

47
leje.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



**FRECUENCIA DE Helicobacter pylori EN PACIENTES
INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA
INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) DEL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA DEL CENTRO
MEDICO LA RAZA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A :

GUSTAVO PIÑA VARGAS

DIRECTORES DE TESIS :

- QFI. ANDREA A. BECERRIL OSNAYA (FES-C)**
- QBP. EVERARDO ESCAMILLA AVILES (ENCB)**
- DRA. ELENA URDEZ HERNANDEZ (CMR-IMSS)**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO 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 NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Cobalco
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 20 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
Prevalencia de *Mycobacterium avium* en pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) del Hospital de Infectología del Centro Médico la Sagra.

que presenta el pasante: Guillermo Piña Vargas
con número de cuenta: 755575-7 para obtener el TITULO de:
Químico Farmacéutico Bifásico

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Eco. de Méx., a 22 de Septiembre de 1994

PRESIDENTE	<u>R.V.Z. Ricardo Cruz Jiménez</u>	
VOCAL	<u>R.F.I. Andrea Escobedo Conaya</u>	
SECRETARIO	<u>R.F.B. Lidia Avila Nizama</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>R.F.E. Lucinda Hernández Vargas</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>R.F.E. Lucinda Hernández Vargas</u>	

"amor meus, pendus meus"

(el amor mio es la inercia mia; yo voy a donde mi amor me lleva)

San Agustín.

"QUIERO QUE TE SIENTAS TU TAMBIEN FELIZ POR
QUE TE QUIERO!"

G.P.V.

A MI ESPOSA :

Rocio...

con amor por siempre.

A MIS PRECIOSAS HIJAS:

Leslie C. y E. Abigail

por ser como son.

PARA: *Amada Vargas.*

MI MADRE....

por saber esperar.

**Con agradecimiento a quienes con su amistad y enseñanza
me dieron la oportunidad y confianza para realizar
este trabajo.**

--Con respeto al Q. B. P. Everardo Escamilla Avilés.
y a la Dra. Elena Urdez H.

--A la Q.F.I. Andrea Becerril O.
por su disponibilidad y apoyo.

--A mis Sinodales por sus conocimientos
y dirección.

--Con admiración a todos los maestros del
laboratorio de Bacteriología Médica de
la ENCB por su gran profesionalismo.

--A mis compañeros tesistas que compartieron
con migo experiencias de trabajo y amistad:
Lupita, Guille, Dario, Elda, Norma, Paty, Hilda..etc.
a todos ustedes gracias.

"CON TODO MI CORAZON. MI MAYOR GRATITUD"

I N D I C E

HOJA.

1.0.- INTRODUCCION <i>Helicobacter pylori</i>.	1
1.1.- Generalidades	4
1.2.- Taxonomía	4
2.0.- CARACTERISTICAS	9
1.1.- Medios de cultivo y morfología colonial.	9
2.2.- Características morfológicas.	12
2.3.- Características estructurales y antigénicas	15
2.4.- Características bioquímicas.	21
2.5.- Mecanismos de patogenicidad.	
3.0.- IMPORTANCIA MEDICA	26
3.1.- Patogenicidad	32
4.0.- RELACION HUESPED PARASITO	38
5.0.- DIADNOSTICO.	40
5.1.- Endoscopia y diagnóstico microbiológico.	40
5.2.- Diagnóstico serológico.	41
5.3.- Diagnóstico químico.	43
6.0.- TRATAMIENTO.	46
7.0.- EPIDEMIOLOGIA.	49
8.0.- TRANSMISION.	52
9.0.- JUSTIFICACION.	59
10.0.-OBJETIVOS.-	60
11.0.-HIPOTESIS.	61
12.0.-MATERIALES	62
12.1.-Equipos y reactivos	
13.0.-METODOLOGIA.	64
13.1.-Procedimiento.	
13.2.-Técnicas.	
14.0.-DIAGRAMA DE TRABAJO	67

15.0.-ESQUEMA DE IDENTIFICACION.	68
16.0.-RESULTADOS.	69
17.0.-DISCUSION.	80
18.0.-CONCLUSIONES	82
19.0.-BIBLIOGRAFIA.	83

INDICE DE TABLAS:**HOJA**

TABLA No. 1	Estudio de la prevalencia <i>H. pylori</i> en voluntarios asintomáticos donadores de sangre.	3
TABLA No. 2	Gastritis en pacientes infectados con <i>H. pylori</i> .	3
TABLA No. 3	<i>H. pylori</i> en úlcera gástrica y duodenal.	3
TABLA No. 4	Características fenotípicas de diferentes especies de <i>Campylobacter</i> .	6
TABLA No. 5	Organismos gástricos similares a <i>Campylobacter</i> .	6
TABLA No.6	Diferencias ultraestructurales de <i>H. pylori</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>H. mustelae</i> y <i>W. succinogenes</i> .	7
TABLA No. 7	Características bioquímicas de <i>H. pylori</i> y bacterias relacionadas.	7
TABLA No. 8	Características de las especies del género <i>Helicobacter</i> .	8
TABLA No. 9	Especies del género <i>Helicobacter</i> .	8
TABLA No. 10	Crecimiento de <i>Campylobacter pyloridis</i> en varios medios con y sin suplementos.	10
TABLA No. 11	Composición química del Oligosacárido y Lipido "A" de <i>H. pylori</i> .	16
TABLA No. 12	Ureasa purificada de <i>H. pylori</i> .	18
TABLA No. 13	Frecuencia de <i>H. pylori</i> en biopsias gástricas obtenidas por endoscopia en clínicas populares.	27
TABLA No. 14	Detección de infección por <i>H. pylori</i> por tres métodos.	27
TABLA No. 15	Porcentaje de <i>H. pylori</i> y su relación con problemas pépticos.	28
TABLA No. 16	Tratamiento triple para la infección causada por <i>H. pylori</i> .	30
TABLA No. 17	Comparación de técnicas endoscópicas y no endoscópicas en el diagnóstico de infección por <i>H. pylori</i> .	44
TABLA No. 18	Pruebas para la detección de <i>H. pylori</i> .	44
TABLA No. 19	Comparación de métodos para la detección de anticuerpos contra <i>H. pylori</i> .	45
TABLA No. 20	Ensayos terapéuticos a erradicar a <i>H. pylori</i> .	48
TABLA No. 21	Relación de la edad y la prevalencia de infección entre personas sanas en países desarrollados.	50
TABLA No. 22	Relación entre la edad y la prevalencia de <i>H. pylori</i> en personas sanas de países subdesarrollados.	51
TABLA No. 23	Resultados: frecuencia de <i>H. pylori</i> en población VIH (+).	70
TABLA No. 24	Motivos de consulta entre <i>H. pylori</i> positivo y negativos.	71
TABLA No. 25	Antecedentes epidemiológicos entre <i>H. pylori</i> positivos y negativos.	73
TABLA No. 26	Cuadro clínico de los pacientes en el momento del estudio.	75
TABLA No. 27	Estadio clínico (clasificación CDC) de los pacientes en estudio.	77

INDICE DE FIGURAS**HOJA**

FIGURA No. 1	Morfología celular de <i>H. pylori</i> comparada con <i>C. jejuni</i> .	13
FIGURA No. 2	Ilustración del cambio morfológico de <i>H. pylori</i> a forma cocoide.	13
FIGURA No. 3	Fotografía de <i>H. pylori</i> , morfología microscópica en primo aislamiento.	14
FIGURA No. 4	Fotografía de la morfología microscópica de <i>H. pylori</i> en cultivo viejo.	14
FIGURA No. 5	Secuencia de aminoácidos de ureasas bacterianas y de <i>H. pylori</i> .	18
FIGURA No. 6	Diagrama de colonización de <i>H. pylori</i> en la mucosa gástrica.	21
FIGURA No. 7	Características de patogenicidad de <i>H. pylori</i> .	22
FIGURA No. 8	Gráfica de la tasa de recidivas en úlceras duodenales y gástricas.	31
FIGURA No. 9	Ilustración del fondo gástrica normal, gastritis crónica superficial y gastritis crónica atrófica.	33
FIGURA No.10	Fotografía de la mucosa gástrica normal.	34
FIGURA No.11	Fotografía de la mucosa gástrica dañado por la presencia de <i>H. pylori</i> .	34
FIGURA No.12	Relación de la prevalencia de <i>H. pylori</i> y edad en población sana de países desarrollados	50
FIGURA No.13	Relación de la prevalencia de <i>H. pylori</i> y edad en población sana en países subdesarrollados	51
FIGURA No.14	Prevalencia de <i>H. pylori</i> en pacientes con gastritis histológica.	52
FIGURA No.15	Prevalencia de <i>H. pylori</i> en pacientes con síntomas gástricos.	56
FIGURA No.16	Seroprevalencia de <i>H. pylori</i> edad y preferencis sexual.	57
FIGURA No.17	Seroprevalencia de <i>H. pylori</i> edad, sexo y raza.	58
FIGURA No. 18	Gráfica de resultado, los motivos de consulta de los pacientes en estudio.	72
FIGURA No.19	Gráfica de resultados. comparacion de los antecedentes epidemiológicos entre <i>H. pylori</i> positivos y negativos en estudio.	74
FIGURA No.20	Gráfica del cuadro clinico de los pacientes en estudio	76

FIGURA No.21	Gráfica del estadio clínico que presentaron los paciente estudiados.	78
FIGURA No.22	Características endoscópicas encontradas entre los <i>H. pylori</i> positivos y negativos en estudio.	79

RESUMEN

Helicobacter pylori tiene distribución mundial, su prevalencia se incrementa con la edad y los estratos socio-económicos bajos.

Es un bacilo Gram negativo que presenta morfología pleomórfica y posee mecanismos de patogenicidad que le permiten colonizar específicamente la mucosa gástrica de humanos llegando a relacionarse con la gastritis crónica "tipo B" en un 80%, así como en la úlcera gástrica (60%) y úlcera duodenal hasta en un 100%. En México se ha encontrado un 50% de seroprevalencia en niños menores de 5 años con problemas pépticos, el mismo porcentaje se ha encontrado en población asintomática adulta.

Los estudios realizados en pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en países desarrollados han reportado valores de infección por *H. pylori* por debajo de los presentados con población VIH negativo, pero se sabe que estos pueden llegar a presentar las manifestaciones clínicas mas severas por la depresión inmunológica que presentan.

En México no existe estudio en los individuos portadores de VIH que indique la frecuencia de esta infección.

Se estudiaron 89 pacientes VIH positivos a los cuales se les tomo muestras de tracto gástrico por estudio endoscópico, detectando el microorganismo por prueba rápida de ureasa, impronta teñida con Gram y/o cultivo.

Se obtuvo una frecuencia del 39.3% de infección por *H. pylori*, (similar a la reportada en población asintomática en México).

Se concluye que la condición de portador VIH. no es factor de riesgo para la infección por *H. pylori* al comparar las características epidemiológicas entre los *H. pylori* positivo y los *H. pylori* negativo de la población en estudio.

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Bacteriología Médica del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional ; bajo la dirección del Q. B. P. Everardo Escamilla Avilés , de la I.B.Q. Andrea Becerril Osnaya de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y de la Dra. Elena Urdez Hernández del Hospital de Infectología del Centro Médico la Raza.

ABREVIATURAS:

GC.	-----	Gelosa Chocolate.
TM.	-----	Thayer martin.
G+C.	-----	Relacion Guanina -Citosina.
GCLO.	-----	Organismos Gástricos Similares a Campylobacter.
BCC.	-----	Agar Campylobacter Carbón.
PM.	-----	Peso molecular.
PI.	-----	Punto Isoeléctrico.
LPS.	-----	Lipopolisacárido.
MK-6.	-----	Menanquinona metilada 6.
HCl.	-----	Acido clorhídrico.
NLBH.	-----	Hemaglutinina ligada a neuramin-lactosa.
VIH.	-----	Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
SIDA.	-----	Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida.
EIA.	-----	Enzayo Inmunoenzimatico.
CBS.	-----	Subcittrato de bismuto.
BSS.	-----	Subsalicilato de bismuto.
UD.	-----	Úlcera duodenal.

INTRODUCCION

1.0.- INTRODUCCION: *Helicobacter pylori*.-

1.1.0.- GENERALIDADES.

Desde el siglo pasado se ha sabido de la existencia de microorganismos presentes en el estómago, reportados por histólogos al observar muestras de tejido gástrico en autopsias de humanos y animales adultos, poniendo así en duda la creencia de que el estómago era una cavidad estéril debido a sus condiciones enzimáticas y de acidez, además del poco tiempo que permanece el alimento en él y la fuerte actividad peristáltica que presenta.⁽¹⁾

Salomon en 1896, reportó la presencia de *Spirochaetas* en el estómago de animales carnívoros, mientras que se piensa que Kreinitz en 1906 fué el primero en observar bacterias espirales en el estómago humano⁽²⁾. Esto despertaría gran interés de estudio para conocer cual era la relación entre estos microorganismos y el medio ácido gástrico, apesar de que muchos otros investigadores lo atribuían a cambios postmortem.

En 1924 Luck publicó haber encontrado ureasa en la mucosa gástrica de animales, pensándose que esto formaba parte de la secreción normal de moco gástrico, lo que más tarde se pensaría que fuera un mecanismo de defensa de la mucosa contra el ácido existente. Doenges en 1938 trabajando muestras de autopsias de humanos, observó organismos similares a los encontrados anteriormente en la glándula gástrica del *Macacus rhesus* y asociado estos con gastritis. Freedbery y Baron en 1940 por su parte encontraron bacterias en solo 37% de los estudios en autopsias, proponiendo que no se trataba de una contaminación postmortem. Para 1972 ya se conocía claramente el diagnóstico etiológico de la gastritis crónica, lo que ayudo a investigadores tales como Warren a relacionar la presencia de la bacteria (utilizando tinciones de Warthin Storry Silver) con los cambios histológicos presentes: daño de células epiteliales, infiltración de neutrófilos y el incremento en el número de células mononucleares principalmente⁽³⁾.

En 1983 Marshall y Warren investigadores que observaron estrecha relación del microorganismo con la gastritis tipo B, al estar trabajando con muestras obtenidas por endoscopia de pacientes con problemas pépticos lograron por primera vez el cultivo del microorganismo, actualmente llamado *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*), proponiendo que este es un factor importante como agente causal de inicio de enfermedades pépticas y úlcera duodenal^(2, 3). Estudios posteriores comprobaron está relacionado con la gastritis crónica de tipo B llega a un porcentaje de 88%, en la úlcera gástrica alcanza un 64% y en úlcera duodenal hasta un 85% en promedio. También se sabe que puede favorecer la aparición de carcinoma gástrico y dispepsia no ulcerativa^(4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). (TABLAS: 1,2,3)

Helicobacter pylori es una bacteria que para su crecimiento requiere condiciones ambientales microaerofílicas de 5 a 7% de O₂, de 5 a 10% de CO₂ y 80% de N^(12, 13, 14), utilizando medios de cultivo selectivo como por ejemplo Agas Chocolate (con base de GC), Thayer-Martin (TM) y medio de Skirrow entre otros los cuales llevan sangre desfibrinada de 5 a 7%, polienriquecimiento y suplementados con antibióticos como el trimetoprim 5mg. por litro, vancomicina 10mg por litro, sulfato de polimixina B 2500UI. por litro y anfotericina B 2 mg por litro.

El utilizar medios frescos con alta humedad e incubando de 4 a 7 días a 37°C se obtienen colonias traslúcidas de 1 mm. de diámetro lisas y con bordes redondos.

H. pylori presenta pleomorfismo, bacilos en forma de coma, de S, o como alas de gaviotas, de 2.5 a 3.5 μ de longitud por 0.1 a 1 μ de diámetro^(3, 15, 16), no forma esporas, posee de 4 a 5 flagelos polares envainados con terminación bulbar o globular^(4, 17) que forman parte de la pared celular. En cultivos viejos de 3 a 4 pases o de un periodo largo de incubación, la morfología se torna cocoidal^(1, 18), tiene un contenido de guanina-citocina (G+C) de 36 a 38 mol%, tiene gran variedad de enzimas como la ureasa la cual es muy importante por su alto contenido y fuerte actividad hidrolítica. Otras enzimas que presenta *H. pylori* son: fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, DNAsa, gama glutamiltranspeptidasa, lipasa estereasa, proteasa, peróxido dismutasa y catalasa^(12, 19, 20). Además posee una citotoxina extracelular⁽²¹⁾, una mucinasa y adhesinas, características todas ellas que constituyen factor de virulencia, facilitándole la invasión y colonización en el tejido gástrico.

TABLA No. 1 ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN VOLUNTARIOS ASINTOMÁTICOS Y DONADORES DE SANGRE.

CIUDAD	POBLACION	No	RANGO	EDAD	
				PROMEDIO	(%)
Los Angeles	Voluntarios asintomáticos	113*	19 - 91	47	30
Missouri.	Voluntarios asintomáticos	20*	25 - 50	29	20
Netherlands.	Voluntarios asintomáticos.	25*	19 - 47	27	24
Australia.	Donadores de sangre.	767**	18 - 65	ND	20

*Estudio endoscópico.

**Estudio serológico.

TOMADO DE REFERENCIA (1)

TABLA No. 2 GASTRITIS EN PACIENTES INFECTADOS CON *H. pylori*.

AUTOR	GASTRITIS CRONICA ACTIVA		GASTRITIS CRONICA		SIN GASTRIS	
	No	(%)POSITIVOS.	No	(%)POSITIVOS	No	(%)POSITIVOS
Andersen	74	91	16	13	63	2
Buck.	28	64	11	82	7	14
Goodwin.	51	92	23	35	16	6
Jiang	49	90	72	50	15	20
Marshall y Warren	40	95	29	59	31	6
Morris.	28	82	7	14	17	0
Joehonston.	62	94	11	100	11	9
Roskov.	44	80	25	96	50	20
PROMEDIO.		88		55		9

TOMADO REFERENCIA (1)

TABLA No. 3 *Helicobacter pylori* EN ULCERA GASTRICA Y DUODENAL (1)

AUTOR	ULCERA GASTRICA		ULCERA DUODENAL	
	No.	(%)	No.	(%)
Booth.	21	57	32	78
Goodwin.	26	35	12	75
Jiang.	21	86	14	86
Johnston.	---	---	53	85
Langenberg.	3	66	9	100
Marshall.	40	68	70	90
Niemela.	33	58	---	---
Price.	7	57	21	81
Steer.	27	81	35	83
PROMEDIO	178	63.5	246	85

TOMASDO REF (1).

1.2.- TAXONOMIA.

Desde que Dongen en 1938 y Baron en 1940 reportaron la presencia de microorganismos en el tracto gástrico de muestras obtenidas por autopsia, comprobando que no se trataba de simple contaminación ocurrida postmortem y que sin embargo sí existía relación con los pacientes que habían sufrido trastornos pépticos, Varios investigadores interesados se dieron a la tarea de estudiar al microorganismo, pretendiendo primeramente clasificarlo en base a sus características morfológicas dentro de un grupo que permitiera dar un mejor manejo.

En 1975 Streer y Colin-Jone mencionaron que podría tratarse de una *Pseudomona aeruginosa*, pero como la morfología era claramente curva se descarto la idea de inmediato. A este tipo de microorganismos hallados se les conoció con el nombre de "ORGANISMOS GASTRICOS SIMILARES A CAMPYLOBACTER" (GCLO) ⁽²³⁾ basandose simplemente en la morfología espiral que presentaban, a la tinción del Gram negativa y sobre todo a la relación de guanina-citocina (G+C) de 35.7 a 37.1 mol % muy característico del género *Campylobacter*, además de las condiciones microaerofílicas que requería para su crecimiento, logrando esto por primera vez en 1983 por Waren y Marshall en Australia. Basandose solo en esto, se les consideró pertenecientes al género *Campylobacter* llamándole al microorganismo, encontrado en el estómago de humanos, como *Campylobacter pyloridis*, por haberse localizado cerca del esfinter pilórico del estómago. Por acuerdo del "Comite Internacional de Taxonomia" se le cambio el nombre a *Campylobacter pylori* en 1983, aluciendo una incorrección gramatical dentro de las leyes taxónomicas⁽²⁴⁾ (TABLAS: 4 Y 5).

Estudios posteriores realizados por Goodwin y col. en cuanto al perfil enzimático y fracciones mayores ultraestructurales del *C. pylori*, observaron que presentaban muchas diferencias a los que se conocían del genero *Campylobacter*, lo que hizo pensar en que *Campylobacter pylori* no pertenecía a este género⁽²⁵⁾.

En 1986 Goodwin reporta que la menanquinona metilada 6 (MK-6) característica de todos los *Campilobacter* se encuentra ausente en el *Campylobacter pylori*, y que la susceptibilidad a los antibióticos de *C. pylori* es diferente a la de los demás *Campylobacter*.

Así mismo, al estudiar la secuencia del ácido ribonucleico ribosomal 5S y 16S del *Campylobacter pylori* al compararlo con otras especies de *Campylobacter*, indicaba claramente que *C. pylori* podría estar incluido dentro de otro género diferente al de género *Campylobacter*, por lo que algunos autores tales como Thompson, Paris y Romaniuk sugieren que podría incluirse dentro del género de *Wallionella*^{1, 22, 23} al basarse sólo en los estudios filogenéticos que realizaron. Otros proponen para el microorganismo, el género de *Spirillum* por la estructura característica en forma de espiral. Los trabajos de Romaniuk por un lado y Lau

por su parte, probaron con suficientes diferencias de inconsistencia fenotípica, el justificar la separación del genero *Wallionella* de los *Campylobacter*, así como en sus diferencias ultraestructurales que presentan.^(1, 23). Estudios posteriores en cuanto al perfil de ácidos grasos celulares, características de crecimiento, la ausencia de la quinona respiratoria y la capacidad enzimática indicaban claramente que el *Campylobacter pylori* podría ser miembro de un nuevo género⁽¹⁾(TABLAS: 6 Y 7).

En base a lo anterior Goowin y colaboradores en 1989 proponen el nombre de *Helicobacter* para este nuevo género, refiriéndose sobre todo al tipo de morfología helicoidal que presenta, así el organismo encontrado en el tracto gástrico de humanos sería llamado como "*Helicobacter pylori*"^(22, 23)

Estudios que siguieron en busca de posibles vectores, se encontró que en diferentes animales también existían organismos similares, incluyendolos de primera estancia en el grupo de los (GCLO) localizados en la mucosa de gatos, perros, hurones, primates, cerdos, aves y roedores, de los cuales muchos de ellos han caído dentro del género de *Helicobacter* por sus similitudes no solo morfológicas sino también bioquímicas y filogenéticas (en un principio se les llegó a clasificar como subespecies de *Helicobacter pylori*) entre los que se encuentran: *Helicobacter mustelae* aislado del estómago de hurones y del mono rhesus⁽²⁴⁾, *Helicobacter muridae* que coloniza el intestino de roedores⁽¹⁾, *Helicobacter felis* localizado en gatos y perros⁽¹⁾, *Helicobacter nemestrinae* aislado del estómago de *Aigtailed macaque*, *Helicobacter acinonyx* y *Helicobacter cinaedi* aislados originalmente de homosexuales⁽¹²⁾. Muchos de ellos usados como modelo de estudio debido a que los daños a sus huéspedes son similares al que ocasiona *Helicobacter pylori* en humanos^(23, 25, 26). (TABLAS: 8 Y 9).

TABLA No. 4 CARACTERISTICAS FENOTIPICAS DE DIFERENTES ESPECIES DE CAMPYLOBACTER

MICROORGANISMO	CRECIMIENTO (°C)			REACCIONES BIOQUIMICAS							
	25	37	42	Ox.	Ca.	Gl.	Ur.	Nit.	H ₂ S	Hh.	An.
<i>C. pylori</i> .	--	+	--	+	+	--	+	--	+	--	R
<i>C. jejuni</i> .	--	+	+	+	+	--	+	--	+	+	S
<i>C. coli</i> .	--	+	+	+	+	--	--	+	+	--	S
<i>C. fetus</i> .	+	+	D	+	+	--	--	+	D	--	R
<i>C. cinaedi</i> .	--	+	--	+	+	--	--	+	+	--	R
<i>C. fennelliae</i> .	--	+	--	+	+	--	--	--	+	--	S
<i>C. fecalis</i> .	--	+	--	+	+	--	--	--	+	--	D

Ox.= OXIDASA. Nit.= REDUCCION DE NITRATOS. --, = NEGATIVA.
 Ca.= CATALASA Hh.= HIDROLISIS DE HIPURATO S.= SENSIBLE.
 Gl.= GLUCOSA. AN.= ACIDO NALIDIXICO. R.= RESISTENTE.
 Ur.=UREASA. D. = 11 - 59% SON POSITIVAS. + = POSITIVAS. TOMADO REF. (25).

TABLA No.5 ORGANISMOS GASTRICOS SIMILARES A CAMPYLOBACTER (GCLO).

MICROORGANISMO	Co.(°C)	Ox.	Ca.	Hh.	Rn.	Ur	Fa.	Agt.	An.	Ce
<i>C. pylori</i> .	37	+	+	--	--	+	+	+	R	S
GCLO. de cerdo.	37	+	+	--	--	+	+	+	R	S
GCLO. de primates*.	37	+	+	--	--	+	+	+	R	S
GCLO-2	37	+	+	+	--	--	--	ND	R	S
GCLO de hurones.	ND	+	+	--	+	+	+	+	R	S

Co. = CRECIMIENTO OPTIMO. AgT.= ALFAGLUTAMIL-AMINO-PEPTIDASA.
 Ox. = OXIDASA. Ac. = ACIDO NALIDIXICO.
 Ca. = CATALASA. Ce. = CEFALOTINA.
 Hh. = HIDROLISIS DE HIPURATO. R. = RESISTENTE. S. = SENSIBLE.
 Ur. = UREASA. ND.= NO DETERMINADO.
 Fa. = FOSFATASA ALCALINA. **Macacis rhesus* y *M. monestrina* TOMADO DE REFERENCIA (25).

**TABLA No:6 DIFERENCIAS ULTRAESTRUCTURALES DE *H. pylori*, *C. jejuni*,
H. mustelae y *W. succinogenes*. (Ref. 23).**

CEPA	MEMBRANA PARED CELULAR	FLAGELO	CUBIERTA FLAGELAR	BULBO FLAGELO	GLICOCALIX
<i>C. jejuni</i> , NCTC11351	rugosa	unico, bipolar	ausente	ausente	
<i>H. pylori</i> NCTC11637	lisa	múltiples, unipolar	presente	presente	presente
<i>H. mustelae</i> NCTC12032	lisa	múltiples, bipolar y lateral.	presente	presente	presente
<i>W. succinogenes</i> NCTC11488	variable	unico unipolar.	ausente	ausente	

**TABLA No: 7 CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE *H. pylori* Y BACTERIAS
RELACIONADAS. (Ref. 23)**

CARACTERÍSTICAS	<i>H. pylori</i> .	<i>H. mustelae</i>	<i>W. succinogenes</i> .	<i>C. jejuni</i> .
Ureasa rápida	+	+	--	--
Catalasa.	+	+	--	+
Oxidasa.	+	+	+	+
Producción de H ₂ S.	--	--	--	+
Contenido de G+C (mol%)	37	36	47	30 - 38
Ultraestructura	curvado a espiral	recto a curvo	corto - curvo	corto - curvo
Reducción de nitrato.	--	+	+	+
Hidrólisis de hipurato	--	--	--	+
Fosfatasa alcalina.	+	+	--	--
Leucina aminopeptidasa	+	--	+	--
δ- glutamil transpeptidasa.	+	--	--	+
Ac nalidixico (300mcg.)	R	S	R	S
Cefalotina. (300mcg.)	S	R	R	R
Temperatura óptima.	37	37	37	42

TABLA No. 8 CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE LAS ESPECIES DEL GENERO *Helicobacter*. (Ref. 23)

Características	<i>H. pylori</i> .	<i>H. felis</i> .	<i>H. mustelae</i> .
Ureasa rápida	+	+	+
Catalasa.	+	+	+
Oxidasa.	+	+	+
Producción de H ₂ S (TSI)	+	+	+
Contenido de G+C (mol%).	37	42.5	36
Ultraestructura	curvada-espiral.	helicoidal.	tercia a curva.
Reducción de nitratos.	--	+	+
Hidrólisis de lipurato.	--	--	--
Fosfatasa alcalina.	+	+	+
Arginina aminopeptidasa.	+	+	+
Histidina aminopeptidasa.	+	+	+
Lecina aminopeptidasa.	+	+	+
Glutamil transpeptidasa.	+	+	+
Resistencia a:			
Acido nalidixico.	+	+	--
Cefalotina.	--	--	+
Crece en presencia de:			
1% de glicerina.	--	--	--
1.5% de NaCl.	--	--	--
Crece a:			
42°C.	--	+	+
37°C.	+	+	+
27°C	--	--	--

TABLA No:9 ESPECIES DEL GENERO *Helicobacter*. Ref. (26).

GENERO Y ESPECIE	HUESPED	LOCALIZACION
<i>Helicobacter pylori</i> .	Hombre	Estómago
<i>Helicobacter mustelae</i> .	Rata y ratón	Intestino delgado
<i>Helicobacter felis</i> .	Gato	Estómago
<i>Helicobacter nemestrinae</i> .	Cerdo y mono	Estómago
<i>Helicobacter acinonyx</i> .	Leopardo	Estómago
<i>Helicobacter cinaedi</i> .	Hombre	Intestino delgado
<i>Helicobacter fenelliae</i> .	Hombre	Intestino delgado
<i>Helicobacter rappini</i> .	Carnero y perro	Estómago
	Hombre	Intestino delgado

2.0.- CARACTERISTICAS.

2.1.- MEDIOS DE CULTIVO Y MORFOLOGIA COLONIAL.

Uno de los principales problemas a los que se enfrentaron los investigadores del *Helicobacter pylori* fue la dificultad para poder aislarlo y cultivarlo.

En abril de 1982, Barri Marchall y Robin Warren, investigadores del Hospital Royal Perth de Gastroenterología, en el este de Australia, al estar trabajando con especímenes obtenidos del estómago de pacientes que sufrían padecimientos pépticos, lograron por primera vez el cultivo de *Helicobacter pylori* después de 6 días de incubación a 37°C, con una mezcla de aire (25%) y mezcla de gas anaerobio (75%), este último compuesto de 10% de hidrógeno, 10% bióxido de carbono y 80% de nitrógeno utilizando un medio de cultivo de agar chocolate sin antibióticos⁽²²⁾, a diferencia de los intentos anteriores en que solo se dejaban incubando 48 horas.

A partir de este primer aislamiento y conociendo las necesidades nutricionales y ambientales para su crecimiento, varios medios de cultivo selectivos para *Helicobacter* han sido utilizados por los diferentes investigadores para el primoaislamiento y subcultivos, encontrando entre los más utilizados por ejemplo el Agar columbia^(28, 29), Agar base sangre⁽²⁴⁾, Agar infusión Cerebro corazón^(21, 30), Agar chocolate^(21, 32, 33, 34), Agar de Mueller Hinton⁽³⁴⁾, Agar brucella^(31, 35, 36), Agar Thayer-Martin modificado⁽³⁵⁾, Medio de Skirrow's modificado^(37, 38), Agar soya tripticaseína^(21, 29, 30). Estas bases son enriquecidas con sangre desfibrinada de carnero, de caballo, o humana en una concentración de 5 a 10%, adicionando además, polienriquecimiento Isovitalex⁽²¹⁾, carbon activado⁽³⁷⁾, hemina, almidón, etc. con el fin de favorecer más el crecimiento. En primoaislamiento se han suplementado estos medios con antibióticos para preservar el medio de cultivo y evitar el crecimiento de contaminantes, tales antibióticos son por ejemplo : el suplemento de Skirrow (vancomicina, polimixina y trimetoprim)^(17, 22, 39), trimetoprim 5mg/lt., vancomicina 10mg./lt., polimixina 2500UI/lt.⁽¹⁷⁾, anfotericina B 2mg/lt.⁽³⁴⁾, Ac. nalidixico 50mg./lt.⁽³⁶⁾

TABLA No: 10 CRECIMIENTO DE *Campylobacter pyloridis* EN VARIOS MEDIOS CON Y SIN SUPLEMENTOS. Ref.(33)

MEDIO	CRECIMIENTO RELATIVO*					
	CEPA 30			CEPA 38		
	3ª DÍA	5ª DÍA	7ª DÍA	3ª DÍA	5ª DÍA	7ª DÍA
Agar chocolate	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Agar base de GC.	2+	2+	3+	2+	2+	3+
Agar de Mueller-Hinton.	1+	1+	1+	1+	1+	1+
Agar brucela + 5% de suero de caballo	2+	3+	3+	2+	3+	4+
Agar brucela + 1% de suero de caballo.	1+	2+	2+	1+	3+	3+
Agar brucela + 0.1% de almidón.	2+	3+	3+	2+	3+	3+
Agar brucela + 1.0% de almidón.	3+	3+	3+	3+	3+	4+
Agar brucela + 0.1% de mucina gástrica de cerdo.	--	1+	1+	1+	1+	2+
Brucela agar + 0.2% de carbón activado	2+	3+	4+	2+	3+	4+
Agar chocolate + 1% de almidón	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Agar chocolate + 0.2% carbón activado	4+	4+	4+	4+	4+	4+
Agar base de GC + 1% de almidón.	4+	4+	4+	3+	4+	4+
Agar base de GC + 0.2% carbón activado	3+	4+	4+	3+	3+	4+
Agar base GC + 1% almidón+ 0.2%carbón.	4+	4+	4+	3+	3+	4+

*Crecimiento comparado con el obtenido en Agar Chocolate y marcados como sigue: poco crecimiento en el primer cuadrante fue considerado como 1+; Buen crecimiento en el primer cuadrante y poco en el segundo fue considerado como 2+; Buen crecimiento en el primer y segundo cuadrante y poco en el tercero fue considerado como 3+; Buen crecimiento en todos los cuadrantes fue considerado como 4+.

TOMADA DE REFERENCIA (33).

La temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C en condiciones ambientales microaerófilas (5 a 7 % de oxígeno, 5 a 10 % de bióxido de carbono, 80 % de nitrógeno), por un lapso de 4 a 7 días para obtener un crecimiento aceptable.

George E. Buck en 1987⁽³³⁾ estudiando las necesidades nutricionales del microorganismo probó varios suplementos de enriquecimiento encontrando que en los medios simples con Agar soya tripticasa y Agar brucella no crece *H. pylori* mientras que estos mismos medios al suplementarlos con almidón o carbón activado permitía el crecimiento, ya que estos aditivos pueden actuar absorbiendo sustancias tóxicas del medio. Así mismo comprobó que la hemina no era necesaria para obtener buen crecimiento, como se pensaba⁽³³⁾.

Y. Glupczynky probó un medio que sustituía la sangre por suero y carbón activado, al que llamo Brussels Campylobacter Charcoal Agar (BCCA)⁽³⁴⁾ obteniendo mejores resultados que con los anteriores medios ^(40, 37).

En 1987 Dulcine y colaboradores desarrollaron un medio indicador y selectivo para *Helicobacter pylori* al que llamaron Belo Horizonte Medium, con el propósito de mejorar el reconocimiento para una identificación presuntiva y rápida de las colonias de *H. pylori*, la composición de este medio se basa en que se adiciona cloruro de 2,3,5 trifeniltetrazolium 40mg/lit. donde después de la incubación aparecen colonias no hemolíticas pequeñas, redondas, con bordes completos y con un pigmento característico dorado brillante⁽³⁰⁾.

Otro medio indicador es el desarrollado por L. Cellini en 1992, en el que suplementa el medio con urea y rojo de fenol, dando buenos resultados para su identificación aparecen colonias de color rosa debido a los productos de la hidrólisis de la urea sobre el indicador por el pH alcalino formado, obteniendo también un buen crecimiento⁽⁴²⁾.

El utilizar medios frescos y con alta humedad, se obtienen colonias translúcidas de 0.5 a 1.0 mm. de diámetro, lisas y con bordes redondos, ligeramente hemolíticas en medios con sangre al 10% y bajo condiciones de medio ambiente microaerófilas^(1, 24).

2.2.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS.

Helicobacter pylori presenta morfología pleomórfica por que se puede encontrar en forma de bacilo espiral, forma de V o como alas de gaviota. Estudios ultraestructurales han demostrado que posee bordes redondos y con membrana lisa en la pared celular^(11, 13), en cultivos viejos de 3 a 4 pase o de periodos largos de incubación, puede adquirir forma cocoidal^(1, 16, 41). D. M. Jones Explica el fenómeno del cambio morfológico cocoidal del *H. pylori*, mencionando que en la exposición al oxígeno adquiere esta forma como un estado de reposo y de ayuda a la sobrevivencia o cuando las condiciones del medio no le sean favorables; Los flagelos que posee originalmente en posición polar se juntan sobre una misma dirección del cocoidal, la cobertura parece dividirse y suspender el crecimiento celular lo que conduce a plegarse. La forma anormal es producida por una elongación del microorganismo con expansión de la membrana de la pared celular, resultando pliegues y formándose inicialmente como U o V, con gran espacio periplásmico expandido entre los dos brazos llenos de protoplasma, la forma final es esférica⁽¹⁸⁾. Esta forma anormal es probablemente producida por el rompimiento de la capa rígida del péptidoglicano de la pared celular normal, que puede ser debido a alguna deficiencia o inhibición en la síntesis de esta capa causada por sustancias tóxicas del medio⁽¹⁸⁾(FIGURA 2).

Helicobacter pylori no forma esporas y la coloración de Gram es negativa. Posee de 4 a 6 flagelos polares envainados y con terminación bulbar^(4, 17).

Estudios ultraestructurales de los flagelos han mostrado que tienen una medida de 0.5 a 1.0 μ de espesor por 2.5 a 4 μ de largo y que se encuentran situados en un solo polo. El enlace del core flagelar con la membrana citoplásmica se da a través de una inserción sobre un disco basal asociado a esta última, mientras que la cubierta que posee el flagelo es una continuación de la membrana de la pared celular.

Posee fimbrias largas y rígidas con apariencia de pelo, generalmente se encuentran sobre la superficie entera de la bacteria. Las fimbrias también llamadas pilis, son consideradas como organelos de ataque. Presenta fimbrias que son más pequeñas y rígidas que los pilis, se piensa que facilitan la adherencia a las células humanas del tejido gástrico⁽⁴³⁾.

El glicocalix de polisacáridos que posee *H. pylori* in vivo es semejante al de las enterobacterias⁽²³⁾, unidad membránica de cubierta externa a la pared celular que tiene un espesor por arriba de 40 nm. y es menor cuando el microorganismo es cultivado^(23, 31). Tiene la función de mantener la rigidez y forma de la célula. Expone una superficie celular hidrofóbica con una carga negativa⁽⁴⁴⁾, una hemaglutinina fibrilar soluble^(13, 46). Peter Doig ha reportado la presencia de Pilus muy flexibles al ser observado por microscopía electrónica, con un diámetro aproximado de 2 nm. y estrechamente asociado con la pared celular⁽⁴¹⁾.

FIGURA No. 1 ILUSTRACION DE LA MORFOLOGIA CELULAR DE *H. pylori* EN COMPARACION CON *C. jejuni*
MICROSCOPIA ELECTRONICA Ref. (1)

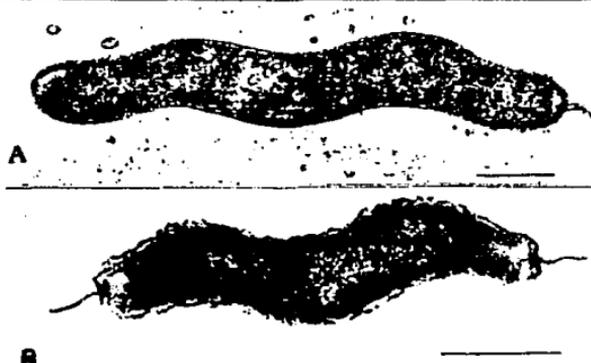


FIGURA 1 Corte longitudinal fino de *C. jejuni* (A) y *C. jejuni* (B) *C. jejuni* tiene una superficie lisa, extremos redondeados y un unico flagelo polar con vaina de cubierta (flecha). *C. jejuni* tiene una pared celular tipicamente gruesa, hendiduras polares y flagelos bipolares sin cubierta (barra = 500 nm) (De Ganswin CS y cols. J Med Microbiol 19:257, 1984)

FIGURA No.2 CAMBIO MORFOLOGICO COCOIDE DE *H. pylori* SEGUN D. M. Jones. Ref. (18)

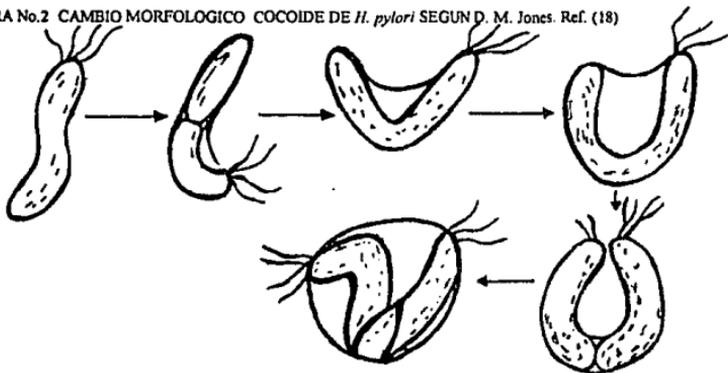


FIGURA No. 3 MORFOLOGIA MICROSCOPICA DE *H. pylori* EN PRIMO AISLAMIENTO

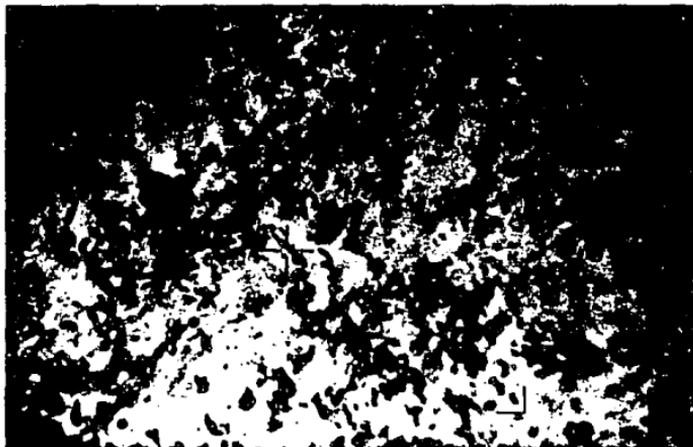
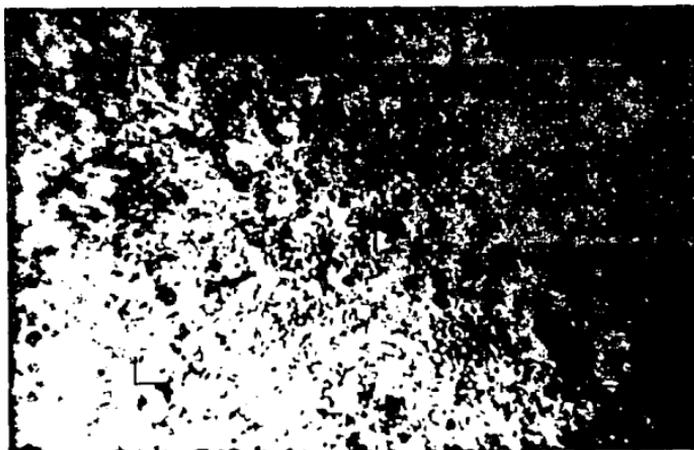


FIGURA No. 4 MORFOLOGIA MICROSCOPICA EN CULTIVO VIEJO DE *H. pylori*.



2.3.- CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES Y ANTIGENICAS.

En 1985 Megraud y colaboradores en estudios realizados con gel de electroforesis⁽³²⁾, reportaron haber encontrado bandas de proteínas mayores con peso molecular de 12000, 17000, 21500, 43500, 58000, 64000 y 74000. Mientras que Guillermo Perez-Perez y colaboradores en 1987 reportan bandas que se presentan en los pesos moleculares de 26000, 29000, 56000 y 62000, al utilizar electroforesis simple, así comprobaron una diferencia en el perfil proteínico al que presentan las especies de género *Campylobacter*.

Helicobacter pylori al igual que otras enterobacterias Gram negativo, tiene presente un lipopolisacárido (LPS) de tipo liso con un patrón típico de lavadero, con gran estabilidad y que parece ser independiente del número de pases "in vitro", aunque en este LPS parece faltarle las diferentes unidades repetidas de sacáridos responsables de la seroespecificidad que se tiene entre los diversos géneros de la familia Enterobacteriaceae⁽⁴⁷⁾.

El uso de suero de conejo inmunizado con células de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter fetus*, se ha observado una actividad inmunológica cruzada de los anticuerpos, reconociendo las proteínas de superficie de *H. pylori* que aparecen en las bandas de 62000, misma banda que corresponde al antígeno flagelar de las especies de *Campylobacter* antes mencionadas⁽⁴⁷⁾.

Bruce Dunn en 1989 utilizando electroforesis de doble dimensión encontro una gran diferencia entre el *H. pylori* y las especies de *C. jejuni* y *C. fetus* debido a que estos últimos carecen de las proteína de la membrana externa encontradas en *H. pylori* que tienen un peso molecular de 41000 a 45000 y por otro lado *H. pylori* carece de la proteína ácida superficial encontrada en *C. fetus* con peso molecular de 100000 a 149000.

Dunn también reveló la presencia de 2 proteínas mayores en *H. pylori* al utilizar I¹²⁵ como marcador de la superficie celular, estas proteínas fueron nombradas como proteína 2 (pI=5.6 a 5.8 y PM= 66000) y proteína 3 (pI=5.2 a 5.5 y PM=63000). Estas proteínas 2 y 3 se han observado presentes también en la enzima ureasa y en el flagelo. Así al parecer la ureasa está presente tanto en la membrana externa como en los flagelos del *H. pylori*⁽⁴⁸⁾. En el flagelo se encontró además la proteína de PM 29000 localizada también en la ureasa .

La proteína 3 y la de PM 29000 tienen reacción antigénica cruzada con anticuerpos de pared celular completa de *C. jejuni* y de *E. coli*, siendo la proteína 2 la única proteína mayor de membrana externa y en ureasa exclusiva de *H. pylori* la cual es altamente inmunogénica y puede ser muy útil para pruebas serológicas específicas para el diagnóstico de infecciones por *Helicobacter Pylori*⁽⁴⁹⁾.

**TABLA No: 11 COMPOSICION QUIMICA DEL OLIGOSACARIDO Y LIPIDO A
DE *H. pylori* NCTC 11637**

CONSTITUYENTE	(nmol/mg) constituyente en fracción de LPS	
	Oligosacárido degradado	Lípido "A"
Carbohidrato:		
fructosa.	5	ND ^b .
D-manosa	63	ND
D-Glucosa	495	ND
D-galactosa	563	ND
D-glicero-D-manno-Heptosa	541	ND
L-glicero-D-manno-Heptosa	814	ND
3-deoxi-D-manno-2-octulosónico ácido	159	ND
D-glucosamina	ND	822
Etanolamina	1,025	6
Acidos grasos:		
Tetradecanoico	ND	35
Hexadecanoico	ND	58
Octadecanoico	ND	557
(R)-Hidroxihexadecanoico	ND	363
(R)- Hidroxioctadecanoico	ND	1,068
Fosfatos:		
Orgánico	662	269
Inorgánico	41	10

TOMADA DE REFERENCIA (33)

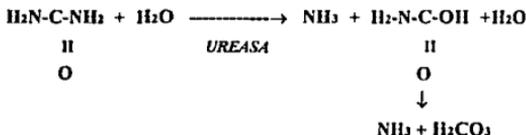
El lipopolisacárido es constituyente característico de las bacterias Gram negativo y muy importante en la estructura y función de la membrana externa, compuesto de un oligosacárido y un componente lípido llamado "Lípido A". Estudios utilizando antiseros para lípido A de *Salmonella* han confirmado la presencia de este en *H. pylori*.^(1,47,49)(TABLA: 11).

Los principales componentes del LPS de *H. pylori* son azúcares como: la fructosa, d-manosa, d-glucosa, d-galactosa, d-glicero-d-mano-heptose, l-glicero-mano-heptose, l-glicero-d-mano-heptose-fosfate, 3-deoxy-d-mano-2-octalasonácido, d-glucosamina, etanilamina, etanolaminafoanfato, etanolaminapirofosfato. Ácidos grasos como: tetradecanoico, hexadecanoico, octadecanoico, (R)-3hidroxiexadecanoico, (R)-hidroxiocadecanoico. Fosfatos orgánico y fosfato inorgánico⁽⁴⁹⁾.

El Lípido A contiene 3-OH 16:00 y 3-OH 18:00 que lo hace característico, la composición de DNA presenta un porcentaje entre 35.7 y 37.1 mol% el la relación de G+C. Carece de la quinona respiratoria Menanquinona 6 (MK-6) metilada que es característico del género *Campylobacter*.

2.4.0.- CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y PERFIL ENZIMÁTICO.

Helicobacter pylori presenta un perfil enzimático que ayuda a su identificación, encontrando a la ureasa como la propiedad enzimática característica por la gran actividad hidrolítica que presenta comparada con la de otros microorganismos, al hidrolizar rápidamente la urea en amoníaco y CO₂.



LA UREASA CATALIZA LA HIDROLISIS DE LA UREA, PRODUCIENDO AMONÍACO Y CARBONATO QUE SE HIDROLIZA EXPONTANEAMENTE A LA FORMA DE ACIDO CARBONICO Y UNA SEGUNDA MOLECULA DE AMONIO.



A pH FISIOLÓGICO EL ACIDO CARBONICO SE DISOCIA Y LA MOLECULA DE AMONIO SE EQUILIBRA CON AGUA PROTONANDOCE, COMO RESULTADO EXISTE UN INCREMENTO EN EL pH.⁽⁵⁰⁾

TABLA No: 12 UREASA PURIFICADA DE *H. pylori* CEPA 84-183.

PASO PURIFICA	ACTIVIDAD ESPECIFICA	PURIFICACION	ACTIVIDAD TOTAL	ENZIMA RECOBRADA
	$\mu\text{mol urea hidrolizada/min/mg.}$	-pacial	$\mu\text{mol/min}$	%
Pared celular.	9.8	1.0	1400	100
Extracto acuoso	42.1	4.3	1067	76.2
Superose 12	203.0	20.7	677	48.4
Spherogel TSK-1EX.	1100.0	112.0	186	13.3

TOMADA DE REFERENCIA (33)

FIGURA No: 5 SECUENCIA PARCIAL DE AMINOACIDOS DE LA SUBUNIDAD MAYOR DE UREASAS BACTERIANAS Y UREASA DE SOYA.

<i>H. pylori</i>	MEKISRKEYVSMYGPTTGDE	62000 Mr.
<i>Jack beam.</i>	NTVIHRKEYANKYGPTTGDE	97770 Mr.
<i>K. pneumonie.</i>	-SNISRQAYADMFGPTVGDE	70000 Mr.
<i>P. mirabilis.</i>	MKTISRQAYADMFGPTTGDR	73000Mr.

TOMADA DE REFERENCIA (33)

Bruce Dunn⁽⁴⁴⁾ caracterizó la ureasa *H. pylori* reportando un Km de 0.3+/-1mM. con V_{max} de 1100 +/- 200 micromol de hidrólisis de urea/ min./ mg. de proteína a 22 °C en 31 mM Tris-HCL, pH 8.0. El punto isoeléctrico pI de 5.99 +/- 0.03. peso molecular de PM 380000+/-30000 Dalton conteniendo subunidades con valores de Mr 62000+/-2000 , 54000+/- 2000 y 30000 +/-1000, La subunidad de Mr62000 de *H. pylori* con una secuencia parcial de aminoácidos de 17 residuos presentó un 76% de homología con la subunidad de Mr 90000 de la ureasa de Jack bean y un 65% con la secuencia aminoterminal de la subunidad de Mr73000 de la ureasa de *Proteus mirabilis*, y la subunidad de Mr72000 de *Klebsiella aerogenes*. En cuanto a la subunidad menor de la ureasa de *H. pylori*, Mr3000 con 20 residuos, presentó de 60 a 65% de homología con la secuencia aminoterminal de la subunidad Mr11000 de *Proteus mirabilis* y de Jack bean^(51, 61, 64)(FIGURA 5).

La actividad de la ureasa en un lisado de *H. pylori* vario de 3.3 a 25.5 micromol de urea hidrolizada por minuto/mg de proteína^(51, 64).

Harry L.T. Mobley en su estudio de caracterización reporta un promedio de velocidad de hidrólisis de la urea al medir el NH₃ de entre 36+28 micromol de NH₃ por minuto por mg de proteína, lo doble cuando se comparo con la actividad de la ureasa de *protues mirabilis* , y 10 veces más que con ureasa de otras bacteria⁽⁷²⁾. Reportando un peso molecular de 625000 al utilizar cromatografía de columna con un punto isoeléctrico pI de 5.9, Km de 0.8 mM urea a una temperatura óptima de 45°C y pH óptimo de 8.2.

La estabilidad enzimática se encontró que la célula de *H. pylori* lisada presenta un 50% de la actividad inicial después de 6 días y el 40% a los 18 días después de haberse almacenado a 4°C en solución de fosfato de sodio 20mM a pH de 6.8. Al almacenarla a -70°C por 18 días en 1mM EDTA y en 15% de glicerol se mantuvo el 40 % y 34% de actividad inicial respectivamente.

Una caracterización inmunológica por análisis de Western blott, utilizando antisuero contra la proteína 2 y contra la proteína 3, se observó el reconocimiento de la subunidad de la ureasa de Mr62000 y Mr54000 respectivamente lo que sugiere que la ureasa se presenta localizada como constituyente de la pared celular⁽⁴¹⁾, comprobando esto P.R. Hawtin en 1990 al utilizar anticuerpos monoclonal anti ureasa y localizarla en la superficie de la célula⁽³⁹⁾.

Helicobacter pylori también tiene actividad de oxidasa y catalasa característica del género *Campylobacter* enteropatógenos, la reacción de catalasa que produce es mucho más fuerte que la de las especies de *Campylobacter*, lo que la hace importante como agente etiológico en la gastroenteritis de humanos, permitiendo el crecimiento y sobrevivencia en la superficie de la mucosa inflamada, la catalasa es soluble y puede ser distribuida a través de citosol y entre los espacios periplasmáticos. La caracterización de la catalasa presenta un Mr5000, con actividad en un amplio rango de pH entre 5.25 a 8.95, el punto isoeléctrico es de 9.0-9.3 y parece ser única, es estable al calor 56°C durante 60 minutos, Km de la catalasa purificada va

de $43 \pm 3 \text{ mM-H}_2\text{O}$ y $V 60 \pm 3 \text{ mM H}_2\text{O}_2 / \text{min/mg}$ de proteína⁽²⁰⁾. Los estudios realizados por Stuart L. Hazell en 1991⁽²⁰⁾ reportó que es indirectamente sensible al daño oxidativo.

Otras enzimas importantes de *Helicobacter pylori* que le completan el perfil bioquímico característico y que es útil para su identificación^(1, 25, 40): Capacidad de producir sulfuro de hidrógeno que es detectable al utilizar papel impregnado con acetato de plomo, produce fosfatasa alcalina, DNAsa, no fermenta carbohidratos ni reduce el nitrato a nitritos, no hidrolisa el hipurato y es inhibido en medios que contienen 1% de bilis y más del 1.5% de NaCl.

Helicobacter pylori es un organismo aerobio obligatorio, pero que no crece en presencia de presión normal de aire-oxígeno. W. Bar al ensayar con moléculas orgánicas (fumarato, succinato, piruvato, malonato y lactato) al utilizarlas como donadoras de electrones (e^-), determinando el flujo de e^- y midiendo el consumo de O_2 del medio se midió la energía producida con la concentración de ATP, reportando así una actividad respiratoria del *H. pylori* de entre $15 - 30 \text{ mol O}_2 / \text{min./mg}$.⁽⁵²⁾

2.5.- MECANISMOS DE PATOGENICIDAD.

2.5.1.- Motilidad

Helicobacter pylori posee de 4 a 6 flagelos envainados que se encuentran localizados en uno de sus polos y pueden ser observados bajo microscopia de contraste de fases. En los aislados clínicos frescos se ha observado una alta motilidad del microorganismo, característica que le permite desplazarse fácilmente en el medio viscoso de la capa mucosa que cubre la mucosa del epitelio gástrico, además esta característica le proporciona gran flexibilidad ya que puede adoptar una posición paralela con respecto a los filamentos del moco^(17, 30, 33) y que con ayuda de estímulos quimiostáticos⁽¹⁷⁾ llegan a ubicarse cerca de las intersecciones celulares (sin invadir la célula directamente) obteniendo en este sitio los nutrientes y los factores de crecimiento que requiere⁽³⁴⁾ (FIGURA 6).

Stuart I. Hazell en 1986⁽³⁴⁾ demostró en vivo la motilidad de *H. pylori* en aislados de muestras clínicas en una solución de metilcelulosa y variando la viscosidad encontró que *H. pylori* se mueve mucho más libremente en la solución viscosa que otros microorganismos de motilidad típica como por ejemplo *E. coli*. Examinación de especímenes de biopsias de humanos revelan que la morfología espiral de la bacteria es más pronunciada en células libres en el moco⁽³⁵⁾.

FIGURA No.6 DIAGRAMA DE COLONIZACION DE MUCOSA GASTRICA POR *H. pylori*. LA MOTILIDAD DEL MICROORGANISMO LE CONFIERE GRAN DESPLAZAMIENTO ATRAVES DE LA VISCOSIDAD DE LA CAPA DE MOCO GASTRICO, CON AYUDA DE FACTORES QUIMIOSTATICOS LLEGA A LA MUCOSA DONDE OBTIENE LOS NUTRIENTES NECESARIOS PARA COLONIZAR. Ref (34)

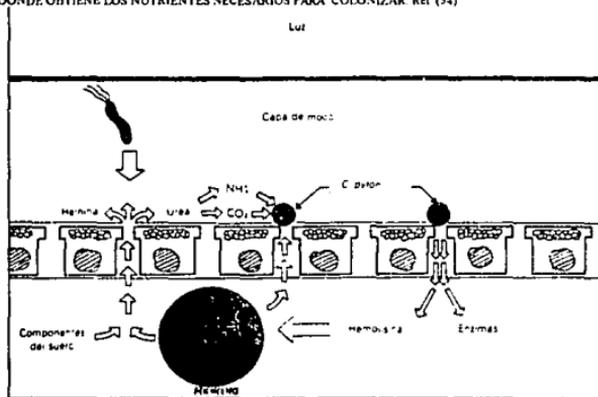
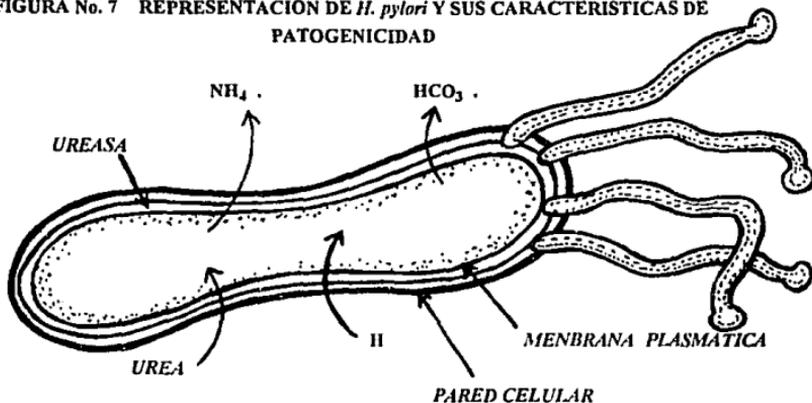


FIGURA 6 Representación esquemática de la colonización de la mucosa gástrica por *C. pylori*. El organismo móvil se trasladó rápidamente a través del moco viscoso hacia los factores de crecimiento quimiostáticos urea y hemoglobina presentes en las interfases del moco gástrico. Los ácidos del estómago se neutralizan por la actividad de la ureasa y la hemoglobina estimula el crecimiento del moco. Los nutrientes por células inflamatorias y la liberación de enzimas no digestivas como respuesta a la infección por el organismo, ayudan a la bacteria gástrica. Tomado de HAZELL SI, y cols. J Intern. Dis 1986; 10:47.

FIGURA No. 7 REPRESENTACION DE *H. pylori* Y SUS CARACTERISTICAS DE PATOGENICIDAD



MARVIN TURK. "The New Taxonomy in Infections"
Hospital Practice. JUNE 15, 1989: 109-112

2.5.2.-Adherencia.

En infecciones de humanos *Helicobacter pylori* solamente coloniza las células epiteliales del tracto gástrico. Cuando coloniza duodeno generalmente lo hace en sitios de metaplasia gástrica en donde se encuentran células típicas gástricas en duodeno⁽⁶⁾ y cuando existe metaplasia intestinal, que son áreas de mucosa intestinal en el estómago, el *H. pylori* no coloniza estas células, solamente las células gástricas adyacentes⁽⁶⁰⁾.

Observaciones sobre la adherencia sugieren que existe la presencia de una adhesina que esta involucrada en este fenómeno. Se incluye posiblemente receptores específicos con interacción receptor-ligando, hidrofobicidad del epitelio gástrico, la producción de nutrientes específicos por el epitelio gástrico y las características del moco producidas por estas células⁽³⁾.

Si no existiera tal mecanismo sería el microorganismo lavado del tracto gástrico como resultado de la poderosa actividad peristáltica que este órgano presenta⁽¹⁾. Se piensa que una estructura externa en la

superficie de la bacteria es esencial para la adherencia ya que la bacteria ataca el tejido gástrico, primeramente en base a estructuras superficiales como son los flagelo, fimbrias o fimbrias^(1, 34)

Lingwood reportó que un glicopéptido fosfatidiletolamina es un receptor localizado en células del tracto gástrico que se enlaza al *H. pylori*. Piotrowski por su parte reporta que la base de la membrana celular del microorganismo es la responsable del enlace por las hemaglutininas que posee, aunque algunos otros sugieren que el pilus del *H. pylori* puede ser la adhesina.

Helicobacter pylori se une a varios tipos de células de mamíferos "in vitro" incluyendo no humanos y células no gástricas. R. D. Leunck al estudiar diferentes líneas celulares, determinó que *H. pylori* posee la habilidad de adherirse a ciertas líneas celulares y a eritrocitos⁽⁵⁶⁾ nombrando a estas adhesinas como "hemaglutinina ligada a neuromin-lactosa" (NLBH) y que es la que le da la capacidad para reconocer y atacar con ayuda de ciertos mecanismos quimiotácticos, a las moléculas que presentan derivados de ácido neuromínico y derivados de galactosa, ambas moléculas se encuentran asociados a glicoproteínas de células de mamíferos⁽⁵⁷⁾.

Estudios posteriores realizados por A. Roseu⁽⁵⁸⁾ sugieren que receptores celulares para *H. pylori* se encuentran presentes solo en humanos y en algunos animales susceptibles a este microorganismo, probando con líneas celulares de diferentes animales, lo que explica la marcada propiedad que posee *H. pylori* para adherirse y colonizar la mucosa gástrica en humanos^(58, 59) y que algunos factores ecológicos y metabólicos contribuyen para que en humanos se de exclusivamente la infección^(1, 61).

2.5.3.- Ureasa.

Una de las propiedades que contribuyen más a la patogenicidad del *Helicobacter pylori* es la producción de ureasa, por su gran contenido y su fuerte actividad enzimática que presenta para hidrolizar la urea en CO₂ y NH₃^(62, 63, 64). Esto le permite sobrevivir en el medio ácido del estómago, el amoníaco producido forma una capa protectora que rodea al microorganismo y neutraliza la acidez del jugo gástrico y el efecto bactericida, permitiéndole al *H. pylori* poder llegar más fácilmente a la parte inferior de la capa mucoide. El amoníaco producido también es capaz de causar efectos tóxicos a las células de la mucosa cercana a donde *H. pylori* se implanta. Esto provoca que las microvellosidades se destruyan y por consiguiente el impedimento de la producción y secreción de moco^(61, 55). Por otro lado el amoníaco también estimula la producción de ácido gástrico (HCl) de las células gástricas por una estimulación de la gastrina lo que provoca aumento en el riesgo de formación de úlcera en la mucosa.

Se ha localizado la ureasa como una fracción formadora de la superficie celular y se le relaciona con la proteína 2 de la membrana celular y flagelar^(19, 48, 55).

2.5.4.- Catalasa.

La catalasa de *Helicobacter pylori* al igual que en otras bacteria que producen esta enzima, les confiere importante mecanismo de protección contra los efectos dañinos del peróxido de hidrógeno endógeno producido durante el proceso inflamatorio del tejido a causa de la infección^(19, 20, 55) y como una respuesta local, predominando leucocitos polimorfonucleares. Así la catalasa forma factor importante de virulencia y presenta

una estabilidad similar a la observada en otros microorganismos tales como *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, pero la distingue de estas por que mantiene su capacidad activa en un gran rango de pH entre 6.1 y 9.1⁽²⁰⁾. La capacidad de la rápida descomposición del peróxido de hidrógeno puede ser una gran ventaja del *H. pylori* para colonizar la mucosa gastroduodenal y protegerse de la respuesta primaria de las células epiteliales del estómago humano al inducir la inflamación y la infiltración de linfocitos polimorfonucleares que realizan H₂O₂ como parte de su respuesta antimicrobiana⁽⁵⁵⁾.

2.5.5.- Citotoxina.

Helicobacter pylori produce una citotoxina que fué detectada por su habilidad para inducir vacuolaciones en los cultivos celulares. Esta toxina parece ser un tipo nuevo de toxina bacteriana ya que al probar otras toxinas enteropatógenas, no producen vacuolación aunque, sean similares en cuanto a la estructura y mecanismo de acción⁽⁵⁹⁾.

Su patogenia se ha comprobado al inducir la vacuolación celular "in vivo" en cerdos infectados con *H. pylori*, que son daños similares a los observados en humanos. Se ha comprobado la producción de la citotoxina "in vivo" por pruebas de neutralización de la actividad, al utilizar sueros de individuos infectados. Sin embargo se sabe que no todas las cepas de *H. pylori* producen citotoxina encontrándose solo en el 50 al 60 % de los aislados^(56, 63, 70).

Figura y col. reportaron que al aislar *Helicobacter pylori* en personas con enfermedad de úlcera péptica, que el 67% de las cepas aisladas producen citotoxina, mientras que en personas con gastritis solamente el 30% de las cepas aisladas^(21, 65, 67, 70).

Esta citotoxina es lábil a 70°C por 30 minutos, además de ser sensible a la tripsina, a la proteinasa K^(71, 65).

2.5.6.- Proteasa.

Sarosiek observó que *H. pylori* produce un factor que es capaz de degradar las mucinas (glicoproteínas). La enzima es una peptidasa general y puede alterar moléculas de mucina⁽¹⁾.

La proteasa de *H. pylori* provoca efectos adversos en el moco de las células gástricas al causar disminución de la cantidad y la viscosidad. La incubación de un filtrado de *H. pylori* condujo a una disminución de un 35% de la viscosidad después de 48 horas⁽¹⁾. Esta proteasa al disminuir la viscosidad le permite al microorganismo desplazarse más rápido hacia las intersecciones celulares por debajo de la capa del moco, por lo que es un factor importante de patogenicidad⁽³⁵⁾.

3.0.- IMPORTANCIA MEDICA.

Las úlceras pépticas en Estados Unidos afecta a más del 10% de la población, considerándose como una de las afecciones crónicas más frecuentes que padece el ser humano. En la URSS según Bikov y Kurtzin, sufren de esta dolencia del 5.2 al 13% de las enfermedades globales. Dole reporta que en Londres el 5.8 de los varones y el 1.9 de las mujeres entre edades de 15 a 64 años son úlcerosos.

En actualidad la úlcera duodenal es de 3 a 4 veces más frecuente que la gástrica. Existen sin embargo grandes diferencias de un país a otro.

En cuanto a la edad, se reporta entre los 30 y los 50 años y todas las estadísticas ponen de relieve que la úlcera péptica es más frecuente en varones que en mujeres en una proporción de 4:1 en duodeno, y de 2:1 en tejido gástrico⁶¹.

Aparece en las regiones del tubo digestivo bañado por el jugo gástrico, estómago y duodeno, en condiciones patológicas en el tercio inferior del esófago (reflujo gastroesofágico), el divertículo de Meckel o el yeyuno tras operaciones de anatomiosis (gastroyenuotomía). En el duodeno con hiperclorhidria casi siempre y en el tracto gástrico con hiperclorhidria o monoclorhidria.

La ruptura de la mucosa gástrica determina la aparición de la úlcera péptica. La gastritis crónica y el reflujo biliar en el piloro, son causa principal de la ruptura de esta barrera, el fumar predispone estas condiciones ya que se altera la motilidad pilórica.

Numerosos estudios tanto en niños como en adultos han mostrado una alta asociación de la infección por *Helicobacter pylori* con la gastritis tipo B, úlceras gástricas y úlceras duodenales ^(1, 3), 79, 89, 90, 116) (TABLAS :13, 14, 15).

El tipo de gastritis causada por *Helicobacter pylori* puede ser tanto sintomática como asintomática durante el inicio de la infección, después pueden aparecer cambios en la secreción ácido gástrica. La infección puede estar asociada con dispepsia no ulcerativa¹¹, gastritis atrófica o carcinoma gástrico⁶¹. La progresión de la gastritis tipo B a uno de estos síndromes puede ser influenciada por varios cofactores incluyendo predisposición genética, tipo de dieta, ingesta de alcohol y medicamentos ácidos, el fumar, la tensión nerviosa y algunos otros, principalmente en las ulceraciones duodenales o gastritis metaplásica por la destrucción de la capa mucoide y la inflamación de las células.

Durante mucho tiempo los antiácidos se han utilizado para el tratamiento de las úlceras pépticas, que son tan efectivos como el empleo de los antagonistas de receptores de H₂ de la histamina, además de que promueven la cicatrización de las úlceras gástricas aunque más lentamente que las úlceras duodenales, son baratos y existen en varias presentaciones lo que facilita su empleo.

TABLA No. 13 FRECUENCIA DE *H. pylori* EN BIOPSIAS GASTRICAS OBTENIDAS POR ENDOSCOPIA EN CLINICAS POPULARES.

CIUDAD	No. ESTUDIOS	N	PROMEDIO (%+)	RANGO(%)
Australia.	3	255	60	55 - 69
Canada.	1	100	27	--
Holanda .	1	50	64	--
Nueva Zelandia.	1	53	47	--
Reino Unido.	7	820	54	35 - 83
Estados unidos.	3	190	47	40 - 61
Alemania del Este	1	180	54	--
Dinamarca.	2	272	51	46 - 58
Noruega.	1	61	44	--
Finlandia.	1	107	38	--
Suiza.	1	117	50	--
China.	1	209	53	--
TOTAL.	23	2414	49	27 - 83

LA DEMOSTRACION DE *H. pylori* EN BIOPSIAS GASTRICAS FUE POR CULTIVO, HISTOLOGIA O AMBOS.
TOMADO REFERENCIA (1)

TABLA No. 14 DETECCION DE INFECCION POR *H. pylori* POR TRES METODOS. (REF. 1)

VARIABLE	CULTIVO	TINCION	SEROLOGIA	
			IgG	IgA
Gastritis (n= 42)				
<i>H. pylori</i> (+)	21	36	31	32
<i>H. pylori</i> (--)	19	6	6	5
no determinado.	2	0	5	5
Sin gastritis. (n= 71)				
<i>H. pylori</i> (+)	0	0	2	3
<i>H. pylori</i> (--)	68	71	59	58
no determinado.	3	0	10	10
TOTAL.	113	113	113	133

TABLA No. 15 PORCENTAJE DE *H. pylori* Y RELACION EN PROBLEMAS PEPTICOS.(REF. 45)

	N	<i>H. pylori</i> (+)	%
SEXO:			
Femenino.	74	46	62
Masculino.	37	18	49
TOTAL.	111	64	58
DIAGNOSTICO ENDOSCOPICO.			
Úlcera duodenal.	36	33	92
Úlcera gástrica.	2	1	50
Gastritis o duodenitis.	19	13	68
Esofagitis.	8	3	38
Úlcera duodenal con tratamiento	18	6	33
Úlcera gástrica con tratamiento*	2	0	0
Observación endoscópica normal	28	8	29
TOTAL.	111	64	58

* *H. pylori* y la úlcera fueron tratadas con bismuto y antibióticos

Los bloqueadores de H₂ de la histamina (Cimetidina, Fomotidina, Nizatidina, Ranitidina) son muy similares entre si, inhiben la acción de la histamina a nivel de los receptores de H₂ de la histamina de la célula parietal, lo que disminuye la secreción de ácido basal y la estimulada por los alimentos.

Otros medicamentos como el Subcílato, que es un complejo de sucrosa, contiene hidróxido de aluminio (no suprime la secreción ácida), se une al tejido ulcerado protegiéndolo de la acción de los ácidos y estimula la cicatrización, no se absorbe en forma sistémica pero es capaz de disminuir la biodisponibilidad de los bloqueadores de H₂ cuando se administran juntos.

Aunque es poco recomendable la terapeutica de mantenimiento a largo plazo, la mayoría de los pacientes observan alivio tal que no desean dejar de tomar el medicamento. Se cree que el uso prolongado de inhibidores de la secreción ácida predispone la aparición de tumores carcinoides del estómago. Cuando la secreción ácida es inhibida por cualquier medio, la concentración sérica de gastrina estimula el crecimiento de ciertas células neoplásicas (observado en cultivo de tejidos). Pero si la hipergastrinemia fuera insuficiente para causar carcinoides, si podría ser suficiente causa para acelerar el crecimiento de tumores comunes como el cáncer de mama, pulmón, colon y piel. Además la hipoclorhidria prolongada, podría ser capaz de aumentar el riesgo de que ocurra una infección entérica como el cólera, salmonelosis, etc.^(71, 72, 73), esta colonización

bacteriana por un estómago aclorhídrico, puede favorecer la producción de nitritos y nitrosamina así como de otros factores que también conduzcan al desarrollo del cáncer gástrico. Por otro lado, la aclorhidria puede provocar anemia ferropénica que es causada por la disminución del HCl ya que este transforma el ión férrico de los alimentos en ferroso facilitando su absorción. Se dice que la ferropenia provoca una carencia de fermento respiratorio de Warburg, así como el de los citocromos a, b, c que son fermentos esenciales para el metabolismo intermediario de la multiplicación celular y por lo tanto de la regeneración de las células de la mucosa gástrica.⁽⁶⁴⁾

En Estados Unidos, ningún bloqueador de H₂ ha sido probado por la Food and Drug Administration (FDA) para el tratamiento y mantenimiento de los pacientes con úlcera gástrica. En la actualidad se sabe que hasta un 95% de los pacientes que padecen úlcera duodenal o gástrica recurrente y que no se relaciona esta con el uso del consumo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), padecen infección por *Helicobacter pylori*. Si la infección es erradicada la tasa de recidiva es insignificante y la mayoría de los pacientes son curados⁽⁷¹⁾(FIGURA 8).

Estudios realizados donde se ha administrado a los pacientes con úlcera duodenal y úlcera gástrica un tratamiento triple para erradicar la infección causada por *Helicobacter pylori*, previene de manera más eficaz las recidivas de los ulcerosos comparada con los que solamente tuvieron tratamiento con bloqueadores de H₂^(71, 73). Se recomienda antes de prescribir tratamiento triple confirmar la infección por cualquier prueba de diagnóstico (TABLA 16).

TABLA No. 16 TRATAMIENTO TRIPLE PARA LA INFECCION CAUSADA POR *H. pylori*
(ref.71).

DURANTE DOS SEMANAS PARA ERRADICAR A *H. pylori*

Metronidazol, 250 mg. tres veces al día

Y

**Subsalicilato de bismuto, 1 - 2 tabletas con cada
comida y 2 al acostarse.**

Y

Tetraciclina, 500 mg 4 veces al día.

O

Amoxicilina, 500 mg 4 veces al día.

DURANTE 2 - 16 SEMANAS PARA CICATRIZAR UNA ULCERA ACTIVA.

Cimetidina, 800 mg. al acostarse.

O

Famotidina, 40 mg. al acostarse

O

Nizatidina, 300 mg. al acostarse

O

Ranitidina, 300 mg. al acostarse.

FIGURA:8 TASA DE RECIDIVA DE ULCERAS DUODENAL CON TRATAMIENTO

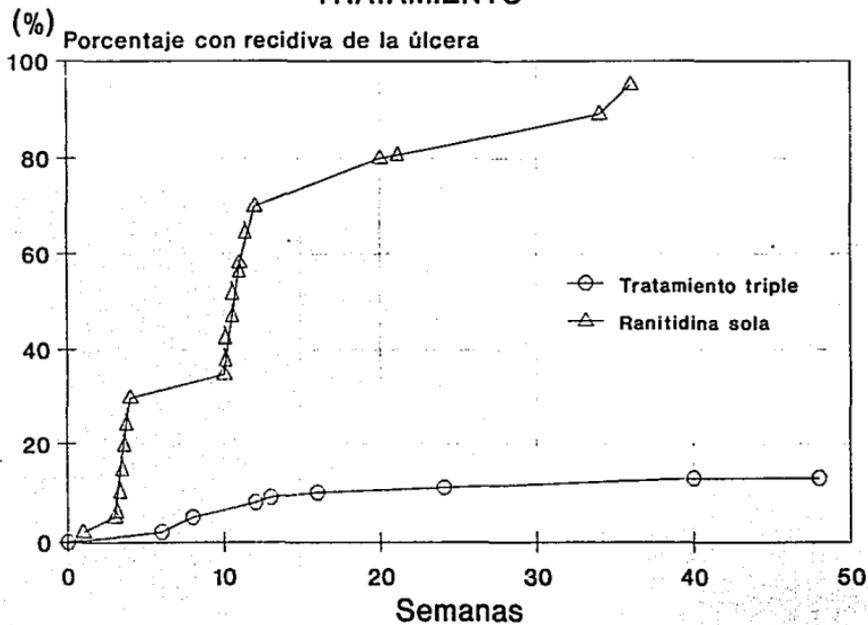
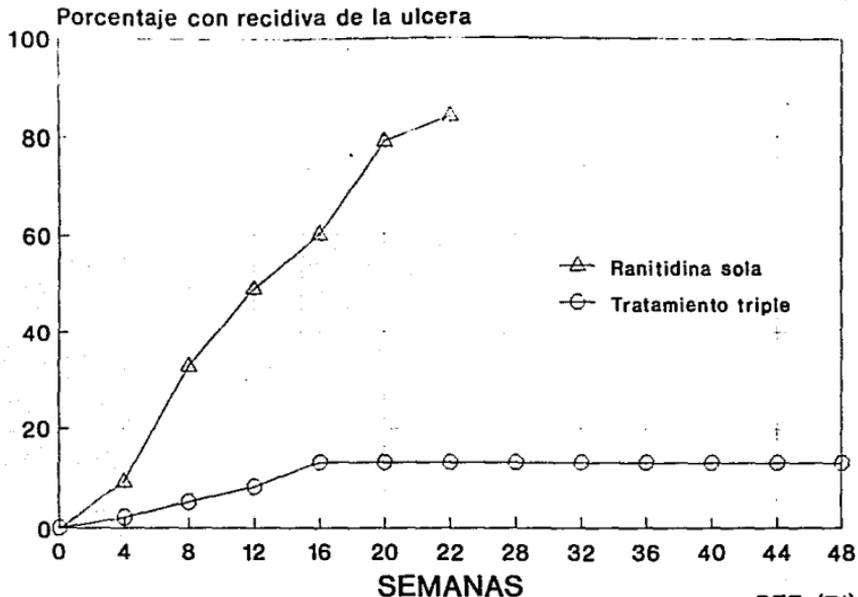


FIGURA:8 TASA DE RECIDIVA DE ULCERAS GASTRICAS CON TRATAMIENTO

(%)



REF. (71)

3.1.- PATOGENICIDAD.

Un aspecto importante de patogenicidad que presenta el *Helicobacter pylori* es la marcada habilidad para penetrar en el estómago por periodos largos y posiblemente de por vida del huésped (por lo que algunos investigadores lo llegan a considerar como parte de la microbiota normal) y es debido a que presenta mecanismos sofisticados de sobrevivencia⁽⁵⁵⁾.

La infección causado por *H. pylori* está correlacionada con la inflamación gástrica y agotamiento del moco. El estado inicial de la enfermedad se caracteriza solo por la colonización y la inflamación local. después sigue la enfermedad progresando hacia una disminución del moco por destrucción de las microvellosidades (FIGURA 9).

La motilidad es necesaria para que el *H. pylori* se localize en el nicho más favorable en la intersección celular del epitelio donde obtendrá los nutrientes necesarios para su colonización. La producción de la ureasa que le facilita la sobrevivencia durante el viaje inicial a través de los contenidos gástricos ácidos y después que la mucosa sufre cambios morfológicos los jugos gástricos llegan al epitelio dañando el tejido^(4, 54).

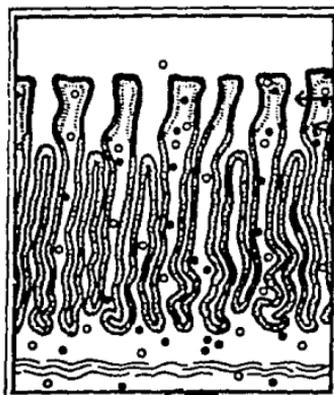
La adherencia al epitelio que puede ser estabilizado a través de receptores de ácido salicílico en el epitelio y por antígenos fibrilar en la superficie de la bacteria, permitirán que la bacteria se establezca en sitios específicos.

Los cambios observados tanto en humanos como en modelos animales ante la presencia de *H. pylori* sugieren fuerte evidencia de que es causa potencial de gastritis y úlceras pépticas, otra evidencia son los resultados que se obtienen después del tratamiento con la eliminación del microorganismo en resolución de la patología y disminución de las recidivas.

La presencia del antígeno bacteriano extraño, como son los lipolisacáridos de la pared pueden ser suficiente para causar una intensa respuesta inflamatoria. La producción de mucinasa y de la toxina vacuolizante pueden inducir liberación de nutrientes necesarios del epitelio del huésped conduciendo a daño local y una posible formación de úlcera.

Entre los daños que más se han observado en las células infectadas esta: a)- Disminución de los carbohidratos neutros (fructosa y galactosamina) localizados dentro de los gránulos del moco. b)- Aumento de ácido y glicoproteínas con atrofia en las microvellosidades. c)- Disminución de las microvellosidades donde el microorganismo se localiza, observado con microscopía electrónica⁽⁴⁾

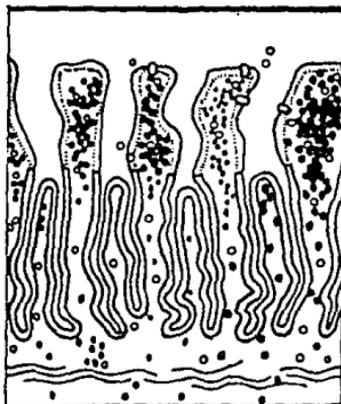
FIGURA No.9 MUCOSA NORMAL DEL FONDO GASTRICO. (REF 31)



- Epitelio de revestimiento
- Fosilla
- Tunica o lámina propia
- Epitelio glandular específico
(Células principales y parietales)
- Epitelio con glándulas mucosas pilóricas
- Infiltrado agudo (leucocitos).
- Infiltrado crónico (linfocitos plasmocitos).
- Células calciformes
- « Muscularis mucosae. »

GASTRITIS CRONICA SUPERFICIAL

Epitelio de revestimiento con núcleos
 estratificados y algunas células calciformes
 foliolas gástricas más profundas y anchas
 con tortuosidades.



GASTRITIS CRONICA ATROFICA

Irregularidad manifiesta del epitelio
 de revestimiento abundante desnivel
 de sus núcleos y numerosas células calciformes



FIGURA No. 10 TEJIDO GASTRICO NORMAL. AUSENCIA DE *H. pylori*.

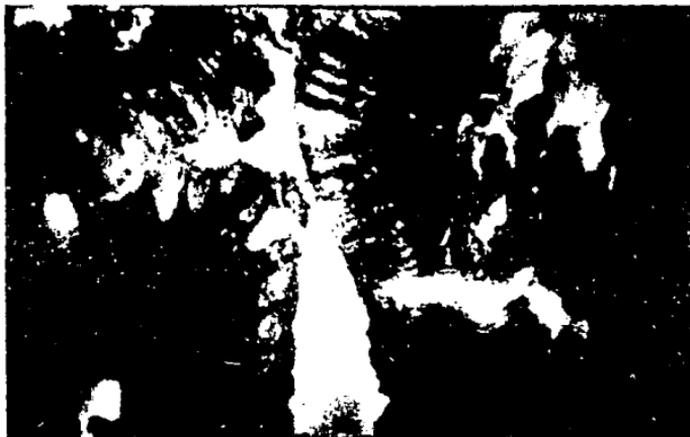


FIGURA No. 11 TEJIDO GASTRICO DAÑADO POR LA PRESENCIA DE *H. pylori*.



J. L. Kasi utilizando microscopía de transmisión de electrones confirma la adherencia del bacilo a la superficie celular, el cual produce criptas o depresiones en el epitelio de la célula huésped y muy ocasionalmente en filtración intracelular, esto trae como consecuencia el decremento de los gránulos de moco, los cambios degenerativos de la textura del epitelio celular, pero que al ser observados nuevamente después del tratamiento con la completa eliminación del bacilo se nota la reconstitución de la superficie de la mucosa, de los gránulos de moco y de las microvellosidades restaurándose por completo el complejo de la intersección celular.

En los trabajos realizados por E. Madan y col. sobre las características histológicas, concluye que la gastritis provocada por la presencia de *H. pylori* es muy particular y única incluyendo la disminución del moco localmente en el área infectada, lo que puede ser un mecanismo por el cual causa herida a la mucosa.

S. Holek ⁽⁵⁾ en un estudio patológico relacionó el *H. pylori* con alteraciones gástricas, encontró que más del 5% de la metaplasia en duodeno contenía *H. pylori* y solo en pacientes con reflujo gastroesofágico con un 40 a 60%, por lo que sugiere que *Helicobacter pylori* migra del estómago al esófago solo en condiciones donde el medio ambiente local ha sido alterado, ya que no encontrando evidencia de que *H. pylori* este asociado con la inflamación de esófago⁽⁶⁾.

Pelayo Correa y col. relacionaron la presencia de *Helicobacter pylori* con el carcinoma gástrico, reportando que *H. pylori* puede incrementar el riesgo de cáncer gástrico en las personas que tienen una alta incidencia de infección, así también las lesiones como la gastritis atrófica crónica, metaplasia intestinal y la displasia con los que puede participar como cofactores o adyuvantes.

Helicobacter pylori contribuye a la patogenia de la úlcera duodenal ya que los pacientes con úlcera duodenal tienen a menudo áreas de mucosa gástrica en duodeno (metaplasia gástrica), esta situación antecede a la formación de la úlcera ya que *H. pylori* solo infecta las zonas con metaplasia en duodeno con acción patológica como la que ocurre en el estómago, por lo tanto la duodenitis por *H. pylori* será la principal causa predisponente de úlcera duodenal^(7, 8). En los pacientes con úlcera duodenal existe una reducción de la síntesis normal de prostaglandina en respuesta a la presencia de ácido en la mucosa duodenal causando incompetencia pilórica provocando reflujo duodenal y goteo de jugos gástricos directamente al duodeno⁽⁹⁾.

3.1.1.- Cuadro clínico de la gastritis.

La gastritis puede ser causada por un ataque a la mucosa por los jugos gástricos, así como de la acción de medicamentos o alimentos irritantes y la invasión bacteriana, que se presentara con la mucosa inflamada lo que muchas veces es dolorosa con sensación quemante difuso en epigastro alto, se secreta abundante saliva por los reflejos iniciados en la mucosa gástrica sobre las glándulas salivales, deglutiendo con la saliva gran cantidad de aire que se acumula en el estómago para después ser excretado con sensación de quemadura en la garganta. La absorción en el estómago es escasa a consecuencia de la inflamación celular que cierra las uniones entre células vecinas aumentando la permeabilidad. En gastritis crónica la mucosa se puede volver atrófica quedando sin actividad glandular gástrica, suprimiendo la secreción y originando la aclorhidria (queda sin acción la pepsina desarrollando un estómago no digerible) y a veces anemia perniciosa (74)

Se ha observado un claro incremento logarítmico en la frecuencia de gastritis crónica con la edad. Algunos estudios con pacientes asintomáticos demuestran que en la sexta década de la vida alcanza el 80% de la población (20% gastritis superficial y 60% gastritis atrófica)

En algunos pacientes con gastritis se ha encontrado anticuerpos organoespecíficos contra células parietales de la mucosa gástrica (hipótesis de autoinmunidad) y suelen mostrar una mucosa antral normal con una gastrinemia elevada conociéndose esto como gastritis tipo A. En cambio la gastritis tipo B carece de anticuerpos contra células parietales, la mucosa antral esta lesionada y la gastrinemia es baja. (64)

El cuadro clínico de la gastritis crónica es con pocas molestias en la mayoría de los casos, los síntomas son inespecíficos, no suele aquejar diariamente sino en forma esporádica con episodios retirados, en ocasiones de transgresión dietética (estómago delicado) los pacientes adoptan digestión lenta penosa y sensación de plenitud epigástrica, así como pereza física y mental con dolores que puede ser calmados con alcalinos (65).

La úlcera péptica es una zona de la mucosa erosionada por la acción digestiva del jugo gástrico, por el exceso de HCl, irritación de alimentos o fármacos, riego sanguíneodeficiente, secreción de moco deficiente reflujo duodenal y actualmente se sabe que también la presencia de *H. pylori*. La úlcera gástrica suele presentarse casi siempre con asociación a una gastritis lo que indica que la ulceración se debe a una disminución en la resistencia del moco (66).

3.1.2.- Cuadro clínico de la úlcera péptica.

El cuadro clínico de la úlcera péptica se presenta con dolor en un principio de tipo epigástrico de evolución a brotes (la calidad e intensidad del dolor es subjetivo con la sensibilidad y educación del paciente), suele describirse como calambres o dolor epigástrico pero también como "hambre dolorosa" sensación de vacío y pesadez. Otros pacientes no se enteran hasta que sangra o se perfora.

El dolor evoluciona a brotes de 1 o 2 meses de duración (cambios de temperatura). El dolor sobreviene diariamente después de cada comida o después de medio día, puede presentarse aún más tarde llegando a despertar al paciente en la madrugada expresándose como "hambre dolorosa" (esto tiene muchas posibilidades de ser duodenal). Aparte el ulceroso se queja a veces de regurgitaciones ácidas y ocasionalmente sufre algún vómito alimentario o de contenido gástrico, casi siempre coexiste estreñimiento. Durante la fase de calma clínica, que puede durar meses o años el paciente se cree completamente curado al sentirse bien y toma toda clase de alimentos, picantes, alcohol, etc⁽⁶⁴⁾.

3.0- RELACIÓN HUESPED--PARASITO.

En el tracto gástrico humano ocurre una compleja interacción huésped-parásito; en términos generales las alteraciones en los factores del huésped, las características de especie de microorganismo y las características del medio ambiente pueden tener una profunda influencia en esta interacción y como consecuencia se produce la enfermedad.

El estómago ha sido poco estudiado en este aspecto ya que fue considerado por mucho tiempo como "zona estéril" con solo organismos transitorios de la saliva como resultado del deglutir y que solo cuando se encuentra en condiciones patológicas como sería la hipoclorhidria (anemia perniciosa) o algún trastorno tal que eleve el pH gástrico, podría ser susceptible a ser colonizado, sobre todo con bacterias intestinales u orales. A partir del descubrimiento y aislamiento de *Helicobacter pylori* y de la asociación que presenta con la gastritis crónica, motivó el interés por el estudio de la respuesta a nivel de tracto gástrico.

Entre los factores de defensa gástricos no específicos la acidez y el moco forman una clara barrera contra la colonización de las bacterias, las lisozimas (enzimas bacteriolíticas) y el lactoferrina (complejo de hierro y glicoproteína) también tienen un gran espectro antibacterial.

La gastritis tipo B no autoinmune se presenta generalmente en el antro, consiste de una infiltración celular (células plasmáticas, células T y macrófagos) con o sin un componente activo de neutrófilos y atrofia de la mucosa^(1, 61, 75).

IgA es la principal inmunoglobulina protectora en la mucosa gástrica e inhibe la adherencia bacteriana a la célula epitelial y es capaz de amontonar anticuerpos dependientes (sinergizando con IgG) células mediadas activas (citotoxicidad por neutrófilos polimorfonucleares, neutrófilos, monocitos y linfocitos) contra bacterias enteropatógenas.

La presencia y alteraciones que causa *Helicobacter pylori* tanto de estructura como bioquímica en la célula infectada origina una respuesta local que induce a la fagocitosis por los neutrófilos y eosinófilos, a su vez una respuesta humoral con producción de anticuerpos específicos contra la estructura de la bacteria (membrana, flagelos, ureasa, citotoxina) constituidos principalmente por IgA, IgG e IgM, también el contacto de *H. pylori* con los linfocitos aumenta la actividad de las células asesinas naturales (NK) e induce la

producción de gama interferón, factor de necrosis tumoral alfa, interleucinas 1 y oxígeno aniónico, que probablemente contribuyan a la destrucción del tejido local⁽⁷⁶⁾. En el lipopolisacárido posee una estructura semejante a la que presentan las enterobacterias "Lípido A" el cual juega un papel importante en la resistencia bacteriana al suero y a la fagocitosis por lo que las opsoninas adquieren mayor importancia en la respuesta del huésped^(47, 67, 76, 79).

Javed Iqbal y col. observaron en gastritis crónica por infección, un gran incremento de células linfoides con un claro incremento de neutrófilos polimorfonucleares, células T y particularmente IgA depositado en la superficie de la bacteria⁽⁷⁹⁾.

A pesar de todo el mecanismo de defensa que despierta en el huésped la presencia de *Helicobacter pylori* este coloniza el epitelio permaneciendo periodos largos sin manifestar su presencia con síntomas graves, pensándose que esta respuesta inmune es defectuosa o que la bacteria es capaz de evadirla por los factores de virulencia que posee, incluyendo el bloqueo de anticuerpos por variaciones antigénicas y proteasa bacteriana contra IgA (IgAsa) o que también la bacteria se cubra con inmunoglobulinas lo que aprovecha para colonizar.

G. Mauff al estudiar pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y gastritis asociada a la presencia de *H. pylori*, reporta que no hay correlación entre el VIH y la reducida inmunidad humoral contra el *H. pylori*, y observando que en estos pacientes los títulos de anticuerpos eran significativos, pero también encontró una menor frecuencia de infección por *H. pylori* que los pacientes VIH negativo mencionando que los VIH positivo presentan una gastritis inactiva y que la presencia de *H. pylori* es claramente asociada a la gastritis activa⁽⁸⁰⁾.

La respuesta histopatológica a infecciones por *Helicobacter pylori* en estómago de humanos varía de severidad y forma por ejemplo: En niños es menos probable tener una respuesta significativa inmunológica comparada con los adultos, posibles factores que influyen en la madurez inmunológica, exposición previa y la edad relacionada con cambios gástricos⁽⁴¹⁾.

4.0.- DIAGNOSTICO.

Con el conocimiento de la relación entre la infección por *H. pylori* y la gastritis tipo B, el desarrollo de los análisis para el diagnóstico se ha convertido en un aspecto fundamental de investigación⁽¹²⁾.

Técnicas de laboratorio con diferentes ventajas tanto de investigación epidemiológica como de diagnóstico práctico, han sido implementadas y se han categorizado en pruebas directas e indirectas donde se involucran métodos invasivos y no invasivos: La demostración histológica, identificación por cultivo, la determinación de sus características bioquímicas y su respuesta inmunológica.

4.1.- Endoscopia, diagnóstico microbiológico.

El endoscopio de fibra óptica puede ser considerado como un método de referencia porque en primer lugar se puede observar la inflamación o anomalías de la mucosa gástrica y por otro lado hacer tomas de tejido que nos permita visualizar al microorganismo y poder cultivarlo, sin embargo se requiere de un especialista para su uso así como de el cuidado en el manejo de infecciones tales como en el VIH y la Hepatitis B⁽¹⁾.

La presencia del microorganismo dentro de la biopsia puede ser detectada directamente por el cultivo con pruebas de aglutinación con latex y por sus características enzimáticas, por tinción o por técnicas inmunohistoquímicas (inmunofluorescencia)^(1, 24, 25, 26, 27). El primer punto que hay que tomar en cuenta es el sitio donde de hara la toma de la biopsia, aunque los primeros investigadores mostraban preferencia por el antro del estómago (aproximadamente 5 centímetros del esfínter pilórico), se ha comprobado que *Helicobacter pylori* se encuentra con más o menos la misma frecuencia también en el cuerpo del estómago, por lo que se recomienda tomar en ambos sitios sobre todo en las zonas que presentan anomalías sobre la mucosa como pueden ser lesiones o eritemas, edemas y úlceras principalmente, con un mínimo de dos muestras para disminuir la probabilidad de falsas negativas⁽¹⁾. Aunque en la práctica puede ser clínicamente no muy útil y ser superado por otras pruebas de carácter presuntivo para evitar la molestia del proceso endoscópico, pero sí es de gran importancia en las confirmaciones de una infección activa y como prueba de referencia en la investigación de otras técnicas

Varios estudios han mostrado que el espécimen de biopsia tiene hasta un 84% de sensibilidad en el diagnóstico de pacientes infectados comparandolo con muestras de jugo gástrico que presenta un 64% o de un cepillado con el 63%.

La tinción de un frotis de la muestra sobre un portaobjetos de vidrio limpio es de gran utilidad, en la que se pueden aplicar diferentes procedimientos de tinción que van desde las tinciones usadas para *Spirachtoetas* donde se utiliza la precipitación de sales de plata sobre la superficie de la bacteria permitiendo duplicar su tamaño y ser visualizada fácilmente (tinción de Warthin-Starring), con el inconveniente de que es una técnica con un costo elevado y con cierto grado de dificultad ya que pueden aparecer precipitados sobre el tejido que den falsas positivas dificultando su uso rutinario. Otras técnicas que se han implementado y aplicado en el diagnóstico de *H. pylori* son la tinción de Hematoxilina, Giemsa, Gimenez, Azul de metileno, Naranja de Acridina, Carbol fucsina, Gram y microscopia de contraste de fases todas ellas con buena sensibilidad y que son utilizadas de acuerdo a la capacidad y experiencia del laboratorio^(35, 33, 36).

Las técnicas inmunoquímicas que son de alta especificidad aún no tienen gran aplicación por el alto costo que estas implican (microscopio de inmunofluorescencia) además del personal especializado en su manejo por lo que se utiliza solo en investigación^(35, 34, 37).

En la rutina para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* se ha hecho necesario en la endoscopia el utilizar una biopsia para la prueba de la ureasa, manteniendo excelentes ventajas por la rapidez y el bajo costo sobre otras pruebas. Actualmente existen disponibles en el mercado varias marcas comerciales que utilizan urea con indicador de pH, lo que permite detectar cualquier elevación de pH por la acción de la ureasa sobre la urea al depositar la biopsia, en un tiempo que va de un minuto hasta las dos horas^(62, 38) con una sensibilidad de 95% y una especificidad de 93%, requiere de poco material y fácil manejo y se ha reportando buena correlación con el estudio histológico⁽¹⁾. Es recomendable utilizar siempre la prueba del cultivo con la de ureasa y la de tinción histológica para el diagnóstico microbiológico.

4.2.-Diagnóstico serológico..

Las personas infectadas con *Helicobacter pylori* desarrollan anticuerpos contra este organismo, por lo que un gran número de pruebas han aparecido con grandes ventajas en el diagnóstico presuntivo que es rápido y no invasivo y en el que se puede seguir el curso de la infección después de que el paciente ha sido tratado para la erradicación del microorganismo, y sobre todo excelente en estudios epidemiológicos, pero con la desventaja de no saber si la infección es aún activa o si existe daño histológico.

El diagnóstico de infección por *H. pylori* se puede realizar detectando la respuesta inmunológica humoral de las proteínas que posee tanto estructurales como de membrana externa, así como las flagelares y de las enzimas que produce como es la catalasa y ureasa, principalmente esta última por poseer una proteína inmunogénica exclusiva.

Las inmunoglobulinas formadas de tipo IgG, IgA e IgM contra *H. pylori* se pueden detectar al utilizar técnicas como la de Ensayo inmunoenzimático (EIA)^(82, 84, 89), Microaglutinación^(85, 90), Western-blot⁽⁸⁵⁾, coaglutinación⁽⁹¹⁾, Fijación de Complemento⁽⁸¹⁾, Inmunofluorescencia^(87,88) y la de Enzimas Inmunoabsorbente (ELISA).⁽⁸¹⁾

Se sabe que la estabilidad de IgA e IgG contra *H. pylori* son muy grandes y según reportes como los de Jones D. M. y col. se pueden mantener niveles elevados por meses y hasta por años aún después de haber sido eradocado el microorganismo y de que las manifestaciones clínicas hayan desaparecido.

Actualmente han aparecido en el mercado un gran número de pruebas serológicas muy útiles para el diagnóstico presuntivo, son relativamente económicas y rápidas. Se debe siempre tomar en cuenta que algunos de estos ensayos miden la actividad de una infección pasada o de anticuerpos de microorganismos que cruzan antigénicamente con *Helicobacter pylori* por ejemplo con *Campylobacter jejuni*. Es así que estas pruebas serológicas proveen solo datos iniciales sobre la presencia de una infección activa.

En contraste a la serología las pruebas de aliento pueden brindarnos el diagnóstico de una infección activa por *H. pylori* al medir la fuerte actividad enzimática de la ureasa de *H. pylori* cuando se utiliza como sustrato urea con carbono marcado $\{^{13}\text{C}\}$, $\{^{14}\text{C}\}$, $\{^{15}\text{N}\}$ y determinar los metabolitos formados por la hidrólisis de la urea ($^{14}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$, $^{15}\text{NH}_4$), siendo una prueba rápida, sensible, específica y sobretodo no invasiva. Con el único inconveniente del elevado costo y el requerimiento de personal especializado y espectrofotómetro de masas^(92, 94, 95).

Luck y Seth fueron los primeros en observar ureasa en el estómago de diferentes animales, más tarde Fitzgerald y Morphy reportaron que cuando se administraba urea se observaba un marcado decremento en la secreción ácida gástrica acompañada con incremento de amonio gástrico, lo que hacía pensar que la ureasa se encontraba distribuida en la superficie de la mucosa, sobretodo en casos de úlcera péptica. Dellove y cols. notaron que no todos los animales la poseían proponiendo que esta ureasa era más bien de origen microbiano⁽⁸¹⁾.

Actualmente se sabe que *H. pylori* coloniza el estómago humano y que también es un fuerte productor de ureasa de gran actividad por lo que es muy probable que se trate del microorganismo responsable de los anteriores reportes de ureasa en humano.

Mobley y cols. reportaron la actividad de la ureasa de *H. pylori* en 30 μ mol de NH₃/min./mg de proteína (límites de 8 a 75). Ferrero y col. reporta un límite de 200 a 700 mg de urea hidrolizada/min./mg de proteína siendo 20 veces mayor que la ureasa de *Proteus vulgaris*, característica particular de la enzima utilizándola como base para las pruebas de aliento y las de jugo gástrico⁽³⁷⁾.

4.3.-Diagnóstico químico.

Las pruebas de aliento son técnicas de medición radiactiva, se requiere del monitoreo de carbono marcado (¹⁴C, ¹³C) con equipo especial. El sujeto ingiere una solución que contiene urea marcada. La muestra de CO₂ exhalada es atrapada en una solución de hiamina (reacciona equivalentemente con el CO₂), y un indicador de pH, así se obtiene una medida semicuantitativa del carbono marcado excretado⁽³⁸⁾. Los resultados se expresan como un porcentaje del total de dosis absorbidas (dosis normal de CO₂ exhalado en un hombre sedentario es de aproximadamente 9 mmol/Kg/hr). Con una exposición de radiación de una décima de la emitida por los rayos X⁽³³⁾.

Cuando se utiliza nitrógeno marcado (¹⁵N) se puede determinar con un espectrofotómetro de masas el amonio excretado en orina después de ingerir la urea marcada. ⁽³⁹⁾.

En el análisis de jugo gástrico se obtiene el diagnóstico midiendo la urea presente de una muestra obtenida en ayunas por medio de determinaciones del laboratorio clínico de acuerdo a los métodos clásicos. Marshall y Langton reportan valores de urea de 2.9 mmol/L en pacientes *H. pylori* negativos y de 0.45 mmol/L en pacientes *H. pylori* positivos. Weber y col. reportan una concentración de amonio gástrico de 0.2 mmol/L en pacientes *H. pylori* negativos y de 4.5 mmol/L para los *H. pylori* positivos después de ingerir 300 ml de urea al 0.5%⁽⁴¹⁾.

TABLA No. 17 COMPARACION DE TECNICAS ENDOSCOPICAS Y NO ENDOSCOPICAS EN EL DIAGNOSTICO DE INFECCION POR *H. pylori*. (REF. 1)

TECNICA	TIEMPO (Hr)	FACILIDAD	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	COSTO	INVASIVO	RADIACION
CULTIVO	>72	++			++++	SI	NO
Biopsia.			60 - 100%	100%			
Cepillado.			20 - 63%	100%			
Jugo.			40%	100%			
TINCION	>72	++			++++	SI	NO
Biopsia.			80 - 100%	100%			
Cepillado.			67%	100%			
INMUNO- HISTOLOGICO.	>72	+	65 - 95%	100%	+++++	SI	NO
UREASA-BIOPSIA	<3	++++	59 - 98%	93 - 100%	+++	SI	NO
PRUEBAS DE ALIENTO .	<3	++	100%	100%	++	NO	SI/NO
SEROLOGIA	<3	++++	81 - 93%	94 - 100%	+	NO	NO

TABLA No. 18 PRUEBAS PARA LA DETECCION DE *H. pylori*. (REF. 45)

PRUEBA	SENSIBILIDAD(%)	ESPECIFICIDAD(%)	ENDOSCOPIA	COSTO
Histológico.	93 - 99	95 - 99	si	+++
Cultivo.	72 - 92	100	si	+++
Prueba de ureasa.	89 - 93	93 - 98	si	+
Prueba de aliento ¹³ C.	90 - 100	98 - 100	no	++
Prueba de aliento ¹⁴ C.	90 - 97	89 - 100	no	++
Serología.	89 - 99	89 - 95	no	+

**TABLA No.19 COMPARACION DE METODOS PARA LA DETECCION DE ANTICUERPOS
CONTRA *H. pylori*. (REF. 45)**

METODO	TIEMPO	COSTO	SIMPLICIDAD	ESPECIFICIDAD	SENSIBILIDAD	CUANTITIVIDAD
Hemaglutinación	++	++	+	++	++	(1)
Fijación de complemento.	+	++	+	++	++	(1)
Aglutinación.	++	++	++	++	++	(1)
Inmuno-fluorescencia.	++	++	++	++	++	(1)
Western-Blott.	+	+	+	+++	+++	no
ELISA.	+++	+++	++	++	++	si

(1)= Cantidad solo por dilución.

5.0.- TRATAMIENTO.

El conocimiento entre la relación de la inflamación crónica activa y el papel en la patogénesis de ulceraciones pépticas condujo a seguir una terapia de reconstrucción de la mucosa a través de la eliminación de *Helicobacter pylori* sobre todo después de observar a los pacientes con problemas pépticos después del tratamiento de protección de la mucosa y disminución de la acidez gástrica a las pocas semanas sufrían recaídas y de nuevo el microorganismo se presentaba y que estas recaídas eran mínimas si se comprobaba que el *H. pylori* era eliminado completamente (FIGURA 8).

La actividad de algunas drogas es afectada por el pH del estómago y se ha visto que las drogas combinadas tienen mejor actividad que solas, sin embargo también tienen mayor efecto colaterales lo que pueden presentar una desventaja para el tratamiento.

"In vitro" *Helicobacter pylori* ha mostrado una sensibilidad a varios antibióticos que "In vivo" son inefectivos, siendo actualmente las preparaciones de sales de bismuto, el metronidazol, tinidazole y la ofloxacina los que han dado mejores resultados en monoterapia.⁽⁹⁶⁾

Los componentes de bismuto han sido usados desde más de dos siglos como agentes medicinales principalmente de uso local en piel, tracto genital así como úlceras y para el tratamiento y prevención de diarreas agudas entre otros usos⁽⁹⁷⁾. De estos los dos componentes más usados a nivel mundial es el Subcitrato de bismuto coloidal (De-Nol) y el Subsalicilato de Bismuto (Pepto-Bismol) ambos con gran actividad con el tracto gastrointestinal y tan efectivos como los antagonistas de H_2 de la histamina para el tratamiento de las úlceras gástricas y duodenales asociándolo a una disminución en las recaídas después del tratamiento. Se ha probado que además inhiben "In vivo" bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* y *Clostridium difficile*, además del *H. pylori*. Presenta acción local y sistémica ya que se ha observado que también se absorbe a nivel gastrointestinal principalmente, aumentando su concentración en sangre después de ingerir oralmente el medicamento lo que indica que tiene buena absorción a este nivel, sugiriendo que esta es una propiedad que lo hace efectivo para la erradicación de *H. pylori* en la mucosa gástrica.⁽⁹⁷⁾

Se han reportado varios efectos tóxico de los compuestos de bismuto que incluyen encefalopatías insuficiencia renal aguda reversible, hepatitis aguda, osteoporosis, eritroderma, etc ; sobre todo en sales de bismuto de tioglicolato, subnitrito, subcarbonato y tartrato , excepto el subcitrato de bismuto coloidal (CBS) y el subsalicilato de bismuto (BSS), en dosis bajas recomendadas (menos de 50µg/d)

Una dosis cuatro veces al día antes de la comida por cuatro semanas, erradica a *H. pylori* en cerca del 20% de los individuos afectados.

Las sales de bismuto CBS, o BSS utilizadas en combinación con antibióticos incrementa la erradicación, por ejemplo al utilizarlo con metronidazol llega a un 65%, y si se combina con ranitidina incrementa su efecto bactericida hasta un 75% (91).

Los antagonistas de los receptores H_2 de histamina han demostrado ser útiles en el tratamiento de úlceras duodenales (UD), suprimen pero no curan y al suspender el tratamiento al cabo de ocho semanas máximo experimentan reulceraciones, llegando hasta en un 80% en un año y al 100% a los dos años, lo que provoca que el tratamiento con éstos medicamentos sea prolongado e inclusive permanente (73).

Se sabe que la infección por *H. pylori* es la causa de la gastritis crónica activa inespecífica, pero al ser un microorganismo exigente solo se le encuentra en presencia de células epiteliales secretoras de moco (aunque generalmente lesionadas), demostrándose que el índice de recidivas de úlceras duodenal en los pacientes en que se elimina al microorganismo es sólo del 25% al año (72).

Se han encontrado también excelentes resultados al utilizar el omeprazol combinado con antibióticos, D. Y. Zhou reporta que el omeprazol con amoxicilina y metronidazol eliminan al *H. pylori* hasta un 60% (92).

Se piensa que el omeprazol puede tener un efecto antibacterial directamente y que este podría proteger la destrucción del antibiótico por la inhibición de la secreción gástrica en el estómago aumentando la concentración del antibiótico en esta zona.

La combinación de CBS o BSS con un nitromidazol y una tetraciclina o amoxicilina, erradica al *H. pylori* hasta en un 95% (101).

TABLA No. 20 ENSAYOS TERAPEUTICOS A ERRADICAR *H. pylori*. (REF:101).

TRATAMIENTO	mg/24Hr	DIAS	No.	ERADICACION (%)
Subcitrato de bismuto coloidal.				
(CBS).	4 X 120	28	114	10
Amoxicilina.	3 X 375	28	45	20
CBS +	4 X 120	28		
Famotidin	2 X 40	28	17	6
CBS+	4 X 120	28		
Omeprazole.	1 X 40	28	10	0
CBS +	4 X 120	28		
Amoxicilina.	3 X 375	28	23	35
CBS +	4 X 120	14		
Metrodinazol.	2 X 1000	1	13	15
CBS+	4 X 120	7		
Metrodinazol.	3 X 500	7	75	40
CBS+	4 X 120	28		
Metrodinazol.	3 X 500	10	60	52
CBS +	4 X 120	7		
Amoxicilina +	3 X 375	7		
Metrodinazol.	3 X 500	7	36	44
CBS +	4 X 100	28		
Amoxicilina +	3 X 375	28		
Metrodinazol	3 X 500	14	62	79

6.0.- EPIDEMIOLOGIA.

Los métodos no invasivos (serológicos de aliento y químicos) han sido adaptados y empleados para determinar la presencia epidemiológica de *H. pylori* validados con técnicas de referencia como es el cultivo y tinción histológica, en base a que la erradicación del microorganismo es difícil y que una prueba positiva es probable que refleje una infección activa ya que existe una alta correlación entre la seropositividad y la colonización gástrica.

Cornelius P. Dooley en 1989 encontró un 32% de infección por *H. pylori* en personas asintomáticas donde el 37% presentaban lesión gástrica y observó que la presencia de la gastritis se incrementaba con la edad y junto con ésta la presencia de *H. pylori* ⁽¹⁰⁷⁾.

Helicobacter pylori tiene distribución mundial y la prevalencia se incrementa progresivamente con la edad y una marcada relación con el estatus socioeconómico así como las condiciones higiénicas y de saneamiento, encontrándose hasta en un 50% en la población mayor de cincuenta años de países desarrollados, mientras que en países subdesarrollados en los que se incluyen México, este porcentaje se llega a alcanzar en niños menores de cinco años ^(71,45) (FIGURAS 12 Y 13).

Así mismo, estudios en Estados Unidos comparando la susceptibilidad entre la raza negra y la de habla hispana encontraron un 57 y 26% respectivamente en personas asintomáticas contra un 20% de la raza blanca.

Pelayo y Correa encontraron que del 63-93% de individuos infectados con *H. pylori* presentaban alto riesgo de cáncer gástrico⁽⁸⁾, mientras que N.J. Talley encontró de 40-66% relación con reflujo gastro esofágico ⁽⁶⁾, reafirmando el trabajo de L.P. Andersen que encontró el 58% en pacientes con esofagitis⁽¹⁰³⁾.

Un estudio realizado en México con adultos se encontró una frecuencia de 80/150 (53%) donde el 45% de estos sufrían gastritis, mientras que el 70% de los negativos para *H. pylori* solo el 22% presentaban gastritis. V. Iuqueño y Y. López reportan la aparición de anticuerpos contra *H. pylori* en niños menores de 2 años, donde el 18% se encontro a los 3 meses de edad y alcanzo el 50% a los 24 meses. C. Cote y col. reportaron un 49.7% en hombres sintomaticos y un 53% en mujeres, con un promedio de edad de 50 años y clara correlación con el proceso inflamatorio de la mucosa. Saenz y col. reportan 27/50 (54%) de frecuencia en adultos con promedio de 48 años de edad donde todos presentaban relación con inflamación crónica antral, mientras que un estudio realizado en ENCB, del IPN con personas asintomaticas se encontró un 50% de frecuencia. Todos estos estudios indican que México es un país con alta prevalencia de infección con valores similares a los reportados en países subdesarrollados, lo que aumenta la importancia de continuar el estudio y seguimiento de las personas infectadas así como de buscar las vías de transmisión que permitan prevenir la infección.

FIGURA No. 12 RELACION DE PREVALENCIA DE INFECCION
POR H. pylori Y EDAD EN PAISES DESARROLLADOS

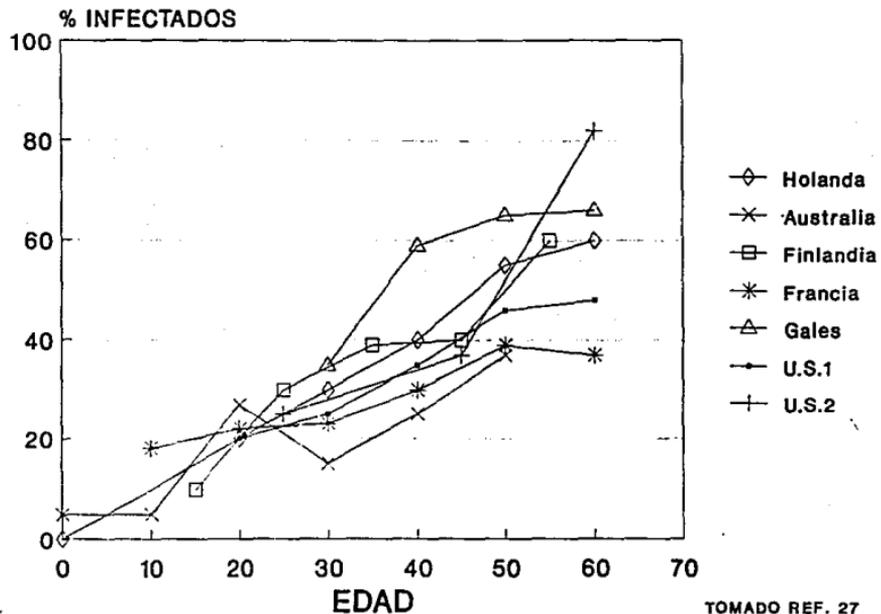
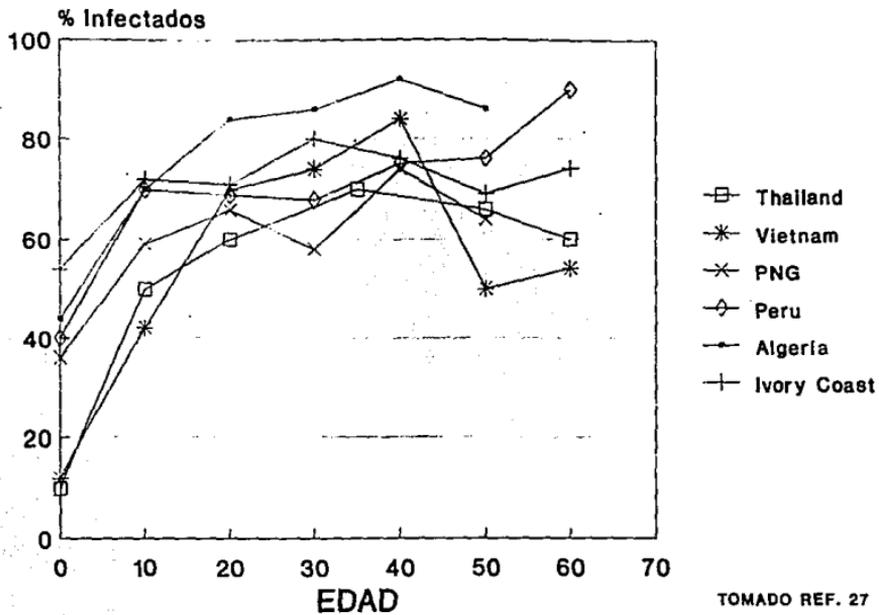


FIGURA No. 13 RELACION DE PREVALENCIA DE INFECCION
POR H. pylori Y EDAD EN PAISES SUBDESARROLLADOS



TOMADO REF. 27

7.0.- TRANSMISION.

Estudios en busca de posibles factores que influyan en una infección por *Helicobacter pylori* entre los que se ha tratado de esclarecer si existe predisposición genética, aún no han sido muy claros ya que los factores socioeconómicos y culturales han demostrado más importancia en la frecuencia de la infección que las mismas diferencias de sexo, raza o relación familiar.

Se sabe que las personas inmunodeprimidas están más predispuestas a sufrir en mayor grado los trastornos de la infección y que existen cofactores que pueden favorecer o coadyuvar en las anomalías gástricas como es el fumar, la administración de algunos fármacos, el ingerir bebidas alcohólicas, el consumo de alimentos irritantes y la tensión nerviosa entre otros.

Helicobacter pylori aparece en cualquier etapa de la vida y puede permanecer por muchos años sin aparente manifestación o alteraciones importantes. Los reportes existentes de países subdesarrollados muestran datos donde se ha llegado a detectar anticuerpos contra el *H. pylori* hasta en el 50% de la población menor de 5 años⁽²⁷⁾.

Uno de los problemas a resolver por parte de los investigadores es el de conocer las vías de transmisión y de sus posibles vectores si existen, lo que permitiría tomar medidas de prevención. Los estudios realizados actualmente en este punto han fracasado, ya que solamente se ha aislado *H. pylori* en humanos y los microorganismos parecidos encontrados en animales al hacer los de hibridación resultan diferentes, además de la alta afinidad que posee el *Helicobacter pylori* por el tracto gástrico como su nicho ecológico que lo hace más característico y exclusivo. Se ha podido aislar otras especies de *Helicobacter* en el humano pero se considera que han sido infecciones accidentales como en el caso del *H. hominis* (*Gastropirillum hominis*) que tiene como nicho ecológico el estómago de perros y gatos.

Algunos investigadores piensan que la ocupación podría jugar un papel importante en la frecuencia de la infección. Se han encontrado valores altos de seropositividad en veterinarios y trabajadores de la carne⁽¹⁾. Rivera y Ruiz Palacios en México han reportado un 25% de prevalencia de infección en cerdos para consumo humano, por otro lado también encontraron en población *H. pylori* positivos, al comparar los de alto riesgo (trabajadores del rastro y carniceros) con los de baja exposición (donadores de sangre, vegetarianos) y donde los niveles de anticuerpos fueron significativamente mayores en los pacientes más expuestos postulando que el cerdo puede ser un reservorio natural y que la exposición a estos animales representa un riesgo para la infección^(104, 105).

M.A. Schembre reporta que los gastroenterólogos pueden ser un grupo de alto riesgo a la infección por *H. pylori* ya que ha observado mayor frecuencia en estos trabajadores que en otras profesiones además observo que la frecuencia aumentaba conforme tenían más años en la profesión llegando hasta un 82%. Existe en Alemania un reporte del 50% de seroprevalencia en gastroenterólogos contra solo un 17% entre dentistas de edad similar^(1,103).

La transmisión de persona a persona es otra posibilidad de vía de infección más probable la cual se ha enfocado mucho en base a la estrecha relación familiar que tienen los pacientes infectados con *H. pylori*. S. Cadranel, estudió 77 niños *H. pylori* positivos asociado con gastritis crónica o úlcera primaria, examinó a 36 familiares para la detección del microorganismo y observó una alta positividad en miembros de la familia que eran asintomáticos, sugiriendo que para ser tratados los niños es necesario dar tratamiento a los familiares⁽¹⁰⁰⁾

Estudios realizados por J. H. Oudbier con análisis de restricción de DNA, reporta que cepas aisladas de *H. pylori* en los familiares y en infectados con sintomatología presentaban gran similitud entre estas con mínimas diferencias en el DNA.⁽¹⁰⁷⁾ Así mismo H. T. Young reporta hasta un 68.8% de seropositividad para *H. pylori* entre los familiares de un caso positivo, lo que sugiere que la interacción familiar y la infección por *Helicobacter pylori* es muy común y que la transmisión podría ser de persona a persona⁽²⁷⁾. En contraste ha esto, Jones y col. encontraron solo un 17% de prevalencia de anticuerpos entre familiares de 40 pacientes *H. pylori* positivos.

Se ha considerado la cavidad oral como una posible ruta de transmisión de persona a persona y varios investigadores han tratado de aislar al *Helicobacter pylori* de este órgano con pocos éxitos. Se conoce un estudio en Canadá donde se pudo aislar al microorganismo de placa dental de un paciente que se sabía era *H. pylori* positivo mientras que Donal A. y col. aislaron en saliva *H. pylori* en uno de cada nueve pacientes positivos en tracto gástrico y al realizar comparaciones de los aislados de cada paciente por análisis de DNA, observó que eran iguales⁽²⁷⁾. Gobert y col. detectaron en saliva *H. pylori* en seis de cada diez personas infectadas⁽²⁷⁾.

La propagación fecal-oral es postulada por Graham y col. basándose en que la curva de seroprevalencia es muy similar a la que presentan otras infecciones que utilizan esta vía como es el caso de la poliomielitis y hepatitis y por la estrecha relación que existe con la higiene personal y sanitaria que estas enfermedades mantienen⁽¹⁰⁹⁾.

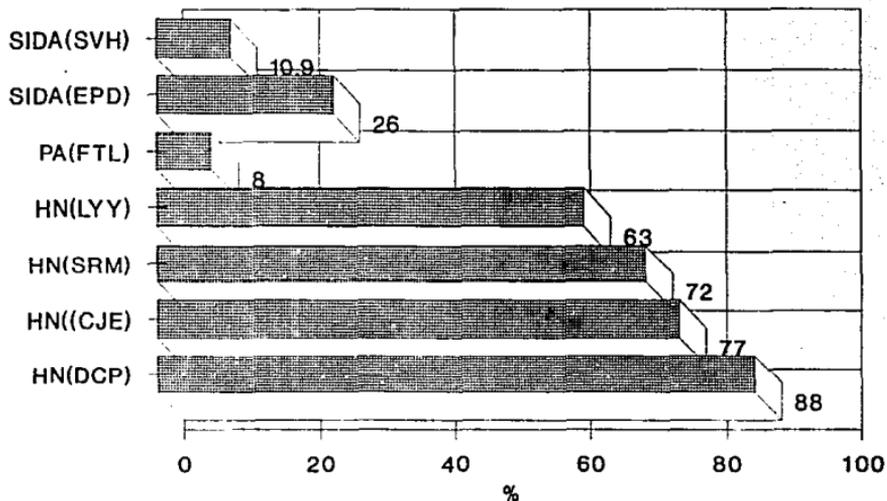
Se ha observado la posibilidad de una transmisión vía sexual, encontrando altos títulos de anticuerpos en pacientes que se han atendido en clínicas de enfermedades de transmisión sexual tanto en mujeres como en homosexuales, lo que ha hecho pensar que la conducta sexual podría ser importante en la transmisión de este organismo, sobre todo por la vía oral-anal. Lous B. Polish y col. al hacer una comparación de seropositividad

en pacientes atendidos en un hospital de enfermedades de transmisión sexual en los que se incluían inmunodeficientes por VIH, tanto homosexuales como heterosexuales reportando un 27% de frecuencia, donde el 12% pertenecía a los de origen caucásico, el 41% de raza negra y el 42% hispanos. Por otro lado se observó que el 18% pertenecía a homosexuales VIH positivos el 20% homosexuales VIH negativo y el 35% en heterosexuales VIH negativo⁽¹¹⁰⁾. Concluyen que la práctica sexual no es tan importante en la transmisión de la infección por *Helicobacter pylori* dando más importancia a los factores de riesgo, así como a las diferencias socioeconómicas⁽²⁷⁾. Battan R. reportó un 40% de infección en pacientes VIH positivo contra un 39% de pacientes control donde el 60% y 61% se observó con gastritis activa respectivamente⁽¹¹¹⁾ (FIGURAS 16 Y 17).

Helicobacter pylori ha sido estudiado ampliamente en la población VIH negativo, en la que se ha demostrado una gran asociación con la gastritis crónica con un incremento de la frecuencia con la edad y con las condiciones socioeconómicas de la población estudiada y con menor frecuencia que esta en la población VIH positivo con similares patologías y niveles socioeconómicos. Se ha visto que la prevalencia de *H. pylori* en grupos con SIDA que sufren de gastritis crónica solo en un 15.9%, significativamente muy abajo que los reportes previos de la población VIH negativo, lo que implica que la etiología de la gastritis en los VIH positivo es de diferente origen⁽¹¹²⁾. Mariano y col. reportan un 15% de infección en pacientes con SIDA donde solo el 16% sufren gastritis crónica activa y en el 18% se pudo aislar al microorganismo de las erosiones o úlceras que presentaban⁽¹¹²⁾ (FIGURAS 14 Y 15).

Se ha pensado que el uso de antibióticos en los pacientes VIH positivo es un importante factor en la baja prevalencia de infectados por *H. pylori*, por otro lado se ha reportado en pacientes con SIDA un decremento en la secreción ácida, donde la hipoclorhidria podría proveer un medio ambiente poco favorable para el microorganismo, que el uso del omeprazol puede erradicar a *H. pylori*, y que en pacientes con anemia permisosa existe baja prevalencia a la infección, situaciones todas ellas similares a las características que presenta la aclorhidria de los VIH positivo.

**FIGURA No. 14 PREVALENCIA DE H. pylori
EN PACIENTES CON GASTRITIS HISTOLOGICA**



PA= ANEMIA PERNICIOSA

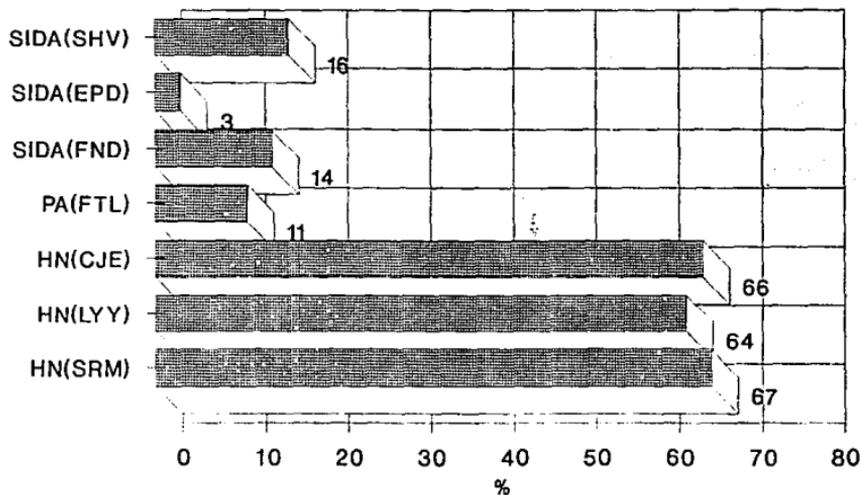
HN= VIH (-)

EL PARENTESIS INDICA EL AUTOR

 H. pylori (+)

TOMADO DE REF. (112)

**FIGURA No. 15 PREVALENCIA DE H. pylori (%)
EN PACIENTES CON SINTOMAS GASTROINTESTINALES**



PA= ANEMIA PERNICIOSA

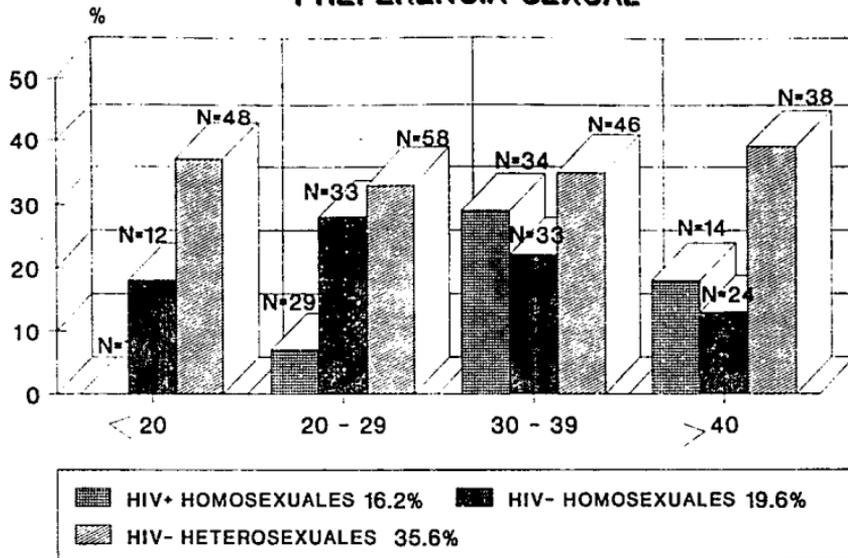
HN= VIH(-)

EL PARENTESIS INDICA EL AUTOR

 H. pylori (+)

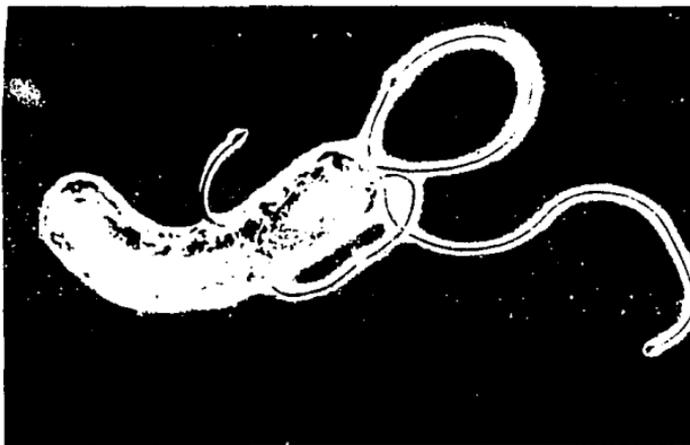
TOMADA DE REF. (112)

FIGURA : 16 SEROPREVALENCIA DE H. pylori EDAD Y PREFERENCIA SEXUAL



TOMADO DE REFE. (110)

FRECUENCIA DE *Helicobacter pylori* EN PACIENTES
INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA
INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) DEL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA DEL CENTRO
MEDICO LA RAZA.



(207-15)

8.0.-JUSTIFICACION.

Las enfermedades pépticas se encuentran entre las principales causas de consulta médica y se ha visto que existen diversos factores que las predisponen donde el dolor epigástrico de tipo ardor llega a alcanzar hasta un 60% de los síntomas y en los estudios histológicos predomina el infiltrado inflamatorio crónico (46.6%) o moderado (56.6%); así mismo se ha observado presencia de *Helicobacter pylori* hasta en un 64 % aproximadamente, teniendo un claro incremento con la edad^(1, 68, 102).

H. pylori se presenta en cualquier etapa de la vida y puede mantenerse sin causar manifestaciones en el huésped por mucho tiempo por lo que algunos investigadores lo consideran como parte de la flora normal, sin embargo presenta una inflamación crónica (gastritis tipo B) que en determinado momento puede causar alteraciones en la mucosa disminuyendo las microvellosidades y alterando la secreción de moco, estimulando la producción de ácido gástrico y dañando las células adyacentes donde se localiza llegando a provocar úlceras, jugando un papel como cofactor en otras alteraciones del tipo neoplasia gástrica^(6, 8).

Se ha reportado que las condiciones socioeconómicas tienen relación en la frecuencia de infección por *H. pylori* encontrando en los países subdesarrollados valores elevados tanto en personas sintomáticas como asintomáticas (60% y 40%) encontrándose a México entre estos^(27, 45, 104, 105).

Las personas inmunocomprometidas como son los afectados con el VIH pueden llegar a manifestar los síntomas de forma aguda además se sabe que la etiología de algún padecimiento puede ser múltiple siendo importante el diagnóstico para un tratamiento rápido y oportuno tomando en cuenta la distribución de agentes patógenos oportunistas que pueden desarrollar la enfermedad^(11, 109, 110, 112).

En México ningún estudio se ha realizado con pacientes VIH positivo para conocer la distribución de *H. pylori* que permita en determinado momento conocer la probabilidad de que este sea la causa de la manifestación péptica cuando se presenta, por lo que en este estudio se ha elegido población VIH positivo no seleccionada (asintomáticos aparentemente) que ingresan a consulta o que se encuentran hospitalizados para un estudio endoscópico que nos permita obtener muestras del tracto gástrico alto y realizar el diagnóstico microbiológico demostrando la presencia de *Helicobacter pylori* en esta población.

9.0.-OBJETIVOS.

9.1.- OBJETIVO GENERAL:

Conocer la frecuencia de *Helicobacter pylori* en pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) atendidos en el Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza.

9.2.- OBJETIVOS PARTICULARES:

- Conocer las características generales de *Helicobacter pylori*.
- Identificar *Helicobacter pylori* por microscopia en especímenes de biopsia de tracto gástrico haciendo una impronta y tinción de Gram, apoyando con la prueba de ureasa rápida directa de biopsia.
- Aislar *Helicobacter pylori* a partir de biopsias de tracto gástrico de pacientes con VIH. positivo.
- Relacionar las características epidemiológicas y clínicas de los individuos infectados con *Helicobacter pylori* con las características que presentan los pacientes *H. pylori* negativos.

10.0.-HIPOTESIS:

-Los individuos VIH. positivo presentan una frecuencia de infección por *Helicobacter pylori* similar a la reportada en población VIH negativo (49% en promedio).

11.0.-MATERIAL:

-Biopsias de antro y cuerpo gástrico y duodeno obtenidas por endoscopia en pacientes infectados con VIH captados en las áreas de hospitalización y de consulta externa. A cada enfermo se le efectuó una entrevista estructurada y una secuencia de estudios, llenando el cuestionario elaborado expreso.

CRITERIOS DE INCLUSION:

- Pacientes hospitalizados y de consulta externa de 18 años o más.
- No haber tomado ningún tipo de medicamento ni antimicrobiano al menos siete días antes del estudio endoscópico.
- Que cuenten con detección de VIH por ELISA y confirmada por Western Blott.
- Que acepten ingresar al estudio.

CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Sobrevida estimada mayor de dos semanas.
- Sangrado masivo del tubo digestivo.
- Insuficiencia respiratoria
- Incapacidad de cooperación por cualquier daño neurológico.

11.1.-EQUIPO Y REACTIVOS:

- Estufa de incubación a 37°C.
- Cajas de Petri.
- Tubos de vidrio 13X100.
- Portaobjetos.
- Jarra de anaerobiosis.
- Sobre generador de CO₂.
- Asas de platino.
- Aplicadores de madera.
- Equipo de tinción de Gram.
- Agar Cerebro Infusión Corazon (BHI).
- Agar Mac Conkey.
- Caldo Tioglicolato sin dextrosa ni indicador.
- Urea.
- Rojo de fenol.
- Sol. peróxido de hidrógeno 3%.
- Sol. nnn-parametilaminobenzaldehido (Bigaux).
- Acido nalidixico 3 mcg. (Bigaix).
- Cefalotina 3mcg. (Bigaux).
- Polienriquecimieto (Bioxon).
- Anfotericina B.(SQUIBB)
- Vancomicina (BBL)
- Sulfato de polimixina B (BBL).
- Metanol.

12.0.- METODOLOGIA.

12.1.- PROCEDIMIENTO:

Se captaron 89 pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana diagnosticados por ELISA y confirmado por Wester Blott de las áreas de hospitalización y de consulta externa durante el periodo comprendido entre noviembre de 1992 y julio de 1993, donde 81 hombres y 8 mujeres con un rango de edad de 19 a 45 (33 años en promedio) a los cuales se les aplico un cuestionario previo al estudio endoscópico a realizar con el objetivo de recopilar antecedentes epidemiológicos como el de ingerir agua de la llave, comer alimentos de dudosa calidad higiénica, motivos de consulta, niveles de linfocitos CD4+ y las manifestaciones clínicas que presentaban al momento del estudio con el consentimiento propio del paciente y tomándose en cuenta los criterios de inclusión y exclusión para el proyecto.

Se le pidió al paciente permanecer por lo menos con 12 horas de ayuno, se le aplico anestésico local (Xilocaína 1%) en aerosol y por medio de un Panendoscopio marca Fujinon se realizó el estudio endoscópico por un médico especialista. El Panendoscopio fue lavado con jabón glutaraldehído al 2%, alcohol al 70% y solución salina.

A cada paciente se le tomaron 3 biopsias muestra de cada zona: cuerpo, antro y duodeno. Con la ayuda de un aplicador de madera estéril una de cada muestra fue colocada en el fondo de un tubo que contenía 0.5 ml. del medio para la prueba de ureasa rápida y se mantuvo a temperatura ambiente tomando el tiempo hasta observar vire en el indicador de amarillo paja a naranja o rojo alrededor de la biopsia, descartandola si no hubo cambio a las 4 horas o si la acidez se incrementó.

Otra de las muestras fue colocada sobre un portaobjetos limpio y desengrasado haciendo una impronta, fijandola con metanol y tiñendola con colorantes de Gram observando al microscopio por inversión la presencia de *Helicobacter pylori* con morfología pleomorfica característica entre el tejido.

La tercera muestra se utilizó para inocular medios de cultivo selectivo para *Helicobacter*, Agar Sangre y Agar Mac Conkey bajo condiciones de asepsia. Se colocó el medio para *Helicobacter* dentro de la jarra de anaerobiosis, utilizando un sobre generador Gas-pak para formar condiciones de medioambiente microaerofilicas y se guardó en una estufa a 37°C durante 4 días, al termino de este periodo se abrió la jarra para observar crecimiento de colonias translucidas, grisáceas de 1 mm. de diámetro o reincubar si no hubo crecimiento por otros 4 días bajo las mismas condiciones para poder descartar. A las colonias características se

les realizo frote con tinció de Gram, catalasa , oxidasa y la prueba de ureasa rápida, se realizo resiembra para confirmar utilizando sensidiscos impregnados con cefalotina y ácido nalidixico y se procedio a conaservar la cepa en criatubos con caldo BHI glicerol al 15% a -72°C..

El Agar Sangre y Agar Mac Conkey son incubados a 37°C durante 24 horas en que se revisaron si existe crecimiento de cualquier tipo utilizando la metodologia de Cowan y Steel para su identificación, descartando si no hay crecimiento a las 48 horas.

12.2.- TECNICAS.

1.0.- tres biopsias obtenidas por endoscopia de cada una de las zonas; antro y cuerpo del estómago y tres del duodeno.

2.0.- Una de las biopsias colocarla en el medio indicador de ureasa rápida y tomar el tiempo hasta el vire del indicador (de 1 a 4 horas).

3.0.- Con otra de las biopsias realizar una impronta sobre un portaobjetos de vidrio limpio y desengrasado, fijarlo con metanol y realizar tinción de Gram para observación microscópica.

4.0.- La tercera biopsia y bajo condiciones de asepsia; se utiliza para inocular el medio selectivo de *helicobacter* impregnando con esta toda la superficie del medio, repetir en el medio de Agar Sangre y con el de Agar Mac Conkey.

5.0.- El medio selectivo para *Helicobacter* es colocado dentro de una Jarra de Anaerobiosis, utilizando un sobre generador de CO₂ GasPak (BBL) para formar las condiciones ambientales microaerofílicas es incubado a 37°C durante 4 días.

6.0.- El medio de Agar Sangre y de agar Mac Conkey se incuban a 37°C de 24 a 48 horas.

7.0.- Pasado el tiempo de incubación del medio selectivo para *Helicobacter* se revisa si existe crecimiento de colonias translúcidas de aproximadamente 1 mm de diámetro, catalasa y oxidasa positivo, prueba de ureasa rápida (de 1 a 30 minutos), tinción de Gram negativa y observación microscópica característica con pleomorfismo (bacilos curvos, en forma de S, forma de coma o como alas de gaviota) considerando como positiva la presencia de *Helicobacter pylori*.

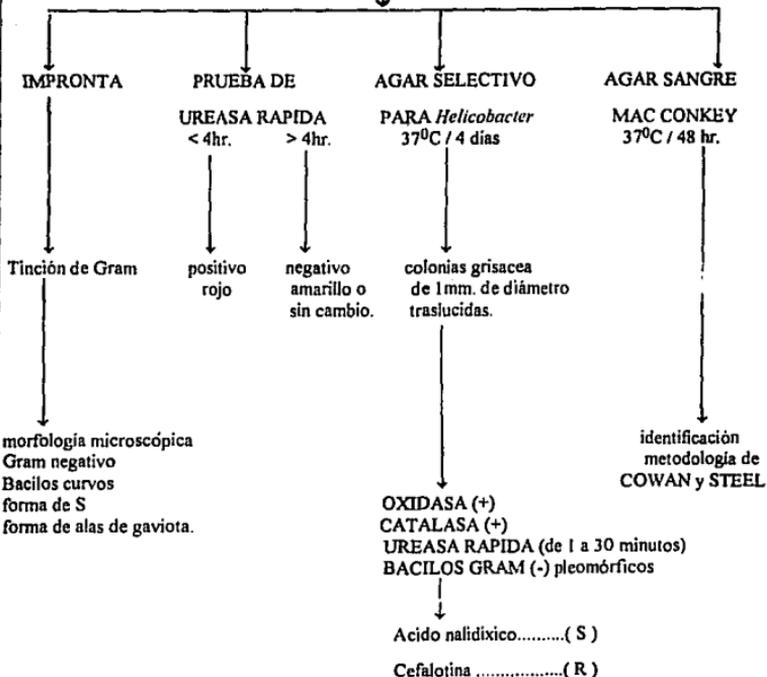
8.0.- Resembrar y colocar un disco impregnado con cefalotina 30µg. (Bigaux) y uno de ac. nalidixico 30µg. (Bigaux) incubar bajo las mismas condiciones 4 días y observar halo de inhibición para la cefalotina confirma el diagnóstico.

9.0.- Cosechar en criatubos que contengan caldo BHI con 15% de glicerol y almacenar a -72°C.

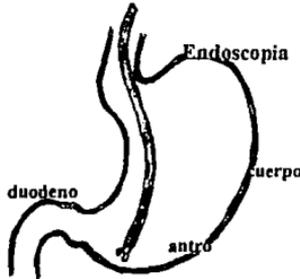
10.0.- Si existe crecimiento en los medios de Agar Sangre o de Agar Mac Conkey se realiza identificación siguiendo el procedimiento de Cowan y Steel.

13.-DIAGRAMA DE TRABAJO:

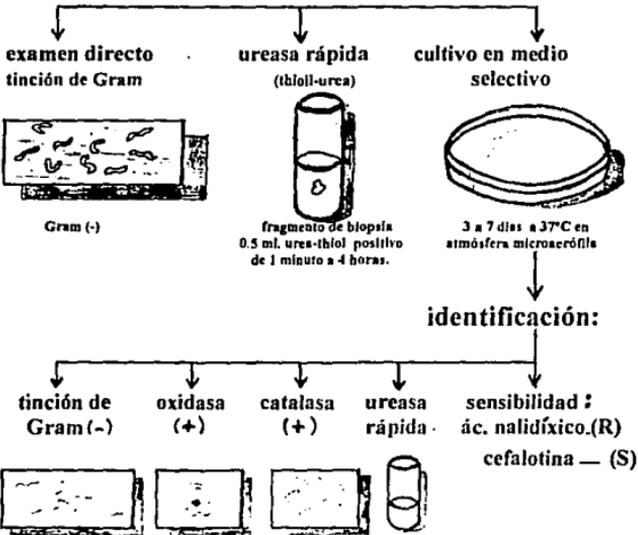
BIOPSIAS DE ANTRO Y CUERPO GASTRICO, DUODENO



ESQUEMA DE IDENTIFICACIÓN Y AISLAMIENTO DE *Helicobacter pylori*.



muestra ➔ **análisis histopatológico**



15.0.- RESULTADOS.

TABLA: 23 FRECUENCIA DE INFECCION POR H.pylori EN VIH+

PACIENTES	89
MUJERES	8
HOMBRES	81

H. pylori (+)	35	(39.32%)
----------------------	-----------	-----------------

CUERPO Y ANTRO	18	(51.42%)
-----------------------	-----------	-----------------

CUERPO	12	(34.28%)
---------------	-----------	-----------------

ANTRO	4	(11.42%)
--------------	----------	-----------------

DUODENO	1	(2.85 %)
----------------	----------	-----------------

A PARTIR DE PRUEBA RAPIDA DE UREASA, FROTES TEÑIDO CON GRAM Y/O CULTIVO POSITIVO

CULTIVOS POSITIVOS	15	(42.0%)
---------------------------	-----------	----------------

CULTIVOS AISLADOS	10	(28.0%)
--------------------------	-----------	----------------

FLORA ASOCIADA	3	(8.57%)
-----------------------	----------	----------------

Tinción de Gram de



frote directo de biopsia

Prueba de ureasa rápida

(ullobal-gastric)

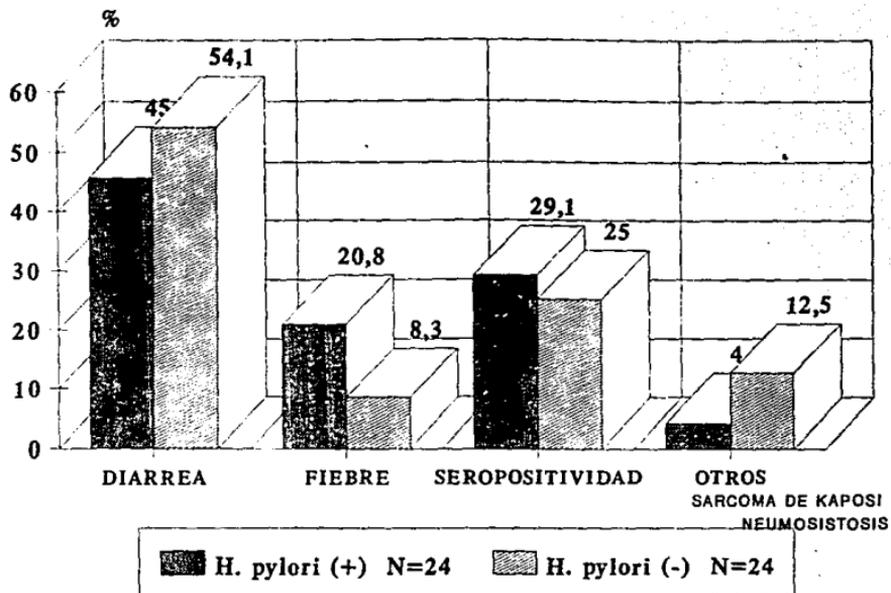


negativo positivo

TABLA: 24 MOTIVO DE CONSULTA

	H. pylori (+) N=24	H. pylori (-) N=24
DIARREA	11 (45.80%)	13 (54.10%)
FIEBRE	5 (20.80%)	2 (8.30 %)
SEROPOSITIVIDAD	7 (29.10%)	6 (25.00%)
OTROS	1 (4.10 %)	3 (12.50%)
Sarcoma de Kaposi neumocistosis		

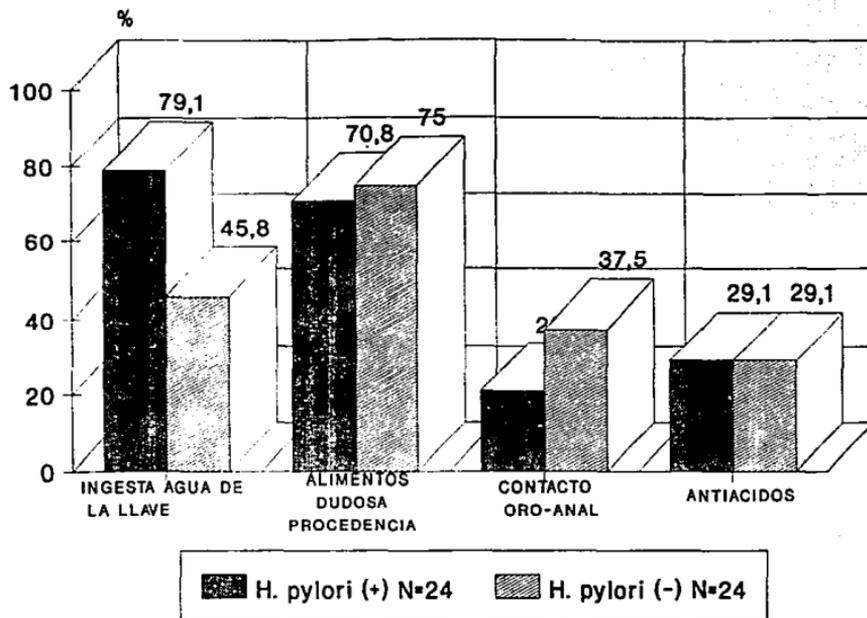
FIGURA 18: MOTIVO DE CONSULTA ENTRE PACIENTES H. pylori (+)
Y H. pylori (-)



**TABLA: 25 ANTECEDENTES EPIDEMIOLOGICOS DE PREDISPOSICION
A INFECCION POR H. pylori**

	H. pylori (+)	H. pylori (-)
	N=24	N=24
INGESTA DE AGUA DE LA LLAVE	19 (79.10%)	11 (45.80%)
ALIMENTOS DE DUDOSA PROCEDENCIA	17 (70.80%)	18 (75.00%)
CONTACTO ORO-ANAL	5 (20.80%)	9 (37.50%)
ANTIACIDOS	7 (29.10%)	7 (29.10%)

FIGURA No. 19 ANTECEDENTES EPIDEMIOLOGICOS DE
PREDISPOSICION A INFECCION POR H. pylori



**TABLA: 26 CUADRO CLINICO DEL PACIENTE EN EL MOMENTO
DE LA ENDOSCOPIA**

H. pylori (+) **H. pylori (-)**
N=24 N=24

PIROSIS	13 (54.10%)	11 (45.80%)
DOLOR ABDOMINAL	15 (62.50%)	13 (54.10%)
FLATULENCIA	5 (20.80%)	4 (16.60%)
DIARREA	12 (50.00%)	12 (50.00%)

FIGURA 20: CUADRO CLINICO DE PACIENTES *H. pylori*(+) Y *H. pylori* (-) EN EL MOMENTO DEL ESTUDIO ENDOSCOPICO

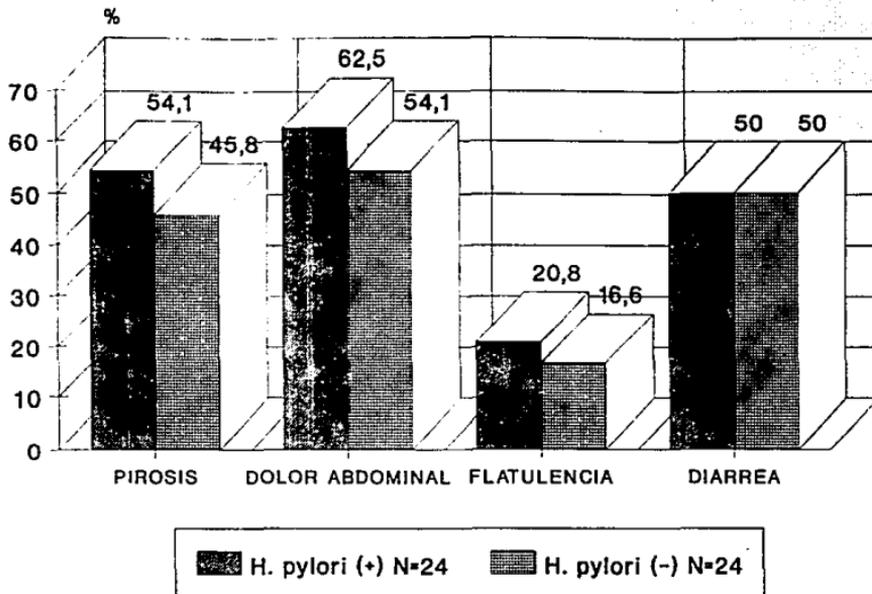
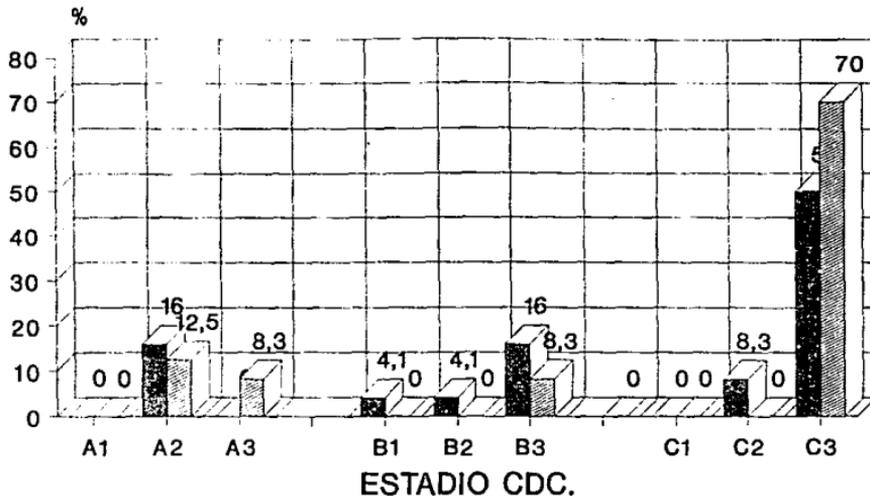


TABLA: 27 ESTADIO CLINICO CLASIFICACION CDC

estadio	H. pylori (+)		H. pylori (-)	
		N=24		N=24
A1	0	-	0	-
A2	4	16%	3	12.5%
A3	0	-	2	8.3%
B1	1	4.1%	0	-
B2	1	4.1%	0	-
B3	4	16%	2	8.3%
C1	0	-	0	-
C2	2	8.3%	0	-
C3	12	50%	17	70%

**FIGURA N: 21 CLASIFICACION DEL ESTADIO CLINICO CDC ENTRE
PACIENTES H. pylori (+) Y H. pylori (-)**

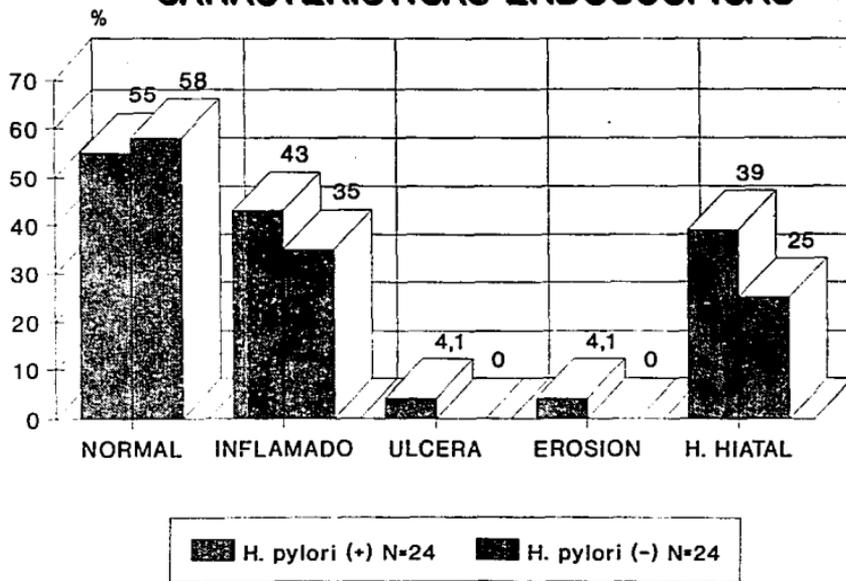


■ H. pylori (+) N=24

▨ H. pylori (-) N=24

FIGURA: 22

CARACTERISTICAS ENDOSCOPICAS



16.0.- DISCUSION.

Del mes de noviembre de 1982 al mes de julio de 1993 se estudiaron a 89 pacientes de acuerdo a como se presentaban a consulta o que ingresaban al área de hospitalización, con un rango de edad entre 19 y 65 años (33 de promedio) encontrando que 8 pacientes fueron de sexo femenino y 71 de sexo masculino.

La frecuencia encontrada de *Helicobacter pylori* positivo en esta población fue de un 39.2% (35/89) localizándose un porcentaje en antro gástrico de 11.40% menor que en la zona de cuerpo (34.28%) pero en ambas zonas se localizó en un 51.42% lo que concuerda con los últimos reportes donde se demuestra que el microorganismo no tiene preferencia por una zona determinada como se pensaba anteriormente; mayor afinidad en el antro gástrico cerca del esfínter pilórico. A un solo paciente se le localizó *H. pylori* en duodeno, cuerpo y en antro, además fue el único que presentó úlcera en duodeno.

El diagnóstico fue realizado por la observación directa del tejido teñido con Gram paralelo a la prueba directa de ureasa rápida, coincidiendo ambas en todos los casos. En los cultivos solo el 42% (15/35) resultaron positivos a las pruebas de oxidasa, catalasa, ureasa rápida y morfología microscópica característica, el 62% se debió a contaminaciones por hongos del medio ambiente o a que el microorganismo no fue capaz de sobrevivir a la exposición de oxígeno que la concentración de la muestra era muy escasa o en un principio a la falta de experiencia en el manejo del espécimen. Por otro lado solo 10 (28%) de los cultivos positivos se pudo sembrar para conservar las cepas a -72°C.

Solo en tres de los casos se observó flora asociada al crecimiento de *H. pylori* siendo dos casos por *Pseudomonas aeruginosa* y uno más por *Klebsiella sp.* así como un caso de *Pseudomonas aeruginosa* pero negativo para *H. pylori* lo que nos hace pensar que estos casos más que flora asociada se trató de posible contaminación al momento de la toma de la muestra ya que en muchas de las veces las observaciones realizadas requerían de llegar hasta el tercer tercio del duodeno, lo que incrementaba la posibilidad de contaminación por bacterias del tracto intestinal.

Para realizar las comparaciones entre las características que presentaban los pacientes en el momento del estudio y la presencia de *Helicobacter pylori* se formaron dos grupos de todos los pacientes; 24 fueron *H. pylori* positivos y 24 *H. pylori* negativo que contaban con todo su expediente completo incluyendo el cuestionario previo al estudio. En la tabla de resultados No 25 se observan las características de antecedentes y hábitos que pudieran predisponer a una infección por *H. pylori* encontrando que no existe diferencia alguna entre los dos grupos de pacientes. En la tabla de aspectos clínicos que presentaban al momento del estudio

tampoco se tiene una característica clínica que indicara tener relación con la presencia del microorganismo. De igual manera sucede con los títulos o su nivel de estadio de CD4+, comparando los dos grupos se observa relación de *H. pylori* muy independiente de este.

Muchos estudios se han publicado sobre la relación que se encuentra entre la sintomatología péptica y la presencia del microorganismo en personas VIH negativo^(47, 48) así como en individuos inmunocomprometidos la enfermedad puede ser más aguda pero sin embargo esta condición no es factor importante para que la infección se presente, además se ha reportado que *H. pylori* puede permanecer en el organismo durante grandes periodos de tiempo sin causar molestias y participar únicamente como un cofactor en procesos patológicos con otros como: el fumar, tomar alimentos irritantes, la tensión nerviosa, el consumo de alcohol y otros^(27, 68).

En la población VIH positivo se ha encontrado que la prevalencia de *H. pylori* es menor en personas con sintomatología que en los asintomáticos y se piensa que esto es debido a que la mayoría de los pacientes requieren de tratamientos prolongados con antibiótico que pueden afectar al microorganismo, por otro lado es bien conocido que en la población portadora de VIH existen alteraciones inespecíficas en el tubo digestivo que van de un 50 a un 90% con alteraciones que incluyen elevación del pH, aumento de producción de gastrina, disminución en la secreción del moco y sobre todo la baja respuesta inmune local con la disminución de linfocitos CD3+ y CD4+ proporcional al deterioro inmunológico periférico lo que puede favorecer infecciones por microorganismos entéricos oportunistas⁽¹¹²⁾.

En cuanto a la comparación de antecedentes predisponentes a la infección por *H. pylori* no se observan diferencias entre los *H. pylori* positivo y los *H. pylori* negativo lo que hace suponer una ruta de infección incierta, dificultando así la prevención.

Aun cuando más del 50% de la población en este estudio se encontraban en el estadio clínico de C3 según la clasificación vigente en 1993 de los CDC, la frecuencia de *H. pylori* fue alta comparada con lo reportado en otros países donde este nivel llega al 17.5%⁽¹¹²⁾.

De igual manera los hallazgos endoscópicos observados en la gráfica de la figura 22 no mostraron diferencias significativas que nos hiciera pensar en que la presencia de *H. pylori* fuera la causa de las alteraciones patológicas.

17.0.- CONCLUSIONES.

1.-La frecuencia de infección por *Helicobacter pylori* en población infectada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana no seleccionada del Hospital de Infectología del Centro Médico la Raza es de 40%.

2.- La técnica de observación microscópica con tinción de Gram y la prueba rápida de ureasa directas del espécimen de tracto gástrico son muy útiles para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*.

3.- El cultivo de *Helicobacter pylori* requiere de medios selectivos, así como de condiciones de laboratorio y experiencia para poder trabajarlo en un diagnóstico de rutina por endoscopia.

4.- Los antecedentes de consumo de agua y alimentos de dudosa procedencia no parecen tener relación con la infección por *Helicobacter pylori* en este estudio.

5.- La sintomatología péptica no parece ser un signo característico a la presencia de *Helicobacter pylori* en esta población.

6.- El nivel de estadio clínico de CDC no parece ser predisponente a la infección por *Helicobacter pylori*.

7.- Los hallazgos endoscópicos en la población VIH positivo no son indicativos de una infección causada por *Helicobacter pylori*.

18.- BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Martin J. Blaser M.D. "*Campylobacter pylori* In Gastritis And Peptic Ulcer". 1989, Edit. IGAKU-SHOIN. New York - Tokyo.
- 2.- Paul J. Romaniuk, Barbara Zoltowska, Trevor J. Trust. *Campylobacter pylori*, the Spiral Bacterium Associated With Human Gastritis, Is Not a True *Campylobacter Sp*". 1989, Journal of Bacteriology, Mayo : 2137 - 2141.
- 3.- J. Baquera, E. Rivera, A. Angeles, G. M. Ruiz-Palacios."Histologic Predictors Of *Campylobacter pylori* Associated Gastritis". In Ruiz- Palacios G. M., Calva Mercado J.J., (eds.) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 252 - 255.
- 4.- J. L. Kazi, R. Sinniah, V. Zaman, M. L. NG, N. A. Jafarey. "Ultrastructural Study Of *Helicobacter pylori*-Associated Gastritis". 1990. Journal Of Pathology, Vol. 161 : 65 - 70.
- 5.- S. Holck, L. Elsborg, T. Justensen, L. Percival Andersen. "Pathology of and Endoscopic Findings in *Campylobact pylori*- Colonized Duodenal Mucosa". In Ruiz- Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds.) Campylobacter V. Proceeding of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. 1991, pp.257 - 258.
- 6.- N. J. Talley, R. G. shorter, S. F. Phillips, A. J. Cameron. " Gastric Metaplasia and *Campylobacter pylori*" In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter. V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991, pp.259 - 260.
- 7.- Martin J. Blaser, Guillermo Perez-Perez. "Association of Infection Due to *Helicobacter pylori* with Specific Upper Gastrointestinal Pathology". 1991, Reviews of Infectious Diseases; 13 (Suppl 8) : S 704 - S 708.
- 8.- Pelayo Correa, James Fox, Elizabeth Fontham. "*Helicobacter pylori* and Gastric Carcinoma Serum Antibody prevalence in Populations With Contrasting Cancer Risk". 1990, Cancer, December 15, Vol. 66 : 2569 - 2574.
- 9.- J. E. Ormand, N. J. Talley, R. G. Shorter, C. R. Conley. "Prevalence of *Campylobacter pylori* in Various Forms of Gastritis". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds) Campylobacter V. Proceeding of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 256 - 257.

- 10.- M. T. Drog- Lefaix, F. Bonneville, E. N. Moyen. "Gastritis Induced by *Campylobacter pylori* in Germ-Free Rats". In Ruiz Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds.) Campylobacter V. Proceeding of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.346 - 349.
- 11.- Geace H. Elta. "*Helicobacter pylori* in Patients With Nonulcer Dyspepsia", 1991, Reviews of Infectious Diseases; 13 (Suppl 8) : S 696 - S 699.
- 12.- Francis Megraud, Francoise Bonnet, Monique Garnier. "Charaterization of *Campylobacter pyloridis* by Culture, Enzimatic Profile, and Protein Content". 1985; Journal of Clinical Microbiology : Vol. 22, No. 6 : 1007 - 1010.
- 13.- John W. Austin. Peter Doig, Murray Stewart. "Micromolecular Structure and Aggregation States of *Helicobacter pylori* Urease". 1991; Journal of Bacteriology, Vol. 173, No. 18 : 5663 - 5667.
- 14.- M. J. Hudson and D. G. Newell. "Continous Culture of *Campylobacter pylori*". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds.) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp 293 - 295.
- 15.- J. Monés Xiol, S. Sáinz Sáenz - Torre y B Mirelis Otero. " *Helicobacter pylori* en Patologia Gastroduodenal". 1992; Medicine; Patologia Infecciosa III ; 3ª Edic. Marzo : 20 - 30.
- 16.- Timothy A. Bertram, Steven Krakowka and Donna R. Morgan. "Gastritis Associated With Infection by *Helicobacter pylori*: Comparative Pathology in Humans and Swine". 1991; Reviews of Infectious Diseases; 13(Suppl 8) : S 714 - S 722.
- 17.- Magdalena Kostrzynka, Janice D. Betts, John W. Austin and Trevor J. Trust " Identification, Characterization and Spatial Localization of Two Flagellin Species in *Helicobacter pylori* Flagella". 1991; Journal of Bacteriology; Vol. 173. No. 3 : 937 - 946
- 18.- D. M. Jones and A. Curry. "Genesis of Spherical Forms of *Campylobacter pylori*. In Ruiz- Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.343 - 345.
- 19.- S. L. Hazell, D J Evans Jr., D G. Evans and D Y. Graham. "*Campylobacter pylori* Catalase: A Putative Virulence Factor". In Ruiz- Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.367 - 368.

- 20.- Stuart L Hazell, Doyle J Evens, and David Y. Graham. "*Helicobacter pylori* Catalase"; 1991 Journal of General Microbiology; 137 : 57 - 61.
- 21.- Robert D. Leunk. " Production of a Cytotoxin by *Helicobacter pylori*". 1991; Reviews of Infectious Diseases; 13 (Suppl 8) : S 686 - S 689.
- 22.- B. J. Marshall, H. Royce, D. I. Appear., C. S. Goodwin. "Original Isolation of *Campylobacter piloridis* From Human Gastric Mucosa", 1984; Microbios Letters; 25 : 83 - 88.
- 23.- C. Stewart Goodwin, Johon A. Armstrong. "Transfer of *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. Nov: as *Helicobacter pylori* com. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. Respectively". 1989; Journal Sist. Bacteriology; Vol. 39, No. 1 : 397 - 404.
- 24.- D. G. Newell, M. J. Hudson and Baskeville. "Isolation Of a Gastric *Campylobacter*- Like Organism from the Stomach of Four *Rhesus* Monkeys, and Identification as *Campylobacter pylori*". 1988; J. Med. Microbiol. Vol. 27 ; 41 - 44.
- 25.- Luqueño Martinez. Veronica Gabriela . "Estandarición de Método de ELISA para la Detección de Anticuerpos contra *Campylobacter pylori*". 1989; Tesis UNAM, ENEP- Zaragoza, México DF. pp. 18- 25.
- 26.- Luqueño Martinez Veronica Gabriela , L. M. Perez Mejia , Y. López Vidal. "*Helicobacter* y Bacterias Relacionadas con el diagnóstico de laboratorio de infecciones Gastrointestinales". Unidad III Diagnóstico Bacteriológico. Capitulo III-8. INDRE.
- 27.- Taylor N. David and Martin J. Blases . "The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection" 1991; Epidemiologic Reviews; Vol. 13: 42-59
- 28.- Clidna A, M. McNulty and Julie C. Dent. "Rapid identification of *Campylobacter pylori* (*C. pyloridis*) by Preformed Enzymes" 1987; Journal of Clinical Microbiology; Vol 25, No. 9 :1683-1686.
- 29.- Y. Glupezynski, M. Labbe and F. Thibaumont. "comparative Evaluation of a New selective Culture Medium for Improved Isolation of *Campylobacter pilory* From Gastric Biopsy Specimens" In: Ruiz-Palacios G.M., Calva Mercado J.J., (Eds) *Campylobacter* V. Proceedings of the Fifth International Workshop on *Campylobacter* Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 288-289.
- 30.- Duiciene M.M. Queiroz, Edilberto N. Mendez and Crifone A. Roche. "Indicator Medium for Isolation of *Campylobacter pylori*" 1987; Journal of Clinical Microbiology; Vol. 25, No. 12: 2378-2379.
- 31.-

- 32.- Dulcine M.M Queiroz, Ediberto N. Mendez. "Indicator Medium for Isolation of *Campylobacter pylori*". 1987; Journal of Clinical Microbiology; Vol. 25, No. 12 : 2378 - 2379.
- 33.- George E. Buck and John S. Smith. "Medium supplementation for Growth of *Campylobacter pyloridis*". 1987; Journal of Clinical Microbiology. Vol. 25, No. 4 : 597 - 599.
- 34.- Dona R. Morgan, Raymond Freedman, Charles E. Depew and William G. Kraft. " Growth of *Campylobacter pylori* in Liquid Media". 1987; Journal Of Clinical Microbiology. Vol. 25, No.11 : 2123 - 2125.
- 35.- Julie Parsonet, Karen Welch, Carolyn Compton, Robert Strauss. "Simple Microbiologic Detection of *Campylobacter pylori*". 1988; Journal of Clinical Microbiology. Vol. 26, No. 5 : 948 - 949.
- 36.- Agnes Labigne, Valérie Cussac and Pascale Courcoux. "Shuttle Cloning and Nucleotide Sequences of *Helicobacter pylori* Genes Responsible for Urease Activity". 1991; Journal of Bacteriology. Vol. 173, No. 6 : 1920 - 1931.
- 37.-Harry L. T. Mobley, Manuel J. Cortesia, Linda E. Rosenthal and Bradley D. Jones. "Characterization of Urease From *Campylobacter pylori*". 1988; Journal of Clinical Microbiology. Vol. 26, No. 5 : 831 - 836.
- 38.- J. C. Dent and C. A. M. McNulty. "New Selective Medium for *Campylobacter pylori*". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds.) Campylobacter V. Proceeding of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.290 - 292.
- 39.- P. R. Hawtin, A. R. Stacey and D. G. Newell. "Investigation of the Structure and Localization of Urease from *Campylobacter pylori* Using Monoclonal Antibodies". 1990; Journal of General Microbiology. 136 :1995 - 2000.
- 40.- Rosalia Baez Mendoza. "Investigacion de *Helicobacter pylori* Utilizando Tecnica de Coagluinación" 1992. Universidad Autonoma de Puebla; Escuela Nacional de Ciencias Quimicas. TESIS.
- 41.- D. M. Jones, A. Curry, E. M. Sutcliffe. "Coccal Forms of *Campylobacter* and *Helicobacter* Are Generate Differently". 1991; Microbiological Ecology in Health and Disease; The IV th. International Workshop on *Campylobacter* and Related Organims. Edit. WICEY ; Vol. 4 Special Issue, October S 76 (abstracts)

42.- L. Cellini, N. Allocati, R. Piccolomini, E. Campi and B. Dainelli. "New Plate Medium for Growth and Detection of Urease Activity of *Helicobacter pylori*". 1992; Journal of Clinical Microbiology; Vol. 30, No. 5 : 1351 - 1353.

43.-Jonaki Lelwaila-Guruge, Asa L. Jungh and Torkel Wadström. "Hemagglutination Patterns of *Helicobacter pylori*". 1992; APMIS; 100 : 908 - 913.

44.- Jane I. Smith, Brendan Drumm, A. Wilhem Neomann, Zdenka Policova and Philip M. Sherman. "In Vitro Surface Properties of the Newly Recognized Gastric Pathogen *Helicobacter pylori*" 1990; Infection and Immunity; Vol. 58, No. 9 : 3056 - 3060.

45.- C. Stewart Goodwin and Bryan W. Worsley. "Mycrobiology of *Helicobacter pylori*"; 1990; *Helicobacter pylori* Infection; Gastroenterology Clinics of North America; Vol. 22, No. 1 : 5 - 19.

46.- Jennifer Robinson, C. S. Goodwin, Margaret cooper, Valerie Burke and B. J. Mee. " Soluble and Cell-Associated Hemagglutinins of *Helicobacter (Campylobacter) Pylori*". 1990; Journal Medical Microbiology; Vol. 33 : 277 - 284.

47.- Guillermo Perez-Perez and Martin J. Blaser. "Conservation and Diversity of *Campylobacter pyloridis* Major Antigens". 1987; Infection and Immunity; Vol. 55, No. 5 : 1256 - 1263.

48.- Bruce E. Dunn, Guillermo I. Perez-Perez and Martin J. Blaser. "Two-Dimensional Gel Electrophoresis and Immunoblotting of *Campylobacter pylori* Proteins". 1989; Infection and Immunity; Vol. 57, No. 6 : 1825 - 1833.

49.- Anthony P. Moran, Ilkka M. Helander and U. Kosunen. "Compositional Analysis of *Helicobacter pylori* Rough-Form Lipopolysaccharides". 1992; Journal of Bacteriology; Vol. 174, No. 4 : 1370 - 1377.

50.- Harry L. T. Mobley and Robert P Hausinger. " Microbiological Urease: Significance, Regulation and Molecular Characterization". 1989; Microbiological Reviews; Vol. 53, No. 1 : 85 - 108.

51.- Bruce E. Dunn, Gail P. Campbell, Guillermo I. Perez-Perez and Martin J. Blaser. "Purification and Characterization of Urease from *Helicobacter pylori*". 1990; The Journal of Biological Chemistry; Vol. 265, No.16 : 9464 - 9469.

52.- W. Bar, E. Glenn-Calvo, S. Wagner and H. Koop mann."Characterization of the Intracelular Respiration of *Helicobacter pylori*". 1991; Microbiological Ecology in Health and Disease. The 14th. International

53.- G. A Rocha, D. M. Queiroz, E. N. Mendez, A. P. Loge, A. J. A. Barbosa. "Simplified Staining for Demonstration of *Campylobacter* on Gastric tissue Sections". In Ruiz- Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds) *Campylobacter* V. Proceedings of the Fifth International Workshop on *Campylobacter* Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 314 - 315.

54.- Stuart L. Hazell, Adrian Lee, Lynette Brady and William Hennessy. "*Campylobacter pyloridis* and Gastritis: Association With Intercellular Spaces and Adaptation to on Environment of Mucous Important Factors In Colonization of the Gastric Epithelium". 1986; The journal of Infectious Diseases, Vol. 153, No. 4 : 658 - 663.

55.- Adrian Lee, James Fox and Stuart Hazell. "Patogenicity of *Helicobacter pylori*: a Prespective Minireview". 1993; Infection and Immunity, Vol. 61, No. 5 : 1601 - 1610.

56.- R. D. Leunk, M. A. Ierguson and D. R. Morgan. "In Vitro Adherence and Hemagglutination by *Campylobacter pylori*". In Ruiz Palacios G. M. Calva Mercado J. J., (eds) *Campylobacter* V. Proceedings of the Fifth International Workshop on *Campylobacter* Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 359 - 360.

57.- Doyle J. Evans, J. R., Dolores G. Evens, Katherine E. Smith and David Y. Graham. "Serum Antibody Responses to the N-Acetylneuraminylactose-Binding Hemagglutinin of *Campylobacter pylori*". 1989; Infection and Immunity; Vol. 57, No. 3 : 664 - 667.

58.- A. Rosenau, E. N. Moyon, F. Bonneville and J. L. Fauchere. "In Vitro - Association of *Campylobacter pylori* to Eucariotic Cell". In Ruiz- Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds) *Campylobacter* V. Proceedings of the Fifth International Workshop on *Campylobacter* Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.361. (abstract).

59.- Bruce E. Dunn. M. Altmann, G. P. Campbell. "Binding of *Campylobacter pylori* to KATO Cells Analyzed by Flow Cytometry". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J. (eds) *Campylobacter* V. Proceedings of the Fifth International Workshop on *Campylobacter* Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 362. (abstrac).

60.- Bruce E. Dunn, Magda Altmann and Gail P. Campbell. "Adherence of *Helicobacter pylori* To Gastric Carcinoma Cells: Analysis by Flow Cytometry". 1991; Reviews of Infectious Diseases, 13 (Suppl 8) : S657 - S 659.

- 61.- Marguerite Clyne and Brendand Drumm. "Adherence of *Helicobacter pylori* to Primary Human Gastrointestinal Cells". 1993; Infection and Immunity; Vol. 61, No. 10 : 4051 - 4057.
- 62.- Barri j. Marshall, J. Robin Warren, GraImlm J. Francis, Simon Lanyton. "Rapid Urease Test in the Management of *Campylobacter pyloridis*- Associated Gastritis". 1987; The American Journal of Gastroenterology; Vol. 82, No. 3 : 200 - 210.
- 63.- R. L. Ferrero and A. Lee. "Colonization of Gastric Surfaces by Spiral-Shaped Bacteria With Special Reference to Bacterial Urease". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp. 370 - 372.
- 64.- R. L. Ferrero, S. L. Hazell and A. Lee. "The Urease Enzymes of *Campylobacter pylori* and a related bacterium". 1988; Journal of Medical Microbiology; Vol. 27 : 33 - 40.
- 65.- A. E. Simon, R. D. Leunk, D. E. Low, D. Greyson and D. R. Morgan Mount. "Correlation Between Antibacterial and Antitoxin Antibodies and *Campylobacter pylori* Infection". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.384 - 386.
- 66.- R. L. Guerrant, L. J. Barrett, B. J. Marshall. "Cytotoxin Production by *Campylobacter pylori*" In Ruiz Palacios G. M., Calva mercado J. J., (eds) Campylobacter. V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.365.
- 67.- Timothy L. Cover and Marti J. Blaser. "Purification and Characterization of the Vacuolating Toxin From *Helicobacter pylori*". 1992; The Journal of Biological Chemistry; Vol. 267, No. 15 : 10570 - 10575.
- 68.- Garcia San Miguel, Roman Magdalena J. Rodex Teixidor J., Bruguera Cortada M. "Tubo Digestivo, Gastroenterologia" 1968 .En: Medicina Interna tomo I; Edirorial Marin S.A. pp. 48-69.
- 69.-Timothy L. Cover, Shaunter G and Martin J. Blaser. "Potentiation of *Helicobacter pylori* Vacuolatin Toxin By Nicotine and Other Weak Bases". 1992; The journal of Infectious Diseases; 166 : 1073 - 1078.
- 70.- Carl E. Catrenich. "Patogenesis of Infection by *Helicobacter pylori*" Introduction , 1991; Reviews of Infectious Diseases; 13 (Suppl 8) : S 655 - S 666.
- 71.- Mark Feldman, Richard W. McCallum, Denis M. McCarthy. "Ulceras y Reflujos, Adelantos terapéuticos". 1992; Atención Médica. México, Diciembre : 16 - 30.

- 72.- S. Brij, K. R. Neal, R. C. B. Slack, C. J. Hamkey, R. F. A. Logan. "H₂ Receptor Antagonist An Previous Gastric Surgery as Risk Factors for Salmonella Gastroenteritis". 1993 Gastroenterology; Vol. 104, No. 4 : A 1031.
- 73.-C. Stewart Goodwin. " Ulcera duodenal, *Campylobacter pylori* y el Concepto de Gotera". 1989; The Lancet. (Ed. Esp.) Vol. 4, No. 5 : 314 - 316.
- 74.- Guyton Artur Dr.. " Fisiología de los Trastornos Gastrointestinales" capitulo 66, 1984 ;De Tratado de Fisiología Médica. Edit. Interamericana, 6ª Edic. pp. 165.
- 75.- Javed Iqbal Kazi, Raja Sinniah, N. A. Jaffrey, S. M. Alam, V. Zaman, S. J. Zuberi and A. M. Kazi. "Cellular and Humoral Immune Responses in *Campylobacter pylori*- Associated Chronic Gastritis". 1989; Journal of Pathology; Vol. 159 : 231 - 237.
- 76.-R. Monno, A. Mosca, A. Piancone, E. Ierardi, A. Francavilla. "*Campylobacter pylori* Binds to Human Lymphocytes". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) *Campylobacter* V. Proceedings of the Fifth International Workshop on *Campylobacter* infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.376 - 377.
- 77.- H. Pruul, P. C. Lee, C. S. Goodwin and P. J. Mc Donald. "Interaction of *Campylobacter pyloridis* With Human Immune Defence Mechanisms". 1987; Journal Medical Microbiology; Vol. 23 : 233 - 238.
- 78.- Leif Percival Andersen, Hans Raskov, Lars Elborg. "Prevalence of Antibodies Against Heat-Stable antigens From *Helicobacter pylori* in Patients With Dyspeptic Symptoms and Normal Persons". 1992; A.P.M.S. 100 : 779 - 789.
- 79.- S. S. Das, Q. N. Karim and C. S. F. Easman. "Opsonophagocytosis of *Campylobacter pylori*". 1988; Journal Medical Microbiology; Vol. 27 : 125 - 130.
- 80.- G. Mauff, J. Benz, H. Hasbach, S. Eidi, G. Fätkenhever. "Immunity Against *Helicobacter pylori* in HIV-positive and HIV-negative Patients With Gastritis". 1991; Microbiological Ecology in Health and Disease, the IV th. International Workshop on *Campylobacter* Issue, october : S 118 (abstract).
- 81.- Adrian Lee, Jim Fox, Steve Krakowka, Joni O. Rourke. "The Importance of The Host in the Severity of *Helicobacter* Induced Gastritis". 1991; Microbiological Ecology In Health And Disease , the IV th. International Workshop on *Campylobacter* Issue, october : S 149 (abstract).

- 82.-Diana G. Newell. "The Principles and Practices of the Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* Infections". 1991; Lab. Medica International. Vol. III, No. 6 : 7 - 11.
- 83.- P. Guglielmett, N. Figura, A Rossolini, S Quaranta. "The Usefulness of the Acridine-Orange Stain in Identifying *Campylobacter pylori* In Gastric Biopsies" In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.312 - 313.
- 84.- Eduardo Rivera, Yolanda López-Vidal, Veronica Luqueño and Guillermo M. Ruiz- Palacios. "Indirect Immunofluorescence Assay for Detection of *Helicobacter pylori* In Human Gastric Mucosal Biopsies", 1991; Journal of Clinical Microbiology; Vol. 29, No. 8 : 1748 - 1751.
- 85.- N. Figura, P. Guglielmetti, P. Bardell, S. Verdiani, C. Paoli. "Latex Agglutination for Rapid Identification of *Campylobacter pylori* in Culture and Biopsies". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.309 - 311.
- 86.- Kenneth G. Van Dem, Brad M. Dworkin. "Tincion Gram y Prueba de Ureasa Para Detectar *Helicobacter pylori*" Infectologia; Año 12, No. 5, mayo : 339 - 342.
- 87.- D. Morgan, R. Leunk, M. Walling, E. Williams and W. Brown. "Immunofluorescence Assay (IFA) to Detect *Campylobacter Pylori* In Formalin-Preserved Gastric Tissue". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. 1991. pp.319 - 320.
- 88.- Linda M. Best, Sander, J. O. Valdhuyzen, U. Zanten, Gregory S. Bezanson. "Serological Detection of *Helicobacter pylori* a Flow Microsphere Immunofluorescence Assay". 1992; Journal of Clinical Microbiology; Vol. 30, No. 9 : 2311 - 2317.
- 89.- J. Gnape, H. Gnape, C. Blongrist, P. Unge. "Antibody Test For Presuntive Diagnosis of *Campylobacter pylori* ". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.331 - 332.
- 90.- J. P. Emond, M. P. Brassens-Rabbe, C. Chaplain. A. Dublanchet. "Microagglutination: Another Serologic Tool In *Campylobacter pylori*Infection". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. 1991. pp.329 - 330.

- 91.- T. U. Kosunen, J. Hook-Nikanne, D. Danielsson. "Detection of Antigenic Differences Between *Campylobacter pylori* Strain". In Ruiz-Palacios G. M. , Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991 pp.321-324.
- 92.- Michael C. Lerrone and Raymond E. Kahn. "Description of a Urease-Based Micro ELISA for the Analysis of Limiting Dilution microculture". 1991; Journal of Immunological Methods; 138 : 65 - 75.
- 93.- David Y. Graham, Peter D. Klein, Antone R. Opekun and Thomas W. Button. "Effect of Age on the Frequency by the (^{13}C) Urea Breath Test In Normal Subjects and Patients With Peptic Ulcer Disease". 1988; The Journal of Infectious Disease; Vol. 157, No. 4 : 777 - 780.
- 94.- Y. Glupczynky, C. Tielemans, M. Verhas, J. F. Nyst, M. Delterre."(^{14}C) Urea Breath Test Screening for *Campylobacter pylori* Infection in Patients With Chronic Renal Failure". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceeding of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. 1991. pp.327 - 328.
- 95.- Wu Jicong, Liu Guolong, Zhang Zhenhua, Mou Yanglong, Chen Qieng. " $^{15}\text{NH}_4^+$ Excretion Test: A New Method for Detection Of *Helicobacter pylori* Infection". 1992; The Journal of Clinical Microbiology; Vol. 30, No. 1 : 181 - 184.
- 96.- Donna Morgan Murray. Ph. D. "Clinical Relevance of Infection By *Helicobacter pylori*". 1993; Clinical Microbiology Newsletter; Vol. 15, No. 5 : 33 - 37.
- 97.- John Russell Lambert. "Pharmacology of Bismuth-Containing Compounds". 1991. Reviews of Infectious Diseases; 13(Suppl 8) : S 691 - S 695.
- 98.-S. Wagner, W. Bar, F. W. Schmidt. "Bismuth Therapy of H2-Blocker-Resistant Peptic Ulcers Colonized by *Campylobacter pylori*". In Ruiz-Palacios G. M., Caña Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.275 - 276.
- 99.- D. Y. Zhou, H. T. Yaung, J. S. Zou, K. C. Xu, L. L. Wang. "Treatment of *Helicobacter pylori* Infection With Omeprazole Combined With Antibiotics". 1991; Microbiological Ecology in Health and Disease; The IVth. International Workshop on Campylobacter and Related Organism; Edit. Wice; Vol. 4 Special Issue, october · S 185 (abstract).
- 100.- L. A. Noach, W. Langenber, E. a. J. Rauws, J. Dankert, G. N. J. Tytgat. "Therapeutic Attempts to Eradicate *Helicobacter Pylori*". 1991; Microbiological Ecology In Health and Disease, The IVth.

International Workshop on Campylobacter And Related Organism; Edit Wacey; Vol. 4 Especial Issue, october : S 5175 (abstract).

101.-C. A. M. McNulty, I. A. Eyre-Brook, J. S. Uff, J. C. Dent, S. P. Wilkinson. "Triple Therapy is not Always 95% Effective". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. 1991. pp .277 - 278.

102.- Cornelius P. Dooley, Hartley Cohen, Patrick L. Frez gibbons Madeline Bnver, Maria D. Appleman, Guillermo I. Perez-Perez and Martin J. Blaser. "Prevalence of *Helicobacter pylori* Infections and Histologic Gastritis in Asymptomatic Persons". 1989; The New England Journal of Medicine; Vol.125, No. 23 : 1562 - 1566.

103.- L. P. Andersen, S. Holck, L. Elsborg, T. Justensen. "*Campylobacter pylori* and Esophagitis". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta, 1991. pp.261 - 262.

104.- Eduardo Rivera M., Guillermo Ruiz-Palacios. "ELISA en Suero para el Diagnostico de Infeccion por *Helicobacter pylori*: su Utilidad En la Evaluacion de la Exposición al cerdo, como un Factor de Riesgo para Infección en el Humano". 1992; Enfermedades Infecciosas y Microbiología; Vol. 12, No.4 : 186 - 187.

105.- E. Rivera, V. Luqueño, J. J. Calva, G. M. Ruiz-Palacios. "Exposure to Swine as Risk Factor for Human *Helicobacter pylori* Infection". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. 1991. pp.242 - 244.

106.- S. Cadranel, M. Verhas, S. Zeghlache, Y. Glupczynsky. "*Campylobacter pylori* in the Families of Positive Children". In Ruiz-Palacios G M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International Workshop on Campylobacter Infections. Puerto Vallarta. pp.245 - 247.

107.- J. H. Oudbier, W. Langerber, E. a. Rauws, G. N. Tytgat. "Riboty Ping of *Campylobacter pylori* Isolates of 5 Families". In Ruiz-Palacios G. M., Calva Mercado J. J., (eds) Campylobacter V. Proceedings of the Fifth International workshop on Campylobacter infections. Puerto Vallarta 1991. pp. 248 - 249.

108.- Donald A. Ferguson, J. R. Chuanfuli, Kikhil R. Patel. "Isolation of *Helicobacter pylori* From Saliva". 1993; Journal of Clinical Microbiology; Vol. 31, No 10 : 2802 - 2804.

109.-T. Koster and J. P. Vandenbroucke. "*Helicobacter pylori* Musings From the Epidemiologic Armchair". 1992; Epidemiologi Infect.; 109 : 81 - 85.

110.- Louis B. Polish, John M. Douglas, Arthur J. Davidson, Guillermo I. Perez-Perez and Martin J. Blaser. "Characterization of Risk Factor for *Helicobacter pylori* Infection Among Men Attending a Sexually Transmitted Disease Clinic: Lack of Evidence for Sexual Transmission". 1991; Journal Microbiology; Vol. 29, No. 10 : 2139 - 2143.

111.- Battan R., Raviglione Mc., Palagiano A. Boyle J. F. "*Helicobacter pylori* Infections in Patients With Acquired Immune Deficiency Syndrome". 1990; American Journal Gastroenterology; 85 (12) : 1576 - 1579.

112.- Benjamin J. Marano, Fred Smith, Charles A. Bonanno. "*Helicobacter pylori* Prevalence in Acquired Immunodeficiency Syndrome". 1993; The American Journal of Gastroenterology, Vol. 88, No. 5 : 687 - 690.