



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

49  
2y.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE *Helicobacter pylori* Y SU RESPUESTA INMUNE EN NIÑOS Y ADULTOS CON ENFERMEDAD ACIDO PEPTICA.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**  
**P R E S E N T A :**  
**RODRIGUEZ PEREZ NORA MINERVA**

U N A M  
F E B  
Z A R A G O Z A



LO ORGANIZÓ  
DR. ROBERTO C. GONZALEZ MELENDEZ

DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. MARGARITA CAMORLINGA PONCE.  
ASESOR DE TESIS: O.F.B. ROBERTO C. GONZALEZ MELENDEZ.

MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## AGRADECIMIENTOS

A mis abuelos que dios me dió aunque hay veces nos los recoge y nos deja un sentimiento de soledad, pero en su infinita misericordia, Dios me envia sus bendiciones.

A mi madre Margarita, a Maria Luisa y a mi hermana Yadanira que han sido una parte muy importante en mi vida, por el cariño, apoyo y estímulos que me han brindado.

A toda mi familia, por los momentos que he compartido con ellos.

A la M.C. Marganta Camorlinga Ponce y al Q.F.B. Roberto Cruz Gonzalez Melendez por su colaboración y guía en la elaboración de la tesis.

A todos mis profesores por su amistad y enseñanza durante los años de la carrera y en especial a mis sinodales.

## **ÉXITO**

El éxito comienza con la voluntad del hombre

Pienza en grande y tus hechos crecerán.

Pienza en pequeño y quedarás atrás.

Pienza que puedes y podrás.

Todo esta en el estado mental.

La batalla de la vida no siempre la gana el  
hombre más fuerte o el más ligero, por que  
tarde o temprano, el hombre que gana es el  
que cree poder hacerlo.

**INDICE**

	<b>Pag.</b>
Antecedentes	3
Epidemiología	5
Fisiopatología	8
Infecciones por <i>H.pylori</i>	11
Diagnóstico	13
Tratamiento	18
Resistencia	20
Planteamiento del problema	22
Objetivos	23
Hipótesis	23
Diseño de investigación	25
Material	25
Equipo	26
Reactivos	26
Métodos	27
Resultados	34
Discusión de resultados	43
Conclusiones	46
Apéndice	47
Referencias	52

**FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE  
Helicobacter pylori Y SU RESPUESTA INMUNE  
EN NIÑOS Y ADULTOS CON ENFERMEDAD  
ACIDO PEPTICA.**

## FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE *Helicobacter pylori* Y SU RESPUESTA INMUNE EN NIÑOS Y ADULTOS CON ENFERMEDAD ACIDO PEPTICA.

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es un organismo gram negativo helicoidal de 0.5 a 0.9  $\mu\text{m}$  de ancho y de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de largo, requiere condiciones microaerofílicas para su crecimiento y su temperatura óptima es de 37°C, se asocia a gastritis, úlcera duodenal y cáncer gástrico, reportándose un incremento de las infecciones con la edad y en países en vías de desarrollo. La mayoría de estudios se han realizado en pacientes adultos y pediátricos de otros países y se conoce poco sobre estas enfermedades en poblaciones Mexicana por lo que se realiza este estudio, para determinar la frecuencia de aislamiento de *H. pylori* y la respuesta inmune humoral IgG e IgA a diferentes Ag de *H. pylori* (extracto celular total, ureasa y proteína Cag A) en niños y adultos con enfermedad ácido péptica y la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *H. pylori* aisladas a los antimicrobianos usados (Metronidazol, Amoxicilina y Clantromicina).

Se estudiaron un total de 74 adultos con úlcera gástrica (UG) con una edad promedio de  $49 \pm 30$  años y 74 niños con Dolor abdominal crónico recurrente (DAR) con una edad promedio de  $10 \pm 7$  años; de cada paciente se obtuvieron 2 biopsias de antro y 2 de cuerpo, para cultivo e histología. Se considero infección cuando histología y/o cultivo fueron positivos. La respuesta inmune se estudio por ensayo inmunoenzimático (ELISA), usando como antígenos : extracto celular total de un pool de 3 cepas de *H. pylori* Mexicanas; ureasa y proteína Cag A recombinante (donadas por Oravax). Se aislaron 58 cepas de *H. pylori* procedentes de adultos con UG y 7 cepas de *H. pylori* procedentes de niños con DAR, la sensibilidad de estas cepas se realizó por la técnica de E-test en agar sangre. Observando una

frecuencia de aislamiento de *H. pylori* en adultos con UG y niños con DAR de 87.8% y 36.8 % respectivamente. La respuesta inmune en adultos con UG y niños con DAR fue : Para IgG anti-extracto total 97.5 % y 50.0%, para IgG anti-ureasa 50.0 % y 31. %, para IgG anti-Cag A 90.5 % y 44.6 %, para IgA anti-ureasa 72. % y 33.8 % para IgA anti-Cag A 64.8 % y 22.9 % respectivamente. De las cepas de adultos con UG 42 (72.40%) fueron resistentes al metronidazol, 8 (13.79%) fueron resistentes a clantromicina, de las cepas de niños con DAR 7 (100%) fueron resistentes al metronidazol, 3 (42.85%) fueron resistentes a clantromicina y ninguna cepa tanto de niños y adultos fue resistente a amoxicilina.

Por lo que concluimos que la frecuencia de las infecciones de *H. pylori* aumenta con la edad, los adultos presentan una seropositividad mayor que la de los niños a todos los antígenos, las cepas aisladas de adultos con UG muestran una menor resistencia al metronidazol en comparación con las cepas aisladas de niños con DAR.

## ● ANTECEDENTES:

Durante los últimos 100 años se ha reportado un microorganismo espiral en el estómago de mamíferos. En humanos se observó en material necrótico en la superficie de carcinomas ulcerosos y lesiones gástricas. Lunger (1917) en ese tiempo se le dió poca importancia a la bacteria espiral. hasta que Steer (1975) describió la bacteria, encontrada en la superficie del epitelio de pacientes con úlcera gástrica y gastritis (1)

En 1982 - 1983 Warren y Marshall cultivaron con éxito un microorganismo espiral que colonizaba el estómago humano y describieron una asociación entre la presencia de un microorganismo espiral y la gastritis antral en adultos, subsecuentes estudios en adultos y niños confirmaron esta asociación. (1-5)

Cuando se aisló este microorganismo espiral por primera vez, se incluyó en el género *Campylobacter* y se nombró *Campylobacter pyloridis* en 1984. En 1987 se cambió por *Campylobacter pylori*. Sin embargo el microorganismo fue considerado taxonómicamente diferente a la especie *Campylobacter* y Goodwin en 1989 propuso un nuevo género el cual fue *Helicobacter* que se refiere a su morfología de forma helicoidal *in vivo* y como baston *in vitro*, en cultivos viejos aparece como cuerpos coccoides. (1 - 3, 6)

Las formas coccoides no son cultivables y se atribuyen a la disminución de nutrientes, incubaciones prolongadas, acumulación de productos metabólicos, alteración del pH y a la exposición a agentes antimicrobianos, este último es de gran importancia en la terapia. (7)

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa helicoidal o curvada de 0.5 - 0.9 µm de ancho y 2 - 4 µm de largo, es móvil por medio de 3 - 5 flagelos polares y requiere condiciones microaerofílicas para su crecimiento con una temperatura óptima de crecimiento de 37 °C, las reacciones de la catalasa y oxidasa son positivas, no produce ácido sulfhídrico en medio agar hierro triple azúcar (TSI), no hidroliza el hipurato, es una bacteria asacarolítica La especie patógena para el humano es: *H. pylori* (8)

ESPECIES	HUESPED	HABITAT
<i>H. pylori</i>	Humano	Mucosa gástrica
<i>H. mustelae</i>	Hurones	Mucosa gástrica
<i>H. felis</i>	Gatos y perros	Mucosa gástrica
<i>H. nemistrinae</i>	Mono macaco	Mucosa gástrica
<i>H. cinaedi</i>	Humanos	Mucosa intestinal
<i>H. fennelliae</i>	Humano	Mucosa intestinal
<i>H. heilmanni</i>	Gatos	Mucosa gástrica
<i>H. rappini</i>	Perros	Heces
<i>H. mundarum</i>	Ratas y ratones	Mucosa intestinal

Tabla No. 1 Especies de *Helicobacter*. (5,8)

*H. pylori* se encuentra en la mucosa gástrica debajo y dentro de la capa de moco gástrico, no invade el epitelio. Usualmente se encuentra en la mucosa antral, pero puede estar presente en otras partes del estómago y puede ser aislado de otros sitios tales como duodeno, esófago y recto solo si en estos sitios se produce metaplasia. La bacteria es más comunmente adquirida en la niñez, se adapta y sobrevive por periodos largos en sitios que en su mayor parte no tienen flora normal microbiana.<sup>(1-2)</sup>

En primates no humanos como el mono rhesus y el mono japonés se pueden identificar cepas humanas de *H. pylori*, las que han sido caracterizadas bioquímica y antigénicamente. En un estudio Fox J.G. hizo autopsias a 100 monos rhesus de la India, observándose en el estómago de un mono las erosiones gástricas, 4% de los animales tenían inflamación gástrica o alteraciones degenerativas en la mucosa gástrica; *H. felis* y *H. heilmannii* puede ser observado en el tejido gástrico de los gatos, asociada con la gastritis crónica en un 70 % en gatos jóvenes y en un 97 % en gatos adultos, con inoculaciones experimentales de *H. pylori* a felinos se confirman las infecciones de los gatos, el microorganismo se aísla de biopsias y necropsias 7 meses después de la inoculación de todos los gatos, lo cual indica que las cepas de *H. pylori* humanas son infectivas para los gatos. El género *Helicobacter* ocasionalmente es aislado de diferentes especies animales que se muestran en la tabla No. 1. Todos estos datos indican que *H. pylori* coloniza y se replica en mamíferos no humanos, la existencia de estos reservorios naturales quienes interactúan con el humano, pueden proveer una idea de la epidemiología de *H. pylori*.<sup>(3)</sup>

## ● EPIDEMIOLOGIA :

La epidemiología de las infecciones por *H. pylori* es poco conocida por lo que se han realizado diferentes estudios, en todo el mundo se reporta un incremento de las infecciones con la edad y ciertos grupos étnicos tienen mayor riesgo de adquirirla. Los Africanos e Hispanoamericanos tienen mayor porcentaje de infección en comparación con Americanos caucásicos, la epidemiología de las infecciones por *H. pylori* en nuestro país es poco conocida y hay pocos trabajos realizados para la determinación de estas infecciones, por lo que este estudio se realiza para conocer más sobre las infecciones en nuestro país. <sup>(10,12)</sup>

De acuerdo a los estudios del Dr. Sinatra, se sabe que de utilizarse títulos de anticuerpo del 15 - 20 % de los niños de países industrializados serían positivos a *H. pylori* , y la mayoría de los niños colonizados son asintomáticos. Explicó que de efectuar endoscopias en tales niños, casi todos mostrarían evidencia clínica de gastritis histológica, sin embargo, eso no necesariamente se correlaciona con síntomas, muchos de los niños con evidencia histológica de gastritis podían ser asintomáticos. Se encontró que los niños con infección por HIV presentan una frecuencia reducida de infección por *H. pylori* , no se sabe la razón de ello, pero se sugirió que podría deberse a la administración frecuente de antibióticos a estos pacientes. <sup>(13)</sup>

En Houston la prevalencia de infección en 485 individuos sanos fue del 52 % en raza blanca frente al 70 % de raza negra . En el sur de Gales la prevalencia de infección fue del 56.9% en 749 hombres con edad de 30 - 75 años, incrementándose con la edad y un aumento significativo en las clases socioeconómicas más bajas. Mostrando una correlación entre condiciones higiénico-sanitarias deficientes y la adquisición temprana de la infección por *H.pylori* . <sup>(4, 10)</sup>

En Barcelona Mones et.al. encontraron una seroprevalencia del 60 % en 139 individuos asintomáticos con edades entre 10 - 80 años, la prevalencia de 1 - 20 años fue del 20 % y del 80 % a partir de los 40 años, en países del tercer mundo como la India la prevalencia de la infección es del 60 % en personas de 1 - 20 años y del 80 % a partir de los 20 años, lo que refleja una mayor facilidad de transmisión en los países con condiciones higiénicas más deficientes. <sup>(4, 14)</sup>

En un estudio realizado entre el personal sanitario de una unidad de endoscopias, se encontró una frecuencia de 3 a 4 veces superior de anticuerpos (Ab) contra *H.pylori* que en los controles. Lo que sugiere que la manipulación de secreciones del tracto digestivo superior, pueden ser un mecanismo de transmisión persona a persona. <sup>(3,4)</sup> Se ha observado que el 73.5 % de los padres de niños infectados son seropositivos para *H.pylori*, mientras que sólo se determinaron Ab en un 24.2 % de padres de niños no infectados. <sup>(4, 8)</sup>

Se analizó por serología la prevalencia de infección en 98 trabajadores de matadero, observándose que el personal administrativo presenta seropositividad similar a la de los controles y significativamente menor a la de los matanfes y a los manipuladores de vísceras, lo que sugiere que la infección se podría considerar como una zoonosis. *H.pylori* puede ser transmitido de persona a persona. En algunos reportes se ha descrito el aislamiento del

microorganismo de la placa dental y la saliva sugiriéndose una transmisión oral - oral. Los dentistas no presentan mayor riesgo de infección en comparación con los controles, esto puede indicar que la transmisión oral - oral requiere contacto íntimo entre personas. Usando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en un estudio se encontró que un 70 % de las personas tenían DNA de *H.pylori* en su saliva y 18 personas tenían *H.pylori* en la placa dental. (4,11, 18)

Thomas et.al. aislaron *H.pylori* de las heces de 9 (39%) de 23 niños de Gambia aproximadamente de 5 años de edad, lo que sugiere una transmisión fecal - oral. El agua contaminada y los vegetales crudos representan otro modo de transmisión de *H.pylori*, aumentando la incidencia de infección en países en desarrollo. (2, 15, 16, 17)

La contaminación de los endoscopios y forceps con *H.pylori* ocurre raramente después de las endoscopias de pacientes *H.pylori* positivos, estimándose la transmisión en un 4 por 1000 endoscopias, cuando el porcentaje de infección de la población analizada por endoscopia es del 50 %, la transmisión endoscópica de *H. pylori* puede ser considerada como una posibilidad aunque el riesgo es desconocido. Varios estudios muestran una alta prevalencia de *H.pylori* en gastroenterólogos y endoscopistas que están expuestos directamente a secreciones gástricas y se pueden contaminar con *H. pylori* durante el procedimiento por no usar guantes. (18)

Spach et.al. de 1966 a 1992 identificaron 281 infecciones transmitidas por endoscopia gastrointestinal, siendo *Salmonella* y *Pseudomona aeruginosa* identificadas como agentes causales de infecciones por endoscopia, la razón de la transmisión es por las técnicas de lavado y desinfección usadas. (19)

Granstrom M et.al. monitorizaron un grupo de 319 niños de 6 meses hasta la edad de 11 años en el sureste de Estocolmo, midiendo los Ab IgG e IgA contra *H. pylori*, siendo en total 1827 muestras de suero, estas muestras se tomaron a los 6, 8, 10 y 18 meses y 2, 4 y 11 años de edad, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

EDAD	TOTAL DE NIÑOS	SEROPREVALENCIA
6 Meses	319	2.4 %
8 Meses	303	2.4 %
10 Meses	303	11.7 %
18 Meses	258	1.8 %
2 Años	224	6.2 %
4 Años	201	6.3 %
11 Años	201	13.6 %

Con lo que concluyen que las infecciones por *H. pylori* ocurren a temprana edad. (19)

Ashorn M. et.al. estudiaron 14 niños que nacieron en 1984 con títulos de Ab IgG positivos las muestras se tomaron a los 28 días 7, 12 y 24 meses, en 1995 a la edad de 11 años a los mismos niños se les determinó por serología y por prueba del aliento de la urea la presencia de Ab, también se determinaron los Ab en los padres de 11 niños; se tomaron como control 9

niños originalmente seronegativos y 8 madres y 4 padres como control, todos los 14 niños originalmente seropositivos se convirtieron en seronegativos hasta los 7 meses, del grupo control a la edad de 11 años revela dolor abdominal recurrente (DAR), un 14 % de estos niños, de lo cual determinan que la seropositividad materna no incrementa el riesgo de adquirir las infecciones de *H.pylori* durante la infancia, la seropositividad a los 7 meses es sólo el reflejo de los Ab maternos, la seroreversión de positivo a negativo es rara pero esto puede ocurrir. (20)

Bunn J.E et al. estudiaron 65 madres e infantes de Gambia, colectando las muestras de sangre de todas las madres, y del cordón de 34 niños se tomaron series de muestras por intervalos de 8 semanas, los Ab IgG fueron medidos por ELISA y en los infantes por medio de la prueba del aliento de la urea mensualmente, los niveles de Ab maternos y del cordón se correlacionan, concluyendo que las madres transfieren Ac específicos IgG anti-*H.pylori* a sus hijos, pero estos no confieren una protección contra la colonización de *H.pylori* en los primeros años de vida. (20)

Luzza F. et al. muestran que la prevalencia de las infecciones de *H.pylori* son paralelas a la hepatitis A (HAV) y sugieren que el modo de transmisión es similar, entre los meses de enero y septiembre de 1995, se obtienen muestras de 705 residentes de Ciro (11000 habitantes, sureste de Italia), a todos los sueros se les determinó la presencia de IgG específicos de *H.pylori* y para la HAV, por medio de la técnica de ELISA usando antígeno (Ag) sonificados de *H.pylori* (sensibilidad 97 % y especificidad de 91 %) y Ab para HAV se detectaron por medio de un kit comercial ELISA. Los datos se analizaron por regresión logística, de los 705 residentes (273 Mujeres con rango de edad de 1-87 años con media de 50) 446 (63 %) fueron positivos para *H.pylori* y de los 466 (163 Mujeres fueron positivos para HAV, 291 (62 %) fueron positivos para *H.pylori* y 407 (87 %) para HAV), la tabulación cruzada muestra que 275 (59 %) fueron positivos y 43 (9 %) negativos para ambos *H.pylori* y HAV, 16 (3 %) fueron positivos para *H.pylori* y 132 (28 %) sólo para HAV, éstas se incrementan con la edad y la prevalencia de las dos infecciones se correlacionan ( $r = 0.287$ ) y determinan que la correlación entre *H.pylori* y HAV reflejan una alta seroprevalencia de ambas infecciones relacionada con la edad más que una asociación real. (20)

Kordecki H. et al. evaluaron la frecuencia de las lesiones de la mucosa del tracto digestivo superior y la frecuencia de infecciones de *H.pylori* en pacientes que recibieron ácido acetilsalicílico (ASA) en dosis de 70 - 300 mg / día, el cual fue administrado para enfermedades cardíacas con isquemia en 60 pacientes, de 31 a 72 años de edad a los cuales se les realizó una endoscopia del tracto digestivo superior, en 52 (87 %) con isquemia cardíaca que tomaron ASA se observaron erosiones en el estómago y/o en el bulbo gástrico, 12 (20 %) pacientes tenían úlcera gástrica y por examen microscópico se observó que 39 (65%) pacientes tenían una gastritis activa. El 76 % de los pacientes que recibieron ASA se infectaron con *H.pylori*. (20)

## ● FISIOPATOLOGIA:

Se ha encontrado que *H. pylori* presenta varios factores de patogenidad de los cuales cada uno puede contribuir al desarrollo de la inflamación y ulceración, éstos pueden integrarse en factores de: Colonización, Persistencia e Inducción de la enfermedad, <sup>(15)</sup> mostradas en el diagrama No. 1.



Diagrama No. 1 Propiedades patogénicas de *H. pylori*. <sup>(23)</sup>

## ● FACTORES DE COLONIZACIÓN:

**Rompimiento de la barrera mucosa:** Aunque la síntesis de glucoproteínas no es afectada, *H. pylori* puede inhibir la respuesta secretora de las células de la mucosa in vitro, indicando un efecto potencial en este mecanismo primario de la defensa de la mucosa gástrica. *H. pylori* rompe la capa protectora rica en fosfolípidos con propiedades hidrofóbicas en la superficie apical de las células de la mucosa. <sup>(21,22,23)</sup>

**Motilidad:** La motilidad de *H. pylori* ocurre por medio de 3 - 5 flagelos polares, los cuales contienen dos tipos de flagelina, codificada por los genes Fla A, Fla B; Fla A es esencial para la motilidad. Geis et al encontraron que la membrana del flagelo contiene proteínas y lipopolisacáridos que son importantes en la protección del flagelo o que promueven la adherencia. <sup>(21,22,23)</sup>

**Ureasa:** Su actividad se observa en el citoplasma, la asociación entre la ureasa y la bacteria es que inicialmente coloniza el moco secretado por la mucosa gástrica, para alcanzar la mucosa, *H. pylori* debe sobrevivir a un pH ácido como el del estómago por periodos largos.

para alcanzar e invadir la capa de mucina, esto puede ocurrir por la secreción de la ureasa, la cual puede convertir la urea en amonio, con lo que neutraliza el pH que cubre la bacteria. Una vez que la bacteria se aloja en la capa de mucina, los inhibidores de ureasa no previenen el crecimiento posterior o formación de úlcera. El amonio es tóxico para las células eucariontes y la ureasa tiene un efecto directo en la inflamación de la mucosa gástrica, activando leucocitos, monocitos y polimorfonucleares *in vitro*. (21,22,23)

**Adhesinas y receptores bacterianos:** La adhesión es un requisito importante para que la bacteria pueda colonizar la superficie de la mucosa, es mediada por receptores que reconocen proteínas o glicoconjugados en la superficie de las células epiteliales. *H. pylori* sintetiza ácido siálico específico, hemaglutininas, lípidos plegables, adhesinas, por lo que algunas cepas de *H. pylori* aglutinan eritrocitos de diferentes animales, evidencias posteriores sugieren que la línea celular específica para *H. pylori* está mediada por estructuras fucosiladas en las glicoproteínas. Boren et al. indican que el grupo sanguíneo Lewis b es el mediador del ataque a las células de la mucosa, sugiriendo que la variabilidad de los receptores fucosilados pueden ser reducidos en individuos con grupo sanguíneo "A" y "B" comparado con el grupo "O" por lo que se puede explicar el riesgo de la población con grupo sanguíneo "O" para desarrollar úlcera gástrica. (18,23,24)

#### ● FACTORES DE PERSISTENCIA:

**Lipopolisacárido (LPS):** Es una endotoxina inmunomoduladora del sistema inmune, compuesta de una cadena específica y un núcleo de oligosacáridos unido a un lípido A este último es el responsable de la inmunología y propiedad endotóxica del LPS, en particular el lípido A está involucrado en la adaptación ecológica en la mucosa gástrica por la bacteria, la baja actividad inmunológica del LPS puede dejar que *H. pylori* sobreviva en la mucosa gástrica. (22,23)

**Mecanismos de sobrevivencia:** *H. pylori* es capaz de ingenir surfactantes gástricos como fosfolípidos de superficie activa, comprometidos en la acidez de la mucosa gástrica, el organismo puede cubrirse a sí mismo para protegerse contra el medio ácido. *H. pylori* tiene varias formas de defenderse de la terapia antibiótica, como el desarrollo de resistencia a antibióticos, adquirido por transformación natural, como es el caso de resistencia al metronidazol, a sales de bismuto y antibióticos que inducen la producción de formas cocoides. (22)

**Formas cocoides:** son formas no cultivables, se atribuyen al cambio del medio que les rodea como son la disminución de nutrientes, las incubaciones prolongadas, cambios de pH, exposición a agentes antimicrobianos; estas formas pueden ser observadas en las biopsias y pueden explicar la recurrencia de las infecciones en los huéspedes, también pueden infectar cerdos gnotobióticos y ratones. (23)

● FACTORES QUE INDUCEN ENFERMEDAD:

**Citotoxinas;** *H. pylori* presenta una citotoxina vacuolizante que forma vacuolas en el citoplasma de las células eucariontes, la acción de la toxina es neutralizada por un antisuero específico de conejo y los anticuerpos específicos son determinados por serología en las personas infectadas por *H. pylori*, estudios con inhibidores de ATPasa muestran que la formación de las vacuolas en las células HELA requieren de la actividad de  $H^+$  y ATPasa, para mantener un gradiente de pH, asociado con el transporte de cationes involucrados  $Na^+$ ,  $K^+$ , dentro de la célula eucariontes, la actividad citotóxica de *H.pylori* expresa una proteína antigénica de alto peso molecular designada Cag A, aproximadamente el 60 % de las cepas producen esta proteína y está correlacionado con la expresión de la actividad de la citotoxina vacuolizante la cual migra aproximadamente a 120 - 128 KDa. La proporción de la producción de citotoxina es mayor entre los pacientes con úlcera gástrica que con pacientes sólo con gastritis, un 80 - 100 % de pacientes con úlcera gástrica producen Ab anti Cag A, en comparación con un 60 % de pacientes con gastritis infectados con *H.pylori* y sin úlcera. (21,22)

**Proteína de choque térmico (HSP);** Esta proteína induce a las células T y anticuerpos a reaccionar con las células humanas por formar un híbrido de 60 HSP (Hsp60) y esto puede provocar una reacción autoinmune con las células de la mucosa gástrica, el Ab para las Hsp60 se encuentran en las muestras de suero aproximadamente en un 50 % de los pacientes con *H.pylori* positivos, se localizan en la superficie de la bacteria en una proporción similar a la ureasa, y esta aumenta la actividad de la ureasa. (6,21- 22)

**Superóxido dismutasa (Sod);** puede ser la causante de la inhibición de la fagocitosis por las células NK. (23)

## ● INFECCIONES POR *H.pylori*.

*H.pylori* se encuentra en un 50 % de la población, el mecanismo de infección aún es confuso pero puede ser parcialmente explicado por que *H.pylori* induce alteraciones en la función gástrica, estimulando y disminuyendo la secreción ácida de las enfermedades ácido pépticas, que son un grupo de enfermedades que abarcan los tramos altos del aparato gastrointestinal, particularmente la porción proximal del duodeno y el estómago, como es la gastritis crónica, úlcera gástrica, úlcera duodenal y adenocarcinoma gástrico.<sup>(8)</sup> mostradas en el diagrama No. 2.

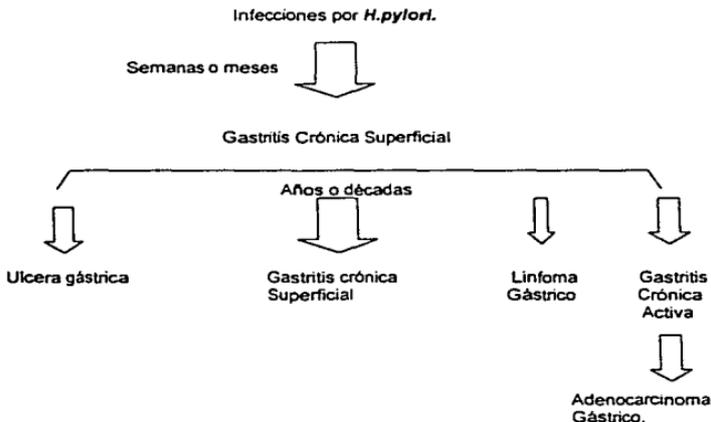


Diagrama No. 2 Consecuencias clínicas de las infecciones por *H.pylori*. <sup>(8)</sup>

Y se definen como :

Gastritis: Se define como una reacción inflamatoria aguda o crónica de la mucosa gástrica, las infecciones por *H.pylori* son la principal causa de gastritis tipo B o antral, no se relaciona con la gastritis tipo A o autoinmune. <sup>(4,8)</sup> En adultos con gastritis tipo B se han reportado infecciones por *H.pylori* en un 70 - 80 % y en niños en un 70 %. Afectando principalmente cuerpo y fondo del estómago. <sup>(4, 29)</sup>

En la gastritis aguda, la bacteria coloniza la mucosa gástrica liberando mediadores químicos que provocan una respuesta para la infiltración de neutrófilos polimorfonucleares (Gastritis supurativa con hipoclorhidria), el epitelio responde provocando cambios degenerativos y disminuye la mucina, en la mayoría de los individuos el cuadro progresa a una gastritis crónica con infiltrado de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos, la colonización es más marcada en el antro que en el cuerpo (Gastritis supurativa transicional con aclorhidria) el aumento de la severidad de la inflamación crónica da lugar a una atrofia glandular. En pacientes jóvenes afecta sobretodo el antro y en adultos afecta la totalidad del estómago. (21, 26, 27)

En un periodo de 6 años Eric Hassall et al. estudiaron 41 niños con gastritis de los cuales el 85 % tenían *H. pylori* en el antro gástrico, encontrándose nodulaciones antrales como signo importante, el cual no se ha descrito en adultos. (12, 28)

Úlcera gástrica: Un 70 % de los pacientes con úlcera gástrica están infectados con *H. pylori*, se relaciona con la ingesta de aspirina o antiinflamatorios no esteroidales. Nomura et al. encontraron que de 150 pacientes japoneses con úlcera gástrica un 93 % estaban infectados con *H. pylori*. (29)

Úlcera duodenal: *H. pylori* detenera la barrera mucosa e induce hipergastrinemia posprandial, que es importante en la patogenia de la ulceración. Un 90 - 95 % de los pacientes con úlcera duodenal están infectados con *H. pylori*. (4, 20) Nomura et al. encontraron que de 65 pacientes japoneses con úlcera duodenal, un 95 % de ellos presentaban IgG contra *H. pylori*. (29)

Varias dietas basadas en ácidos grasos poliinsaturados pueden proteger contra la úlcera gástrica inhibiendo el desarrollo de *H. pylori*. El ácido 3-linolénico en una concentración de  $1.8 - 2.5 \times 10^{-4}$  M. inhibe el desarrollo y a concentraciones de  $10^{-3}$  es capaz de matar a la bacteria. (30) Los pacientes con úlcera gástrica secretan más ácido que los pacientes con dispepsia no ulcerosa, la positividad a *H. pylori* se asocia con la disminución de la secreción gástrica. (31)

Cáncer gástrico: La gastritis superficial por *H. pylori* puede llegar a gastritis crónica atrófica y terminar en cáncer gástrico, existiendo una correlación entre los países con alta prevalencia de infección por *H. pylori* y una alta frecuencia de cáncer gástrico. (4, 26)

## ● DIAGNOSTICO:

Los métodos que permiten el diagnóstico de las infecciones por *H.pylori*, se dividen en dos grupos: Los que requieren endoscopia y toma de biopsias gástricas (Métodos Invasivos) y los que no requieren endoscopia (Métodos No Invasivos). (4, 32) Tabla 2 .

MÉTODOS NO INVASIVOS	MÉTODOS INVASIVOS
Prueba del aliento	Cultivo de biopsias
Serología	Prueba de la ureasa
	Tinción de Gram
	Histología

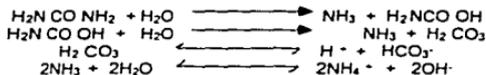
Tabla No. 2 Métodos de diagnóstico. (4, 32, 33)

## ● METODOS INVASIVOS:

**Cultivo de biopsias:** Los medios de agar sangre con y sin antibiótico se inoculan y son incubados por más de tres días bajo condiciones microaerofílicas, la sensibilidad es mayor del 80 % y su especificidad es del 100 %. (2, 4, 3, 34)

**Tinción de Gram:** *H.pylori* es un bacilo helicoidal en forma de S, Gram negativo de 0.5 - 0.9 µm de ancho y 2 - 4 µm de largo. (2, 4)

**Prueba de la ureasa:** (CLO test) Una biopsia es colocada en caldo de urea de Chistensen, produciendo un cambio cromático de amarillo a rosa, la especificidad es del 100% y la sensibilidad del 92 % , existiendo algunos falsos positivos debido a la existencia de otros gérmenes con actividad de la ureasa. (4, 28, 29)



Hidrólisis de la urea para formar amonio y carbamato, y espontáneamente se descompone dando otra molécula de amonio y ácido carbónico. (35, 36)

**Histología:** Informa sobre la morfología de la mucosa gástrica con una sensibilidad del 96 % y una especificidad del 70 % , teñidas con hematoxilina-eosina-safranina , Giemsa. (4, 34)

Hyun Yang et.al. Compararon los altos niveles de amonio en el jugo gástrico y la prueba de CLO test para el diagnóstico de infecciones de *H.pylori*, estudiando 75 sujetos (44 con gastritis crónica, 10 con úlcera gástrica, 6 con úlcera duodenal, 8 con cancer gástrico y 7 normales) por endoscopia tomaron biopsias para cultivo de *H.pylori* y para la prueba de

ULO test y jugo gástrico para determinar los niveles de amonio. Los pacientes con cultivo positivo tenían altos niveles de amonio ( $13.7 \pm 5.8$  mg/dl), los cultivos negativos tenían unos niveles de amonio de ( $4.9 \pm 2.4$  mg/dl), por lo que consideran que la medición de los niveles de amonio en el jugo gástrico es un método simple, rápido y completo para el diagnóstico de infecciones de *H.pylori*.<sup>(35)</sup>

### ◆ METODOS NO INVASIVOS:

**Prueba del aliento:** Se cuantifica a través de la medida de  $\text{CO}_2$  expirado marcado con  $^{14}\text{C}$  tras la administración oral de urea marcada con dicho isótopo, la dosis de radiactividad es baja y barata. Y la urea marcada con  $^{13}\text{C}$  no es radiactiva pero es más cara debido al uso de un espectrofotómetro de masas para medir la hidrólisis de la urea, con una sensibilidad del 95% y una especificidad del 96%. La prueba consiste en administrar al paciente una solución de urea marcada con  $^{13}\text{C}$ , cuando está presente el *H.pylori*, la ureasa de la bacteria hidroliza la urea administrada en amonio y dióxido de carbono  $^{13}\text{CO}_2$ , el cual se absorbe a través de la sangre y es transportado a los pulmones y al ser expirado es detectado con el equipo ABCA 400.<sup>(4)</sup>

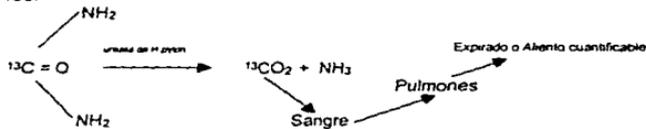


Diagrama No. 3 Hidrólisis de la urea. <sup>(4)</sup>

Es una prueba confiable, que refleja las infecciones de toda la superficie gástrica, es una prueba inocua que se puede usar en mujeres embarazadas y niños, por que usa isotopos no radiactivos y los resultados se pueden obtener hasta en 48 horas. <sup>(4)</sup>

**Serología:** Se basa en el hecho de que la infección por *H.pylori* provoca una respuesta inmune tanto local como sistémica. <sup>(4, 27)</sup>

**Inmunidad local:** Se usan modelos animales para investigar las infecciones por *H.pylori* incluyendo cerdos gnotobióticos y monos, observándose los linfocitos T y células plasmáticas en la mucosa gástrica de estos animales, pero la respuesta inmune local todavía no es muy investigada. <sup>(6)</sup> Los linfocitos T se incrementan en los procesos crónicos de inflamación y los linfocitos B se incrementan con la producción de autoanticuerpos, los linfocitos T ayudan a suprimir la citotoxicidad, encontrados en la lámina propia del estómago normal en un número equivalente a los linfocitos B. <sup>(37)</sup>

**Inmunidad sistémica:** Los Ab IgG contra *H.pylori* se encuentran en monos y cerdos gnotobióticos infectados por *H.pylori*, los conejos desarrollan altos niveles de Ab por

inmunización y se ha observado una inhibición de crecimiento de algunas cepas de *H.pylori* por un disco impregnado con 25 µL de 5 diferentes sueros con niveles altos de IgG lo cual indica un efecto antibacterial de los sueros. (6)

Dentro de los métodos usados para medir los Ab están los análisis por enzima fijada a inmunoabsorbentes (ELISA), inmunoblot (Westem blot), hemaglutinación (HA) fijación de complemento (FC), inmunofluorescencia indirecta (IFI) o aglutinación en latex. (6-22)

Ensayo en fase sólida: ELISA, IFI, Inmuno Blot, son técnicas de fase sólida, que miden la unión de los Ab con los Antígenos (Ag), estos métodos pueden ser cuantitativos o semicuantitativos, en la técnica de ELISA los Ab o Ag, se pueden ligar a una enzima, reteniendo el complejo su actividad inmunológica, en este ensayo el soporte puede ser de celulosa, en microplacas de nylon, polivinilo; la enzima usada debe tener una actividad elevada, como es el caso de la peroxidasa de rábano picante, la galactosidasa, la fosfatasa alcalina, los sustratos cromogénicos deben ser incoloros inicialmente y colorados tras la degradación como el paranitrofenilfosfato, la ortofenilendiamina y la ortotoluidina. (6)

Ensayos líquidos o semisólidos: La aglutinación en latex o la inmunoelectroforesis estas dependen de la unión del Ab con el Ag, estas pruebas son semicuantitativas. En un estudio de 42 pacientes dispépticos por el método de microaglutinación resultaron 28 pacientes positivos para *H.pylori*. (6) Rauteli et.al. reportaron que pacientes *H.pylori* positivos tienen una elevación en las subclases de Ab IgG<sub>2</sub> e IgG<sub>4</sub> por lo que concluyen que la gastritis crónica estimula la producción de estas subclases. La especificidad y sensibilidad de esta técnica depende de la preparación del Ag usado :

- a) Ag crudo de células totales y sonicadas.
- b) Ag purificado y Ag estable al calor.
- c) Ag purificado como la ureasa.

Los niveles de IgG aumentan más en pacientes sintomáticos que en los asintomáticos, al igual que los niveles de IgA pero en cantidades menores que IgG, IgM son raramente encontrados. Los niveles de IgG son constantes por varios meses antes de ser tratado el paciente y después del tratamiento los niveles disminuyen. (6)

De 16 niños con síntomas gastrointestinales (nauseas, vómito, hematemesis, dolor abdominal epigástrico) Steve et.al. encontraron que sólo el 45 % estaba infectado por *H.pylori* esto se comprobó por endoscopia, producción de ureasa, cultivo y niveles de Ab séricos por medio de la técnica de ELISA con células bacterianas lisadas, con una especificidad y sensibilidad del 90 %. (28)

En otro estudio, Yamamoto et.al. realizó a 158 pacientes endoscopia gastrointestinal, cultivo, CLO test de las biopsias de antro y cuerpo, serología de IgG, IgA, e IgM contra *H.pylori*. Con dos de estas pruebas positivas se consideraron pacientes positivos para *H.pylori*, con una sensibilidad del 98 % y una especificidad del 71 % para la IgG, del 14.3 % y 60.8 % para la IgM y del 45 % y 100 % para la IgA. (29)

Cabree et.al. estudiaron la respuesta inmune de *H.pylori* en 69 niños de 1 a 18 años con dolor abdominal y síntomas gastrointestinales, de los cuales 21 niños (30 %) con histología positiva de los cuales 18 eran *H.pylori* positivos y 3 negativos, siendo todos positivos a los

Ab IgG por la técnica de ELISA con una sensibilidad del 86 %, por inmunoblot 20 de los 21 pacientes fueron positivos, con una sensibilidad del 95 %. (40)

Kreuning et.al. en 17 de 48 voluntarios sanos encontraron que tenían gastritis y *H.pylori* se observó en las biopsias de 14 de los 17 voluntarios, los Ab séricos IgG e IgA contra *H.pylori* se midieron por ELISA . El índice de absorción de la IgG correlacionó significativamente con el grado de colonización del antro pero no del cuerpo, en contraste el índice de absorción de la IgA fue significativo con el grado de colonización del cuerpo pero no del antro. (41)

Cover et.al. determinan que aproximadamente un 60 % de cepas aisladas de *H.pylori* poseen genes para la expresión de Cag A, el cual fue detectado en 26 (81.3 %) de 32 pacientes con úlcera duodenal, 17 (68 %) de 25 pacientes con úlcera gástrica y 23 (59 %) de 39 pacientes con dispepsia no ulcerosa, por la técnica de Westernblot, usando antisueros para Cag A, la observación *in vitro* fue de un 95.5 % de las cepas comparadas con un 0 % de cepas que no presentaron el gen para Cag A . El Ab IgG contra Cag A se presentó en un 87.5 %, 76 % y 56.4 % en pacientes con úlcera duodenal, úlcera gástrica y dispepsia no ulcerosa respectivamente, estos datos demuestran la asociación entre las infecciones de *H.pylori* con la presencia de Cag A\* y la presencia de ulceración gástrica, indicando que las técnicas serológicas son métodos sensibles para detectar infecciones con cepas de *H.pylori* Cag A\* . (42)

Con el método de inmunoblot se evalúa el diagnóstico de las infecciones por *H.pylori*, con una especificidad y sensibilidad del 100 % . Las bandas correspondientes a 66, 51 y 14 Kda no son criterios para diagnóstico de infección , pero al menos dos de las siguientes bandas de 180, 120,90,75, 67y 29.5 Kda corresponden a un diagnóstico de infección por *H.pylori*. tabla No. 3. (43)

INMUNOREACTIVIDAD DE IgG CONTRA Ag de <i>H.pylori</i>		
Peso molecular Kda	Localización	% de reactividad n=69
29.5	Sub. Pequeña de urea	91.3 (63)
67	Sub. Grande de urea	89.8 (62)
75	Desconocido	75.4 (52)
90	Desconocido	71.0 (49)
120	Factor de patología	85.5 (59)
180	Desconocido	68.1 (47)

Tabla No. 3 Inmunoreactividad de IgG contra *H.pylori*. (43)

Encontrando que el método de inmunoblot evalúa y confirma semicuantitativamente los resultados de los métodos serológicos para el diagnóstico de infecciones por *H.pylori*. (43)

Aguiar et.al. realizaron endoscopias a 65 niños con enfermedad gástrica con un promedio de edad de 9.5 años, tomándose 3 biopsias (una para CLO test, otra para histología, teñidas con carbolfucsina y la última para cultivo la cual se coloca en caldo tioglicolato) y 5 mL de sangre

obteniéndose que 35 niños de los 65 (53.85 %) fueron positivos por cultivo y por IFI con títulos de Ab  $\geq 1:20$  con una sensibilidad del 94 % y especificidad del 100 %.<sup>(32)</sup>

Raymond et.al. durante un periodo de 18 meses, detectó 115 niños, 55 hombres y 60 mujeres con edades de 5 a 16 años, que referían dolor abdominal recurrente (DAR), se les realizó endoscopia tomando tres biopsias de antrum, una se tiñó con hematoxilina-eosina, otra se colocó en solución salina a 4°C, otra muestra se colocó en 0.5 mL de urea de Chistensen al 2% y se examinó después de una hora de incubación a 37 °C, la biopsia que queda se suspendió en 0.5 mL caldo carne de hígado homogenizándose para cultivo, inoculándose en agar sangre o agar chocolate a 37 °C en condiciones microaerofílicas por 7 días, *H. pylori* fue confirmada por su morfología, oxidasa, ureasa, catalasa positivas, serológicamente por inmunoensayo enzimático (EIA). Para 94 niños los dos métodos fueron comparables, 52 niños con serología negativa y cultivo negativo con histología similar, 42 niños con cultivo positivo y serología positiva e histología positiva, 10 niños con serología positiva y cultivo negativo, estos datos muestran que las pruebas serológicas para *H. pylori* son buenos métodos para la detección de las infecciones en niños y que los títulos de IgG correlacionan con la edad.<sup>(44)</sup>

Atherton et.al. encuentran que la densidad de *H. pylori* se asocia a los cultivos cuantitativamente y a estudios histológicos de la biopsia gástrica, de 29 pacientes dispépticos infectados con *H. pylori*, su densidad se correlaciona con Cag A y Vac A por PCR y el daño e inflamación del epitelio y ulceración gástrica, encontrando que el cultivo es más reproducible que la histología.<sup>(45)</sup>

Técnica	Sensibilidad	Especificidad
Histología	93.6 %	97.7 %
Cultivo	98.4 %	100.0 %
Prueba de ureasa rápida	90.2 %	100.0 %
Prueba del aliento	100.0 %	100.0 %
Serología	98.4 %	88.4 %

Tabla No. 4 Sensibilidad y especificidad de las diferentes técnicas diagnósticas.<sup>(46)</sup>

## ● TRATAMIENTO:

La elección de un agente antimicrobiano para uso terapéutico depende de numerosos factores como: mecanismos de acción, vía de administración, tipo de infección, el estado inmune y las condiciones clínicas del paciente, las pruebas de susceptibilidad *in vitro* a los antimicrobianos son importantes, y las bacterias se pueden clasificar en: *Susceptibles* por que el microorganismo aislado responde favorablemente a la dosis terapéutica habitual del antimicrobiano utilizado. *Resistentes* los microorganismos aislados que no responden a los niveles de antimicrobianos alcanzables en sangre. (47)

El tratamiento de las infecciones por *H. pylori* con antibióticos es exitoso en la eliminación de la úlcera, pero no previene las infecciones recurrentes después de la terapia. (16) Se han probado numerosos antibióticos como monoterapia, incluyendo eritromicina, amoxicilina y metronidazol por dos semanas, pero el uso de metronidazol sólo ha conducido hacia la resistencia al medicamento, sin embargo esta resistencia disminuye cuando se combina con bismuto. (13,15)

Se ha considerado un buen esquema de tratamiento el uso de dos antibióticos más bismuto, observándose que el bismuto por sí sólo no es efectivo y tiene una actividad antibacteriana, también actúa en la mucosa gástrica inflamada y puede tener un efecto curativo en el huésped, una combinación de dos antibióticos amoxicilina y metronidazol 3 veces al día por 3 semanas, mostró una buena erradicación y eliminó la recurrencia de la úlcera; no fue necesario el uso de bismuto. Actualmente se usan 4 medicamentos los cuales son: tetraciclina, pantoprazol, metronidazol y sales de bismuto. Un método terapéutico nuevo, sugiere que la presencia de adhesinas que se unen a carbohidratos (fucosa, ác. siálico etc.) ingiriendo preparados que contengan monosacáridos y disacáridos reconocidos por las adhesinas, pueden ser usada para prevenir el ataque de la bacteria y reducir la colonización. (21)

Logan estudió 83 pacientes *H. pylori* positivos y los trató con omeprazol y amoxicilina, a los cuales se les comprobó la infección y evolución después del tratamiento, mediante la prueba del aliento de la urea, presentando erradicación un 67.9 % de los pacientes, el tratamiento fue de dos semanas con 20 mg/12 h de omeprazol y 500 mg/6 h de amoxicilina. (27, 48) En otro estudio Logan usó como tratamiento 500 mg/8 h de claritromicina y 40 mg/día de omeprazol por 4 semanas, observándose un 78 % de erradicación. (49)

La presencia de ácido ascórbico en el jugo gástrico, protege contra el desarrollo de cáncer gástrico y posiblemente contra úlcera gástrica, en sujetos con gastritis crónica la concentración de ác. ascórbico es menor que la de los controles sanos, este ácido inhibe el desarrollo de la actividad de la ureasa, la concentración de ác. ascórbico aumenta después de la erradicación de *H. pylori*. (13)

La mejor estrategia para la erradicación de las infecciones puede ser a través de la inmunización. Una vacuna efectiva requiere de protección antigénica, se inmunizaron ratones oralmente con *H. pylori* sonicada, ureasa recombinante inactiva todas combinadas con toxina de *vibrio cholerae* (CT), y ratones control, todos fueron desafiados con *H. felis* vivo,

observándose alguna protección en los grupos vacunados pero el 80 % de los vacunados con urea B recombinante se eliminó la infección y la urea A fue menos protectora. La CT es una endotoxina estudiada en ratones, pero en humanos causa diarrea por lo que no se usa para la vacuna y se busca un nuevo adyuvante como la enterotoxina lábil al calor de *E. coli* LT que es menos tóxica. El grupo de Ora Vax en Boston reportan que la vacuna de urea-LT confiere un 80 % de protección contra *H. felis* comparada con un 70 % de protección usando urea-CT. (50)

Michetti et.al. demostraron la protección de un 59 % de ratones inmunizados con la subunidad de urea A y CT como adyuvante. Ferrero encontró una protección del 25 % con el uso de la subunidad de urea A y un 60 % de protección con la subunidad B, y se demostró que la administración oral de esta vacuna no es tóxica para los humanos. Ferrero et.al. han demostrado otras dos vacunas antigénicas potentes que producen inmunización intragástrica con la proteína de choque térmico A o B de *H. pylori* con toxina de cólera la cual protege en un 80 % y un 70 % respectivamente a los ratones infectados con *H. felis*. (24,51)

Caselli et.al. quienes seleccionaron dos grupos de 50 pacientes *H. pylori* positivos separados por edad, sexo, raza para ser comparados después de la erradicación con una terapia dual, con una dosis estándar de azitromicina 500 mg por día por 3 días incrementando la dosis de omeprazol de 20 mg a 40 mg por una semana, la presencia antes y después de *H. pylori* se determinó por la prueba rápida de la ureasa e histología, 57 semanas después del tratamiento *H. pylori* se erradicó en 29 de 50 pacientes (58 %) quienes tomaron azitromicina y 40 mg, de omeprazol, y en 44 de 50 (88 %) quienes tomaron azitromicina en una semana seguida de 80 mg, día de omeprazol, con lo que concluyen que la terapia dual con altas dosis de omeprazol combinada con una dosis estándar de azitromicina tiene un alto éxito de erradicación. (20)

## ● RESISTENCIA:

La resistencia bacteriana está definida como la capacidad de las bacterias de multiplicarse ante la presencia de antimicrobianos en un medio de cultivo.<sup>(47)</sup>

Recientes reportes de Pérez Trallero, muestran que un porcentaje de pacientes con úlcera gástrica se curan con un regimen de una semana de omeprazol, clantromicina y metronidazol o timidazol, sin embargo el éxito de estos tratamientos puede depender del porcentaje de resistencia de *H.pylori*. En un estudio en el norte de España de enero de 1994 y febrero de 1996, se aislaron 425 cepas de *H.pylori* a las cuales se les probó la susceptibilidad a antibióticos, 386 cepas de adultos con úlcera gástrica o gastritis crónica y 39 cepas de niños con dispepsia persistente, usando el método de E test en placa de agar Brucella con 7 % de sangre de caballo y 1 % de vitox, incubadas a 37 ° C en condiciones microaerofílicas, los resultados obtenidos fueron para la clantromicina 7.1 % 30 / 424 (9.5 %) niños y 6.8 % en adultos, para el metronidazol el MIC  $\geq 8\mu\text{g/mL}$  50.1 % 213 / 425 (66.7 %) en niños y 48.4 % en adultos.<sup>(52)</sup>

En otros estudios, Alarcón, determinó la resistencia de *H.pylori* al metronidazol (metro.) y clantromicina (clantro.) durante 5 años de 1991 - 1995 y se relaciono con el sexo y la edad de los pacientes, aislándose 282 cepas de *H.pylori* usando el método de dilución en agar Mueller Hinton con 7% de sangre de caballo incubadas por 5 días a 35 °C en condiciones microaerofílicas, la resistencia se considero con un MIC  $\geq 8\text{ mg / l}$  para metronidazol y de MIC  $\geq 4\text{ mg / l}$  para clantromicina.<sup>(53)</sup> Los datos obtenidos se muestran en la tabla No. 5.

Año	1991	1992	1993	1994	1995	total
No.cepas	15	19	24	83	136	237
Metro.	9 %	6.3 %	33.3 %	18.6 %	21.6 %	19.9 %
Clantro.	0 %	0 %	4 %	3.4 %	4.4 %	3.5 %

Tabla No. 5 Resistencia al Metronidazol (Metro) y Clantromicina (Clantro).<sup>(53)</sup>

Observándose una resistencia en las mujeres de 19.4 % y 3.6 % , en hombres fue del 20.3 % y 3.5 % , en pacientes adultos de 22.6 % y 2.1 % y en niños 14.4 % y 6.25 % para metronidazol y clantromicina respectivamente. Observando que el porcentaje total es más alto para metronidazol que para clantromicina.<sup>(20)</sup>

Adamek et.al. encontraron que 195 pacientes con *H. pylori* positivos fueron determinados por prueba rápida de la ureasa, cultivo e histología, se determinó su resistencia a antimicrobianos, aún después del tratamiento, esto fue evaluado en 172 pacientes (88 %) 50 pacientes se les dió una terapia dual por dos semanas con 2 000 mg de amoxicilina al día y 122 pacientes se les dió una triple terapia con 5 00-1 000 mg de claritromicina al día, 1 000-1500 mg de metronidazol al día y 150 mg de omeprazol. Observándose una resistencia al metronidazol en 36 de 172 pacientes (21 %) y a claritromicina en 3 de 172 pacientes (2 %) no se notó resistencia a la amoxicilina. (20)

Peitz et.al. en un estudio prospectivo, de 94 pacientes, 55 mujeres sanas con una media de edad de 55 años, 29 con úlcera gástrica, 19 con úlcera gástrica y 46 con dispepsia funcional, el estado *H. pylori* positivo se determinó por medio de cultivo e histología y la resistencia de *H. pylori* se determinó por E-Test. El cultivo preterapéutico fue exitoso en 87 casos (93 %) , la resistencia al metronidazol fue encontrada en 38 pacientes (44%) y 2 pacientes resistentes a claritromicina (2.3%) las infecciones de *H. pylori* fueron curadas en 86 casos (91 %). (20)

## ● PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Las infecciones de la mucosa gástrica asociadas a *H.pylori* son la principal causa de las enfermedades ácido pépticas como gastritis, úlcera gástrica, cáncer gástrico las cuales tienen una prevalencia de infección que se incrementa con la edad. Adquiriéndose más tempranamente en países en vías de desarrollo y con niveles socioeconómicos bajos. Por lo que se hace necesario identificar la frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en pacientes adultos y pediátricos Mexicanos que manifiesten malestares gástricos, asociados a estas enfermedades ácido pépticas, para poder prevenir su cronicidad y su alta frecuencia, que acudan al Centro Médico Nacional siglo XXI del IMSS.

Determinar la prevalencia de los Ab séricos contra *H.pylori* por métodos inmunoenzimáticos (ELISA), así como detectar su susceptibilidad a diferentes antimicrobianos para dar un tratamiento adecuado.

● **OBJETIVOS:**

1.Determinar la frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en pacientes pediátricos con DAR y adultos con úlcera gástrica del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

2.Determinar la respuesta inmune humoral IgA e IgG a diferentes Antígenos de *H.pylori* (extracto celular total , ureasa y proteína Cag A) en niños con DAR y adultos con úlcera gástrica infectados con *H.pylori*.

3.Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *H.pylori* aisladas a los antimicrobianos (Metronidazol, Claritromicina y Amoxicilina) .

● **HIPOTESIS:**

La frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en niños será menor que la frecuencia en adultos y todos los pacientes con cultivos positivos tendran títulos de anticuerpos  $\geq 1$  unidad elisa (u.e) y de los cultivos positivos en niños tendrán una resistencia al metronidazol mayor que en los adultos.

## ● DISEÑO DE INVESTIGACION:

### TIPO DE ESTUDIO:

Este estudio es prospectivo, comparativo, transversal y observacional.

### POBLACION DE ESTUDIO:

Se incluyeron 74 pacientes adultos y 74 pacientes pediátricos con enfermedad ácido péptica, a los que se les realizó endoscopia del tubo digestivo superior y que se les tomaron 2 biopsias de antro y 2 biopsias de cuerpo gástrico, así como muestra sanguínea.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Bacteriología de la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Hospital de Pediatría con la colaboración del servicio de Gastroenterología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

### CRITERIOS DE INCLUSION:

Pacientes pediátricos y adultos que se sometieron a endoscopia del tracto digestivo superior por enfermedad ácido péptica, que presentaron histología y/o cultivo positivo para *H.pylori*, que consintieron entrar al estudio en el caso de los adultos, o que el padre o tutor de los pacientes pediátricos aceptaron que el infante ingresara al estudio.

### CRITERIOS DE EXCLUSION:

Pacientes que hubieran recibido antibióticos o sales de bismuto en el último mes previo a la primera endoscopia, pacientes con supresión del sistema inmune como SIDA o cáncer.

### VARIABLES DEPENDIENTES:

Frecuencia de títulos positivos de Ab IgG e IgA séricos contra *H.pylori* en la muestra de estudio, frecuencia de aislamiento de *H.pylori* de las biopsias de los pacientes.

### VARIABLES INDEPENDIENTES:

Metodología de la técnica de ELISA, procesamiento de la muestra. Tiempo, temperatura de incubación y condiciones microaerofílicas.

## ● DISEÑO EXPERIMENTAL:

### MATERIAL:

Asas bacteriológicas  
Aplicadores  
Algodón  
Barra magnética  
Bolsas de plástico  
Bolsas de papel  
Bandejas  
Cajas petri desechables (BBL)  
Criotubos (Nunc)  
Espátula  
Frasco  
Gasas  
Gradillas  
Guantes  
Hisopos estériles  
Homogenizadores  
Hielera  
Jarras de anaerobiosis (BBL)  
Matraz Erlenmeyer de 1 L y 2 L (Pyrex)  
Mechero Bunsen  
Mechero Fisher  
Micropipetas automáticas de 1, 50, 100, 200  $\mu$ L (Labsystems)  
Multipipeta de 20 a 200  $\mu$ L (Costar)  
Placas para dilución (Labsystems)  
Placas para ELISA (Labsystems)  
Pinzas  
Pipetas graduadas  
Pipetas Pasteur  
Porta objetos  
Propipetas  
Probetas graduadas  
Puente de tinción  
Puntas para micropipeta  
Tubos de ensayo  
Tubos eppendorf  
Vacutainer  
Vasos de precipitados de 100, 250, 500 mL (Pyrex)  
Sobres de Campy Pack (BBL)  
Sobres de Campy Pack Plus (BBL)

**EQUIPO:**

Autoclave (Fehlmax)  
Balanza analítica (Sartorius)  
Balanza granatária (Mettler Toledo)  
Campana de flujo laminar (Nuairé)  
Centrífuga (Sorvall RT 6000D)  
Congelador de - 20 ° C (Fisher Scientific Isotemp)  
Congelador de - 70 ° C (86C Freezer Forma Scientific)  
Lavador de placas para ELISA (Labsystems)  
Lector de ELISA (Labsystems)  
Microscopio óptico (Nikon)  
Parrilla de agitación y calentamiento (Lab-Line)  
Potenciómetro (Beckman RS 232)  
Refrigerador de 0 ° C  
Sonicador (Vibra Cell)  
Vortex (Vortex-Genie mod K-550-G)

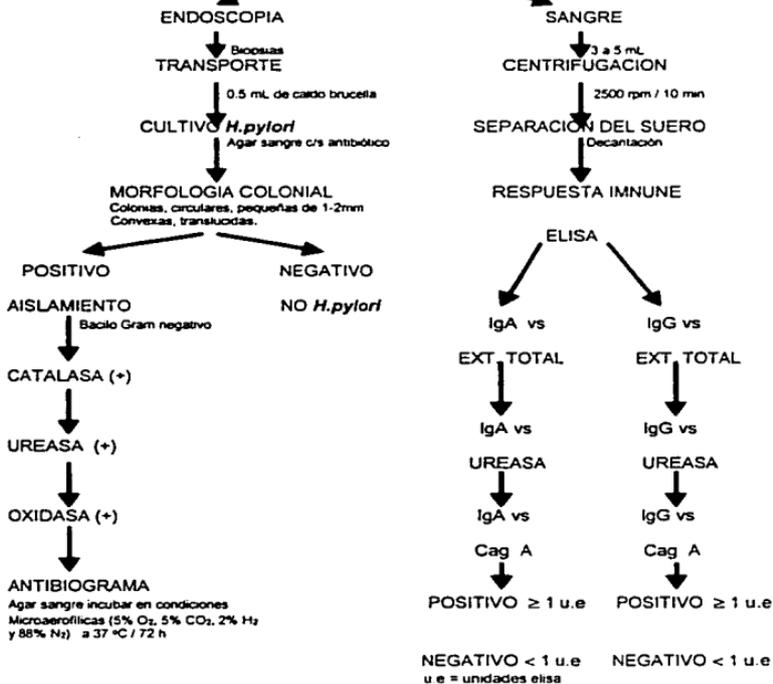
**MUESTRAS:**

Suero  
Biopsias gástricas de antro y cuerpo.

**REACTIVOS:**

Solución salina al 0.9%  
Caldo urea  
Caldo brucella  
Caldo brucella con glicerol  
Agar chocolate c/s antibiótico  
Agar sangre c/s antibiótico  
Buffer de carbonatos pH 9.6  
Buffer salino de fosfatos (PBS) pH 7.3  
PBS + timerosal + tween 20 (PBSTT)  
PBSTT + gelatina 0.1 % (PBSTTG)  
PBSTTG + gammaglobulina 0.5% (PBSTTGG)  
PBSTTG + albumina 1% (PBSTTGB)  
Solución desinfectante  
Solución reveladora de dietanolamina  
Etanol al 70%

● **DIAGRAMA DE FLUJO**  
TOMA DE MUESTRA



## ● METODOS:

**ENDOSCOPIA:** Se coloca la punta del endoscopio de visión anterior en el esfínter cefalofaríngeo del esófago, se ejerce una presión suave, se insufla disminuyendo cantidades de aire, para visualizar la luz esofágica, se pasa el aparato mediante visión directa hasta el estómago, se explora el cuerpo y antro gástrico y se hace una flexión retrógrada de la punta del endoscopio para ver el cardias, el fondo se cruza el píloro y se explora la primera y segunda porción del duodeno, al extraer el endoscopio todo lo anterior se repite, quedando las lesiones en fotografía o en cintas de vídeo y se toman las biopsias de las lesiones. (20)

**TRANSPORTE DE BIOPSIAS:** Las biopsias se transportaron al laboratorio en volúmenes pequeños de 0.5 mL de caldo Brucella. Las muestras se procesaron dentro de las 2 h después de haberse tomado, si esto no fue posible, se guardaron en caldo Brucella con glicerol a  $-70^{\circ}\text{C}$ . (2, 5)

**CULTIVO Y AISLAMIENTO:** En un crotubo se colocaron 0.5 mL de solución salina 0.9 % en el cual se colocó una de las biopsias (antro y/o cuerpo) se etiquetó y se guardó, la otra biopsia se maceró completamente en un homogenizador de vidrio con caldo Brucella, del macerado se colocaron dos gotas en la placa de agar chocolate con y sin antibiótico se extendió por difusión, y se realizó el mismo procedimiento para las otras biopsias, las placas se incubaron en jarras de anaerobiosis con catalizador y un sobre de Campy pak, para dar las condiciones microaerofílicas (5 %  $\text{O}_2$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , 2 %  $\text{H}_2$  y 88 %  $\text{N}_2$ ) a  $37^{\circ}\text{C}$  por 3 días, si no se observó crecimiento se continuó la incubación por 7 días, si no hay crecimiento se reportó como negativo, y si presenta contaminantes se realizaron subcultivos en medios con antibiótico, para purificar. (2, 5)

**MORFOLOGIA COLONIAL:** *H. pylori* presenta colonias, circulares, pequeñas de 1 - 2 mm, convexas, translúcidas, con una pequeña hemólisis en el agar sangre dando un color grisáceo en el medio. (2, 5)

**CATALASA:** Las colonias se transfirieron a la superficie de un portaobjetos con un aplicador y se agregó 1 gota de peróxido de hidrógeno al 3 %, la aparición sostenida de burbujas constituyó un resultado positivo. (5)

**UREASA:** Las colonias se transfirieron a un tubo de ensayo con caldo urea (anaranjado) se agitó y la observación de un cambio cromático a rosa mexicano dentro de un periodo no más de 2 minutos con lo cual se indicó un resultado positivo, esto se realizó a temperatura ambiente. (5)

**TINCION DE GRAM:** En un portaobjetos limpio se colocó una gota de agua y una colonia con lo que se hizo una suspensión, se dejó secar y se fijó al calor, se adicionó cristal violeta por un minuto, se lavó, se adicionó yodol por 30 segundos, se lavó, se decoloró con alcohol acetona, se lavó, se adicionó safranina por 30 segundos, se lavó y se dejó secar y se observó al microscopio, observándose un bacilo Gram negativo helicoidal en forma de S, que corresponde a la morfología de *H. pylori*. (5)

**ANTIBIOGRAMA:** El ensayo se realizó con una tira plástica que contiene gradientes continuos de antibiótico. Se utilizó una tira (E test) de cada uno de los antibióticos probados metronidazol, claritromicina y amoxicilina por placa. <sup>(54)</sup>

Se realizó en agar Columbia o Brucella con 10 % de sangre de caballo, el inoculo se preparo de 2 placas con crecimiento abundante y sin contaminantes ,se suspendió en 5 mL de caldo Columbia o Brucella ajustando a la escala turbidimétrica del tubo 3 de Mac Farland que equivale aproximadamente a  $0.5 \times 10^9$  Unidades formadoras de colonias (CFU) / mL Las placas de agar se inocularon con un hisopo con la suspensión bacteriana, se dejó secar unos minutos antes de colocar la tira plástica de E test , la cuarta placa se dejó como control de crecimiento, las placas se incubaron a 37 °C por 72 h bajo condiciones microaerofílicas (5% O<sub>2</sub> , 10 % CO<sub>2</sub> , 85 % N<sub>2</sub>). Los resultados de E test se interpretó de acuerdo al punto de intersección de la inhibición del crecimiento y la escala de Concentración Inhibitoria Mínima (MIC) señalada en la tira. De acuerdo al MIC obtenido se clasificaron como sensibles (S) y resistente (R). <sup>(54)</sup> Tabla No. 6.

El crecimiento de la cuarta placa se suspendió en caldo Brucella con glicerol al 15% y se congeló a -70 ° C en crotubos los cuales se marcaron con el número de muestra. <sup>(54)</sup>

ANTIBIOTICO	SUSCEPTIBLE	RESISTENTE
Metronidazol	≤ 16 µg / mL	> 32 µg / mL
Claritromicina	≤ 2 µg / mL	> 8 µg / mL
Amoxicilina	≤ 1 µg / mL	> 4 µg / mL

**Tabla No.6** Clasificación de cepas susceptibles y resistentes. <sup>(54)</sup>

**SEROLOGIA:** Las muestras de sangre se centrifugaron a 2500 rpm por 10 min. se separó el suero y se guardó a -20 °C hasta su uso. Las técnicas que se realizaron son las siguientes: <sup>(55)</sup>

#### **ELISA PARA Ab IgG CONTRA EXTRACTO TOTAL DE *H.pylori* EN SUERO**

##### ● Acoplamiento del antígeno.

Se adicionaron 50 µL de antígeno concentrado (1 mg/mL ) en 10 mL de buffer de carbonatos pH 9.6 y se agito con vortex. De esta solución se adicionaron 100 µL a cada pozo de la placa, de esta manera cada pozo tendría una concentración de antígeno de 0.5 µg / pozo. Se incubó a temperatura ambiente.

##### ● Bloqueo de uniones inespecificas.

Se descartó el sobrenadante de las placas y se adicionaron 200 µL de buffer salino de fosfatos con timerosal, tween 20 y gelatina 0.1 % (PBSTTG) a cada pozo. Se incubó a 37 °C durante 3 horas.

● Unión de anticuerpo primario.

Se descartó el sobrenadante de las placas y se lavaron 3 veces con Buffer salino de fosfatos con timerosal, tween 20 (PBSTT). Las diluciones se prepararon de la siguiente manera: en una placa de microdilución se adicionó en las hileras A,C,E y G, 99  $\mu$ l de Buffer salino de fosfatos con timerosal, tween 20, gelatina 0.1 % y gamma globulina 0.5 % (PBSTGG).

Los sueros se agitaron en vórtex y se adicionaron 1  $\mu$ L en el pozo respectivo obteniendo de esta manera una dilución 1:100. Se mezcló la placa y se adicionaron 10  $\mu$ L de esta dilución por duplicado a la placa sensibilizada ya lavada y 90  $\mu$ L de PBSTGG obteniéndose así una dilución 1:10, la dilución final fue de 1:1000, se incubó a 37 °C 1 hora.

● Unión de anticuerpo secundario.

Se descartó el sobrenadante de las placas y se lavaron 3 veces con PBSTT. Se adicionó a cada pozo de la placa 100 $\mu$ L de una dilución 1:1000 de conjugado anti-IgG acoplado a fosfatasa alcalina, 10  $\mu$ L de conjugado en 10 mL de PBSTT con gamma globulina, albumina 1% (PBSTTGB) para una placa, se incubó a 37 °C 1 hora.

● Desarrollo de color.

Se descartó el sobrenadante de las placas y se lavaron 3 veces con PBSTT, y se adicionaron 100 $\mu$ L de sustrato recientemente preparado, 2 pastillas de 5mg de para-nitrofenilfosfato (p-NPP) en 10 mL de buffer de dietanolamina pH 9.8 para una placa. Se incubó a temperatura ambiente por 30 min. y se leyó a 405 nm en lector de ELISA.

**ELISA PARA ANTICUERPO IgG CONTRA UREASA.**

● Acoplamiento del antígeno.

Se diluyó el antígeno con el amortiguador de carbonatos a 0.5  $\mu$ g / pozo, y se adicionaron 100  $\mu$ L de la dilución a cada pozo de la microplaca, y se incubó toda la noche a 4 °C.

● Bloqueo de uniones inespecíficas.

Después de la incubación se lavó 4 veces la microplaca con PBSTT, se adicionó a cada pozo 200  $\mu$ L de PBSTT + leche descremada al 2.5% . y se incubó 1 hora a 37 °C .

● Unión de anticuerpo primario.

Después de la incubación se lavó 4 veces la microplaca con PBSTT, se adicionaron 100  $\mu$ L del suero humano diluido 1:400 en PBST + leche descremada al 2.5 % ,para IgG , y se incubó por 1 hora a 37°C .

● Unión de anticuerpo secundario.

Después de la incubación se lavó 3 veces la microplaca con PBSTT, se adicionaron 100  $\mu$ L del conjugado anti IgG humano acoplado a fosfatasa alcalina a una dilución 1:1000, se incubó por 1 hora a 37 °C.

● Desarrollo de color.

Después de la incubación se lavó 3 veces la microplaca con PBSTT, se agregaron 100  $\mu$ L a cada pozo del sustrato de fosfatasa (5 mg / 5 mL de amortiguador de dietanolamina) e incubó a temperatura ambiente durante 45 - 60 min. se leyó en el lector de ELISA a 405 nm.

● Controles.

En cada microplaca se incluyó una mezcla de suero positivo en 2 pozos diferentes y una mezcla de sueros negativos también en 2 pozos diferentes.

**ELISA PARA ANTICUERPO IgA CONTRA UREASA.**

● Acoplamiento del antígeno.

Se diluyó el Ag con el amortiguador de carbonatos a 0.5  $\mu$ g / pozo, se adicionaron 100  $\mu$ L de la dilución a cada pozo de la microplaca. Se incubó toda la noche a 4 °C.

● Bloqueo de uniones inespecíficas.

Después de la incubación se lavó 4 veces la microplaca con PBSTT. Y se adicionaron a cada pozo 200  $\mu$ L de PBSTT + leche descremada al 2.5 %, se incubó 1 hora a 37 °C.

● Unión de anticuerpo primario.

Después de la incubación se lavó 4 veces la microplaca con PBSTT, se adicionaron 100  $\mu$ L del suero humano diluido 1 : 50 en PBSTT + leche descremada al 2.5 %, para IgA se incubó 1 h. a 37 °C.

● Unión de anticuerpo secundario.

Después de la incubación se lavó 3 veces la microplaca con PBSTT, se adicionaron 100  $\mu$ L del conjugado anti IgA humano acoplado a fosfatasa alcalina, a una dilución 1 : 1000, se incubó 1 h. a 37 °C.

●Desarrollo de color.

Después de la incubación se lavó 3 veces la microplaca con PBSTT. Se agregaron 100  $\mu$ L a cada pozo del sustrato de fosfatasa (5mg / 5 mL de amortiguador de dietanolamina). Se incubó a temperatura ambiente durante 45 - 60 min. Se leyó en lector de ELISA a 405 nm.

●Controles.

En cada microplaca se incluyó una mezcla de sueros positivos en 2 pozos diferentes y una mezcla de sueros negativos en 2 pozos diferentes.

**ELISA PARA ANTICUERPO IgG CONTRA Cag A.**

●Acoplamiento del antígeno.

Se diluyó el Ag con el amortiguador de carbonatos a 0,1  $\mu$ g / pozo, se adicionaron 100  $\mu$ L de la dilución a cada pozo de la microplaca, se incubó toda la noche a 4 °C.

●Bloqueo de uniones inespecíficas.

Después de la incubación se lavó 4 veces la microplaca con PBSTT, y se adicionaron a cada pozo 200  $\mu$ L de PBSTT +leche descremada al 2.5 % y se incubó 1 h. a 37 ° C.

●Unión de anticuerpo primario.

Después de la incubación se lavó 4 veces la microplaca con PBSTT, se adicionaron 100  $\mu$ L del suero humano diluido 1 : 200 en PBSTT + leche descremada al 2.5 % , para IgG,se incubó 1 h. a 37 °C.

●Unión de anticuerpo secundario.

Después de la incubación se lavó 3 veces la microplaca con PBSTT, se adicionaron 100  $\mu$ L del conjugado anti IgG humano acoplado a fosfatasa alcalina, a una dilución 1 : 1000, se incubó 1 h. a 37 ° C.

●Desarrollo de color.

Después de la incubación se lavó 3 veces la microplaca con PBSTT, y se adicionaron 100  $\mu$ L a cada pozo del sustrato de fosfatasa alcalina (5 mg / 5 mL de amortiguador de dietanolamina) se incubó a temperatura ambiente durante 45 - 60 min. Se leyó en lector de ELISA a 405 nm. Se utilizaron 2 controles positivos y 2 controles negativos por cada placa.

**NOTA:** Para IgA la dilución del antígeno fue de 0.5  $\mu$ g / pozo

### ● DISEÑO ESTADISTICO:

Para describir las diferentes características de las muestras como las edades, sexo de los pacientes, cultivos positivos, y su serología, se usaron medidas de tendencia central y para la comparación de los porcentajes se efectuó mediante la Chi cuadrada ( $\chi^2$ ).

A	B	A+B
C	D	C+D
A+C	B+D	n

$$\chi^2 = \frac{n(AD - BC)^2}{(A+C)(B+D)(A+B)(C+D)}$$

P = TABLAS O COMPUTADORA

A = Verdadero positivo

B = Falso positivo

C = Verdadero negativo

D = Falso positivo

n = Total

$$\text{SENSIBILIDAD} = \frac{A}{A+C}$$

$$\text{ESPECIFICIDAD} = \frac{D}{B+D}$$

## ✦ RESULTADOS:

Durante el periodo de estudio se registraron 74 pacientes adultos con úlcera gástrica (23 mujeres y 51 hombres) mostrado en la figura No 1, de 18 a 83 años de edad con una media de  $49 \pm 30$  años, también se registraron 74 pacientes pediátricos con dolor abdominal crónico recurrente (DAR) (47 mujeres y 27 hombres) mostrado en la figura No 1 de 3 a 17 años de edad con una media de  $10 \pm 7$  años, los cuales acudieron al Hospital de Pediatría y de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS por presentar síntomas de estas enfermedades ácido pépticas como es el dolor epigástrico quemante o corrosivo después de 2 a 3 h de la comida, con menor frecuencia náuseas y vómito

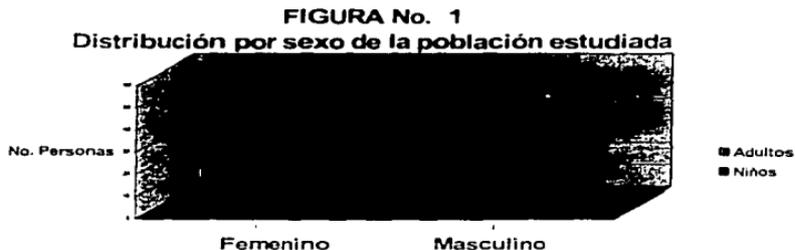
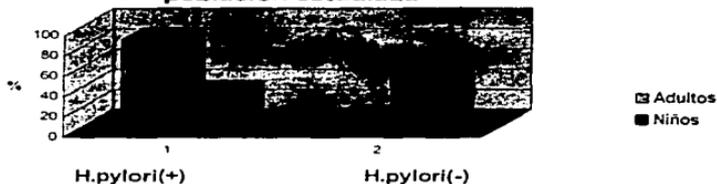


Figura No. 1 Se estudiaron 74 pacientes adultos con úlcera gástrica de los cuales fueron 23 mujeres y 51 hombres y 74 pacientes pediátricos con DAR siendo 47 mujeres y 27 hombres.

Cuando los pacientes aceptaron entrar al estudio se les realizó una endoscopia y se tomaron biopsias de antro y cuerpo gástrico para la realización de pruebas microbiológicas como el cultivo de las biopsias para la obtención de las cepas de *H.pylori* con lo cual se obtiene la frecuencia de aislamiento en la población la cual fue de  $65 / 74$  (87 %) en adultos con úlcera gástrica y de  $27 / 74$  (36.84 %) en niños con DAR mostrado en la figura No. 2

**FIGURA No. 2**  
**Frecuencia de aislamiento de H.pylori en la**  
**población estudiada**

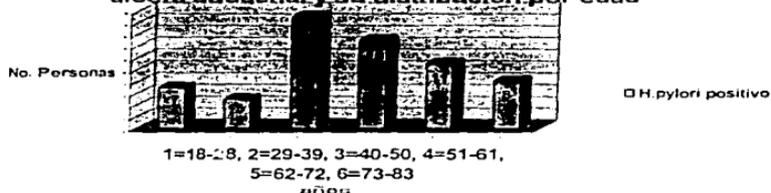


**Figura No. 2** Frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en toda la población observando un (87.83 %) en adultos con úlcera gástrica y un (36.48 %) en niños con D.A.R.

Una vez que observamos la frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en adultos y niños, se realizó una correlación con la edad de los pacientes, de lo cual observamos en la figura No. 3 una menor frecuencia de aislamiento a la edad de 29 a 39 años, aumentando hasta la edad de 40 a 50 años y disminuye a la edad de 73 a 83 años esto puede ser causado por que no todas las muestras tienen la misma concentración del microorganismo y no se desarrolla en gran cantidad ya que requiere de condiciones microaerofílicas para su desarrollo, lo cual dificulta su recuperación.

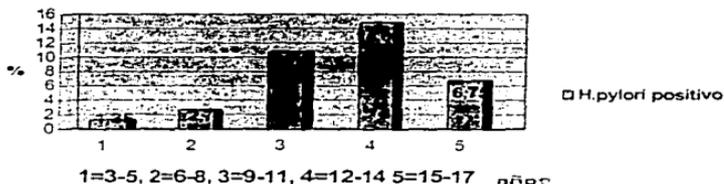
En la figura No. 4, en niños observamos una menor frecuencia de aislamiento a la edad de 3 a 5 años, y aumenta gradualmente con la edad hasta los 12 a 14 años y a los 15 a 17 años se observa una disminución, lo cual puede ser explicado por que las biopsias no contengan la cantidad suficiente del microorganismo para que se desarrolle.

**FIGURA No. 3**  
**Frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en adultos con**  
**úlcera duodenal y su distribución por edad**



**Figura No. 3** Frecuencia de aislamiento de *H.pylori* con respecto a la edad en adultos con úlcera gástrica observando una menor frecuencia a la edad de 29 a 39 años y una máxima a la edad de 40 a 50 años

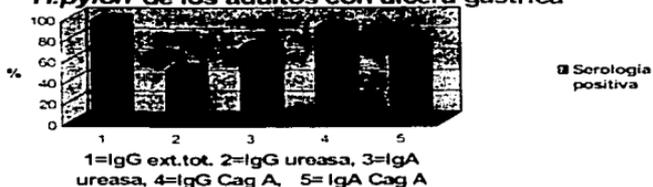
**FIGURA No. 4**  
**Frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en niños con**  
**DAR y su distribución por edad**



**Figura No. 4** Frecuencia de aislamiento de *H.pylori* con respecto a la edad en niños con DAR, observando una menor frecuencia a la edad de 3 a 5 años y una mayor frecuencia a la edad de 12 a 14 años.

Posteriormente las muestras sanguíneas de todos los pacientes se centrifugaron a 2 500 rpm/10 min, para decantar los sueros a tubos ependorfi, a los cuales se les determinó la presencia de los anticuerpos (Ab) IgG e IgA contra *H.pylori* por la técnica de ELISA, en donde se observó que en adultos se presenta una frecuencia mayor de Ab IgG vs extracto total ya que en este extracto se encuentran todos los Ag de *H.pylori*, seguido del Ab IgG vs Cag A siendo este Ab el que nos indica si las cepas son patógenas o no con lo que nos damos cuenta que la mayoría de las cepas obtenidas son patógenas, como se muestra en la figura No 5

**FIGURA No. 5**  
**Frecuencia de IgG e IgA a los diferentes Ag de**  
***H.pylori* de los adultos con úlcera gástrica**

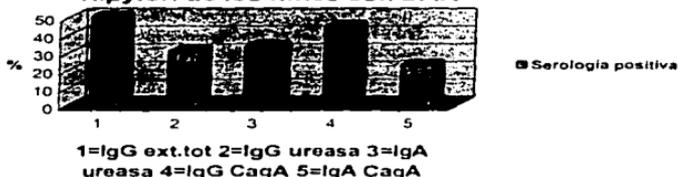


**Figura No. 5** Seroprevalencia de Ab IgG e IgA a los diferentes antígenos de *H.pylori* en adultos con úlcera gástrica, observándose una menor frecuencia al Ab IgG vs ureasa y una mayor al Ab IgG extracto total.

Observándose resultados similares en los sueros de los niños comparados con los adultos, pero en menor frecuencia como para el Ab IgG vs extracto total fue el de mayor frecuencia ya que en este Ag se encuentran incluidos todos los Ag de *H.pylori*, por que los niños no tienen úlcera gástrica por lo cual se puede explicar la frecuencia menor comparada con los adultos, mostrado en la figura No. 6

Teniendo la frecuencia de los Ab IgG e IgA vs los Ag de *H.pylori* se procedió a correlacionar con la edad de los pacientes, para darnos cuenta si nuestra población se comporta como en otros países en donde aumenta gradualmente con la edad, observando que en los adultos con úlcera gástrica el Ab IgG vs Cag A aumenta gradualmente con la edad y el Ab IgA vs Cag A se observa una mayor frecuencia a la edad de 18 a 32 años en comparación con los de 23 a 47 años, y en las demás edades aumenta gradualmente con la edad, como se muestra en la tabla No. 7

**FIGURA No. 6**  
**Frecuencia de IgG e IgA a los diferentes Ag de**  
**H. pylori de los niños con DAR**



**Figura No. 6** Seroprevalencia de los Ab IgG e IgA a los diferentes Ag de *H. pylori* en niños con DAR, observando una menor frecuencia al Ab IgA vs Cag A y una mayor frecuencia al Ab IgG extracto total.

**TABLA No. 7**

FRECUENCIA DE LOS Ab IgG e IgA CONTRA EL ANTIGENO Cag A DE <i>Helicobacter pylori</i>				
EN ADULTOS CON ÚLCERA GÁSTRICA				
EDAD (años)	IgG (%)	IgA (%)	TOTAL (personas)	
18 a 32	9 (90.00)	5 (50.00)	10	
33 a 47	23 (95.83)	3 (12.5)	24	
48 a 62	19 (90.47)	4 (19.04)	21	
63 a 77	15 (88.23)	2 (7.67)	17	
78 a mayores	2 (100.00)	2 (100.00)	2	
TOTAL (personas)	57 (90.54)	48 (64.86)	74	

**Tabla No. 7** Relación de la seroprevalencia de los Ab IgG e IgA vs Cag A de *H. pylori* con la edad de los adultos con úlcera gástrica, observando que aumenta gradualmente con la edad excepto con el Ab IgA a la edad de 18 a 32 años.

Para los Ab IgG e IgA vs ureasa se observa que el Ab IgA aumenta gradualmente con la edad hasta un (100 %) a la edad de 63 años en adelante para el Ab IgG es mayor a la edad de 18 a 32 años que a la edad de 33 a 47 años y en adelante aumenta gradualmente con la edad, como se indica en la tabla No. 8

TABLA No. 8

FRECUENCIA DE LOS Ab IgG e IgA CONTRA EL ANTIGENO UREASA DE <i>Helicobacter pylori</i> EN ADULTOS CON ULCERA GASTRICA			
EDAD (años)	IgA (%)	IgG (%)	TOTAL (personas)
18 a 32	5 (50.00)	5 (50.00)	10
33 a 47	18 (75.00)	10 (41.66)	24
48 a 62	15 (71.42)	11 (52.38)	21
63 a 77	17 (100.00)	9 (52.94)	17
78 y mayores	2 (100.00)	2 (100.00)	2
TOTAL (personas)	52(72.9)	37 (50.00)	74

**Tabla No. 8** Relación de la seroprevalencia de los Ab IgG e IgA vs el Ag ureasa de *H. pylori* con la edad de los adultos con úlcera gástrica en donde se observa que aumenta con la edad.

Para el Ab IgG vs extracto total se observa que a la edad de 18 a 32 años un (80%) y aumenta hasta un (100%) a las demás edades hasta los 78 a años en adelante ya que en esta extracto se encuentran incluidos todos los Ag de *H. pylori*, como se muestra en la tabla No. 9

TABLA No. 9

FRECUENCIA DEL Ab IgG CONTRA EL ANTIGENO EXTRACTO CELULAR TOTAL DE <i>Helicobacter pylori</i> EN ADULTOS CON ULCERA GASTRICA		
EDAD (años)	IgG (%)	TOTAL (personas)
18 a 32	8(80.00)	10
33 a 47	24 (100.00)	24
48 a 62	21 (100.00)	21
63 a 77	17 (100.00)	17
78 a mayores	2 (100.00)	2
TOTAL (personas)	72 (97.29)	74

**Tabla No. 9** Relación de la seroprevalencia del Ab IgG vs extracto total, en adultos con úlcera gástrica observando que casi en todas las edades se observó un (100 %).

En los niños con DAR se observa que los Ab IgG e IgA vs el Ag Cag A de *H. pylori* no se observa el aumento gradual con la edad, lo cual nos indica que algunas de las cepas son patógenas a algunas edades, como se muestra en la tabla No. 10

TABLA No. 10

FRECUENCIA DE LOS Ab IgG e IgA CONTRA EL ANTIGENO Cag A DE <i>Helicobacter pylori</i> EN NIÑOS CON DOLOR ABDOMINAL CRONICO RECURRENTE			
EDAD (años)	IgG (%)	IgA (%)	TOTAL (personas)
3 a 5	5 (33.33)	2 (13.33)	15
6 a 8	4 (28.57)	2 (14.28)	14
9 a 11	6 (31.57)	4 (21.05)	19
12 a 14	13 (76.47)	7 (41.17)	17
15 a 17	5 (55.55)	2 (22.22)	9
TOTAL	33 (44.59)	17 (22.97)	74

**Tabla No. 10** Relación de la seroprevalencia de los Ab IgG e IgA vs el Ag Cag A de *H.pylori* en niños con DAR, en donde no se observó un aumento gradual con la edad para en Ab IgG y si se observó este aumento para IgA hasta la edad de 12 a 14 años.

Para los Ab IgG e IgA vs ureasa de *H.pylori* en niños con DAR, se observó que para los Ab IgG e IgA aumentan gradualmente con la edad como se observa en otros países, como se muestra en la tabla No. 11

TABLA No. 11

FRECUENCIA DE LOS Ab IgG E IgA CONTRA EL ANTIGENO UREASA DE <i>Helicobacter pylori</i> EN NIÑOS CON DOLOR ABDOMINAL CRONICO RECURRENTE			
EDAD (años)	IgG (%)	IgA (%)	TOTAL (personas)
3 a 5	4 (26.66)	3 (20.00)	15
6 a 8	0	3 (21.42)	14
9 a 11	7 (36.84)	7 (36.84)	19
12 a 14	7 (41.17)	8 (47.05)	17
15 a 17	5 (55.55)	4 (44.44)	9
TOTAL	23 (31.08)	25 (33.78)	74

**Tabla No. 11** Relación de la seroprevalencia de los Ab IgG e IgA vs el Ag ureasa en niños observando un aumento gradual con la edad.

Para el Ab IgG vs extracto total de *H.pylori* en niños con DAR, se observa que a la edad de 3 a 5 años es mayor que a la de 6 a 8 años y en adelante aumenta gradualmente con la edad hasta un (66.66%) siendo la mayor frecuencia de todos los Ab contra los Ag de *H.pylori* ya

que en este se encuentran incluidos todos los Ag de *H. pylori* , como se muestra en la tabla No. 12

**TABLA No. 12**

FRECUENCIA DEL Ac IgG CONTRA EL ANTIGENO EXTRACTO CELULAR TOTAL DE <i>Helicobacter pylori</i> EN NIÑOS CON DOLOR ABDOMINAL CRÓNICO RECURRENTE		
EDAD (años)	IgG (%)	TOTAL (personas)
3 a 5	7 (46.66)	15
6 a 8	5 (35.71)	14
9 a 11	10 (52.63)	19
12 a 14	9 (52.94)	17
15 a 17	6 (66.66)	9
TOTAL	37 (50.00)	74

**Tabla No. 12** Relación de la seroprevalencia del Ab IgG vs extracto total en niños con DAR, observando un aumento gradual con la edad.

Después procedimos a realizar los antibiogramas para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas de *H. pylori* tanto de adultos como de niños, usando agar sangre sin antibiótico y una tira plástica de E-test la cual contienen un gradiente de concentraciones de los antimicrobianos, usamos una tira por caja, los antimicrobianos usados fueron metronidazol, amoxicilina y claritromicina ya que estos son usados en el tratamiento de estas enfermedades ácido pépticas y así elegir los antimicrobianos adecuados para cada paciente y asegurar una erradicación, de los cual observamos que en los adultos con úlcera gástrica se observa una resistencia al metronidazol en un (72.40%); a claritromicina un (13.79%) y en los niños con DAR se observó una resistencia mayor que en los adultos al metronidazol el cual fue del (100%) y para claritromicina un (42.85%) mientras que en adultos y niños no se observó resistencia alguna a la amoxicilina, la cual debe ser usada en todos los tratamientos de estas enfermedades, datos mostrados en las tablas No. 13 y 14.

TABLA No. 13

SUSCEPTIBILIDAD DE <i>Helicobacter pylori</i> AISLADO DE ADULTOS CON ULCERA GASTRICA A TRES ANTIMICROBIANOS			
ANTIMICROBIANO	RESISTENCIA (%)	SENSIBILIDAD (%)	TOTAL (cepas)
METRONIDAZOL	42 (72.40)	16 (27.58)	58
CLARITROMICINA	8 (13.79)	50 (86.20)	58
AMOXICILINA	0	58 (100.00)	58

TABLA No. 14

SUSCEPTIBILIDAD DE <i>Helicobacter pylori</i> DE NIÑOS CON DOLOR ABDOMINAL CRONICO RECURRENTE A TRES ANTIMICROBIANOS			
ANTIMICROBIANO	RESISTENCIA (%)	SENSIBILIDAD (%)	TOTAL (cepas)
METRONIDAZOL	7 (100.00)	0	7
CLARITROMICINA	3 (42.85)	4 (57.14)	7
AMOXICILINA	0	7 (100.00)	7

Tanto en la tabla No. 13 y 14 no se observa alguna cepa resistente a amoxicilina la cual debe ser de gran uso para el tratamiento de estas enfermedades ácido pépticas.

## ● DISCUSION DE RESULTADOS

Con nuestro estudio se muestra que la posibilidad de adquirir las infecciones por *H.pylori* ocurren a temprana edad y aumentan gradualmente con la edad. Obteniéndose un (36.48%) de frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en niños con DAR y un (87.83 %) en los adultos con úlcera gástrica ( $X^2 = 41.48$  y una  $P < 0.001$ ), toda la población fue diagnosticada por endoscopia, toma de biopsias y métodos microbiológicos como la prueba de la ureasa, la catalasa, la oxidasa las cuales deben ser positivas y la tinción de Gram.

Se observa que hay una mayor frecuencia de aislamiento de *H.pylori* en los países en vías de desarrollo que en los países desarrollados, lo cual es una explicación lógica de porque encontramos un mayor porcentaje de frecuencia de aislamiento en nuestro estudio, porque la ciudad de México es un país en vías de desarrollo.

La frecuencia de aislamiento de *H.pylori* es similar a la de otros estudios realizados en niños y adultos como lo reportan:

*Mones y cols.*, en Barcelona reportaron que las personas de 1 a 20 años de edad tenían una frecuencia de aislamiento de *H.pylori* de un (20 %) y las personas de 40 años o mayores su frecuencia fue de un (80 %). En la India las personas de 1 a 20 años de edad tenían una frecuencia de un (60 %) y las personas de 20 años en adelante presentaron una frecuencia de un (80 %).<sup>(4)</sup>

En otro estudio *Bourkeb y cols.*, en el Oeste de Australia reportaron que para personas de 25 a 34 años de edad su frecuencia de aislamiento de *H.pylori* fue de (35 %) y a la edad de 55 a 64 años su frecuencia fue de (62 %).<sup>(22)</sup>

Otro estudio de *Hassall y cols.*, reportaron que los niños de la India menores de 18 años teniendo una frecuencia de aislamiento de *H.pylori* de (85 %) y los niños caucásicos menores de 18 años tienen una frecuencia de aislamiento de *H.pylori* de (15 %) y con menores negros.<sup>(28)</sup>

Con respecto a la prueba serológica (ELISA) de los diferentes antígenos de *H.pylori*, la presencia de los anticuerpos (Ab) específicos para *H.pylori* muestran una correlación con la presencia de las infecciones tanto en niños como en adultos. Por lo que las técnicas serológicas son buenos métodos no invasivos para realizar el seguimiento de las infecciones de *H.pylori*.

En los adultos con úlcera gástrica el Ab con una menor seroprevalencia fue el Ab IgG contra la ureasa y con una mayor seroprevalencia el Ab IgG contra el extracto celular total, siendo el Ab IgG el que es más específico para estas infecciones, correlacionándose con la presencia de *H.pylori*, con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 80%.

En los niños con DAR el Ab con menor seroprevalencia fue el Ab IgA contra Cag A y con una mayor seroprevalencia el Ab IgG contra el Ag extracto celular total, con una sensibilidad del 80 % y una especificidad del 80 %. Observando que tanto en adultos como en niños los

Ab IgG tienen una mayor seroprevalencia ya que este Ab es de memoria por lo que se encuentra en mayor proporción y principalmente el Ab IgG vs el Ag extracto total.

Con respecto a la edad de los adultos con úlcera gástrica, se observó que a todas las edades la seroprevalencia de los Ab IgG es mayor a la de los Ab IgA en las determinaciones de los Ag de *H.pylori* como Cag A y ureasa aumentan gradualmente con la edad en algunos rangos se observa una pequeña disminución pero a la edad de 78 años en adelante es del (100 %), tanto para los Ab IgG como para los IgA, para el Ab IgG vs extracto celular total se observó un (80 %) a la edad de 18 a 32 años y a todas las demás edades un (100 %). La correlación con la edad es significativa. ( $r = 0.5$ ).

A todas las edades de los niños con DAR la seroprevalencia del Ab IgG es mayor que la del Ab IgA en las determinaciones de los diferentes Ag de *H.pylori* como en los Ag Cag A y ureasa aumentan gradualmente con la edad y para el Ab IgG vs Extracto celular total se observa una seroprevalencia mayor a todas las edades en comparación con los otros Ag hasta un (66 %), pero esta seroprevalencia es menor en comparación con la seroprevalencia de los adultos con úlcera gástrica. Esto puede deberse a las actividades que desempeñan los adultos, ya que tienen un nivel de vida con mayores presiones que los niños, tanto en sus hogares como en sus trabajos en la ciudad de México, se pudiera deber también a otros factores como son el ingerir bebidas alcohólicas, tabaco y el uso de ácido acetilsalicílico, lo cual no ocurre en los niños, otra posible explicación es que nuestro estudio se realizó en la ciudad de México que está en vías de desarrollo.

La seroprevalencia de las infecciones por *H.pylori* en nuestro estudio es similar a otros estudios realizados en otros países tanto en niños como adultos:

*Goto K. y cols.* en Hiroshima que es la excepción de los países desarrollados, reportaron que a la edad de 0 a 10 años tenían una seroprevalencia de un 6 %, de 11 a 20 años un 14 % de 21 a 30 años un 31 % de 31 a 40 años un 61 % y mayores de 50 años un 80 %, por medio de la técnica serológica ELISA para medir Ab IgG. <sup>(18)</sup>

*Crabtree y cols.* en el norte de Europa reportaron que para 2 839 personas se observó una frecuencia de aislamiento de *H.pylori* de un 49.59 % y una seroprevalencia a la edad de 25 a 34 años de un 48 % y de 55 a 64 años de un 50 %. <sup>(19)</sup>

Con respecto a las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas de *H.pylori* aisladas de adultos con úlcera gástrica a los tres diferentes antimicrobianos usados se encontró que un (72.40 %) de las cepas son resistentes al metronidazol, un (13.8 %) de las cepas son resistentes a clantromicina y ninguna cepa fue resistente a la amoxicilina. De las cepas de *H.pylori* aisladas de niños con DAR a los tres antimicrobianos usados fue (100 %) de las cepas son resistentes al metronidazol, un (42.85 %) de las cepas son resistentes a la clantromicina y ninguna cepa fue resistente a la amoxicilina, de igual manera que con los adultos con una ( $X^2 = 65.84$  y una  $P < 0.001$ ).

Lo cual concuerda con lo reportado por otros autores como :

*Pérez Trallero* en España quien reportó que de 425 cepas de *H.pylori* provenientes de 386 adultos con úlcera y de 39 niños dispepticos, se determinó la resistencia antimicrobiana por el método de E-test obteniendo los resultados siguientes :

Antimicrobiano	ADULTOS	NINOS	TOTAL
Clantromicina	6.8 %	9.5 %	7.1 %
Metronidazol	48.4 %	66.7 %	50.1 %
Amoxicilina	0 %	0 %	0 %

De donde observó mayor resistencia en niños que en adultos para clantromicina y metronidazol y no encontro resistencia a la amoxicilina, lo cual nos indica que la amoxicilina es un antimicrobiano importante en el tratamiento de estas enfermedades ácido pépticas.

● **CONCLUSIONES:**

- 1) *H. pylori* es la causa más común de las infecciones gastrointestinales humanas, como la úlcera gástrica, gastritis etc.
- 2) La frecuencia para adquirir las infecciones de *H. pylori* es mayor en los adultos que en los niños.
- 3) La seroprevalencia tiene una correlación significativa con la edad, de tal forma que la seroprevalencia es menor en niños y aumenta gradualmente con la edad.
- 4) El antígeno de *H. pylori* extracto celular total tienen una mayor seroprevalencia tanto en niños como en adultos ya que en este extracto se encuentran incluidos todos los antígenos de *H. pylori*.
- 5) La resistencia de las cepas de *H. pylori* es mayor en las cepas aisladas de niños con DAR que las aisladas de adultos con úlcera gástrica y no se observó ninguna cepa resistente a la amoxicilina. Por lo cual este antimicrobiano es de buena elección para uso en la terapia de estas enfermedades ácido pépticas.
- 6) Nuestro estudio muestra la alta prevalencia de estas infecciones por *H. pylori* en la población estudiada, por lo que se sugiere que se continúe el desarrollo de estos estudios para la obtención de más datos informativos sobre estas infecciones en nuestro país, ya que hay muy pocos estudios epidemiológicos realizados en México, ya que la gran mayoría de los estudios se realiza en otros países.

**● APENDICE:****● MEDIOS DE CULTIVO:****● GELOSA CHOCOLATE:**

Base de agar gelosa chocolate (bioxon).....	36g.
Hemoglobina.....	5g.
Poliennquecimiento.....	10 mL

En un matraz de 2 litros disolver la base de agar con 500 mL de agua desionizada más 50 mL de excedente.

En un matraz de 1 litro disolver la hemoglobina con 500 mL de agua desionizada fría más 50 mL de excedente. En caso de que queden grumos se filtra a otro matraz usando una gasa.

Esterilizar durante 15 min a 121° C y 15 lb. Enfrar ambas soluciones a 40 – 45 ° C, a la base añadir la hemoglobina y poliennquecimiento, mezclar bien y distribuir en las placas dentro de una campana de flujo laminar y luz UV para evitar el agua de condensación, guardar las cajas en bolsas de plástico bien cerradas y etiquetadas en el cuarto frío.

**● GELOSA CHOCOLATE CON ANTIBIOTICO.**

Base de agar gelosa chocolate (bioxon).....	36g.
Hemoglobina.....	5g.
Poliennquecimiento.....	10 mL

En un matraz de 2 litros disolver la base de agar con 500 mL de agua desionizada más 50 mL de excedente.

En un matraz de 1 litro disolver la hemoglobina con 500 mL de agua desionizada fría más 50 mL de excedente. En caso de que queden grumos se filtra a otro matraz usando una gasa.

Esterilizar durante 15 min a 121° C y 15 lb. Enfrar ambas soluciones a 40 – 45 ° C, a la base se le añade la hemoglobina, el poliennquesimiento y una mezcla de 10 mg de ácido nalidixico, 5 mg de trimetoprim, 3 mg de vancomicina, 2 mg de anfotericina B en un mL de agua, mezclar bien y distribuir en las placas dentro de una campana de flujo laminar, mantener las cajas abiertas durante 15 min en la campana de flujo laminar y luz UV para evitar el agua de condensación, guardar las cajas en bolsas de plástico bien cerradas en el cuarto frío.

## ● AGAR GELOSA SANGRE:

Base de agar sangre.....	40 g.
Agua desionizada.....	1000mL
Sangre de camero.....	50 MI

Disolver la base en un matraz de 2 litros con 1000 mL más 55 mL de excedente de agua, esterilizar durante 15 min a 121 °C y 15 lb, enfriar de 40 a 45 °C, añadir la sangre, mezclar y distribuirla en las placas dentro de una campana de flujo laminar, mantener las cajas abiertas durante 15 min con luz UV para evitar el agua de condensación, guardar las cajas en bolsas de plástico bien cerradas y etiquetadas en el cuarto frío.

## ● AGAR GELOSA SANGRE CON ANTIBIOTICO:

Base de agar sangre.....	40 g.
Agua desionizada.....	1000mL
Sangre de camero.....	50 mL

Disolver la base en un matraz de 2 litros con 1000 mL más 55 mL de excedente de agua, esterilizar durante 15 min a 121 °C y 15 lb, enfriar de 40 a 45 °C, añadir la sangre, y una mezcla de 10 mg de ácido nalidixico, 5 mg de trimetoprim, 3 mg de vancomicina, 2 mg de anfotericina B en un mL de agua mezclar y distribuirla en las placas dentro de una campana de flujo laminar, mantener las cajas abiertas durante 15 min con luz UV para evitar el agua de condensación, guardar las cajas en bolsas de plástico bien cerradas y etiquetadas en el cuarto frío.

## ● CALDO BRUCELLA:

Base de caldo brucella.....	2.8 g.
Agua desionizada.....	100 mL

Disolver completamente y esterilizar por 15 min a 121 °C y 15 lb.

● CALDO BRUCELLA CON GLICEROL:

Base de caldo brucella.....2.8 g.  
Agua desionizada.....85 mL  
Glicerol.....15 mL

Disolver completamente, adicionar los 15 mL de glicerol y esterilizar por 15 min a 121 °C y 15 lb.

● REACTIVOS:

● PRUEBA DE UREASA PARA *H.pylori* :

Urea.....0.03 g.  
D-PBS al 1X.....50 mL  
(Dulbecco's phosphate buffered saline)  
Rojo de fenol 1 %.....0.1 mL

Disolver la urea en D-PBS y filtrar con membrana de 0.22  $\mu$  a un matraz estéril y adicionar el rojo de fenol al 1 % en condiciones de esterilidad.

● SOLUCION SALINA:

NaCl.....0.9 g.  
Agua desionizada.....100 mL

Disolver completamente y esterilizar por 15 min a 121 °C y 15 lb.

● BUFFER DE CARBONATOS:

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.....1.59 g.  
NaHCO<sub>3</sub>.....2.93 g.  
NaN<sub>3</sub>.....0.20 g.  
Agua desionizada.....1 l.

Disolver completamente en un vaso de precipitado , guardarla en un frasco oscuro en el cuarto frío.

● **BUFFER DE FOSFATOS (PBS):**

- A)  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ .....30 g en 500 mL de agua desionizada.  
B)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ...53.5 g en 500 mL de agua desionizada.

Mezclar 60 mL de A con 200 mL de B para obtener un pH de 7.3

● **BUFFER SALINO DE FOSFATOS CON TIMEROSAL Y TWEEN 20 (PBSTT):**

NaCl.....	165.7 g.
Timerosal.....	2 g.
Tween 20.....	10 mL
PBS.....	400 mL
Agua desionizada.....	19590 mL

Disolver completamente en un vaso de precipitado y guardar en el cuarto frío.

● **PBSTT CON GELATINA 0.1 % (PBSTTG):**

PBSTT.....	10 l.
Gelatina.....	1 g.

Calentar el PBSTT a baño de agua a 60 °C adicionar la gelatina agitando con cuidado para que se disuelva durante 30 min. guardar en frascos oscuros en el cuarto frío.

● **PBSTTG CON GAMMAGLOBULINA 0.5% (PBSTTGG):**

PBSTT.....	10 l.
Gelatina.....	1 g.
Gammaglobulina bovina.....	5 g.

Calentar el PBSTT a baño de agua a 60 °C adicionar la gelatina agitando con cuidado para que se disuelva durante 30 min, enfriar la solución y se adiciona la gammaglobulina, se guarda en frascos oscuros en el cuarto frío.

● **PBSTT GAMMA GLOBULINNA 0.1 % CON ALBUMINA 1 % (PBSTTGB):**

PBSTT.....1000 mL  
Gammaglobulina bovina.....5 g.  
Albúmina sérica bovina.....1 g.

Al PBSTT se le adiciona la gammaglobulina y la albúminase agita con cuidado para que se disuelva durante 30 min, se guarda en frascos oscuros en el cuarto frío.

● **SOLUCION DE ETANOL:**

Etanol.....70 mL  
Agua destilada.....30 mL

Mezclar el etanol con el agua se etiqueta y se guarda.

● **SOLUCION DESINFECTANTE:**

Sanitizing agent germicide-algicide-deodorizer (ROCCAL) // 10 %.....30 mL  
Cloro.....15 mL  
Agua destilada.....3.8 l.

Mezclar todo, etiquetar y guardar.

**●REFERENCIAS:**

- 1) Drum B. *Helicobacter pylori*. Regular review 1990;65: 1278-1282.
- 2) Owen RJ. Bacteriology of *Helicobacter pylori*. Clinical Gastroenterology 1995; 9: 415-441.
- 3) Peterson WL. *Helicobacter pylori* y enfermedad ulcerogástrica. Infectología 1994; 14: 279-286.
- 4) Monés J, Sainz S, Sancho F, J. *Helicobacter pylori* en patología digestiva. Medicina integral 1994; 8: 435-447.
- 5) Murray PR, Berton EJ. Manual of Clinical Microbiology, 6ta edición. 1994: 492-496.
- 6) Stewart GC. *Helicobacter pylori* biology and clinical practice. Boca raton: CRC PRESS; 1993: 38-52, 286-219.
- 7) Berry V, Jennings K, Woodnutt G. Bacterial and morphological effects of amoxicillin on *Helicobacter pylori*. Antimicrobial ASD 1195; 39: 1859 - 1861.
- 8) Cover TL, Blaser JM. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer. ASM News 1995; 61: 21-25.
- 9) Lee A. Prevention of *Helicobacter pylori*. Scand J Gastroenterol 1996; 31: 11-15.
- 10) Vincent M, Ricardi, Rotter JI. Familial *Helicobacter pylori* infection societal factors, human genetics, and bacterial genetics. Ann. Inter. Med. 1994; 120: 1043-1044.
- 11) Sherman P, Leslie K, Golderg E, Macmillan J. *Helicobacter pylori* infection in adolescents with eating disorders and dyspeptic symptoms. J. Pediatr 1993; 122: 824-826.
- 12) Rintala R, Kokkonen L, Lindahl H, Sariola H. Does disordered upper gastrointestinal motility predispose to *Helicobacter pylori* colonization of the stomach in children? J. Pediatric Surgery 1994; 29: 734-737.
- 13) Banerjee S, Hawksby C, Miller S, Dahill S, Beattie AD. Effect of *Helicobacter pylori* and its eradication on gastric juice ascorbic acid. Gut 1994; 35: 317-322.
- 14) Wewer V, Chistiansen KM, Andersen LP. *Helicobacter pylori* infection in children with recurrent abdominal pain. Acta. Pediatr 1994; 83: 1276-1281.
- 15) Hopkins JR, Morris Gleen J. Baltimore. *Helicobacter pylori*: The missing link in perspective. J. Medicine 1994; 97: 265-275.
- 16) Neale KR & Logan RPH. The epidemiology and transmission of *Helicobacter pylori* infection in children. Aliment Pharmacol 1995; 9: 77-84.

- 17) Fox J G. Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. Aliment pharmacol 1995; 9: 93-103.
- 18) Tytgat GNJ. Endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. Aliment pharmacol 1995; 9: 105-110.
- 19) Granstrom M, Tindberg YL, Blennow M. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of children monitored from 6 months to 11 years of age. J.Clin.Microbiol 1997; 35: 468-470.
- 20) Abstracts of scientific presentations. IX<sup>th</sup> International Workshop on gastrogástrica pathology and *Helicobacter pylori*. GUT. 16-19 October 1996; A-5, A-31, A-39, A-47, A-48, A-81, A-89, A-90.
- 21) Salyers A, Dixie WD. Bacterial pathogenesis a molecular approach. Washington: ASM press; 1994: 273-281.
- 22) Bourke B, Jones N, Philip S: *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease in children. J. pediatric. Infect. 1996; 15: 1-13.
- 23) Moran PA, Torkel W. Bacterial pathogenic factors. Current Science 1994; 17-20.
- 24) Borén T, Per Falk. *Helicobacter pylori* binds to blood group antigens. Scientific. Am.Sci.Med 1994; 28-37.
- 25) Crabtree J.E. Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol 1996; 10: 29-37.
- 26) Harrison, Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JA, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. Principios de medicina interna. 13ava edición. Nueva York: Interamericana. Mc Graw-Hill, 1994: vol 2: 1541-1592.
- 27) Moss FS, Legon S, Davies J, Calam J. Cytokine gene expression in *Helicobacter pylori* associated antral gastritis. Gut 1994; 35: 1567-1570.
- 28) Hassall E, Dimmick JE. Unique features of *Helicobacter pylori* disease in children. Dig.Dis.Sci. 1991; 36: 417-423.
- 29) Nomura A, Grant N, Stemmermann Pérez P, Blaser J. *Helicobacter pylori* infection and the risk for gástric and gastric ulceration. Ann Intern med. 1994; 120: 977-981.
- 30) Thompson L, Cockayne A, Spiller CR. Inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on the growth of *Helicobacter pylori*: a possible explanation of the effect of diet on peptic ulceration. Gut 1994; 35: 1557-1561.
- 31) Chandrakumara K, Vaira D, Hobsley M. Gástric ulcer, *Helicobacter pylori*, and gastric secretion. Gut 1994; 35: 1033-1036.

- 32) Aguiar RG, Magalhães QM, Mendes NE, Teles CA, Oliveira RA. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children by an indirect immunofluorescence test. *J pediatr Gastroenterol and Nutrition* 1993; 16: 247-251.
- 33) Logan RPH, Gummert PA, Misiewicz JJ, Karim QN, Walker MM, Baron JH. One week anti-*Helicobacter pylori* treatment for gastric ulcer. *Gut* 1994; 35: 15-18.
- 34) Fabre R, Sobhani I, Laurent-puig P, Hedef N, Yazigi N, Vissuzaine C. Polymerase chain reaction assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens: comparison with culture, rapid urease test, and histopathological tests. *Gut* 1994; 35: 905-908.
- 35) Yang HD, Bom SH, Jod EY, cols. Gastric juice ammonia vs CLO test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig. Dis.Sci.* 1995; 40: 1083-1086.
- 36) Mobley HLT. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. *Aliment Pharmacol* 1996; 10: 29-37.
- 37) Ernst PB, Pecquet S. Interactions between *Helicobacter pylori* and the local mucosal immune system. *J. Gastroenterol* 1991; 26: 56-64.
- 38) Steve JC, Howards, Carr, Speckt TW. Diagnosis of gastritis caused by *Helicobacter pylori* in children by means of an ELISA. *RID* 1991; 13: S700-S703.
- 39) Yamamoto I, Fukuda y Mizuta T, Fukada M, Nishigami T. Serum anti-*Helicobacter pylori* antibodies and gastritis. *J. clin. Gastroenterol* 1995; 21: S164-S168.
- 40) Crabtree JE, Mahony MJ, Taylor JD, Heatley RV, Littlewood JM, Tompkins DS. Immune responses to *Helicobacter pylori* in children with recurrent abdominal pain. 1991; 768-771.
- 41) Kreuning J, Lindeman J, Biemond I, Lamers CBHW. Relation between IgG and IgA antibody titres against *Helicobacter pylori* in serum and severity of gastritis in asymptomatic subjects. *J Clin Pathol* 1994; 47: 227-231.
- 42) Cover TL, Giupczynski Y, Lage AP, Burette A, Murali KR, Pérez PG. Serologic detection of infection with CagA+ *Helicobacter pylori* strains. *J clin. Microbiol* 1995; 33: 1496-1500.
- 43) Faulde M, Cremer J, Zoller L. Humoral immune response against *Helicobacter pylori* as determined by immunoblot. *Electroforesis* 1993; 14: 945-951.
- 44) Raymond J, Kalach N, Bergeret M, Barbet JP, Benhamou PH. Evaluation of a serological test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. *J:Clin:Microbiol: Insect. Dis:* 1996; 15: 415-417.
- 45) Atherton J.C. Tham K T. Peek R M, Cover LT, Blaser MJ. Density of *Helicobacter pylori* infection in-vivo as assessed by quantitative culture and histology. *J.Infec.Dis.* 1996; 174: 552-556.

- 46) Megraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. Scand J Gastroenterol 1996; 31: 57-62.
- 47) Mendez HD. Guías terapéuticas en las enfermedades infecciosas y parasitarias. IMMS Centro Medico la Raza, 1994: 4 -9 , 64 - 67 , 89.
- 48) Labenz J, Borsch G. Evidence for the essential role of *Helicobacter pylori* in gastric ulcer disease. Gut 1994; 35: 19-22.
- 49) Logan RPH, Gummert PA, Schaufelberger HD. Eradication of *Helicobacter pylori* with clarithromycin and omeprazole. Gut 1994; 35: 323-326.
- 50) Gonzales Saldaña N. Guía de antivirales, antiparasitarios y antimicrobianos. 2<sup>o</sup> Ed. México D.F: Interamericana. 1990: 9 - 14 , 89 - 90 , 131 - 135.
- 51) Lee A & Buck F. Vaccination and mucosal responses to *Helicobacter pylori* infection. Aliment pharm. 1996; 10: 129-138.
- 52) PerezPG, Montes A , Alcorta M, Urbieta M. Resistance to metronidazole and claritromycin in *Helicobacter pylori*. ICAAC conference 1996; C 133.
- 53) Alarcon T, Domingo D, Sanchez RD. Evolution of the resistance to metronidazole and claritromycin in *Helicobacter pylori* during a five years period. ICAAC conference 1996; EO61.
- 54) Glupcznski Y, Labbe M, Hansen W, Crokaert F, Yourassowsky E. Evaluation of the E test for quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1991; 29: 3-6.
- 55) Pérez PG, Bradm M, Dworkia, Codos JE. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. Annals of internal medicine 1988; 109: 11-17.
- 56) Marquez de Cantu MJ. Probabilidad y estadística para ciencias Químico Biológicas. México D.F: Mc Graw-Hill, 1991: 174 - 216 , 288 - 289 , 326 - 348.
- 57) Fletcher H.R and Fletcher W.S. Clinical epidemiology the essentials. 2<sup>o</sup> ed. USA: Williams & Wilkins, 1988: 76—90.
- 58) Dawson-Saunders B. Trapp G.R. Bioestadística Médica. México D.F: Manual moderno, 1993: 49-66, 172-176, 189-1196.

**ESTE ESTUDIO FUE FINANCIADO POR CONACYT  
CON  
CLAVE No. 5033M9406**