficacia de las técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico de *Helicobacter pylori*. Se utilizaron palabras clave como: “técnicas moleculares”, “*Helicobacter pylori*”, “diagnóstico”, “secuenciación de próxima generación”, “CRISPR-Cas13a”. Se seleccionaron estudios que cumplieron con criterios de inclusión, brindando relevancia al tema de investigación:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Artículos o libros que contengan información sobre técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico de *Helicobacter pylori*.
- Artículos que se encuentren en páginas web confiables como Latindex, Redalyc, Pubmed, Scielo, Elsevier, Google Académico.
- Artículos o libros, publicados a partir del año 2019.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Artículos o estudios que no se relacionen al tema.
- Artículos que se encuentren referenciados de manera incorrecta.
- Artículos que no sean de libre acceso.

SELECCIÓN DE ARTÍCULOS (Método PRISMA)

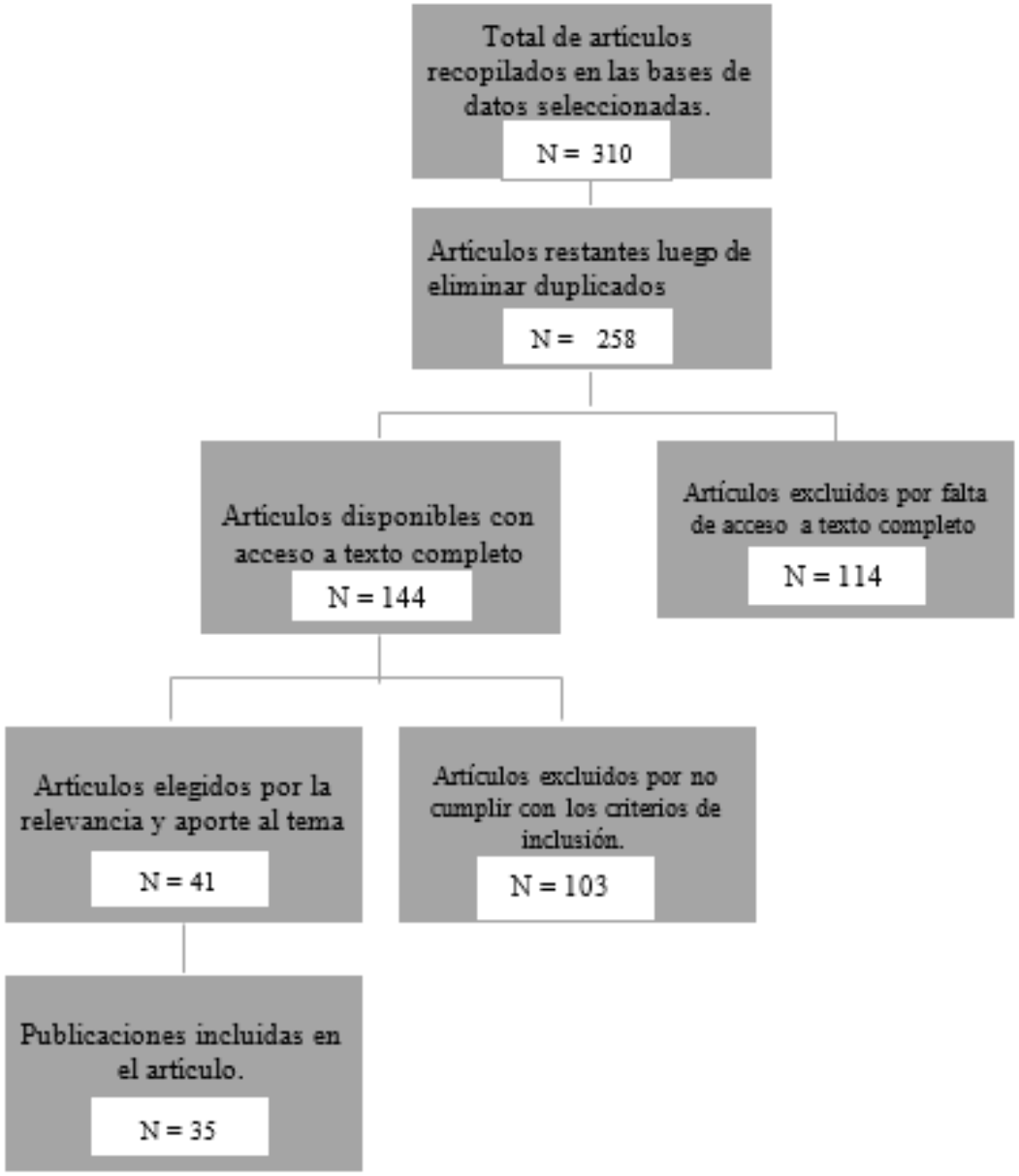

Figura 1. Flujograma de la selección de información para la recopilación bibliográfica.

RESULTADOS:

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

En cuanto al diagnóstico mediante pruebas moleculares se menciona como una de las más utilizadas a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ya que permite la detección específica de bacterias, la evaluación de genes patógenos y específicos para la resistencia a antimicrobianos (18), mostrando una alta sensibilidad y especificidad además de resultados rápidos y no requiere un transporte especializado, sin embargo por su costo, la disponibilidad de equipos y la necesidad de personal capacitado pueden limitar su aplicación en distintos laboratorios (19). Esta técnica es más sensible que el cultivo y permite detectar la infección, así como mutaciones asociadas a la resistencia a macrólidos, en pocas horas (20).

Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR)

La PCR en tiempo real es una técnica innovadora para el diagnóstico de *H. pylori*, que no solo permite una detección rápida y precisa, sino que también identifica mutaciones relacionadas con la resistencia a antibióticos, esta técnica monitorea en tiempo real la formación de amplicones mediante el uso de cebadores específicos y sondas marcadas con fluoróforos con el fin de generar una señal específica (21). Se realizó un estudio a partir de heces con coinfección de parásitos intestinales como método no invasivo, donde este ensayo mostró ser altamente sensible y específico para la detección de ADN de *H. pylori* (7).

PCR Multiplex

La PCR multiplex, especialmente la PCR cuantitativa (qPCR), ha ganado importancia significativa en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* debido a su alta sensibilidad y especificidad. Algunas investigaciones han destacado que los ensayos de PCR multiplex son particularmente efectivos para detectar tanto la bacteria como las mutaciones clave asociadas con la resistencia a antibióticos, como las del gen 23S rRNA y gyrA que confieren resistencia a claritromicina y levofloxacino. Esto posibilita una detección más rápida y precisa en comparación con métodos tradicionales como el cultivo, especialmente crucial en casos donde la identificación rápida de cepas resistentes influye en las decisiones terapéuticas (22). Ensayos como Allplex™

H. pylori y ClariR han demostrado una alta sensibilidad (99 %) y precisión (96,5 %) en la identificación de mutaciones de resistencia tanto de *H. pylori* como de claritromicina infecciones (23). La PCR multiplex reduce significativamente el tiempo de diagnóstico, mejora la precisión en comparación con los métodos tradicionales y permite un tratamiento personalizado al identificar rápidamente las cepas resistentes (24) (25).

TECNICAS INNOVADORAS

PCR basada en CRISPR-Cas13a

Estudios recientes han resaltado el potencial de los diagnósticos basados en CRISPR, particularmente los que utilizan los sistemas Cas13a y Cas12a, para la detección de *Helicobacter pylori*. Se ha desarrollado un nuevo método PCR-Cas13a que ofrece alta especificidad y sensibilidad en la detección de *H. pylori* mediante la amplificación de secuencias de ADN conservadas, demostrando un rendimiento superior en comparación con la qPCR tradicional, con la capacidad de detectar tan solo 2,2 copias/µL de la bacteria, logrando una sensibilidad del 98% y una especificidad del 100% (26).

Secuenciación de próxima generación (NGS)

La secuenciación de próxima generación (NGS) ha emergido como una herramienta clave para evaluar la resistencia a los antibióticos en *H. pylori*, esta tecnología permite analizar rápidamente el material genético de la bacteria, identificando mutaciones asociadas con la resistencia antimicrobiana de manera rápida y simultánea (27). NGS se destaca por su capacidad de secuenciar grandes cantidades de ADN de forma simultánea, reduciendo tanto el tiempo como los costos del proceso. Aunque existen varias plataformas de NGS con diferencias técnicas, todas funcionan fragmentando el ADN, amplificándolo y comparándolo con un genoma de referencia para identificar variantes. La cepa 26695 de *H. pylori* fue una de las primeras en ser completamente secuenciada en 1997, revelando un genoma circular de 1.67 millones de pares de bases (28). Un nuevo método personalizado para el tratamiento de erradicación de *H. pylori* (NGS-PHET) permite obtener información genética clave de varios genes de *Helicobacter pylori*, como HPrrna23S, HPrrna16S, pbp1, rdxA, frxA, frxB, gyrA , gyrB, y cagA , además de secuenciar el exoma humano (29).

Tabla 1. Sensibilidad y especificidad de cada técnica empleada para el diagnóstico de *Helicobacter pylori.*

Autor	Año de Publicación	Técnica Molecular	Tipo de Muestra	Sensibilidad	Especificidad
Maxime Pichon et al. (24)	2020	Amplidiag *H. pylori*+ClariR PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real) para detectar *H. pylori* y resistencia a claritromicina en heces.	Heces	96.3%	98.7%
Leonardi et al. (7)	2020	Rt-PCR (TaqMan) para ureC (glmM) y cagA. Esta técnica de PCR en tiempo rea l (Rt-PCR) utiliza sondas TaqMan para detectar genes específicos de *H. pylori,* como ureC (también conocido como glmM) y cagA.	Heces	94.12%	93.75%
Bénéjat et al. (20)	2023	PCR (RIDA®GENE *H. pylori* PCR). Esta técnica utiliza un ensayo basado en PCR que permite la detección de *Helicobacter pylori* y sus mutaciones asociadas a la resistencia a macrólidos (específicamente a la claritromicina).	Biopsias gástricas	100%	98%
Karmakar et al. (30)	2023	PCR y Nested-ASP-PCR para detectar resistencia a claritromicina. Esta técnica combina PCR convencional con una variante llamada Nested-ASP-PCR, que permite la detección de mutaciones puntuales en el gen 23S rRNA	Cultivo y biopsias	100%	100%

		de *H. pylori.*			
Li et al. (31)	2020	Multiplex ARMS-PCR para resistencia a claritromicina y levofloxacina. La técnica ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System PCR) es una PCR multiplex diseñada para identificar mutaciones que confieren resistencia a la claritromicina y la levofloxacina, dos antibióticos comúnmente usados para tratar infecciones por *H. pylori*.	Biopsias gástricas	100% (claritromicina) 98.04% (levofloxacina) 100% (doble resistencia)	100% (claritromicina) 95.04% (levofloxacina) 96.91% (doble resistencia)
Fan et al. (21)	2024	Real-Time PCR para la detección de *Helicobacter pylori* y resistencia a claritromicina y levofloxacina directamente en heces y biopsias gástricas	Heces y biopsias gástricas	99.1% (*H. pylori*), 79.6% (claritromicina), 86.3% (levofloxacina)	100% (*H. pylori*), 98.4% (claritromicina), 91.1% (levofloxacina)
Syahniar et al. (32)	2019	Real-Time PCR (detección del gen 16S rRNA de *H. pylori*). Esta técnica de PCR en tiempo real está diseñada para detectar el gen 16S rRNA, que es altamente conservado y específico en *Helicobacter pylori*.	Biopsia gástrica	88.9%	85.5%
Van den	2019	PCR cuantitativa (qPCR) para la detección de	Biopsias	100%	99%

Poel et al. (33)		*Helicobacter pylori* y mutaciones de resistencia a claritromicina utilizando el RIDA®GENE *H. pylori* assay	gástricas	(comparado con cultivo), 96% (comparado con Tinción Inmunohistoquímica)	(comparado con ambos)
Wang et al. (26)	2022	PCR-Cas13a (PCR basada en CRISPR-Cas13a para la detección ultrasensible de *Helicobacter pylori*)	Biopsias gástricas	98%	100%
Gong et al. (34)	2021	PCR para detección de resistencia a claritromicina en *Helicobacter pylori* en muestras fecales	Muestras de heces	91%	97%
Trung et al. (25)	2019	Multiplex PCR para la detección de *Helicobacter pylori;* Prueba CLO (Campylobacter-Like Organism Test) para detección de ureasa; Prueba CIM (Current Infection Marker Test) para diagnóstico de infección activa	Pacientes con gastritis y úlcera gástrica	100% (Multiplex PCR), 71.96% (CLO test), 89.72% (CIM test)	59.57% (Multiplex PCR), 100% (CLO test), 75.53% (CIM test)

Vagarali et al. (35)	2021	PCR para la detección del gen cagA (citotoxina) y el gen 16S rRNA de *Helicobacter pylori.* Comparación con la tinción de Hematoxilina y Eosina (H&E) para identificar la bacteria en biopsias gástricas.	Biopsias gástricas de pacientes con trastornos del tracto gastrointestinal superior	89.6% (comparado con H&E)	78.9% (comparado con H&E)

DISCUSIÓN

Al comparar diferentes técnicas moleculares para detectar *Helicobacter pylori* y su resistencia a antibióticos como la claritromicina y la levofloxacina, se pueden notar diferencias clave en los métodos utilizados, el tipo de muestra y los resultados obtenidos en términos de sensibilidad y especificidad. Estas técnicas, desde variantes de PCR hasta tecnologías más recientes como CRISPR-Cas13a, han sido desarrolladas para abordar la necesidad urgente de diagnósticos más rápidos y precisos de esta bacteria, que afecta a millones de personas en todo el mundo.

Pichon y colaboradores (24) por ejemplo, usaron la técnica Amplidiag *H. pylori*+ClariR PCR en heces, logrando una alta sensibilidad (96.3%) y especificidad (98.7%). Esta técnica, al ser no invasiva, es ideal para estudios a gran escala, permitiendo que los pacientes no necesiten someterse a procedimientos invasivos. Sin embargo, Leonardi y colaboradores (7), que también utilizaron muestras fecales con Rt-PCR (TaqMan) para detectar genes específicos como ureC y cagA, lograron una sensibilidad menor (94.12%) y una especificidad más baja (93.75%). Aunque ambas técnicas son cómodas para el paciente, la optimización de la técnica de Pichon indica ofrecer mejores resultados en la detección de resistencia a claritromicina.

En los estudios que utilizaron biopsias gástricas, como Bénéjat (20) con la técnica RIDA®GENE PCR, los resultados fueron impresionantes, alcanzando una sensibilidad del 100% y una especificidad del 98%. La ventaja de trabajar directamente con tejido afectado es clara, aunque el proceso es más invasivo. De manera similar, Karmakar et al. (30) combinaron PCR convencional y Nested-ASP-PCR en biopsias y cultivos, logrando también una precisión perfecta (100% en ambos). La combinación de técnicas permitió una detección precisa de las mutaciones en el gen 23S rRNA, fundamental para identificar la resistencia a antibióticos.

Por otro lado, Li et al. (31) desarrollaron una técnica Multiplex ARMS-PCR en biopsias para detectar resistencias tanto a claritromicina como a levofloxacina, este enfoque también mostró resultados sobresalientes, con una sensibilidad del 100% para claritromicina y del 98.04% para levofloxacina. Esta capacidad de detectar múltiples resistencias en una sola muestra es particularmente útil en pacientes con infecciones complicadas. Fan et al. (21), por su parte, combinaron Real-Time PCR para analizar tanto heces como biopsias, obteniendo una alta precisión en la detección de *H. pylori* (99.1%), pero menos precisión al detectar resistencia a claritromicina (79.6%) y levofloxacina (86.3%). Aunque es menos invasivo en algunos casos, la precisión es algo

menor en comparación con estudios que se centraron en biopsias exclusivamente.

Syahniar et al. (32) y Van den Poel et al. (33) también trabajaron con biopsias gástricas, pero con enfoques diferentes. Syahniar utilizó Real-Time PCR para detectar el gen 16S rRNA, logrando una sensibilidad del 88.9% y una especificidad del 85.5%, mientras que Van den Poel utilizó qPCR, logrando una precisión mucho mayor, con una sensibilidad del 100% y especificidad del 99%. Esto muestra que la elección de la técnica puede marcar una gran diferencia en la precisión diagnóstica.

Wang y colaboradores (26), por otro lado, optaron por un enfoque más innovador con PCR basada en CRISPR-Cas13a, que permitió una detección ultrasensible de *H. pylori*, con una sensibilidad del 98% y especificidad del 100%. Esta técnica es particularmente útil para detectar mutaciones en cantidades mínimas, lo que es importante en infecciones con baja carga bacteriana o infecciones mixtas. En un enfoque similar, aunque menos innovador, Gong et al. (34) utilizaron PCR en muestras fecales para detectar resistencia a claritromicina, logrando una sensibilidad del 91% y una especificidad del 97%, destacando el valor de las muestras fecales en la detección no invasiva de resistencias. Finalmente, Vagarali et al. (35) ofrece alternativas con PCR para la detección del gen cagA (citotoxina) y el gen 16S rRNA de *Helicobacter pylori* en biopsias mostrando una sensibilidad de 89.6% y especificidad de 78.9%.

CONCLUSIONES

El avance continuo de las técnicas moleculares han permitido obtener un diagnóstico rápido y preciso en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* considerado un agente patógeno clave en diversas enfermedades gástricas. Las técnicas de biología molecular como la PCR, ofrecen una alta sensibilidad y especificidad en comparación a otras metodologías tradicionales debido a que facilitan el estudio de los mecanismos de resistencia y virulencias asociado a las cepas de *H. pylori* asimismo, su relevancia radica no solo en su capacidad de detección bacteriana sino que a la vez proporciona una visión detallada de sus variantes genéticas que pueden influir en el tratamiento como la resistencia a los antimicrobianos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roldán, I., Castaño, R., Navas, M. (2019). Mutaciones del gen ARN ribosómico 23S de *Helicobacter pylori* asociadas con resistencia a claritromicina en pacientes atendidos en una unidad de endoscopia de Medellín, Colombia. Rev Biomédica, 39 (2), 117-129. https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i4.4377

2. Bucci, P., Barbaglia, Y., Tedeschi, F., & Zalazar, F. (2022). *Helicobacter pylori* infection: A balance between bacteria and host. Revista Argentina de Microbiología, 55(1), 60-67. https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.04.003

3. Cunali, A. B., De Menezes, O. H. L. G., Campanhã, P. D., Bonilha, G. A., Guerra, G. T., Andrade, B. M. M., & Oliveira, T. M. (2023). Doença péptica-gastroduodenal em crianças por *Helicobacter pylori*. Revista Eletrônica Acervo Saúde, 23(2), e12021. https://doi.org/10.25248/reas.e12021.2023

4. Nguyen, J., Kotilea, K., Bontems, P., & Deyi, V. y. M. (2023). *Helicobacter pylori* Infections in Children. Antibiotics, 12(9), 1440. https://doi.org/10.3390/antibiotics12091440

5. Huang, S., Li, B., Pang, X., & Gao, W. (2024). Efficacy and safety of Vonoprazan-based treatment of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review and network meta-analysis. BMC Infectious Diseases, 24(1). https://doi.org/10.1186/s12879-024-09885-x

6. Schuetz, A. N., Theel, E. S., Cole, N. C., Rothstein, T. E., Gordy, G. G., & Patel, R. (2024). Testing for *Helicobacter pylori* in an era of antimicrobial resistance. Journal Of Clinical Microbiology, 62(2). https://doi.org/10.1128/jcm.00732-23

7. Leonardi, M., La Marca, G., Pajola, B., Perandin, F., Ligozzi, M., & Pomari, E. (2020). Assessment of real-time PCR for *Helicobacter pylori* DNA detection in stool with co-infection of intestinal parasites: a comparative study of DNA extraction methods. BMC Microbiology, 20(1). https://doi.org/10.1186/s12866-020-01824-5

8. Diz O. (2020) Técnicas de biología molecular en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. NPunto; 3(30):88–111.

9. Al-Fakhrany, O. M., Elekhnawy, E. (2023). *Helicobacter pylori* in the post-antibiotics era: from virulence factors to new drug targets and therapeutic

agents. Archives Of Microbiology, 205(9). https://doi.org/10.1007/s00203-023-03639-0

10. Du, Q., Zeng, H., Pang, X., Cao, J., Xie, B., Long, C., Liang, L., Deng, F., Huang, M., Li, L., Huang, F., Liu, X., Hu, Y., & Lv, J. (2024). CagA-positive *Helicobacter pylori* may promote and aggravate scrub typhus. Frontiers In Microbiology, 15. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1351784

11. Karbalaei, M., Abadi, A. T. B., & Keikha, M. (2022). Clinical relevance of the cagA and vacA s1m1 status and antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: a systematic review and meta-analysis. BMC Infectious Diseases, 22(1). https://doi.org/10.1186/s12879-022-07546-5

12. Acosta, C., López, A., Bonilla, J., Valdes, A., Romo, W. (2023). Genotipos de virulencia de *Helicobacter pylori* y su asociación con lesiones precursoras de malignidad gástrica y parámetros histológicos en pacientes colombianos. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 348-353. https://doi.org/10.17843/rpmesp.2023.403.12858

13. Doohan, D., Rezkitha, Y. A. A., Waskito, L. A., Yamaoka, Y., & Miftahussurur, M. (2021). *Helicobacter pylori* BabA–SabA Key Roles in the Adherence Phase: The Synergic Mechanism for Successful Colonization and Disease Development. Toxins, 13(7), 485. https://doi.org/10.3390/toxins13070485

14. Gareayaghi, N., & Kocazeybek, B. (2022). Detection of A2143G, A2142C, and A2142G Point Mutations with Real-Time PCR in Stool Specimens from Children Infected with *Helicobacter pylori*. Diagnostics, 12(9), 2119. https://doi.org/10.3390/diagnostics12092119

15. Rhie, S. Y., Park, J. Y., Shin, T., Kim, J. W., Kim, B. J., & Kim, J. G. (2020). Discovery of a Novel Mutation in DNA Gyrase and Changes in the Fluoroquinolone Resistance of *Helicobacter pylori* over a 14-Year Period: A Single Center Study in Korea. Antibiotics, 9(6), 287. https://doi.org/10.3390/antibiotics9060287

16. Huang, J., Li, Z., Ge, F., Sun, C., Deng, Z., Yao, W., & He, X. (2024). Functional determination of site-mutations in rdxA involved in metronidazole resistance of *Helicobacter pylori*. Frontiers In Cell And Developmental Biology, 12. https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1435064 gu

17. Guzman, K., Montenegro, L., & Pazos, A. (2023). The *Helicobacter pylori* single nucleotide polymorphisms SNPs associated with multiple therapy

resistance in Colombia. Frontiers In Microbiology, 14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1198325

18. Chahuán J, Pizarro M, Díaz L, Villalón A, Riquelme A. (2020). Métodos de diagnóstico para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*. Gastroenterol latinoam; 31 (2): 98 – 106. https://doi.org/10.52787/agl.v52i1.176

19. Deng, L., He, X., Tang, B., Xiang, Y., & Yue, J. (2020). An improved quantitative real-time polymerase chain reaction technology for *Helicobacter pylori* detection in stomach tissue and its application value in clinical precision testing. BMC Biotechnology, 20(1). https://doi.org/10.1186/s12896-020-00624-z

20. Bénéjat, L., Ducournau, A., Domingues Martins, C., Bessède, E., & Lehours, P. (2023). RIDA®GENE *Helicobacter pylori* PCR on the ELITe InGenius system. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 42(5), 593–596. https://doi.org/10.1007/s10096-023-04563-3fan

21. Fan, C.-J., Li, Z., Zhai, L.-L., Wang, H., Zhao, X.-L., Xie, D.-L., Cai, Y., Huang, K., Bai, Q.-X., Ding, H.-O., & Cheng, J.-P. (2024). Diagnostic accuracy of a real-time PCR assay for detection of *Helicobacter pylori* and resistance to clarithromycin and levofloxacin directly from stool. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 28(12), 3836-3840. https://doi.org/10.26355/eurrev_202406_36460

22. Binmaeil, H., Hanafiah, A., Rose, I. M., & Ali, R. A. R. (2021). Development and validation of multiplex quantitative PCR assay for detection of *Helicobacter pylori* and mutations conferring resistance to clarithromycin and levofloxacin in gastric biopsy. Acta Clinica Belgica, 74(3), 4129-4145. https://doi.org/10.1080/17843286.2019.1685741

23. Kim, I., Maeng, L., Kim, J. S., Kim, B., Cheung, D. Y., Kim, J. I., & Park, S. (2022). Quantitative Multiplex Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of *Helicobacter pylori* and Clarithromycin Resistance. Research Square (Research Square). https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2375894/v1

24. Pichon, M., Pichard, B., Barrioz, T., Plouzeau, C., Croquet, V., Fotsing, G., Chéron, A., & Burucoa, C. (2020). Diagnostic Accuracy of a Noninvasive Test for Detection of *Helicobacter pylori* and Resistance to Clarithromycin in Stool by the Amplidiag H. pylori+ClariR Real-Time PCR Assay. Journal of Clinical Microbiology, 58(4), e01787-19. https://doi.org/10.1128/jcm.01787-19

25. Trung, T. T., Minh, T. A., & Anh, N. T. (2019). Value of CIM, CLO test and multiplex PCR for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection status in patients with gastritis and gastric ulcer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 20(11), 3497- 3502. https://doi.org/10.31557/APJCP.2019.20.11.3497

26. Wang, Y., Liu, L., Liu, X., Wu, K., Zhu, X., Ma, L., & Su, J. (2022). An ultrasensitive PCR-based CRISPR-Cas13a method for the detection of *Helicobacter pylori.* Journal of Personalized Medicine, 12(12), 2082. https://doi.org/10.3390/jpm12122082

27. Moss, Steven F.Dang, Long P.Chua, DavidSobrado, JavierZhou, YiGraham, David Y. et al. Gastroenterología, Volumen 162, Número 7, 2095 - 2097.e2

28. Andrews, C. B., Herzlinger, M. I., & Moss, S. F. (2024, 1 agosto). *Helicobacter pylori* Antimicrobial Resistance and the Role of Next-Generation Sequencing. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11348536/

29. Min, B., Seo, M., Bae, J. H., Kim, J. W., & Kim, J. H. (2024). Development and validation of next-generation sequencing panel for personalized *Helicobacter pylori* eradication treatment targeting multiple species. Frontiers In Cellular And Infection Microbiology, 14. https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1379790

30. Karmakar, B. C., Paul, S., Basak, S., Ghosh, M., Mukherjee, P., Das, R., Chaudhuri, S., Dutta, S., & Mukhopadhyay, A. K. (2023). Development and evaluation of a simple PCR assay and nested PCR for rapid detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* from culture and directly from biopsy samples in India. Gut Pathogens, 15(1), 7. https://doi.org/10.1186/s13099-023-00530-7

31. Li, Y., Lv, T., He, C., Wang, H., Cram, D. S., Zhou, L., Zhang, J., & Jiang, W. (2020). Evaluation of multiplex ARMS-PCR for detection of *Helicobacter pylori* mutations conferring resistance to clarithromycin and levofloxacin. Gut Pathogens, 12(35). https://doi.org/10.1186/s13099-020-00373-6

32. Syahniar, R., Wahid, M. H., Syam, A. F., & Yasmon, A. (2019). Detecting the *Helicobacter pylori* 16S rRNA gene in dyspepsia patients using real-time PCR. Acta Medica Indonesiana, 51(1), 34–41

33. Van den Poel, B., Gils, S., Micalessi, I., Carton, S., Christiaens, P., & Cuyle, P.-J. (2019). Molecular detection of *Helicobacter pylori* and

clarithromycin resistance in gastric biopsies: A prospective evaluation of RIDA®GENE Helicobacter pylori assay. Acta Clinica Belgica, 74(3), 177-183. https://doi.org/10.1080/17843286.2019.1685741

34. Gong, R.-J., Xu, C.-X., Li, H., & Liu, X.-M. (2021). Polymerase chain reaction-based tests for detecting *Helicobacter pylori* clarithromycin resistance in stool samples: A meta-analysis. World Journal of Clinical Cases, 9(1), 133-147. https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i1.133

35. Vagarali, M. A., Metgud, S. C., Bannur, H., & Dodamani, S. S. (2021). A cross-sectional study on molecular detection of *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A and 16S rRNA gene from gastric biopsy specimens. Journal of Global Infectious Diseases, 13(3), 120-125. https://doi.org/10.4103/jgid.jgid_60_20