



1029
UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

GASTRITIS ASOCIADA A
Helicobacter pylori

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :

ELIZABETH MARTINEZ MARTINEZ

Director de Tesis: Q. F. B. Martha Mustre de León

México, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD LA SALLE

SOLICITUD DE AUTORIZACION
PARA LA APROBACION E IMPRESION DE TESIS
(INDIVIDUAL)

C. DIRECTOR GENERAL DE INCORPORACION
Y REVALIDACION DE ESTUDIOS DE LA U.N.A.M.
P R E S E N T E .

Martínez Martínez Elizabeth
 APELLIDO PATERNO APELLIDO MATERNO NOMBRE (S)
 Número de Cuenta : 86427700-2 Alumno de la carrera de : Químico Farmacéutico Biólogo.
 del AREA : Farmacia.
 Solicita la autorización de impresión de la Tesis titulada :
 " Gastritis Asociada a Helicobacter pylori "

OTORGO EL VOTO APROBATORIO. Y
CONFORMIDAD PARA ASISTIR COMO
SINODAL AL EXAMEN PROFESIONAL

México, D.F., 9 de Febrero de 1994.

Elizabeth Martínez
 FIRMA DEL SOLICITANTE

Julio
 Q.F.B. Martha Mustre de León.
 ASESOR DE TESIS
 (NOMBRE Y FIRMA)

[Signature]
 Dr. en C. José Domingo Méndez.
 REVISOR DE TESIS
 (NOMBRE Y FIRMA)

Va. Bn.
[Signature]
 G. M. Teresa Estrada Alvarado.
 DIRECTOR DE LA ESCUELA
 (NOMBRE Y FIRMA)



Hace constar la aprobación de la tesis objeto de esta solicitud, y autoriza su impresión
 Ciudad Universitaria, D.F., 15 de Mayo de 1994
 " POR MI BAZA BAZA EL ESPIRITU "
[Signature]
 NOMBRE Y APELLIDOS
 ING. GILDAURO PÉREZ CAMPANERIZ

**ESTA TESIS FUE ELABORADA EN LOS "LABORATORIOS
CLINICOS REFORMA" BAJO LA SUPERVISION DEL DR.
LEON BESSUDO MADJAR.**

Gracias Señor que me has dado la vida, porque con ella me has brindado la oportunidad de ser dichosa cada instante que tengo para vivirla.

A mis Padres por guiarme durante todo este tiempo; nunca mis palabras serán suficientes para agradecerles todo su amor, comprensión y ayuda. Los amo.

A mis hermanos Soco, Manuel y Pepe, quienes han sido mi más fiel compañía durante todo este tiempo.

A Pedro, por todo el amor y comprensión que me has brindado a lo largo de esta carrera. Espero que sigamos alimentado nuestro amor cada instante de la nueva vida que estamos por comenzar.

AGRADEZCO LA COLABORACION DE:

Dr. Acosta.
Dr. David Bessudo.
Dr. León Bessudo.
Dr. López Reyes.
Dra. Lidia Moreno.
Dr. Eduardo Torices.
Dr. Gerardo Ojeda.
Dr. Everardo Zavala.

	Página.
Indice	1
Indice de Figuras	3
Indice de Cuadros	3
Indice de Tablas	3
Indice de Gráficas	3
Objetivos	4

CAPITULO UNO

Gastritis Asociada a <i>Helicobacter pylori</i>	5
1.1. ¿Qué es Gastritis?	6
1.2. Clasificación actual de Gastritis	7
1.2.1. Vertiente Histológica.....	7
1.2.2. Vertiente Endoscópica	9
1.3. Transmisión de <i>Helicobacter pylori</i>	11
1.4. Gastritis Asociada a <i>Helicobacter pylori</i>	12
1.4.1. El Estómago Humano, un Medio Ambiente ideal para la Supervivencia de <i>Helicobacter pylori</i> ?	13
1.4.2. Alteraciones de la Mucosa Gástrica durante la Colonización por <i>Helicobacter pylori</i>	16

CAPITULO DOS

Bacteriología de <i>Helicobacter pylori</i>	20
2.1. Clasificación Taxonómica	21
2.2. Morfología	23
2.3. Transporte de Muestras Clínicas	24
2.4. Cultivo y Crecimiento	25
2.5. Metabolismo	28

CAPITULO TRES

Diagnóstico e Identificación de <i>Helicobacter pylori</i>	38
---	----

3.1.	Pruebas Invasivas	31
	3.1.1. Técnica Endoscópica	31
3.2.	Pruebas No Invasivas	33
	3.2.1. Pruebas Serológicas	33
	3.2.2. Prueba del Aliento	34
	3.2.3. Prueba en Orina	36
3.3.	Perfil Enzimático	37

CAPITULO CUATRO

Recursos, Materiales y Métodos	40
--------------------------------------	----

4.1.	Recursos	41
4.2.	Cepas	41
4.3.	Método	41
	4.3.1. Estudio Preliminar	43
	4.3.2. Toma de Muestras	43
	4.3.2.1. Prueba Presuntiva	43
	4.3.2.2. Prueba Confirmatoria	44
4.4.	Características de la Población	46
4.5.	Características de la Toma de Muestras Clínicas	46
4.6.	Resultados y Análisis Estadístico	47

CAPITULO CINCO.

Conclusión General	60
--------------------------	----

5.1.	Conclusión	61
------	------------------	----

Referencias Bibliográficas	62
----------------------------------	----

Indice de Figuras.

Figura i.....

Indice de Cuadros.

Características Bioquímicas.....	38
Perfil de Crecimiento.....	47
Perfil de Crecimiento microaerofílico a 37°C en diversos medios de cultivo.....	47
Detección de Actividad de Ureasa.....	48

Indice de Tablas.

Tabla N° 1.....	49
Tabla N° 2.....	51
Tabla N° 3.....	53
Tabla N° 4.....	55
Tabla N° 5.....	57

Indice de Gráficas.

Gráfica N° 1.....	50
Gráfica N° 2.....	52
Gráfica N° 3.....	54
Gráfica N° 4.....	56
Gráfica N° 5.....	58

Objetivos:

- Aislar a *Helicobacter pylori* a partir de muestras gástricas obtenidas por técnica endoscópica.
- Identificar colonial y bioquímicamente al Microorganismo.
- Identificar a *Helicobacter pylori* como agente etiológico asociado a Gastritis Superficial.

Capitulo Uno.
Gastritis Asociada a *Helicobacter pylori*

1.1. ¿ Qué es Gastritis ?

El vocablo Gastritis proviene del griego γαστηρ, γαστρο: estómago; e itis: inflamación. El Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española define a la Gastritis como la inflamación de la mucosa del estómago. Este término fue introducido por Stahl hace más de 250 años para referirse al proceso que se relaciona con la inflamación del tejido gástrico.

Comúnmente los clínicos utilizan el término Gastritis para describir un síndrome caracterizado por sensación de ardor en epigastrio que puede acompañarse de náuseas, anorexia o hiperorexia, con o sin vómitos y algunos síntomas sistémicos como hipotensión arterial o fiebre. Para los gastroenterólogos, la Gastritis es un hallazgo endoscópico o radiológico de especificidad variable que se observa con síntomas clínicos o sin ellos. Para el anatomopatólogo, significa la presencia de células inflamatorias, agudas o crónicas (o ambas), en la mucosa gástrica con las anomalías de la misma o sin ellas⁵⁴.

Dentro de la etiología de la Gastritis, los diferentes estudiosos de la misma, le han adjudicado diversos orígenes desde un punto de vista muy personal; pero a partir de los estudios realizados en 1983 por Marshall y Warren, en donde se establece que *Helicobacter pylori* es

un posible factor etiológico de dispepsia ulcerosa y no ulcerosa, se ha puesto gran énfasis en la investigación de esta enfermedad.

1.2. Clasificación actual de Gastritis.

En el mes de Agosto de 1990 se celebró en Sidney, el Congreso Mundial de Gastroenterología. Allí se presentó una nueva Clasificación de Gastritis realizada por un prestigioso grupo de gastroenterólogos de todo el mundo.

En esta clasificación, los autores han tratado de mantener los conceptos clásica y universalmente aceptados, tomando en cuenta las nuevas aportaciones clínicas, etiopatogénicas, endoscópicas, etc. Dentro de esta clasificación se distinguen principalmente dos divisiones o vertientes: una histológica y otra endoscópica⁴².

1.2.1. Vertiente histológica.

Las Gastritis comprendidas en esta vertiente se denominan según la existencia y en función de tres componentes:

1) El componente central o núcleo, que es aportado por las características cronológicas o topográficas y da el nombre a cada una de las Gastritis, pudiendo ser estas, Gastritis Aguda o Gastritis Crónica, matizando posteriormente la localización (Antral, Corporal o Total). Las formas especiales de Gastritis (Enfermedad de Crohn, Sarcoidosis, Tuberculosis, Gastritis Postgastrectomía, Gastritis Micóticas y Víricas, etc) también constituyen el núcleo de la denominación completa.

2) El determinado por los caracteres histomorfológicos, en los cuales se engloba una serie de lesiones cuantificables -inflamación, atrofia, actividad, metaplasia intestinal, *Helicobacter pylori*- y otras lesiones no cuantificables, tanto específicas como inespecíficas. Para las lesiones cuantificables se establecen cuatro grados: I sin lesiones, II leve, III moderado, IV severo. A continuación del núcleo, los caracteres histopatológicos aportan el primer apellido.

3) El componente determinado por los elementos etiopatogénicos -*Helicobacter pylori* , autoinmunidad,

reflujo biliar, fármacos, tóxicos, etc- cuando son conocidos, constituyen el segundo apellido.

Un ejemplo de este tipo de nomenclatura es:
Gastritis Crónica Antral (núcleo) Activa (primer apellido), asociada a *Helicobacter pylori* (segundo apellido). (Ver Cuadro 1).

1.2.2. Vertiente endoscópica.

La vertiente endoscópica se ocupa de obtener la denominación de cada una de las formas lesionales objetivadas por los endoscopistas, basándose en dos variables: topografía y tipo de alteración.

En cuanto a la topografía, se distinguen, al igual que en la vertiente histológica, una localización antral, corporal y por último <<pangástrica>>. Las lesiones pueden ser eritematosa exudativa, erosiva plana, erosiva elevada, atrófica, hemorrágica, por reflujo biliar, hipertrófica. (Ver Cuadro 1).

A continuación se presenta el cuadro de la clasificación establecida por el Sistema Sidney.

CLASIFICACION DE GASTRITIS. SISTEMA SIDNEY.

VERTIENTE HISTOLOGICA				
OMIOLOGIA	TOPOGRAFIA	LESIONES MORFOLÓGICAS CUMPTIFICABLES (I, II, III, IV) *	LESIONES MORFOLÓGICAS NO CUMPTIFICABLES	FACTORES ETIOLÓGICOS Y/O PATOLÓGICOS ASOCIADOS
Gastritis Aguda	Pangastritis	Inflamación	Específicos	<i>Helicobacter pylori</i>
Gastritis Crónica		Actividad	Granulomas	Autoinmunidad
		Atrofia	Gastrospirillus	Reflujo biliar
		Metaplasia intestinal	Citomegalovirus	Fármacos
			etc.	
	Antro	<i>Helicobacter pylori</i>	No específicos	Tóxicos
			Contenido sucoso	
			Degeneración epitelial	Idiopática
			Displasia foveolar	
Formas Especiales	Cuerpo		Ehms	
			Fibrosis	
			etc.	

VERTIENTE ENDOSCOPICA		
TOPOGRAFIA	TERMINOS DESCRIPTIVOS*	TIPOS ENDOSCOPICOS DE GASTRITIS
Pangastritis	Ehms Eritema Friabilidad Erosiones	Eritematoso-eructiva Erosiva plana Erosiva elevada Atrofica
Gastritis de Antro	Erosión plana Erosión elevada Modularidad Pliegues engrosados Atrofia de pliegues Patrón vascular visible	Hemorrágica Por reflujo biliar Bipatrónica
Gastritis de cuerpo	Manchas de sangre	

* Grados I: sin lesiones; II: leve; III: moderado; IV: severo.

1.3. Transmisión de *Helicobacter pylori*.

Una de las incógnitas más sobresalientes en el estudio de *Helicobacter pylori* es su forma de transmisión.

En las infecciones gastrointestinales una fuente de contagio evidente es la ingesta directa del microorganismo patógeno, de hecho esta forma de transmisión ha sido confirmada exitosamente al ingerirse un inóculo de *Helicobacter pylori* y manifestarse la infección, la cual fue confirmada por medio de estudios histológicos⁴⁶.

Aún asumiendo que la ingesta del microorganismo fuera la vía causal de la infección, todavía es un enigma el vehículo por medio del cual se lleva a cabo ésta. No se conoce un reservorio ambiental para *Helicobacter pylori*. El microorganismo es muy delicado y prefiere medios microaerofílicos y temperaturas estrictas para su crecimiento, aún bajo condiciones controladas en el laboratorio el microorganismo es muy frágil. Debido a lo citado anteriormente se supone que la forma de transmisión más probable, sea directamente de persona a persona o animal a persona.

Algunos investigadores han demostrado alta seroprevalencia en pacientes que habitan en el mismo lugar, y a los que se les ha detectado la presencia del microorganismo³, con lo que también se sugiere una transmisión vía oro-fecal^{35,43}.

1.4. Gastritis Asociada a *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori, una bacteria espiral gram negativa, fue observada por los histopatólogos antes de que pudiera cultivarse y caracterizarse⁵⁰. Normalmente no se encuentra en la mucosa gástrica sana, excepto cuando el estómago tiene otras áreas que muestran algún tipo de inflamación.

Originalmente Marshall y Warren reportaron una alta frecuencia de infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con Gastritis Crónica Activa más que en la Gastritis No Activa⁶⁴; esta fuerte asociación ha sido corroborada por varios autores y por exámenes histológicos realizados con biopsias gástricas.

Se considera de gran importancia, el hecho de que a la mayoría de los pacientes a los que se les ha

diagnosticado la presencia de *Helicobacter pylori*, presenten Gastritis Crónica No Específica (esto es Gastritis Crónica No Específica asociada a *Helicobacter pylori*).

Se ha encontrado que muchas formas de Gastritis epidémicas se asocian con la presencia de *Helicobacter pylori*, razón por la cual se han diseñado un gran número de pruebas, tanto invasivas como no invasivas, para diagnosticar la presencia de este microorganismo, aunque no se han encontrado diferencias entre los síntomas dispépticos en relación con los individuos con y sin la presencia de *Helicobacter pylori*⁵⁵.

Se calcula que el microorganismo se encuentra presente en el 92% de los pacientes con Gastritis, en el 90% de los pacientes con úlcera duodenal y en el 67% con úlcera gástrica³³.

1.4.1. El estómago humano, un medio ambiente ideal para la supervivencia de *Helicobacter pylori*?

Se piensa que la presencia de ácido en el estómago humano juega un papel importante en la protección contra organismos entéricos patógenos del tracto gastrointestinal

bajo, además aumenta la absorción de hierro y calcio y es además una sustancia que estimula la digestión. La mayoría de las bacterias mueren después de 15 minutos cuando se someten a pH 3, y *Helicobacter pylori* no es la excepción. Sin embargo, después de realizar un seguimiento de infección por *Helicobacter pylori* se ha detectado un pH gástrico de 6, lo que sugiere que la actividad de ureasa que posee este microorganismo aumenta el pH gástrico y con ello también aumentan las probabilidades de su supervivencia.

Durante la fase en que el pH gástrico aumenta, el huésped es susceptible a la infección por otros microorganismos, lo que representa un factor de riesgo en la infección con bacterias entéricas, ya que baja el mecanismo de defensa no específico del intestino. La acidez se ve disminuida tanto en volumen como en concentración durante la presencia de *Helicobacter pylori* en el estómago humano.

Parece ser que la infección por *Helicobacter pylori* se encuentra más frecuentemente localizada en el antro gástrico, aunque también se localiza en el cuerpo y fondo gástricos⁵⁸. Microscópicamente, *Helicobacter pylori* se distribuye principalmente en dos áreas de la mucosa gástrica:

a) En el estrato de mucus que cubre la mucosa, en donde se distribuye de forma paralela.

b) En la superficie celular del epitelio gástrico en donde se congrega alrededor de un sitio en específico, como por ejemplo las uniones intercelulares²⁰; se sugiere que esta ubicación se debe a la búsqueda de factores de crecimiento como son hemina y urea, los cuales se localizan en estas regiones²⁷(Ver Figura 1.).

El microorganismo tiene capacidad enzimática para utilizar los factores de crecimiento localizados en estas zonas, por ello las células se multiplican o acumulan en estos sitios. Es aquí en donde empieza el proceso inflamatorio e irritativo de la mucosa, con lo que se liberan más factores para el crecimiento de este microorganismo.

Se ha encontrado que el crecimiento de *Helicobacter pylori* se ve inhibido por concentraciones de bilis, las cuales son toleradas por otras bacterias que se pueden encontrar en el tracto gastrointestinal bajo, es por ello que este microorganismo no se ha podido aislar a partir de biopsias tomadas de intestino. Esta intolerancia puede ser la razón por la cual la mayoría de los pacientes con persistente reflujo biliar son *Helicobacter pylori* negativos⁶³.

Uno de los aspectos más interesantes de *Helicobacter pylori* es su capacidad para sobrevivir a los ambientes gástricos. Esta supervivencia puede atribuirse al desarrollo de diversas características especializadas que le confieren un alto nivel de adaptación en el ambiente gástrico. Entre estas características se encuentran su morfología espiral o helicoidal y la motilidad que le permite el movimiento a través de los ambientes viscosos, como lo es el mucus. A menudo se ha sugerido que la motilidad es esencial para que la bacteria penetre en el estrato mucoso del tejido gástrico o para que pueda resistir la constante actividad peristáltica que amenaza con arrojarlo fuera del tejido gástrico²⁷.

Otro aspecto importante es su microaerofilismo, ya que las concentraciones en la superficie del epitelio gástrico son bajas en oxígeno pero no totalmente anaeróbicas. Estas características, junto con una potente enzima ureasa⁶⁰, la cual puede ser un mecanismo protector durante la colonización inicial, demuestran que *Helicobacter pylori* es un microorganismo altamente adaptado a su medio ambiente, el cual se ve modificado en su presencia³⁵.

1.4.2. Alteraciones de la mucosa gástrica durante la colonización por *Helicobacter pylori*.

Se han encontrado diversas alteraciones ultraestructurales en el epitelio gástrico colonizado por *Helicobacter pylori*, el cual puede mostrar además de una inflamación aguda o crónica, una forma específica de degeneración epitelial caracterizada por pérdida de la mucosa apical de las células epiteliales gástricas, puntos de necrosis, microerosiones, la superficie y punto foveolar del epitelio muestran depleción de la mucosa, existe degeneración de las microvellosidades de las células epiteliales así como del epitelio gástrico que se encuentran en contacto con los microorganismos⁴⁷ y en casos más severos se han observado erosiones y regeneración epitelial en superficies irregulares.

Estos cambios en el epitelio son tan distintivos que pueden servir como criterio histológico para distinguir a la Gastritis Asociada a *Helicobacter pylori*⁵⁵.

Estos factores son probablemente los precursores de la formación de úlceras gástricas, ya que se ha encontrado que la variación en la degeneración epitelial es directamente proporcional al grado de colonización por *Helicobacter pylori*. (Ver Figura 1).

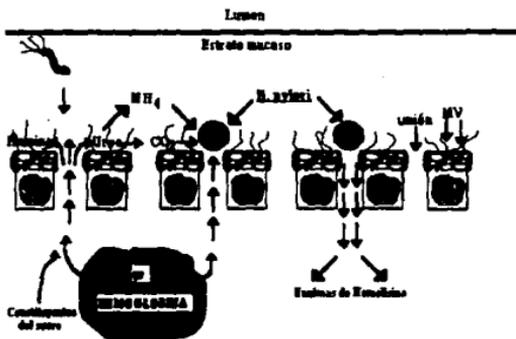


FIGURA 1. Representación de los posibles eventos durante la colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori*.

gr = glóbulo rojo MV = Microvellosidades.

Fuente: Hazell S, Brady L, Hennessey W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: Association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis.* 153:658-63. 1986.

Se ha encontrado que existen tres anticuerpos anti *Helicobacter pylori* (CB-4, CB-10, CB-14), los cuales producen una reacción cruzada con la mucosa gástrica humana y también presentan reacción cruzada con las células gástricas epiteliales de murina⁴⁷; en diversos estudios, se ha encontrado una hemaglutinina fibrilar que se une específicamente a la N-acetilmuramilo lactosa; también se ha reportado el aislamiento de un glicerolípido³⁶, estos hechos sugieren que las reacciones autoinmunes descritas anteriormente, aunados a las enzimas lipolíticas, ureasa y otras toxinas producidas por *Helicobacter pylori* representan el mecanismo patogénico

por medio del cual el microorganismo puede inducir alteraciones patológicas en todo el espesor de la mucosa gástrica, lo que a lo largo de los años pueden convertirse en una involución atrófica⁴⁸.

CAPITULO DOS
Bacteriología de
***Helicobacter pylori*.**

Los científicos han observado microorganismos espirales en la mucosa gástrica de animales^{10,49} y humanos^{18,52} por más de setenta y cinco años, pero no fue hasta los reportes de Marshall y Warren⁶⁴, que éstos se asociaron con Gastritis; de ahí el interés en el estudio bacteriológico de estos microorganismos, especialmente *Helicobacter pylori*, ya que se ha identificado a este microorganismo como bacteria que habita exclusivamente en el estómago humano.

2.1. Clasificación Taxonómica.

Helicobacter pylori fue originalmente colocado en el género *Campylobacter* debido a su morfología en forma de "S" y a que su contenido G+C entraba dentro del rango de este género. El microorganismo fue originalmente llamado *Campylobacter pyloridis*, nomenclatura que fue posteriormente cambiada a *Campylobacter pylori*. Las diferentes especies de *Campylobacter* son patógenas o comensales de una amplia gama de especies animales. *Campylobacter jejuni* es causa común de enfermedades diarreicas en humanos, y otras especies de *Campylobacter* como *C. coli*, *C. fetus*, subespecie *fetus*, *C. hyointestinalis*, *C. lair* y *C. upsaliensis*, también pueden provocar manifestaciones similares.

Recientemente el microorganismo en cuestión fue transferido al género *Helicobacter*²¹, la bacteria puede ser observada o aislada frecuentemente a partir de biopsias gástricas de pacientes que padecen gastritis o úlceras gástricas o bulboduodenales. El microorganismo fue transferido a este género en base a la comparación de la secuencia 16S del rRNA, perfiles de ácidos grasos, reacciones bioquímicas y características morfológicas. Los miembros del género *Helicobacter* son microaerófilos, de superficie celular lisa, tienen una forma espiral y de cuatro a seis flagelos en uno o ambos polos.

El siguiente cuadro muestra algunas de las consideraciones taxonómicas realizadas para clasificar a *Helicobacter pylori*.

Cuadro N°2

Algunas Características Taxonómicas. *Campylobacter*.

***Helicobacter*.**

	<i>C.jejuni</i>	<i>H.pylori</i>	<i>H.mustelae</i>
Contenido G+C	36	36-38	36-41
Ultraestructura			
Membrana Cel.	Rugosa	Lisa	Lisa
Flagelo	Unico	Múltiple	Multibipolar
Bulbo Flagelar	Ausente	Presente	Presente
Glicocalix	Ausente	Presente	Presente
Menaquinonas			
Metilada (MK-6)	25	0	05
(% del total)			
Acidos Grasos			
14:0	5	38	16
16:0	30	5	33

Actualmente se conocen siete especies de *Helicobacter*:

- *Helicobacter pylori*.
- *Helicobacter mustelae*.
- *Helicobacter felis*.
- *Helicobacter nemestrinca*.
- *Helicobacter muridae*.
- *Helicobacter fennellia*.
- *Helicobacter cineadi*.

2.2. Morfología.

Morfológicamente *Helicobacter pylori* es una bacteria curva o espiral gram negativa⁴⁵, pero en cultivo las formas espirales pueden ser pocas o como sucede a menudo pueden estar ausentes. Cuando se observa en microscopía electrónica se pueden apreciar cuatro flagelos (con un rango de tres a cinco) en un polo, aunque las células que se están dividiendo pueden presentar flagelos en ambos lados⁵⁹.

Estudios estructurales demuestran que *Helicobacter pylori* mide 0.5 - 1.0 μm de ancho y 2.5 - 4.0 μm de

largo. Pueden presentarse formas más largas, pero comúnmente esto representa microorganismos en división.

En los frotis, *Helicobacter pylori* habitualmente presenta forma de bacilos rectos o ligeramente curvos, en los que no se detecta ningún flagelo³². Los cultivos que se mantienen por periodos prolongados pueden dar lugar a formas cocoides y los cultivos viejos pueden consistir totalmente de éstas.

La pared celular es lisa y tiende a adherirse a la membrana citoplásmica, lo que no sucede en el caso de *Campylobacter jejuni*, el cual tiene una pared celular rugosa²³.

En los cultivos puros, así como en los especímenes de biopsias, el microorganismo muestra un glicocalix de polisacárido que se encuentra en la parte exterior de la membrana de la pared celular y estructura flagelar. El glicocalix mide aproximadamente 40 Nm de espesor.

2.3. Transporte de muestras clínicas.

Helicobacter pylori puede ser identificado a partir de biopsias tomadas del estómago (comúnmente antro y fondo) y/o del duodeno cuando estas regiones se

asocian con inflamación crónica activa^{7,35}. Una vez tomadas las biopsias se pueden transportar en medios tales como medio de transporte Stuart⁵⁶ o caldo Brucella⁷. Idealmente, las muestras deben ser procesadas dentro de las primeras dos horas después de su obtención, aunque éstas pueden transportarse a temperatura ambiente o a 4°C durante aproximadamente 4-5 horas¹³. El procesamiento inicial de la muestra puede involucrar el trituramiento de la misma, aunque ésta se puede colocar directamente en el medio sin procesamiento previo. Se ha observado que la supervivencia de *Helicobacter pylori* se modifica por la exposición al aire antes de su vaciado en placa, por lo que se recomienda un procesamiento rápido.

2.4. Cultivo y crecimiento.

El cultivo y crecimiento abundante de *Helicobacter pylori* en el laboratorio puede obtenerse con o sin suero de caballo o sangre de cordero, pero adicionando al medio 0.2% de carbón vegetal o 1% de harina de maíz¹¹. El aislamiento primario se ha obtenido en agar BHI y 20% de suero de caballo⁶⁵. También pueden ser empleados Agar Chocolate, Gelosa Sangre y otros medios selectivos tales como el medio de Skirrow ; y diferenciales que utilizan la gran capacidad de ureasa de *Helicobacter pylori* como

característica principal para su elaboración²². En el caso de medios líquidos tales como caldo Brucella, caldo BHI, caldo para Cuenta Estándar, adicionados con suero de caballo (10%) o sangre de cordero (10%), polienriquecimiento (2%) harina de maíz (1%), catalasa, y albúmina es posible tener crecimiento en tubos que contengan 0.5 ml del caldo elegido. La variedad de medios de cultivo utilizados para el crecimiento de *Helicobacter pylori* refleja la falta de conocimiento acerca de los requerimientos nutricionales específicos para el crecimiento de este microorganismo, pero gracias a estos estudios varios principios básicos han podido establecerse.

Se recomienda también el uso de antibióticos en los medios selectivos como vancomicina para la inhibición de bacterias gram positivas, en combinación de trimetropina y polimixina B, ácido nalidíxico, cefsulodina, solos o acompañados para inhibir el crecimiento de bacterias gram negativas y cicloheximida, nistatina o amfotericina B para la inhibición de hongos²², aunque el estudio realizado por Cellini et al¹², demuestra que existe mejor crecimiento en medios no selectivos que en medios selectivos, a pesar de que la placa contenga mayor flora contaminante.

Una vez inoculado el medio de cultivo, es necesario cultivar las placas o tubos en atmósferas microaerofílicas a una temperatura de 37°C, humedad controlada y también se sugiere que el pH inicial del medio sea de 6.8 ± 0.2.

Se ha encontrado que algunas cepas de *Helicobacter pylori* pueden permanecer vivas a pH de 1.5 - 2 en presencia de 5 mM de urea ⁶³, este efecto protector de la urea, no se detecta en *Campylobacter jejuni* al mismo pH. La adición de urea al medio provoca que el microorganismo produzca amoníaco debido a la presencia de la enzima ureasa, lo que le proporciona un microambiente con un pH más alto que el pH presente en el fluido ambiente.

Parece ser que el crecimiento de *Helicobacter pylori* se ve afectado por la presencia de sales biliares al 1% ⁶³. Esto sugiere que las concentraciones de bilis que se encuentran en el duodeno, pueden ser inhibitorias para este microorganismo, sin embargo estudios realizados, reportan el 25% de cepas resistentes a bilis, por lo que este microorganismo puede sobrevivir el pasaje a través del duodeno.

2.5. Metabolismo.

Se ha demostrado que *Helicobacter pylori* produce cierto número de enzimas que incluyen esterasas de ácidos grasos de cadena corta y de cadena larga, entre ellas arilamilasa, aminopeptidasa, alcalin-fosfatasa, catalasa, oxidasa, desoxirribonucleasa, fosfoamidasa, glutamil transpeptidasa, bencil-leucinasa, bencil-cisteinasa, fenilalanin-prolinasa, y la más notable, la ureasa^{33,40,41,44}.

Este microorganismo no es capaz de usar carbohidratos ni fermentativa ni oxidativamente, razón por la que no se conoce el mecanismo metabólico por medio del cual *Helicobacter pylori* obtiene y utiliza carbono, aunque se supone que probablemente utilice aminoácidos, intermediarios del ciclo de los Ácidos Tricarboxílicos (TCA) y lípidos²⁸.

Este microorganismo también es capaz de metabolizar lactato y alanina. Los productos mayoritarios del metabolismo son acetato, succinato, glicina, y citrato. Substratos como α -cetoglutarato, lisina, formato, se metabolizan completamente, pero no se detectan productos metabólicos. Se sugiere que no existe un sistema de transporte de acetato o presencia de acetil-

CoA sintetasa, ya que el acetato marcado con ^{13}C no es metabolizado por *Helicobacter pylori*.

Cuando se añade al medio de cultivo serina, se detecta un aumento en la producción de amoníaco y succinato, lo que sugiere, que además de la actividad de ureasa, *Helicobacter pylori* puede tener un sistema enzimático desaminativo y ruta metabólica vía serina-isocitrato liasa.

Al añadir urea al medio, es posible detectar la producción de amoníaco y bicarbonato, lo que junto con la utilización de formato, sugiere una ruta metabólica activa vía C-1.

CAPITULO TRES
Diagnóstico e Identificación de *Helicobacter*
pylori.

3.1. Pruebas invasivas.

3.1.1. Técnica endoscópica.

A partir de diversos estudios realizados, se ha podido demostrar, que el cultivo bacteriano es el mejor método que se puede utilizar para la detección de *Helicobacter pylori*¹.

Se han utilizado diferentes técnicas endoscópicas de aislamiento para la detección de especímenes obtenidos. Estas técnicas incluyen toma de biopsias, cepillados, aspirados u obtención de jugo gástrico³⁸; de todas éstas, es con las biopsias que se obtienen los resultados más confiables.

Se prefiere que las biopsias se tomen del antro prepilórico (localizado aproximadamente a 5 cm del píloro), aunque también se ha encontrado que este microorganismo invade el cuerpo gástrico⁵⁹, y bulbo duodenal^{5,39}, por ello al tomar muestras de cuerpo y antro, se evitan resultados falsos negativos.

Una vez obtenida la biopsia gástrica, se puede detectar a los microorganismos en preparaciones teñidas y observadas al microscopio. Las tinciones más utilizadas para observar los frotis son: la tinción de Giemsa

ligeramente modificada²⁶ que tiene la ventaja de conservar la morfología bacteriana; la tinción con hematoxilina y eosina; la tinción con plata de Warthin-Starry, la cual puede llegar a ser inespecífica debido a que los precipitados de plata se confunden con la bacteria; la tinción de Gram, en la cual se utiliza como colorante de contraste carbolofucsina^{37,38} y la tinción con naranja de acridina.

Con el propósito de verificar la presencia de *Helicobacter pylori* así como de determinar su susceptibilidad a diferentes antibióticos, es necesario realizar cultivos bacterianos obteniendo las muestras mediante la técnica endoscópica.

Cuando se utilizan buenas técnicas endoscópicas, así como medios de cultivo selectivos y no selectivos, la sensibilidad será igual o mayor al 90%.

Entre las pruebas con biopsias más atractivas, se encuentran las pruebas que utilizan la actividad de ureasa de *Helicobacter pylori* para la rápida detección de este microorganismo^{14,44}.

Cuando se coloca el tejido gástrico en agar o caldo que contenga urea, la presencia de la enzima ureasa provocará hidrólisis de ésta con la formación de iones

amonio, alcalinización y aumento del pH, lo cual podrá ser detectado visualmente cuando se coloca un indicador de pH en el medio como rojo de fenol, el cual virará de un color beige-amarillo a un color rosa-púrpura.

Las pruebas positivas tendrán lugar de 1 a 2 horas después de colocada la biopsia en el medio con urea, rapidez con la cual no actúan las ureasas presentes en otros microorganismos. Para evitar resultados falsos positivos, es necesario que además de realizar estas pruebas, se realicen los cultivos y tinciones correspondientes.

3.2. Pruebas no invasivas

3.2.1. Pruebas serológicas.

La colonización de la mucosa gástrica humana por *Helicobacter pylori* es altamente específica, ya que puede tener una respuesta local o sistémica en el huésped que incluyen la elevación de anticuerpos clase IgG^{2,24} e IgA así como niveles bajos de IgM²⁹.

Las pruebas serológicas tienen la ventaja de no ser invasivas, relativamente simples, rápidas y de bajo costo⁶⁰, además de poderse llevar a cabo durante la

terapia de seguimiento para los pacientes a los cuales se les ha detectado la presencia de este microorganismo.

Se han podido utilizar diversas técnicas serológicas para determinar la presencia de *Helicobacter pylori* como son: fijación de complemento⁶⁶, hemaglutinación, Western blot⁵³, inmunofluoroensayo⁴, ELISA^{4,53}; en las cuales variará la sensibilidad y especificidad de los valores predecibles dependiendo de las preparaciones antigénicas utilizadas así como de los métodos empleados como patrones de referencia.

Es de vital importancia tener cuidado durante la purificación y selección de proteínas específicas para *Helicobacter pylori* con el fin de asegurar que el antígeno no solo sea específico para una cepa de *Helicobacter pylori* si no que se pueda encontrar universalmente en todas las cepas de la especie.

3.2.2. Prueba del aliento.

La potente actividad de ureasa de *Helicobacter pylori* ha permitido desarrollar diversas pruebas no invasivas basadas en la rápida hidrólisis de la urea a bióxido de carbono y amoníaco cuando se pone en contacto con la mucosa gástrica colonizada por el microorganismo. A

diferencia de la prueba directa con muestra de biopsia gástrica, la prueba del aliento tiene su base en la producción de dióxido de carbono marcado¹⁵ con los isótopos ^{13}C o ^{14}C .

El método consiste en administrar urea marcada isotópicamente al paciente, comúnmente después de ayuno de un día y la aparición en el aliento de CO_2 marcado se monitorea con respecto al tiempo utilizando espectrometría gaseosa de masas en el caso de ^{13}C y para el caso de ^{14}C un contador líquido de centelleo que reaccionará equimolarmente en una solución alcalina. Los sujetos sanos expirarán una cantidad constante de aproximadamente 9 mmol/kg/h de CO_2 ⁶².

El resultado se expresa comúnmente como el porcentaje de la dosis total absorbida en el caso de ^{13}C y como porcentaje de la dosis administrada por mmol de CO_2 expirado en el caso de ^{14}C . Se ha podido encontrar que la reproducibilidad de la prueba es satisfactoria para ambos isótopos²⁵, además ambas pruebas miden eficazmente la infección activa o colonización y son muy útiles durante el monitoreo de la respuesta a la terapia así como para el diagnóstico de la infección.

La ventaja que tiene el uso de ^{13}C es que el isótopo no es radioactivo por lo que se puede administrar a niños

y a mujeres embarazadas²⁵, además la recolección de la muestra es mucho más sencilla que para el caso de ¹⁴C. La única desventaja que tiene el uso de ¹³C es su alto costo en comparación con el isótopo de ¹⁴C.

3.2.3. Prueba en orina.

Este es un método que basa la detección de la infección por *Helicobacter pylori* en la utilización de ¹⁵N como trazador. Es un método simple, preciso, sensible, no invasivo y no radiactivo. Puede utilizarse no solo para la detección clínica sino también para el seguimiento de pacientes con la infección y para estudios epidemiológicos³¹.

El método consiste en administrar oralmente, después del ayuno de una noche, 100 ml de glucano al 25% y 15 minutos después ¹⁵N-urea (3 mg de urea por kg de peso corporal). Las muestras de orina se recolectan cada 30 minutos durante 2 h. La concentración del nitrógeno en la orina se mide de acuerdo al método Fern¹⁷. Se obtiene sulfato de amonio a partir del amoniaco de la orina presentes en 10 ml de la muestra por el método de Conway³¹, posteriormente se mide la abundancia de ¹⁵N por medio de un espectrómetro de masas.

En el caso de pacientes con infección por *Helicobacter pylori* la cantidad de amoníaco cuantificada es mucho mayor que en los que no presentan la infección.

Esta prueba tiene la ventaja de no ser radioactiva como en el caso del método con ^{14}C . En comparación con la prueba del aliento ^{13}C , el ^{14}N tiene la ventaja de ser más fácilmente cuantificable, lo que hace que el costo sea mucho menor.

3.3. Perfil enzimático.

Algunos investigadores han utilizado juegos enzimáticos comerciales disponibles para detectar la presencia de enzimas preformadas y uso de sustratos cromogénicos para la identificación de *Helicobacter pylori*^{40,41} debido a la facilidad y accesibilidad de éstos.

Se ha encontrado una producción consistente en todas las cepas de *Helicobacter pylori* de las siguientes enzimas: R-glutamyl aminopeptidasa, leucina aminopeptidasa, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, ureasa, catalasa, oxidasa, deoxiribonucleasa, L-fenilalanin-

L-prolinasa, esterases de ácidos grasos de cadena corta (C-4 a C-10), transpeptidasa y fosfoamidasa.

A continuación se presenta un cuadro de características que hacen posible la rápida identificación enzimática de *Helicobacter pylori*.

Características Bioquímicas de
Helicobacter pylori

Oxidasa	+
Catalasa	+
Ureasa	+
Hidrólisis de Hipurato	-
Reducción de Nitrato (microaeróbico)	-
Producción de H ₂ S en TSI	-
Gammaglutamiltranspeptidasa	+
N-Benzoil-leucina	+
S-Benzil-cisteína	+
L-fenilalanin-L-prolina	+
Fosfatasa ácida	+
Fosfatasa alcalina	+
Esterasa de	
Butirato	+
Valerato	+
Caproato	+
Caprilato	+
Noanoato	+
Caprato	+
Motilidad en caldo BHI	+
Motilidad en placa	-
Crecimiento microaeróbico a 25°C	-

30°C	+
37°C	+
42°C	-
Crecimiento en incubadora de CO₂	+
Crecimiento anaeróbico a 37°C	-
Crecimiento en NaCl al 3.5%	-
0.5% glicina	+
1% glicina	-
1% bilis	-
Crecimiento en agar BHI	+
1% de galactosa	-

CAPITULO CUATRO
Recursos, Materiales y Métodos.

4.1. Recursos.

La parte experimental de la tesis se llevó a cabo en las instalaciones de los "Laboratorios Clínicos Reforma", bajo la supervisión del Dr. León Bessudo Madjar; dentro de estas instalaciones se contó con el material, reactivos, instrumentos, equipo y apoyo necesarios para el desarrollo de la investigación.

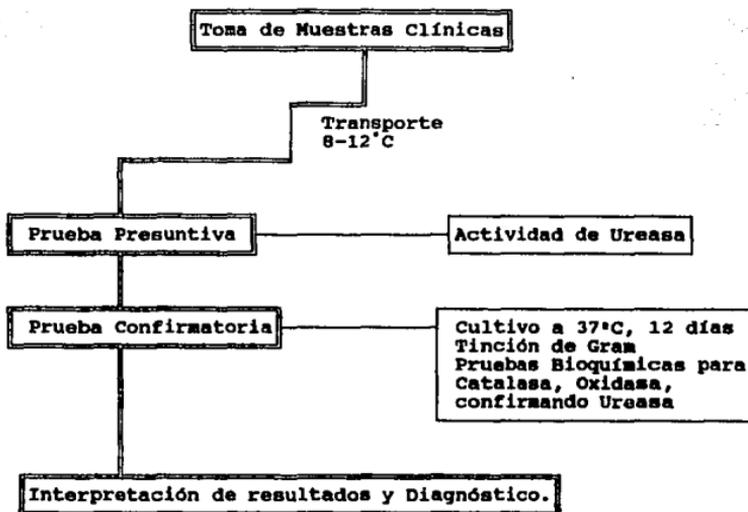
Las muestras clínicas se obtuvieron en el Servicio de Endoscopia Gastrointestinal del Hospital Regional 1º de Octubre del ISSSTE, con la colaboración de los Doctores de este Servicio a cargo del Dr. Everardo Zavala Vivanco; también se obtuvieron muestras clínicas en los Hospitales privados Santa Fe y Durango con la colaboración del Dr. Lopez Reyes y el Dr. Acosta.

4.2. Cepas.

Donadas por el Dr. Guillermo Pérez-Pérez, investigador de la Universidad de Vanderbilt en Los Estados Unidos de Norte América. Se contó para este estudio con tres cepas de *Helicobacter pylori* (88-22, 88-23 y 87-230).

4.3. Método.

La Metodología llevada a cabo se muestra en el siguiente diagrama de Flujo.



4.3.1. Estudio preliminar.

Se realizó un estudio preliminar con 25 muestras proporcionadas en los Hospitales Durango y Santa Fe; así mismo, se realizó un perfil de crecimiento de *Helicobacter pylori* con el propósito de verificar las características típicas de crecimiento del microorganismo.

4.3.2. Toma de muestras.

Los especímenes (biopsias gástricas) fueron adquiridos por medio de la técnica endoscópica en el Servicio de Endoscopia Gastrointestinal del Hospital Regional 1° de Octubre del ISSSTE.

Todos los pacientes se presentaron en ayunas.

Se tomaron dos biopsias gástricas. La primera serviría para la realización de la prueba presuntiva y prueba confirmatoria y la segunda solo para llevar a cabo la prueba confirmatoria.

Los especímenes fueron transportados del Hospital a los Laboratorios Clínicos Reforma en el medio de transporte seleccionado.

Las condiciones de transporte fueron las siguientes.

- Las biopsias fueron transportadas a 8°C-12°C.
- Las biopsias fueron procesadas para cultivo y tinción bacteriológica en no más de cuatro horas.

4.3.2.1. Prueba presuntiva.

La prueba presuntiva tuvo como base la potente actividad de ureasa del microorganismo.

Se sembró una biopsia gástrica de forma inmediata en el medio de cultivo A , el cual es propicio para el crecimiento de *Helicobacter pylori* así como para la identificación de la actividad de la enzima ureasa.

Se tomaron como pruebas positivas aquellas en las cuales se pudo observar que el vire del color del medio (de amarillo a púrpura) se produjo en un tiempo menor o igual a 1:30 h después de sembrada la biopsia. Se realizó un control en el que fue posible observar que la flora contaminante que comparte esta característica (*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas sp.*) hacen virar el medio pasadas ocho horas.

4.3.2.2. Prueba confirmatoria.

La prueba confirmatoria consistió en el cultivo del microorganismo, la observación microscópica de bacterias espirales gram negativas y pruebas bioquímicas positivas para catalasa y oxidasa.

Las biopsias gástricas fueron procesadas en el laboratorio de la siguiente manera:

- La muestra se trituroó en un mortero estéril añadiendo 0.1 ml del medio de transporte, para facilitar la operación.

- En algunos casos se realizó tinción de Gram (colorante de Contraste Carbofucsina) con una mínima porción de la muestra.
- Se sembró el espécimen triturado en placas de Gelosa Sangre.
- Las placas fueron colocadas en Jarras para Sistemas diseñadas para atmósferas especiales (BBL GasPak).
- Las condiciones de cultivo fueron las siguientes:
 - Temperatura de 37°C.
 - Atmósfera proporcionada por Sobres para Sistemas Micoraerofílicos (BBL CampyPak).
 - Se observaron diariamente las placas y tubos inclinados con el propósito de encontrar colonias típicas.
 - Las Placas fueron desechadas después de 12 días de haberse sembrado con el propósito de asegurar el crecimiento bacteriano.
- A las colonias sospechosas se les realizó tinción de Gram utilizando como colorante de contraste Carbofucsina y pruebas bioquímicas para catalasa y oxidasa.

La pruebas se tomaron como positivas si:

- El vire de color del medio para la prueba presuntiva se llevaba a cabo en la primera media hora después de sembrada la biopsia. Esto debido a la dificultad para obtener crecimiento bacteriano.
- Existía presencia de microorganismos espirales gram negativos y vire de color del medio A en la primera media hora, en el caso de haberse realizado frotis.

- Existía crecimiento bacteriano correspondiente a microorganismos espirales gram negativos, pruebas positivas para catalasa y oxidasa.

4.4. Características de la población.

- El tamaño de la muestra fue de 100 pacientes.
- Las edades de la población variaron en un rango de 17 a 94 años.
- 55% de la población era de sexo Femenino. Con un rango de edades de 19 a 94 años.
- 45% de la población era de sexo Masculino. Con un rango de edades de 17 a 90 años.

4.5. Características de la toma de muestras clínicas.

- Todas las biopsias fueron tomadas del antro gástrico.
- El 86 % de las muestras fueron transportadas dentro de los límites de tiempo permisibles.
- Todas las muestras correspondientes a prueba presuntiva fueron llevadas a cabo.
- Todas las muestras correspondientes a prueba confirmatoria fueron procesadas y cultivadas aún cuando estas no fueran transportadas dentro del límite de tiempo permisible.
- Se tomaron dos muestras clínicas estudios normales (sin Gastritis) como controles negativos.
- Se tomó control positivo a la cepa de *Helicobacter pylori* 88-23. Control realizado por duplicado.

4.6. Resultados y Análisis Estadístico.

En el estudio preliminar realizado se Obtuvieron los siguientes resultados:

Perfil de crecimiento a dos temperaturas y dos condiciones atmosféricas.

Crecimiento aerofílico a 37°C	-
Crecimiento aerofílico a 42°C	-
Crecimiento microaerofílico a 37°C	+
Crecimiento microaerofílico a 42°C	-

Perfil de crecimiento microaerofílico a 37°C en diversos medios de cultivo. -(Observación directa) Estudio realizado por triplicado

Medio Base	Sin Enri-queci-miento.	Enriquecido con 1% v/v polienri-queci-miento.	Enriquecido con 10% v/v Suero de caballo.	Enriquecido con 0.2% v/v Harina de Malt.	Enriquecido con 1% v/v Carbón acti-vado.	Enriquecido 10% v/v sangre de cordero.
Caldo Brucella	++	+++	+++	+	+	++
Caldo BHI	-	-	-	-	-	+
Medio de Transporte Stuart	+	+	+	+	-	+
Caldo Nutritivo	+	*	*	+	-	*
Caldo para Cuenta Estándar	+	++	++	+	-	+
Gelosa Sangre	+++	+++	*	+	+	*
Gelosa Chocolate	+	+	*	*	*	*
Medio de Skirrow	-	-	*	*	*	*
Medio de Cultivo A	++	+++	+++	+	-	+

- * No se llevó a cabo.
- + Crecimiento débil.
- ++ Crecimiento medio.
- +++ Crecimiento abundante.

Fórmula Para el Medio de Transporte A.
Según Cellini, et al.

Base Agar Columbia----- 39 g.
 Polienriquecimiento----- 20 ml.
 Rojo de fenol----- 1.2 mg.
 Agar Bacteriológico----- 4 g.
 Urea----- 20 g.
 Hemina* *----- 10 mg.
 Agua destilada----- c.b.p. 1000 ml.

** No se utilizó.

Detección de actividad de ureasa. (Tiempo en que se observa cambio de color del medio).

Caldo Rojo de Fenol Según Christensen	3 horas.
Medio de Cultivo A.	5-20 min.

Una vez obtenidos los datos se eligieron los siguientes medios:

Para el transporte:

Caldo Brucella (Bioxon) enriquecido con 10% de suero de caballo estéril y 1% de polienriquecimiento (Isovitalex, Bioxon).
 0.5 ml en cada tubo con tapa rosca con capacidad para 5 ml.

Para el cultivo:

Gelosa Sangre (Placas), Medio de cultivo A, Tubo con 3 ml de agar inclinado (tubo con tapa rosca con capacidad para 5 ml).

Resultados Correspondientes a la Toma de Muestras Clínicas:

Del total de la población el 79% resultó ser *Helicobacter pylori* positivo.

De esta población se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 1.
Patología Asociada a
***Helicobacter pylori*.**

<u>Número de Casos</u>	<u>Patología Asociada.</u>
34	Gastritis Superficial.
30	Gastritis Atrófica (Crónica)*.
7	Gastritis Erosiva.
4	Gastritis Hemorrágica.
2	Esofagitis Grado III.
1	Gastritis por Reflujo Biliar.
1	Úlcera Gástrica.
-----	-----
79	Total

* Criterio Clínico.

Patología Asociada a
Helicobacter pylori.

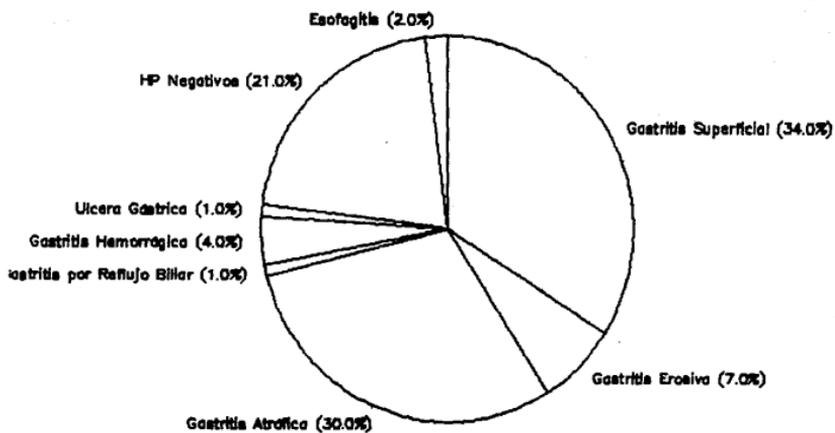
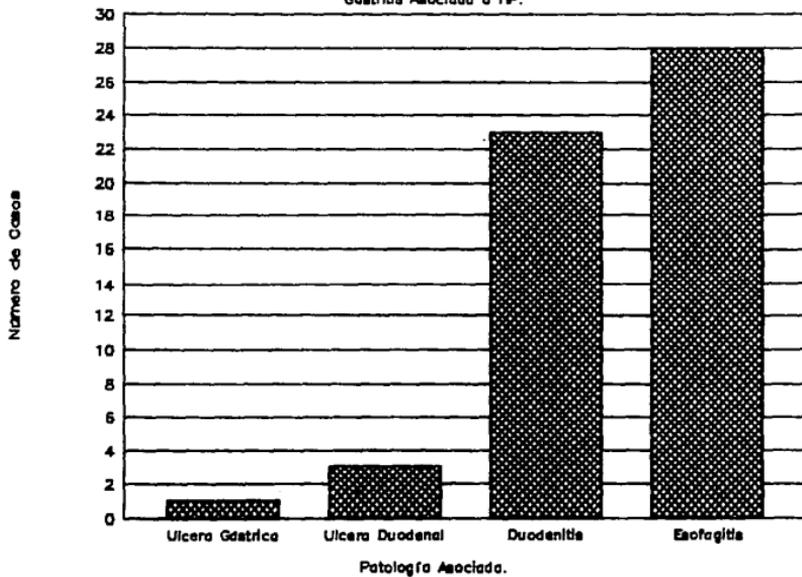


Tabla 2.
Patología que acompaña a la Gastritis
Asociada
a *Helicobacter pylori*.

<u>Número de casos</u>	<u>Patología.</u>
1	Úlcera Gástrica
3	Úlcera duodenal
23	Duodenitis
28	Esofagitis.

Patología que Acompaña a la

Gastritis Asociada a HP.

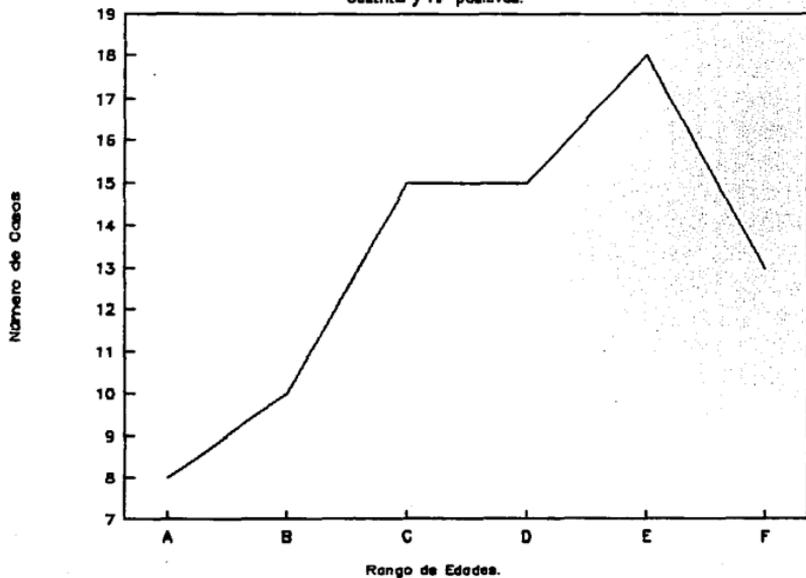


La Frecuencia de Edades en que se detectó la presencia de *Helicobacter pylori* fue la siguiente:

Tabla 3.
Frecuencia de Edades en pacientes
***Helicobacter pylori* positivos.**

<u>Número de casos</u>	<u>Edades (años)</u>
A 8	17-29
B 10	30-39
C 15	40-49
D 15	50-59
E 18	60-73
F 13	74-94

Frecuencia de Edades en Pacientes con Gastritis y HP positivos.



Del total de la población 21% Resultó ser *Helicobacter pylori* Negativo.

De esta población se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 4.
Patología Presente en pacientes *Helicobacter pylori* Negativos.

<u>Número de casos</u>	<u>Patología</u>
13	Gastritis Superficial.
6	Gastritis Atrófica (Crónica).*
1	Gastritis Erosiva.
1	Gastritis por Reflujo Biliar.
-----	-----
21	Casos Negativos.

* Criterio Clínico.

Patología no Asociada a
Helicobacter pylori.

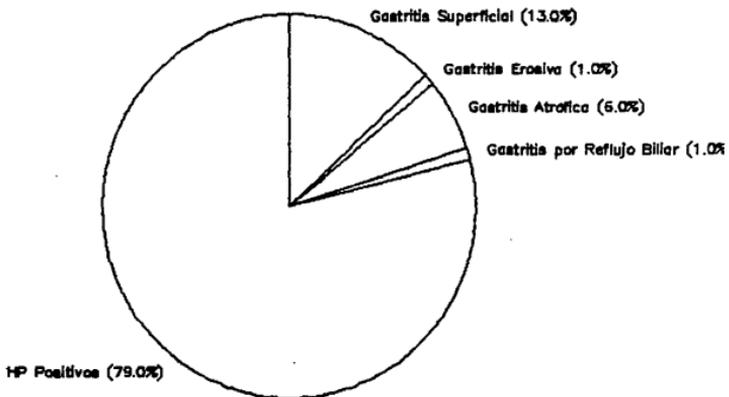


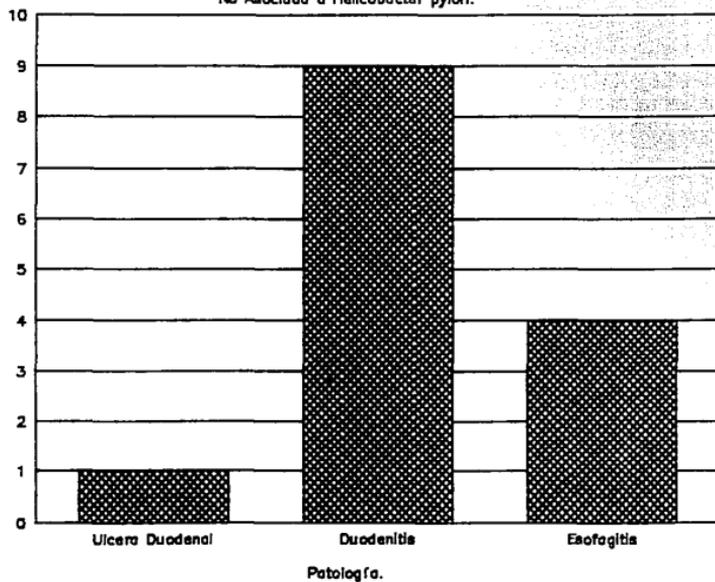
Tabla 5.
Patología que acompaña a la Gastritis no
Asociada a *Helicobacter pylori*.

<u>Número de casos</u>	<u>Patología</u>
9	Duodenitis.
4	Esofagitis.
1	Úlcera Duodenal.

Patología que acompaña a la Gastritis

No Asociada a *Helicobacter pylori*.

Número de Casos



Análisis de Resultados.

- En la mayoría de los estudios Endoscópicos a los que se les diagnosticó Gastritis, fue posible identificar la presencia de *Helicobacter pylori*, con lo que se demuestra que el microorganismo se encuentra fuertemente asociado a esta patología sin hacer distinción de sexo.
- En este estudio se pudo encontrar que acompañan a los diversos tipos de Gastritis Asociadas a *Helicobacter pylori*, diversos hallazgos patológicos (Tabla 1.) como son esofagitis, duodenitis y úlceras tanto gástricas como duodenales, lo que no sucede con gran frecuencia en Gastritis No Asociadas a *Helicobacter pylori* (Tablas 4. y 5.). Debido a lo citado anteriormente se pudo confirmar que el microorganismo encuentra como habitat ideal al epitelio mucoso humano de tipo gástrico.
- De acuerdo a los reportes bibliográficos y conforme a los resultados obtenidos experimentalmente (Tabla 1.), se observa una mayor incidencia de Gastritis Asociada a *Helicobacter pylori* en pacientes a los cuales se les ha diagnosticado Gastritis Superficial Antral (Gastritis Superficial Antral Asociada a *Helicobacter pylori*), seguida en número de Gastritis Atrofica (Criterio Clínico = Crónica), con lo que se corrobora que la Gastritis Asociada a *Helicobacter pylori*, es una Enfermedad de evolución crónica (Tabla 3.), la cual puede provocar en sus fases finales, Atrfia Gástrica y por último, Cáncer.

CAPITULO CINCO

Conclusión General

5.1. Conclusión.

Se cumplieron los objetivos planteados inicialmente ya que:

- Fue Posible Aislar a *Helicobacter pilory* a partir de las muestras clínicas.
- Se logró identificar bioquímicamente (ureasa +, catalasa +, oxidasa +) al microorganismo.
- Se encontró con mayor frecuencia en casos positivos a la Gastritis Superficial Asociada a *Helicobacter pylori*.

Es necesario que en México se desarrollen y validen métodos adecuados para detectar la presencia de *Helicobacter pylori*, con el propósito de identificar al microorganismo y aplicar la terapia medicamentosa adecuada para su correcta erradicación.

De esta manera y contando con el apoyo de los Médicos Gastroenterólogos y Endoscopistas, nos será más fácil dar término a una Enfermedad que lleva ya mucho años afectando a la Sociedad Mexicana.

Referencias Bibliográficas.

- 1 Abdalla S, Marco F, Pérez R, Piqué J, Bordas J, Jiménez M, Teres J. Rapid Detection of Gastric *Campylobacter pylori* Colonization by a Simple Biochemical Test. J Clin Microbiol. 27:2604-2605. 1989.
- 2 Andersen L, Espersen F. Immunoglobulin G Antibodies to *Helicobacter pylori* in Patients with Dyspeptic Symptoms Investigated by Western Immunoblot Technique. J Clin Microbiol 30:1743-1751. 1992
- 3 Berkowicz J, Lee A. Person-to-person transmission of *Campylobacter pylori*. Lancet II. 560-681. 1987.
- 4 Best L, Veldhuyzen Van Zanten S, Bezanson G, Haldane D, Malatlian D. Serological Detection of *Helicobacter pylori* by Flow Microsphere Immunofluorescence Assay. J Clin Microbiol. 30:2111-2117. 1992.
- 5 Bianchi G, Lizzaroni M. *Campylobacter pylori* and Ulcer recurrence. Lancet 539. Marzo 1988.
- 6 Birkhahn R Long, Fitkin, Joevanadam, Blackmore. Whole body protein metabolism due to trauma in man as estimated by L-(¹⁵N)-alanine. Am J Physiol. 241:E64. 1987.

- 7 Blaser Martin J. *Campylobacter pylori* in Gastritis and Peptic Ulcer Disease. Igaku-Shoin. New York. 1989.
- 8 Blaser M. Gastric *Campylobacter*-like organisms, gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterology*. 93:371-383. 1987.
- 9 Bowman and Rand. *Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas*. Interamericana. México, D.F. 1980.
- 10 Bronson M, Schoenknecht F. *Campylobacter pylori* isolated from the stomach of the monkey, *Macaca nemestrina*. *J Clin Microbiol*. 26:1725-28. 1986.
- 11 Buck G, Smith J. Medium supplementation for growth of *Campylobacter pyloridis*. *J Clin Microbiol*. 25:597-599. 1987.
- 12 Cellini L, Allocati R, Piccolomini E, Di Campi, Dainelli B. New Plate medium for growth and detection of urease activity of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 30:1352-53. 1992.
- 13 Coudron P, Kirby D. Comparison of rapid urease tests, staining techniques, and growth on different solid media for detection of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 27:1527-30. 1989.
- 14 Drumm B, Perez-Perez G, Blaser M. Intrafamilial clustering of *Campylobacter pylori* infection. *Gastroenterology*. 96:A130. 1989.

- 15 Eggers R, Kulp A, Tegeler R, Lüdtke F, Lepsien G, Meuer B, Bauer F. A methodological analysis of the ^{13}C -urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infections: High sensitivity and specificity within 30 min using 75 mg of ^{13}C -urea. Eur J Gastroenterol Hépatol. 2:437-444. 1990.
- 16 Fenoglio-Preiser Cecilia M, Lantz Patrick E, Listrom Margaret B, Davis Michael, O'Rilke Franco. Gastrointestinal Pathology an Atlas and Text. Cap 6: The Non-neoplastic Stomach. Reven Press. New York. 1989
- 17 Fern. The excretion of isotope in urea and ammonia for estimating protein turnover in man with ^{15}N glycine. Clin Sci. 61:217-228. 1981.
- 18 Freedberg A, Barron L. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis. 7:443-45. 1940.
- 19 Goldie J, Veldhuyzen S, Jalali S, Hollingsworth J, Riddell R, Richardson H, Hunt R. Optimization of a Medium for the Rapid Urease Test for Detection of *Campylobacter pylori* in Gastric Antral Biopsies. J Clin Microbiol. 27:2080-2082. 1989
- 20 Goodwin C, Armstrong J, Marshall B. *Campylobacter pyloridis* gastritis and peptic ulceration. J Clin Pathol. 10:113-22. 1986.
- 21 Goodwin C, Armstrong T, Chilvers T, Peters M, Collins M, Sly L, McConnwill W, Harper W.

- Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. respectively. Int J Syst Bacteriol. 89:397-405. 1989.
- 22 Goodwin G, Blincow E, Warren J, Waters T, Sanderson C, Easton L. Evaluation of cultural techniques for isolation *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. J Clin Pathol. 38:127-31 1985.
- 23 Goodwin C, McCulloch R, Armstrong J, Wee S. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. J Med Microbiol. 19:257-67. 1985.
- 24 Goossens H, Glupczynski Y, Burette A, Van Den Borre CH, Butzler J. Evaluation of a Commercially Available Second-Generation Immunoglobulin G Enzyme Immunoassay for Detection of *Helicobacter pylori* Infection. J Clin Microbiol. 30:176-178. 1992.
- 25 Graham D., Klein P, Evans D Jr. *Campylobacter pylori* Detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. Lancet 1174-1177. 1987
- 26 Gray S, Wiarr J, Rathbone B., Simplified techniques for identifying *Campylobacter piloridis*. J Clin Pathol. 39:1279. 1986.
- 27 Hazell SL, Lee A, Brady L, Henessy W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association

- with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis.* 153:658-63. 1986.
- 28 Hazell S, Markesich D, Evans D, Evans D, Graham D. Influence of media supplements on growth and survival of *Campylobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 8(7):697-602. 1989.
- 29 Hoek E, Noach L, Rauws A, Tytgat G. Evaluation of the Performance of Commercial Test Kits for Detection of *Helicobacter pylori* Antibodies in Serum. *J Clin Microbiol.* 30:1525-1528. 1992.
- 30 Isselbacher A, Braunwald, Peterdorf. Principles of Internal Medicine. Mc GrawHill, Tokyo. 1980.
- 31 Jicong W, Guolong L, Zhenhua Z, Yanglong M, Qiang Ch, Jingchuan W, Sulong Y. $^{15}\text{NH}_4^+$ Excretion Test: a New Method for Detection of *Helicobacter pylori* Infection. *J Clin Microbiol* 30:181-184. 1992.
- 32 Jones D, Lessells A, Edrudge J. *Campylobacter*-like organisms on the gastric mucosa: Culture, Histological, and serological studies. *J Clin Pathol.* 37:1002-63. 1984.
- 33 Langenber M, Tygat G, Schipper M. *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet* I:1348. 1984.

- 34 Lenette E, Balows A, Hausler W, Shadomy J. **Manual of Clinical Microbiology.** Cap. 27: *Campylobacter*. American Society for Microbiology. Washington D.C. 1985.
- 35 Leung K, Hui P, CHan W, Thomas T. *Helicobacter pylori*- related gastritis and gastric ulcer: A continuum of progressive epithelial degeneration. Am J Clin Pathol. 98:569-574. 1992.
- 36 Lingwood C, Pellizzari A, Law H, Sherman P, Drumm B. Gastric glycerolipid as a receptor for *Campylobacter pylori*. Lancet. 8657:238-41. 1989.
- 37 Madan E, Kemp J, Westblom T, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of Staining Methods for Identifying *Campylobacter pylori*. Am J Clin Patohol. 90:450-453. 1988
- 38 Marshall B, Langton S. Urea hydrolisis in Patients With *Campylobacter pyloridis* Infection. Lancet. 965. Abril 1986.
- 39 Mchenry L, Vuyuru, Shubert M. *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer disease: The somatostatin link?. Gastroenterology. 104:1573-1575.
- 40 McNulty C, Dent J. Rapid Identification of *Campylobacter pylori* (*C.pyloridis*) by preformed enzymes. J Clin Microbiol. 25:1683-86. 1987
- 41 Megraud F, Bonnet F, Garnier M, Lamouliatte H. Characterization of *Campylobacter pyloridis* by

- culture enzymatic profile and protein content. *J Clin Microbiol.* 22:1007-10. 1985.
- 42 Misiewicz J, Tytgat G., Goodwin C, Price A, Sipponen P, Stickland R, Cheli R, The Sydney System . A new Classification of gastritis. World Congresses of Gastroenterology. Working Party Reports 1990:1-10.
- 43 Mitchell HM, Bohane TD, Berkowics J. Antibody to *Campylobacter pylori* in families of index children with gastrointestinal illness due to *C.pylori*. *Lancet* II:681-682. 1987.
- 44 Mobley H, Cortesia M, Rosenthal L, Jones B. Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 26:831-36. 1988.
- 45 Montgomery E, Martin M, Peura D. Rapid Diagnosis of *Campylobacter pylori* by Gram's Stain. *Am J Clin Pathol.* 90:606-609. 1988.
- 46 Morris A, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol.* 82:192-99. 1987.
- 47 Negrini R, Lisato L, Cavazzini L. Monoclonal antibodies for especific immunoperoxidase detection of *Campylobacter pylori*. *Gastroenterology.* 96: 414-420. 1989.
- 48 Negrini R, Lisato L, Zanella I, Cavazzini L, Gullini S, Villanacci V, Polesi C, Albertini A, Ghielmi S. *Helicobacter pylori* infection induces antibodies

- cross-reacting with human gastric mucosa. *Gastroenterology*. 101:437-45. 1991.
- 49 Newell D, Baskerville A. Isolation of gastric *Campylobacter*-like organisms from the stomach of four Rhesus monkeys, and identification as *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol*. 27:41-44. 1988.
- 50 Pearson A, Bamfoth J, Booth L. Polyacrylamide gel electrophoresis of spiral bacteria from the gastric antrum. *Lancet* I:1349.1981.
- 51 Penner John L. *Bacteria*. Cap.39: *Campylobacter*, *Helicobacter*, and Related Spiral Bacteria.402-409.
- 52 Rosenow E, Standford A. The bacteriology of ulcer of the stomach and duodenum in man. *J Infect Dis*. 17:219-26. 1915
- 53 Schaber E, Umlauf F, Stöffler G, Aigner F, Paulweber B, Sandhofer F. Indirect Immunofluorescence Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol*. 27:327-330. 1989.
- 54 Schroeder S, Krupp M, Tierney L. *Diagnóstico Clínico y Tratamiento*. Cap. 11:Aparato Digestivo e Hígado. El Manual Moderno. México, D.F. 1989:362-368.
- 55 Sobala G, Dixon M, Axon A. Symptomatology of *Helicobacter pylori* associated dyspepsia. *Eur J Hepatol Gastroenterol*. 2:445-449. 1990.

- 56 Soltesz V, Zeeberg B, Wadstrom T. Optimal Survival of *Helicobacter pylori* under Various Transport Conditions: J Clin Microbiol. 30:1453-56. 1992
- 57 Stenberg S. **Diagnostic Surgical Pathology**. Cap. 29:Stomach. Reven Press. New York 1989.
- 58 Strauss R, Wang T, Kelsey P. The clinical significance of *Campylobacter pylori* and the importance of fundal biopsies. Gastroenterology 94: A447. 1988.
- 59 Taylor D, Hargreaves, J, Lai-King N, Sherbaniuk R, Jewell, L. Isolation and Characterization of *Campylobacter pyloridis* from Gastric Biopsies. Am J Clin Pathol. 87:49-54. 1987.
- 60 Thomas J, Whatmore A, Kehoe M, Skillen A, Barer M. Assay of urease-inhibiting activity in serum from children infected with *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol. 30:1338-40. 1992
- 61 Tilton R, Balows A, Hohnadel D, Reiss Rs. **Clinical Laboratory Medicine**. Cap 47:Gastrointestinal tract specimens. Mosby Yerar Book, USA .1992.
- 62 Tompkins D, Millar M, West A. Isoelectric focusing of ureases from *Campylobacter pylori* and related organisms. J Clin Microbiol 16:2678-2679. 1988.
- 63 Tompkins D, West A. *Campylobacter pylori* acid, and bile. J Clin Pathol. 40:1387. 1987.

- 64 Warren J, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithellum in active chronic gastritis. *Lancet* 1:1273. 1983.
- 65 Westblom T, Midkiff B, Madan E. Improved isolation of *Campylobacter pylori* from gastric biopsies using a biphasic transport media. *Gastroenterology* . 94:A494. 1988.
- 66 Wulffen H, Heesemann J, Butzow G. Detection of *Campylobacter pyloridis* in patients with antrum gastritis and peptic ulcer by culture, complement, fixation test, and immunoblot. *J Clin Microbiol.* 24:716-720, 1986.