



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

26. rej
2003
2003
2003

**HELICOBACTER PYLORI COMO AGENTE
PATOGENO EN EL HUMANO**

TRABAJO ESCRITO

**VIA CURSOS DE EDUCACION CONTINUA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
ALICIA CRUZ GARDUÑO**



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

**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 esta 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.

Presidente	Prof. Eida B. Peniche Quintana
Vocal	Prof. María Elsa Escudero García
Secretario	Prof. Raúl Garza Velasco
1er. Suplente	Prof. Adriana Guadalupe Mejía Chávez
2do. Suplente	Prof. Norma Angélica Castellanos Chávez

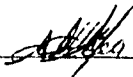
Sitio donde se desarrolló el tema: Biblioteca de la Facultad de Química y Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Asesor:



Q.F.B. Eida B. Peniche Quintana

Sustentante:



Alicia Cruz Garduño

**Señor, la voluntad y la Fe en ti y en
mi, me llevaron a lograr este
objetivo, gracias Dios por
enseñarme a ser una mujer y
dejarme ver hasta dónde puedo
llegar.**

**Señor, hoy he recibido otro de tus
grandes regalos, gracias, haz que lo
aproveche en bien mío y de los
demás.**

**Gracias porque hoy se realiza tu
obra en mí.**

**A mi madre Alberta, por su amor
incondicional y su confianza.**

**A mi padre Jorge, por su amor
e impulso de superación.**

**A mi hija Viridiana, por ser la fuerza
que me impulsa a esta realización.**

**A mi esposo Arturo por su apoyo
y amor.**

**A mis hermanos Jorge, Leticia, Cristina
y Yolanda , por el gran cariño que nos une.**

**A mi Jefa de Laboratorio Q.F.B. Ma. Esther
Rosas Zumaya, por su amistad y apoyo.**

**A mis amigas Morayma y Judith,
por su valiosa amistad y apoyo**

**A todos aquellos que de algún modo
tuvieron que ver con la realización
de este trabajo: Ana, Sofía, Mary Cruz,
Salma, Pedro, Abraham y Mauricio.**

**Y de manera especial a mi asesora
Q.F.B. Elda B. Peniche Quintana por su valiosa y
acertada dirección para la realización de este trabajo.**

Gracias también a mis sinodales por su aceptación.

Indice

Introducción	1
Objetivos	3
Capítulo I. Generalidades	4
Historia	4
Taxonomía	4
Características microscópicas y fisiológicas	5
Requerimientos nutricionales	7
Inmunología	9
Diagnóstico de Laboratorio	10
Epidemiología	14
Capítulo II. Patogenia y Patología	15
Capítulo III. Tratamiento y Prevención	21
Conclusiones	24
Anexo	25
Bibliografía	28

Introducción

Desde finales del siglo pasado (1880), se observaron por primera vez bacterias de forma espiral y sin darles mucha importancia se olvidaron durante mucho tiempo, fue hasta 1973, en que nuevamente se reportaron por microscopía electrónica bacterias fusiformes relacionadas con espiroquetas del tracto gastrointestinal de ratas y perros.

Helicobacter pylori vive en el epitelio de la mucosa gástrica, liberando productos que ocasionan inflamación en el tejido y, a su vez, la inflamación induce al hospedero a liberar ciertos factores dentro de la mucosa gástrica, los cuales *H. pylori* puede usar para su nutrición.

Se trata de una bacteria Gram-negativa, microaerófila, de forma espiral o curva, semejante al género *Campylobacter*, su interés clínico radica en que su presencia en la mucosa gástrica se ha asociado con gastritis, úlcera duodenal, úlcera péptica y más recientemente, con cáncer gástrico. Se ha aislado de mucosa gástrica en pacientes con enfermedad péptica con una frecuencia que ha llegado hasta el 100 % de los casos.

La patogénesis de *H. pylori* se asocia con la inflamación del antro gástrico observándose que no coloniza toda el área del estómago, sino sólo las células epiteliales del antro, cuando se asocia a células duodenales y gastritis tipo B o enfermedades no autoinmunes.

En el 90% de la población adulta de algunos países se presenta este microorganismo, aunque esto depende del nivel de saneación y de las prácticas de higiene de dicha población.

En la actualidad, las metodologías para el diagnóstico de la enfermedad ácido péptica asociada a *H. pylori*, son cada vez más confiables, se emplean la endoscopia y el cultivo de la biopsia de mucosa gástrica en medios selectivos, así como el hallazgo y la cuantificación de anticuerpos en el suero de los pacientes.

El tratamiento que requiere es por multiterapia antimicrobiana, aunque los derivados imidazoles son los de elección, la difícil erradicación de este microorganismo se relaciona con la resistencia adquirida a la droga.

Objetivos

Mencionar las principales características de *H. pylori* en lo referente a su microbiología, cultivo, aislamiento y diagnóstico de laboratorio.

Describir el papel de *H. pylori* en la patogenia de la gastritis, úlceras gástricas y duodenales así como en el carcinoma gástrico.

Mencionar aspectos referentes a la terapia adecuada en el manejo de los pacientes.

CAPITULO I

Generalidades

Historia

Como ya se mencionó, fue desde 1880 en que se observaron por primera vez bacterias de forma espiral, pero es hasta 1973 en que se reportaron por microscopía electrónica dichas bacterias relacionadas con espiroquetas del tracto gastrointestinal de ratas y ratones, las cuales se asociaron a la diarrea que presentaron dichos animales.

Warren y Marshall en 1983 describieron el aislamiento, en mucosa gástrica, de un microorganismo Gram-negativo al que llamaron *Campylobacter pyloridis*, mismo que más tarde se denominó *Campylobacter pylori*.

En 1989 nuevamente se cambió el nombre de *Campylobacter pylori* a *Helicobacter pylori* con base en los estudios de secuencia de ácido ribonucleico ribosomal RNAr (2,11,20).

Taxonomía

Actualmente se han descrito 9 especies del género *Helicobacter*, probablemente el primer miembro que se cultivó del intestino delgado de ratas y ratones se denominó *H. muridarum*; sin embargo, todavía existen microorganismos relacionados a este género como *Gastropirillum hominis* y *Wallonella succinogenes* que difieren en algunas propiedades bioquímicas (2,19).

La mayoría de las especies de *Helicobacter* se han aislado de animales; sin embargo, dos de ellas se han relacionado con patologías diarreicas en el humano, *Helicobacter cinaedi* y *Helicobacter fenellae* (19).

ESPECIES DEL GENERO *HELICOBACTER*

Género y especie	Hospedero	Localización
<i>Helicobacter pylori</i>	Hombre	Estómago
<i>Helicobacter mustelae</i>	Urones	Estómago
<i>Helicobacter muridarum</i>	Ratas y Ratones	Intestino Delgado
<i>Helicobacter fells</i>	Gatos	Estómago
<i>Helicobacter nemestrinae</i>	Cerdos y Monos	Estómago
<i>Helicobacter aclinonyx</i>	Leopardos	Estómago
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Hombre	Intestino Delgado
<i>Helicobacter fennelliae</i>	Hombre	Intestino Delgado
<i>Helicobacter rappini</i>	Carneros, Perros y Hombres	Estómago e Intestino Delgado

Características microscópicas y fisiológicas

Helicobacter pylori es un microorganismo Gram-negativo, de formas espiral, curvo, móvil pues posee de 4 a 6 flagelos lofotricos, mide de 0.5 a 10 micras de ancho y de 2 a 4 micras de largo; en los cultivos viejos puede observarse como bacilo recto o con formas cocoides.

Se caracteriza por una terminación en bulbo y está compuesto de proteínas. La pared celular de la bacteria es lisa, a diferencia de la *Campylobacter* que es rugosa (10).

H. pylori es oxidasa (+), catalasa(-), ureasa (+) y es resistente a vancomicina, trimetoprim y polimixina (14).

No crece en aerobiosis sino en un ambiente microaerofílico estricto y se aísla de mucosa gástrica de humano y cerdo (2). Por ser una bacteria microaerofílica necesita condiciones de crecimiento especiales y de manejo cuidadoso. Los gases que requiere y las proporciones son los siguientes: O₂ 5%, CO₂ 10% y N₂ 85%.

El intervalo de pH apropiado para el crecimiento es de 2.9 a 9.2, aunque pueden permanecer viables a un pH de 1.5 en presencia de urea; su temperatura óptima es de 33 °C a 40 °C y no crece a 25 °C ni a 42 °C; no obstante, existen algunos reportes de su crecimiento a 42 °C. Si no se cuenta con la mezcla de gases antes mencionada, se puede sustituir por 10 % de CO₂, y una humedad relativa de 99 a 100 %. El tiempo de incubación varía de 3 a 7 días produciendo colonias circulares, convexas, lisas, no pigmentadas, translúcidas y pequeñas.

H. pylori es capaz de producir diversas enzimas como son: lipasas, esterases, arilamidases, aminopeptidasas, fosfatasa alcalina, catalasa, oxidasa, desoxirribonucleasa y, la más notable, la producción de ureasa.

No utiliza a los carbohidratos por oxidación o fermentación y aún no se conoce cuál es la vía metabólica por la cual obtiene energía, aunque probablemente la bacteria utiliza los ácidos intermediarios de los ciclos tricarboxílicos y lipídicos.

En la composición del ADN de *Helicobacter pylori* se encontró un promedio de 35.2 mol% de guanina-citosina (G-C) con intervalo de 34 a 37.5 mol% (2).

Los plásmidos que se han encontrado van desde 1.8 hasta 22 Kb. y ocasionalmente se encuentran más grandes de 40 Kb. Sin embargo, la mayoría de las cepas de *H. pylori* presentan plásmidos de 6.6 a 23 MDa. No se tiene evidencia de que las cepas recién aisladas que contienen un plásmido, al ser subcultivadas pueden perderlo (12,13).

Requerimientos nutricionales

A *Helicobacter pylori* se le considera una bacteria exigente en cuanto a sus requerimientos nutricionales, desarrolla con dificultad *in vitro*, por lo que su cultivo requiere de medios enriquecidos como pueden ser el caldo y agar de infusión cerebro-corazón, agar y caldo de tripticaseína-soya, agar Columbia complementado y caldo Brucella adicionado de suero fetal bovino.

El medio de cultivo más adecuado para intentar el primoaislamiento es el agar infusión de cerebro y corazón, adicionado de 7 % de sangre de caballo, 1 % de IsoVitaleX, 6 mg/l de vancomicina, 20 mg/l de ácido naldixico y 2 mg/l de anfotericina. Sin embargo, también se obtiene un crecimiento óptimo en caldo Brucella suplementado con 1 a 10 % de suero fetal bovino (10).

Una prueba importante de identificación de *H. pylori* en el laboratorio, es la prueba de la ureasa que debe dar (+) y ésta se ve cuando la coloración del medio Christensen vira de anaranjado a morado en menos de 24 horas.

Otros estudios han comprobado que la vía de las pentosas (fosfogluconato), tiene un papel importante en el mecanismo de generación de energía de *H. pylori* para proveer los metabolitos y utilizarse posteriormente en el ciclo del ácido cítrico (2,10,12).

Características bioquímicas de *Helicobacter pylori*.

Prueba	Resultado
Oxidasa	+
Catalasa	+
Ureasa	+
Fosfatasa alcalina	+
Hidrólisis de hipurato	-
Reducción de nitratos	-
Producción de H ₂ S	-
Alfa glutamil aminopeptidasa	+
Crecimiento microaerofílico:	
a 25 °C	-
a 37 °C	+
a 42 °C	-
Crecimiento aerofílico a 37 °C	-
Crecimiento en presencia de:	
NaCl a 3,5%	-

Glicina al 1%	-
Bilis al 1%	-
Susceptibilidad al ácido nalidíxico	-
Susceptibilidad a la cefalotina	+

Inmunología

En múltiples estudios de biopsias gástricas, en donde se ha aislado *H. pylori*, se ha comprobado la existencia de una respuesta inmune humoral y celular del organismo. Sin embargo la respuesta de mayor importancia clínica es la humoral.

Esta respuesta serológica es específica y los niveles de anticuerpos se mantienen elevados por varios años, posiblemente por décadas, donde los valores de Ig A e Ig G permanecen similares.

La serología es de gran ayuda para el diagnóstico de los diferentes aspectos de la patología de *H. pylori*.

La determinación de anticuerpos contra este microorganismo en la población en general y sus niveles de anticuerpos, deben ser superiores al promedio de 1 o 2 desviaciones estándares, para considerarse de importancia clínica.

También se ha observado que los títulos de Ig A no son tan consistentes como los de Ig G.

En los títulos de Ig M sus cambios, por lo general, van acompañados de la existencia e incremento de los anticuerpos específicos de Ig G contra *H. pylori*.

Las infecciones crónicas son capaces de desarrollar títulos elevados locales y circulantes de anticuerpos Ig A e Ig G y se postula que estos anticuerpos tienen algún papel importante como la inhibición de la adherencia o la opsonización (13,18).

Diagnóstico de Laboratorio

A. Se puede realizar por métodos microbiológicos que incluyen la toma de la muestra por biopsia, raspado o aspirado gástricos, obtenidos a través de endoscopia; los mejores resultados se obtienen de biopsias del antro gástrico que deben trasladarse en el medio de transporte de Stuart o en solución glucosada al 20%, manteniéndolas a 4°C, es recomendable tomar dos de estas muestras para aumentar la sensibilidad del método (7,9,18).

Las muestras se tiñen ya sea con la técnica de hematoxilina-eosina, con Giemsa o anaranjado de acridina; se someten a la prueba de ureasa rápida y obviamente se realiza el cultivo en los medios ya mencionados: agar infusión cerebro corazón, caldo Brucella o agar Columbia, adicionados de 7% de sangre de caballo, 1% de IsoVitaleX, 6 mg/mL de vancomicina, 20 mg/mL de ácido nalidixico y 2 mg/mL de anfotericina. La prueba rápida de la ureasa consiste en colocar algunos trocitos de tejido en un tubo de ensayo con urea de Christensen modificado, la reacción positiva se indica por el cambio de color del indicador (por el aumento del pH) (7,12).

Aunque el cultivo es lo óptimo, no siempre es fácil de realizar, sobre todo porque requiere de personal especializado y porque el microorganismo desarrolla difícilmente en el laboratorio, en general se sugiere ante la sospecha de microorganismos resistentes al tratamiento.

En este sentido, existe una nueva adquisición, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que es un sistema de identificación que permite detectar con rapidez la presencia de *H. pylori* y en el cual se amplifican los genes codificadores de ureasa (*ureA* y *ureB*), se puede poner en evidencia al bacilo proveniente tanto de muestras gástricas, como de saliva, placa dentobacteriana y materia fecal.

Empleando este método se examinan muchas muestras de pacientes con gastritis, de microorganismos encontrados en diferentes sitios anatómicos y si existe una recaída después de la terapia, se puede saber si es una reinfección por un aislamiento diferente o por el mismo. Se encontró que este método representa un esquema específico y sensible para diferenciar o confirmar la identidad de aislamientos clínicos (3,7,9).

B. Entre los métodos serológicos, que consisten en la detección de anticuerpos séricos, su sensibilidad depende de factores asociados al paciente y del número de bacterias, la técnica más empleada es la de ELISA, que utiliza un antígeno a partir de un cultivo masivo de *H. pylori*, del cual se extraen proteínas de membrana externa con glicina ácida para emplearlo en la detección de anticuerpos por un método indirecto.

La utilidad de este método para determinar la existencia de gastritis, es que permite obtener información del grado de infiltración por neutrófilos, eosinófilos y mononucleares; demuestra que la cantidad de anticuerpos se encuentra en relación directa con la intensidad del exudado inflamatorio.

Para estandarizar la técnica de detección de anticuerpos específicos contra *H. pylori* se usan los siguientes sueros: de paciente con gastritis crónica y cultivo positivo para *H. pylori* en mucosa gástrica (control positivo), suero hiperinmune contra *H. pylori* preparado en conejo (control positivo), suero de una persona sana (control negativo) y los sueros problema.

Para la realización de la técnica, el antígeno se adsorbe al fondo de varios pozos de placas de microtitulación (se deben dejar algunos pozos libres para ver si se llegan a presentar algunas reacciones inespecíficas), se les adicionan diluciones seriadas del suero problema, se incuba a temperatura ambiente durante una hora, se lava el sistema al cual se agrega un suero conjugado, consistente en anticuerpos anti-gamma globulina humana marcados con peroxidasa, se vuelve a incubar y lavar y se adiciona el sistema revelador (ortofenilendiamina más peróxido de hidrógeno), la reacción se detiene con ácido sulfúrico transcurridos 30 minutos; la intensidad del color amarillo que se obtiene se lee a 450 nm, considerándose que es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en el suero.

Como los anticuerpos se presentan en cantidades considerables años después de que el paciente ha curado, su determinación no debe emplearse para ver la efectividad del tratamiento.

La determinación de anticuerpos específicos contra *H. pylori* por el método de ELISA empleando como antígeno las proteínas de superficie extraídas con glicina ácida, es un método diagnóstico confiable, que no se ve afectado en forma importante por la reactividad cruzada y que puede emplearse como método alternativo a la endoscopia y a la biopsia de mucosa gástrica, por lo que es de utilidad en la evaluación epidemiológica de las enfermedades por *H. pylori* y en el escrutinio de pacientes con sintomatología gastrointestinal. La reacción cruzada en la detección de anticuerpos por el método de ELISA puede llegar a ser muy elevada si se emplea como antígeno de captura a la bacteria completa, ya sea en forma sonicada o formalinizada (1,18).

En algunos laboratorios puede emplearse la inmunofluorescencia para la detección de anticuerpos, con una especificidad relativamente alta. Consiste en colocar el suero del paciente de quien se sospecha tenga anticuerpos contra *H. pylori*, sobre un portaobjetos, dejándolo el tiempo necesario para que reaccione con la bacteria y el antígeno se una al anticuerpo. Se lava y se añade una solución de anti-inmunoglobulinas humanas marcadas con fluoresceína. Si el suero del paciente tiene anticuerpos contra *H. pylori*, se puede detectar la fluorescencia al microscopio; si el suero del paciente no tiene anticuerpos contra *H. pylori* no habrá fluorescencia.

En la actualidad, la única forma 100% específica de realizar el diagnóstico de la enfermedad ácido péptica asociada a *H. pylori* es la endoscopia y el cultivo del material de la biopsia obtenida de la mucosa gástrica en los medios selectivos, pues aunque se ha demostrado que la detección de anticuerpos por el método de ELISA es bastante específica (97%) y aceptablemente sensible (81%), no está disponible en todos los laboratorios y, en ocasiones, ha mostrado

reactividad cruzada con *Campylobacter jejuni*, lo cual puede afectar su especificidad dependiendo de la prevalencia de la infección por *C. jejuni*, en la población en la cual se emplea (18,20).

Epidemiología

H. pylori tiene como hábitat el epitelio de la mucosa gástrica liberando ahí productos que ocasionan inflamación en el tejido, a su vez, la inflamación induce al hospedero a liberar ciertos factores dentro de dicha mucosa gástrica, los cuales *H. pylori* puede usar para su nutrición. La inflamación crónica tiene efecto directo sobre la secreción de gastrina y sobre la función de las células parietales, pero la actividad inmunosupresora del hospedero regula este proceso.

En cuanto a la forma de transmisión, se dice que puede ser de persona a persona a través de alimentos y utensilios, o por contaminación fecal-oral, aunque no se ha demostrado plenamente que se excrete por esta vía.

Por lo que respecta al consumo de diferentes productos animales, solamente el consumo de pancita (víscera de res) es un riesgo significativo para adquirir la infección por este microorganismo. El consumo de verduras y legumbres lavadas higiénicamente no mostró asociación en la frecuencia de la infección por *H. pylori*, pero sí el consumo de verduras mal lavadas, el cual representa un riesgo significativo (14,19).

Es posible que el consumo de estos productos en tales condiciones represente un papel importante en la transmisión de *H. pylori* al humano y que

por ello, cerca de la mitad de los vegetarianos presentarán títulos elevados de anticuerpos específicos.

No debe olvidarse que el cerdo juega un papel muy importante como reservorio en el mecanismo de transmisión al humano (19).

CAPITULO II

Patogenia y Patología

Antes de iniciar el tema, se consideró conveniente definir el término de gastritis que se dice es la infiltración de la mucosa gástrica por células inflamatorias (polimorfonucleares y/o mononucleares).

Existe la clasificación de Wyatt y Dixon que divide a las gastritis en las siguientes (2,3,5,11,14):

-Gastritis tipo A. Existe infiltración de la mucosa gástrica que corresponde a un trastorno autoinmune, en el que aparecen anticuerpos contra las células parietales, que produce hipoclorhidria, predomina la atrofia y metaplasia intestinal, ocurren alteraciones en la secreción de factor intrínseco que conducen en algunos casos a anemia perniciosa. Este tipo de gastritis crónica usualmente es asintomática y sólo afecta a las células parietales, el antro gástrico permanece intacto, no implica a las células secretoras de moco y no deriva en síntomas dispépticos ni en úlceras gástricas.

-Gastritis tipo B. Existe inflamación de la mucosa gástrica de etiología probablemente infecciosa, en la que predominan los infiltrados inflamatorios de tipo mononuclear y polimorfonuclear, afecta al epitelio secretor de moco y al cuerpo secretor de ácido, por lo cual el epitelio se encuentra deformado y existe disminución de la mucina intracelular. Es la más frecuente en el mundo y se acepta que estas gastritis pueden progresar o conducir hacia atrofia gástrica crónica con riesgo de generar adenocarcinomas; por este motivo, se considera

que *Helicobacter pylori* podría considerarse como factor desencadenante de cáncer gástrico.

Existen otros tipos de gastritis, a saber:

-Gastritis por reflujo. Es la inflamación de la mucosa gástrica secundaria a una lesión de origen químico en la que predomina el edema sobre los infiltrados inflamatorios.

-Gastritis varioliforme (erosiva crónica). Inflamación de la mucosa gástrica en la que la fibrosis es la característica predominante acompañándose de hiperplasia; además, llama la atención la escasa reacción inflamatoria que se observa.

-Gastritis eosinofílica. Inflamación de la mucosa gástrica caracterizada por infiltración de eosinófilos, se asocia a procesos alérgicos y/o parasitosis.

-Gastritis granulomatosa. Inflamación de la mucosa gástrica en la que predominan los granulomas y que es habitualmente secundaria a procesos granulomatosos generalizados.

La intensidad de la gastritis se considera como leve, moderada o severa, en base a la intensidad del infiltrado inflamatorio, el número relativo de polimorfonucleares y la presencia o ausencia de ulceración u otros cambios en el epitelio superficial vistos con el objetivo de inmersión a 100 X.

La patogénesis de *H. pylori* no es del todo conocida; en estudios iniciales siempre se asoció con la inflamación en el antro gástrico, observándose que no coloniza toda el área del estómago, sino sólo las células epiteliales del antro (3).

H. pylori, debido a su movilidad y forma espiral, puede mantenerse estable en presencia del peristaltismo intestinal y de la acidez gástrica. De hecho la forma espiral le confiere ventajas en ambientes viscosos como el de la mucosa gástrica. La medición de la movilidad en soluciones de metilcelulosa a sugerido que *H. pylori* cruza eficazmente los medios viscosos, lo que sugiere que puede desplazarse desde el medio ácido predominante en el lumen gástrico hasta la capa protectora de moco llegando a un ambiente neutro. Se sabe que en el sitio donde se sitúa hay menor número de células parietales, y por lo tanto, menor producción de HCl ya que la bacteria hidroliza la urea y genera amonio en el ambiente que la rodea por lo que es capaz de neutralizar la acidez, siendo la producción de la ureasa sin lugar a dudas, un importante factor de virulencia de *H. pylori*. En el tejido estomacal, el amoniaco resultante además de proteger al microorganismo de la gran cantidad de ácido intragástrico, disminuye la eficacia de la cubierta protectora de moco. Igualmente, el amoniaco puede ejercer algunos otros efectos tóxicos como la alteración de síntesis de ácidos nucleicos, el incremento de la masa celular de la mucosa intestinal, el aumento del riesgo de infección viral, así como la posible implicación en la carcinogénesis de los tejidos (12).

Existe una hipótesis que refiere que su virulencia se debe a que puede sobrevivir en un sitio que no tiene flora bacteriana normal, por lo cual, el hospedero no ha elaborado defensas adecuadas; las propiedades de las bacterias permiten un largo tiempo de supervivencia en ese sitio, ya que puede

adherirse a las membranas del epitelio celular al parecer por medio de pequeñas proyecciones celulares, que se cree se trata de adhesinas clásicas, también se sugiere la presencia de una proteína semejante a la pilina que interviene en la adhesividad.

Otro mecanismo de patogenicidad que se ha mencionado, son las diferentes enzimas que produce *H. pylori* como las mucinasas, que son proteasas extracelulares que la bacteria libera y que junto con las fosfolipasas, se piensa que destruyen la integridad de la mucosa gástrica, a consecuencia de esto el moco se ve afectado siendo más soluble y menos hidrofóbico (2,5,12).

Las teorías fisiopatogénicas clásicas, que no incluyen a *H. pylori*, tienen muchas diferencias para explicar los distintos efectos que se suceden en esta enfermedad, a excepción de aquellas entidades clínicas que tienen una causa bien definida, como el síndrome de Zollinger-Ellison que consiste en hipergastrinemia pronunciada, hipersecreción gástrica y ulceración péptica. La asociación con gastritis antral y úlcera duodenal se conoce desde hace tiempo, el concepto que ha surgido en varios estudios, es que la metaplasia gástrica y la infección por *H. pylori* podrían ser suficientes para el desarrollo de una ulceración duodenal.

La gastritis crónica se ha propuesto como un defecto de la mucosa en pacientes con úlcera, observándose gastritis histológica en 90% de las personas con úlcera duodenal y en 75% de las personas con úlcera gástrica.

H. pylori está presente en 95% de pacientes con úlcera duodenal y en el 70% de los pacientes con úlcera gástrica. Sin embargo en otros estudios se

confirmó que su prevalencia es significativamente alta en pacientes con inflamación activa que está asociada con atrofia glandular y también en la mayoría de los pacientes con metaplasia Intestinal (5,6).

Se ha descrito que la gastritis superficial dura hasta los 18 años y puede conducir a una gastritis atrófica severa y con ello, eventualmente, al cáncer gástrico. La prevalencia de *H. pylori* en algunos estudios y su asociación con cáncer gástrico, no obstante se reporta en baja frecuencia. Esta información indica según una hipótesis de la infección, que *H. pylori* podría participar como promotor del desarrollo de condiciones preneoplásicas, puesto que se ha informado recientemente que la infección podría ser una causa probable de cáncer gástrico entre el 35 y 55% de todos los casos (5).

CAPITULO III

Tratamiento y Prevención

El tratamiento para este tipo de padecimientos gastrointestinales desde hace 150 años, es a base de sales de bismuto, igualmente se han empleado los hidróxidos de aluminio, magnesio y carbonato de calcio (16).

Posteriormente se crearon otro grupo de medicamentos clasificados como antiulcerosos y se incluyeron nuevamente entre ellos a las diferentes sales de bismuto. El grupo de medicamentos antiulcerosos son: cimetidina, ranitidina, famotidina, sucralfato y omeprazol, cuyo principal modo de acción es la inhibición de la secreción de ácido clorhídrico en el estómago. Estos medicamentos desde que se menciona la asociación de la bacteria a los padecimientos gástricos, se recomiendan junto con el antibiótico para que tengan un buen efecto de erradicación, porque su administración única no tiene efecto bactericida sobre *H. pylori*, sin embargo se sabe que gran parte del éxito del tratamiento depende de que el paciente siga disciplinadamente los regímenes terapéuticos, que suelen incluir varios fármacos simultáneamente, administrándose con puntualidad y por períodos prolongados.

Como en un principio sólo se trataban los padecimientos causados por *H. pylori* ó padecimientos gástricos con monoterapia (un agente antiulceroso ó un nitroimidazol) sólo se lograba del 20 al 30% de erradicación de la bacteria, posteriormente se probó la doble terapia (sales de bismuto más un antibiótico) y aún así se obtenía del 50 al 60% de erradicación, por lo tanto, actualmente se recomienda la triple terapia (4, 5, 6).

La mayoría de los autores que han estudiado los patrones de susceptibilidad antimicrobiana, coinciden en que el tratamiento óptimo para la infección, es la combinación de sales de bismuto, con metrodinazol y amoxicilina, por el bajo número de recaídas asociadas con este esquema y porque se obtiene hasta el 90% de erradicación de la bacteria.

Recientemente, en 1992, se propuso el uso de un inhibidor de la secreción gástrica, el omeprazol, que ha reducido el tiempo de tratamiento de 4 a 2 semanas.

Existen 2 problemas importantes en la erradicación de *H. pylori* (4, 6, 15, 16):

- a. Las recaídas al término, debido a la erradicación incompleta de *H. pylori*.
- b. Las cepas de *H. pylori* que resultan resistentes durante un tratamiento pre-establecido.

La resistencia de este microorganismo al antibiótico se ha estudiado principalmente en los grupos de quinolonas, beta-lactámicos, macrólidos, imidazoles y rifampicina. Sin embargo, varios de estos antibióticos se han probado en ensayos *in vitro* y han fracasado en la erradicación, tal es el caso de los macrólidos, etilsuccinato de eritromicina, josamicina y espiromicina (16).

Se han diseñado nuevos beta-lactámicos que han presentado buena actividad como, cefatamet, ceftetrame, tigemonam y ciffixime.

Las fluoroquinolonas como la norfloxacin no tienen buena actividad, siendo todavía de menor actividad la fleroxacin y lomefloxacin.

Estudios recientes reportan resistencia *in vitro* al realizar varios subcultivos y antibiogramas con antibióticos como ciprofloxacina, metronidazol, eritromicina y tobramicina. Varios autores han reportado que esta resistencia antimicrobiana se debe a la pobre penetración del antibiótico y a su nula actividad a pH ácido (4, 6, 8, 11).

En nuestro país se sabe que el metronidazol se emplea en otros tipos de infecciones como son las causadas por *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* e infecciones postcesáreas.

En México también existe una elevada frecuencia de infecciones gastrointestinales a que induce la práctica común de la automedicación, siendo el metronidazol, de los medicamentos que con más frecuencia se consumen, lo que provoca una alta frecuencia de resistencia y disminución de la tasa de respuesta adecuada a este medicamento durante el tratamiento (8).

Por consiguiente, la prevención para este tipo de infecciones gastrointestinales como son las producidas por *H. pylori*, va a depender del manejo adecuado y cuidadoso de alimentos vegetales y animales y, sobre todo, de la limpieza de su manejo (14).

Conclusiones

1. Existe una patogenidad significativa de *H. pylori* en la mucosa gástrica.
2. La asociación de *H. pylori* con gastritis antral y úlcera duodenal se conoce desde hace tiempo, éstas mismas pueden ser una causa probable de cáncer gástrico.
3. Es posible que *H. pylori* se transmita al humano principalmente a través de verduras mal lavadas y productos animales contaminados, por lo que se sugiere realizar estudios para determinar su frecuencia de aislamiento en estas posibles fuentes de infección. Se sugiere que el cerdo sea uno de los reservorios naturales de *H. pylori*.
4. El diagnóstico mediante las pruebas inmunológicas es de gran ayuda para su prevención y tratamiento.
5. La detección de anticuerpos específicos por el método de ELISA, es una prueba diagnóstica confiable para la detección de la infección por este microorganismo.
6. El tratamiento administrado para las enfermedades producidas por *H. pylori* debe ser el adecuado, ya que podría provocar una resistencia al antibiótico. Se sabe de la utilidad de la doble y triple terapia que se aplica al humano para la erradicación de la infección por *H. pylori*.

Anexo

Medios de cultivo utilizados para el crecimiento de *H. pylori*

Mueller Hinton

Fórmula aproximada en gr/L.

Infusión de carne de res	300
Peptona de caseína ácida	17.5
Almidón	1.2
Agar	17.5

Medio rico en nutrientes que se recomienda para aislamiento, desarrollo y sensibilidad de *H. pylori*

Infusión Cerebro Corazón

Fórmula aproximada en gr/L.

Infusión de Cerebro de ternera	200
Infusión de Corazón de res	250
Mezcla de peptonas	10
Fosfato disódico	2.5
Cloruro de sodio	5.0
Dextrosa	2.0

Pollenriquecimiento.

Se utiliza como componentes vitamínicos adicionales, para medios de cultivos selectivos.

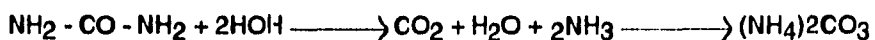
Fórmula aproximada en gr/L.

Vitamina B ₁₂	0.01
L-Glutamina	10.0
Adenina	1.0

Clorhidrato de Guanina	0.03
Ac. Paraminobenzoico	0.013
L-Cistina	1.1
Glucosa	100
Nucleótido de difosfato piridina oxidasa (COII)	0.25
Cocarboxilasa	0.1
Nitrato Férrico	0.02
Clorhidrato de Tiamina	0.003
Clorhidrato de Cisteína	25,900 U

Prueba de la Ureasa

La ureasa es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos que pueden hidrolizar la urea de acuerdo con la siguiente reacción:



El amoníaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento de pH del medio expuesto.

La urea de Christensen es uno de los medios más comunmente utilizado en los laboratorios clínicos para la detección de la actividad de ureasa.

Urea de Christensen

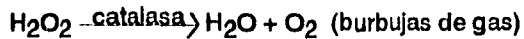
Fórmula aproximada en gr/L.

Glucosa	1
Cloruro de sodio	5
Fosfato monopotásico	2
Urea	20
Rojo de fenol	0.012
pH final	6.8

Prueba de la catalasa.

El peróxido de hidrógeno se forma como uno de los productos finales del metabolismo oxidativo sérico de los hidratos de carbono. Si se deja acumular, el peróxido de hidrógeno es letal para las células bacterianas.

Muchas especies de microorganismos producen catalasa que transforma el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno:



Reactivo.

Peróxido de hidrógeno al 30% conservándose en refrigeración en frasco ámbar.

Citocromo oxidasa.

La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos reactivos coloridos, como el clorhidrato de N, N' dimetil o tetrametil p-fenilendiamina, que actúa como aceptor artificial de electrones, sustituyendo al oxígeno. La p-feniledlamina es incolora en estado reducido, pero en presencia de citocromo oxidasa y oxígeno no atmosférico, se oxida formando azul de indofenol.

Reactivo.

Diclorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina al 1%

Medio de conservación de cepas.

Caldo de BHI (BIOXON) con glicerol al 15%

Suero de caballo con glucosa

Suero de caballo	300 mL
Glucosa	30 g
Caldo nutritivo	1.3 g
Sangre	100 mL

Bibliografía

1. Asaka M. , Kimura T., Kato M., Kudo M., Mik K., Ogoshi K., Kato T., Tatsuta M., and Graham D. Possible role of *Helicobacter pylori* infection in early gastric cancer development. *Cancer* 73 (11):2691-2694 (1994).
2. Blaser M.J. Hypotheses on the parhogenesis and natural history of *H. pylori* induced inflamation. *Gastroenterol.* 102 (2):720-737 (1988).
3. Bassoli F., Lagari R., and Parini. *H. pylori* infection and the development of preneoplastic lesions. *Gastroenterol.* 102 (4):2 (1992).
- 4 Bayerdorffer E., and Ottenjann R. The role of antibiotics in *Campylobacter pylori* associated with peptic ulcera disease. *Scan. J. Gastroenterol.* 23 (suppl 142) (1988).
5. Bruck E., Gourley K.W., and Lee K. Relation of *Campylobacter pylori* to gastritis and peptic ulcesr. *J. Infect. Dis.* 155 (4):644-649 (1986).
6. Clodan A., and McNulty M. Bismuth subsalicylate in the treatment of gastritis due to *Campylobacter pylori*. *Rev. Infect. Dis.* 12 (1):S94-S98 (1990).
7. Fabre R., Sobhñani I., Laurent-Pulg P., Hedef N., Iazigi N., Vissuzaine C., Rodde I., Potet F., Mignon M., Etienne J., and Braquet M. Pelymerase chain reaction assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens: comparison with culture, rapid urease test, and histopathological tests. *Gut* 35:905-908 (1994).

8. Graham D., Ginger M., and Hoda M. Factors influencing the eradication of *H. pylori* with triple therapy. *Gastroenterol.* 102 (2):493-496 (1991).

9. Hammar M., Tyszkiewicz T., Wadström T., and O'toole P. Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 30 (1):54-58 (1992).

10. Jerris R.C. *Helicobacter* in

Murray P.R., Baron E.J., Tenover F.C. and Tenover R.H.

MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.

6th Edition.

American Society for Microbiology.

Washington D.C. (1995).

11. Marshall B.J. *Campylobacter pylori*. Its link to gastritis and ulcer disease. *Rev. Infect. Dis.* 12 (suppl 1):S87-S93 (1990).

12. Megraud F., Neman-Simha V., and Brüggmann D. Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter pylori* urease on human epithelial cells. *Infect. & Immun.* 60 (5):1858-1863 (1992).

13. Newell D.G. Virulence factors of *H. pylori*. *Scand. J. Gastroenterol.* 26 (suppl 187):37-38 (1991).

14. Noguez A. *Helicobacter pylori* y su relación en enfermedades gastrointestinales. *Infectología* 10 (6):363-365 (1990).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

8. Graham D., Ginger M., and Hoda M. Factors influencing the eradication of *H. pylori* with triple therapy. *Gastroenterol.* 102 (2):493-496 (1991).

9. Hammar M., Tyszkiewicz T., Wadström T., and O'toole P. Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polimerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 30 (1):54-58 (1992).

10. Jerris R.C. *Helicobacter* in
Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C. and Tenover R.H.
MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.
6th Edition.
American Society for Microbiology.
Washington D.C. (1995).

11. Marshall B.J. *Campylobacter pylori*. Its link to gastritis and ulcer disease. *Rev. Infect. Dis.* 12 (suppl 1):S87-S93 (1990).

12. Megraud F., Neman-Simha V., and Brügmann D. Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter pylori* urease on human epithelial cells. *Infect. & Immun.* 60 (5):1858-1863 (1992).

13. Newell D.G. Virulence factors of *H. pylori*. *Scand. J. Gastroenterol.* 26 (suppl 187):37-38 (1991).

14. Noguez A. *Helicobacter pylori* y su relación en enfermedades gastrointestinales. *Infectología* 10 (6):363-365 (1990).

15. Rautelin H., Seppala K., and Velkko O. Role of metronidazole resistance in therapy of *H. pylori* infections. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 36 (1):263-266 (1992).
16. Shuengu D.L., and Nalin D.R. Comparative susceptibility of *Campylobacter pylori* to norfloxacin and other agents. *Antimicrob. Agents & Chemother.* 31 (6):949-950 (1987).
17. Stewart G., Armstrong A. J., and Chivers T. Transfer of *C. pylori* y *C. mustelae*, to *Helicobacter pylori* Cob. nov. and *Helicobacter mustelae*. *Internat. J. Syst. Bacteriol.* 39 (4):397-405 (1989).
18. Talley N., Kost L., Haddad A., and Zinsmeister A. Comparison of commercial serological tests for detection of *Helicobacter pylori* antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 30 (12):3146-3150 (1992).
19. Taylor D., and Blasser M.J. The epidemiology of *H. pylori*. *Epidemiol. Rev.* 13 (16):42-58 (1991).
20. Wyle A.F. *H. pylori*. Current perspectives. *J. Clin. Gastroenterol.* 13 (suppl1):S114-S124 (1991).