



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES, IZTACALA

*DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA Helicobacter pylori EN INDIVIDUOS
CON GASTRITIS CRÓNICA.*

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I O L O G O

PRESENTA:

GALLEGOS RAMÍREZ FRANCISCO CÉSAR.

DIRECTOR DE TESIS
MONROY PEREZ ERIC



IZTACALA

Tlalnepantla, Estado de México,

2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS.

A la universidad nacional autónoma de México por darme la libertad y hacer mis logros como estudiante dentro de sus instalaciones, además de la formación profesional que recibí durante mi carrera.

Al M. en C. Eric Monroy Pérez por la experiencia el asesoramiento y dirigir esta tesis adecuadamente.

A la M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras por darme la oportunidad de pertenecer al grupo de análisis clínicos de la Cusi-Iztácala y por compartir enseñando los cursos que en su labor ofrece a los alumnos de biología.

Al Dr. Sergio Vaca Pacheco por su apoyo y participación en el desarrollo del presente trabajo de tesis.

Al M en C David Segura Cobos por su experiencia y participación dentro de este trabajo, además de sus buenas recomendaciones para el desarrollo de este trabajo.

A la Bióloga Susana Ester Gonzáles Almazán por toda la enseñanza que me ofreció dentro del laboratorio de Análisis Clínicos además de estar presente en este trabajo.

A mis compañeras de trabajo de tesis del laboratorio de Análisis Clínicos y su apoyo en este el trabajo de tesis.

A todos los profesores de la carrera de biología por haber participado en mi educación profesional.

A todos, Muchas gracias.

DEDICATORIA.

A mis padres, en especial a mi madre por todo su apoyo incondicional que me da y por darme a lo más apreciado que un hijo puede recibir además de encaminarse solo en su camino “la educación.”

Eugenia y Juan.

Con cariño y respeto, por su ejemplo y esfuerzo “gracias”.

A mi hermana Nancy y su esposo Jorge por su cariño, apoyo y confianza, además de estar siempre presente gracias.

A mis sobrinos Gersaid y Abigail por darle a mi vida alegría nueva cada día.

A toda mi familia en Gral, por su apoyo.

A mi tía Francisca Martínez Rivera, por su apoyo y confianza.

A un gran amigo, Antonio Pérez B, y toda su familia que estimo mucho, por todos esos años y la vida que nos falta por seguir.

A la Psicóloga Guadalupe Torres, por la amistad y las grandes frases que se escribieron toda una vida.

A mis amigos: "Pachuco"-Miguel, "Chepes (primo)", "Tavo", "Pollero", "Kush", "Maguas", Felipe Arguijo P, Teporingos Psicodelicos, Al pelusa, "Héctor R, Aguífi, Mario Ayala Arce, Muerto, Yukiko, Adriana, Nelly, Diana, Josseline, Cintia Guadalupe Martínez, Janina y Martín, Pancitas, Arny, El Ju, Fabián, More, Olga, Cuca, el Nanos, Bofo y demás, las Chios, Mayra de Psico, Monica, Monce, Ale, Alondra, Sonia, Lilibeth y su pandilla, Cyndi y su bebe, Al Pink- Ricardo, Seratna, Sanik é Isabel, Maribel Navarrete y Maru, Monica y su hijo jhovan, lisbeth, claudia y Neto, al Vladiponk reina, Beky Jhons, Al colectivo estudiantil Ricardo flores Magón en especial a los integrantes del Circulo de ofrenda y danza prehispánica Iztacala, a Yaneth Psico, Susana, Aldosar, Tarsan, Martincillo, Manolo, La Totis, Diana y Nestor, Ale, Samanta, Elsa y pandilla, Julieta Páez, Fany dora, Ivete, Bambam, Moy, Eunice y Lupis, Las hermanas Claudia y Nancy, a las futuras Medicas, "Emma Aurora Castro Gil" por el Ángel que lleva dentro, Irene , Denis y a todos aquellos que de alguna manera influyeron en mi carrera y mi vida personal.

Gracias a todos.

Yo soy

Yo soy el que te conoce; sabe y comprende tus reacciones, apoya y entiende tus razones, escucha paciente tus palabras, fomenta en ti la esperanza y la fortalece, nunca deja que decaigas é infunde voluntad y entusiasmo.

Yo soy quien ayuda a que logres tus sueños, celebra contigo tus triunfos y aprende de los motivos de tus fracasos, soy el que inspira confianza y seguridad a través de su mirada; te defiende ante las críticas de los demás, reconoce tus defectos pero te ayuda a modificarlos; perdona tus sin fin de errores; siempre guarda tus secretos con cautela y crea fuertes lazos de amistad.

Soy sonrisa y soporte, amigo y corazón, aunque finalmente te digo que nunca olvides que jamás vivirás sólo (a), porque siempre estaré volando sobre ti.

Francisco César Gallegos Ramírez. 2006.

Índice	Página
1. Resumen.....	7
2. Introducción.....	8
2.1. <i>Helicobacter pylori</i>	9
2.2. Epidemiología.....	10
2.3. Estómago.....	11
2.4. Morfología.....	11
2.5. Patología del estómago y tipos de gastritis.....	13
2.6. Patología de <i>H. pylori</i> y factores de virulencia.....	15
2.7. Ureasa.....	15
2.8. Factores de adherencia.....	18
2.9. Hemaglutininas.....	19
2.10. Papel de <i>vacA</i> y <i>cagA</i>	19
2.11 Transmisión de <i>Helicobacter pylori</i>	21
2.12. Métodos diagnósticos.....	23
2.13 Situación nacional en México.....	25
3. Antecedentes.....	26
4. Objetivos.....	29
5. Metodología.....	30
5.1. Detección sérica de IgG contra <i>H. pylori</i>	30
5.2. Contenido del kit.....	30
5.3. Principio de la prueba.....	32
5.4. Procedimiento de la prueba.....	34
5.6. Cuestionario clínico.....	37
6. Resultados.....	38
7. Discusión.....	44
8. Conclusiones.....	49
9. Bibliografía.....	50

Resumen.

El descubrimiento de *Helicobacter pylori* en el estómago humano por Marshall y Warren en 1983 permitió establecer que más del 50% de la población mundial se encuentra colonizada por esta bacteria. Debido a que *H. pylori* es el agente causal de úlcera péptica, duodenal y cáncer gástrico, resulta importante determinar la presencia de anticuerpos contra esta bacteria en pacientes ambulatorios con gastritis.

Objetivos: Cuantificar los niveles séricos de IgG contra *Helicobacter pylori* en personas con diagnóstico de gastritis crónica y determinar su asociación con el padecimiento.

Metodología: Se diagnosticaron como enfermos de gastritis crónica, por auscultación médica y a través de una encuesta, a 102 individuos y se les midieron los niveles séricos de IgG contra *Helicobacter pylori* por un método inmunoenzimático (EIA).

Resultados: La edad de los pacientes se encontró en el intervalo de 17 a 72 años. El 74.5% (50 mujeres y 26 hombres) presentó niveles séricos de IgG contra *H. pylori*. El 47.3% (36) de los individuos positivos presentó niveles bajos de IgG ≤ 20 U/ml, 32.8% (25) niveles medios entre 40-80 U/ml y 19.7% niveles séricos elevados (15) ≥ 120 U/ml. El 43.4% (33) de las personas seropositivas fueron estudiantes, 17.1% (13) empleados, 17.1% (13) mujeres dedicadas al hogar, 11.8% (9) profesionistas, 6.5% (5) obreros y 3.9% (3) comerciantes.

Conclusiones: Estos resultados muestran que un alto porcentaje de los pacientes poseen anticuerpos contra *H. pylori*, por lo que es muy probable que esta bacteria sea responsable de su gastritis crónica. Ello hace indispensable el tratamiento de estas personas con antibióticos para prevenir a tiempo el desarrollo de patologías más severas como las úlceras gástricas o duodenales ó el desarrollo de neoplasias.

La causa de la gastritis en el 25.5% de los pacientes seronegativos puede deberse a otros factores a investigar.

Introducción.

En México las enfermedades gástricas representan un grave problema de salud en la población, sobre todo en niños y ancianos, en donde las tasa de morbilidad y mortalidad son realmente elevadas (Harry, y cols 2001). Se ha reportado que la gastritis crónica es la patología mas frecuente en el área de la gastroenterología. Hasta el 2003 estaban registrados 842,381 casos tan sólo para el Seguro Social (IMSS, 2003).

A fines del siglo XIX se reportó la presencia en el tejido gástrico de gérmenes flagelados y se describió que existían bacterias espiroideas en el estómago (Steer, 1975). En 1982 Warren y Marshall llamaron a ésta bacteria *Campylobacter pylori*. Marshall y cols. En 1985 relacionaron al microorganismo con la úlcera péptica. En 1989 la bacteria se denominó *Helicobacter pylori*. (Harry, y cols 2001). La relación entre la infección por *Helicobacter pylori* y diversas patologías digestivas (Harry y cols, 2001).

Se ha reportado que *Helicobacter pylori* ha infectado el estómago humano por años y muy probablemente desde los inicios de la existencia del hombre actual. Recientemente se ha descrito la presencia de antígenos de *Helicobacter pylori* en la

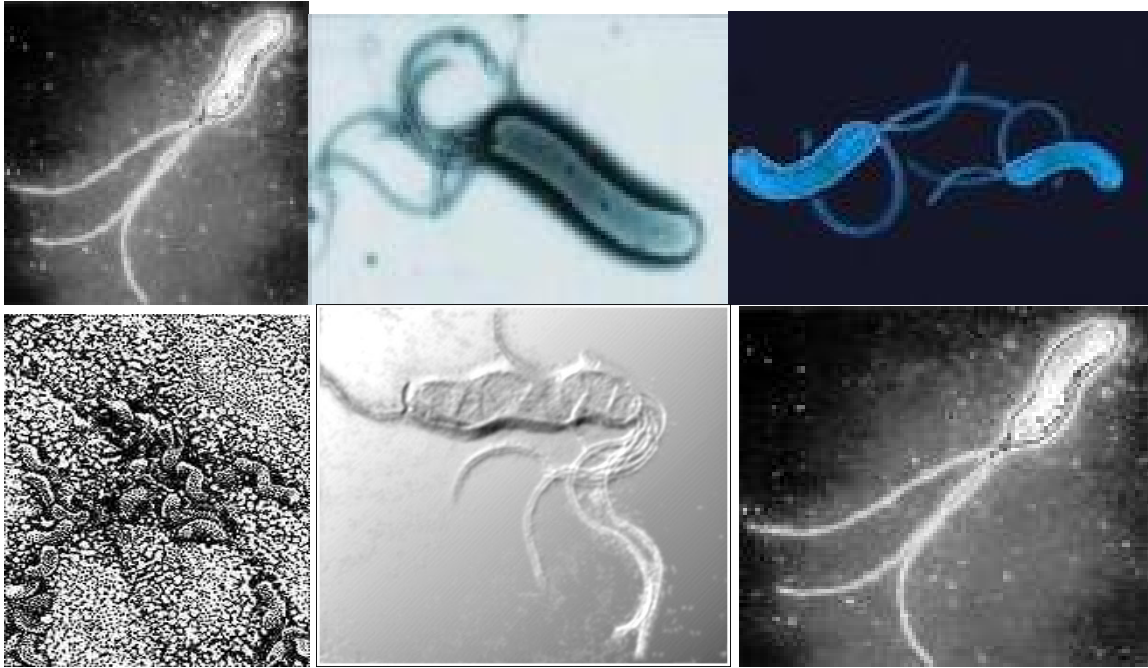
materia fecal y se ha demostrado que la bacteria ha prevalecido por más de 3000 años de antigüedad (Harry y cols, 2001).

Actualmente el género *Helicobacter* alberga a más de 15 especies, la mayoría aisladas de la mucosa gástrica de diferentes mamíferos; sin embargo, las especies descritas más recientemente se han aislado de vías hepáticas e intestinales de diversos animales. También esta definición taxonómica permitió la creación de otro nuevo género: *Arcobacter*, que alojó a dos especies anteriormente denominadas *Campylobacter atipicos*, hoy conocidos como *Compiere nitrofigilis* y *Compiere crioaerophilicus*, que junto con *A. skirrowii* y *A. butzleri* conforman el nuevo género. Morfológicamente los miembros de los géneros *Campylobacter* y *Arcobacter* son similares, ambos presentan extremos puntiagudos con un flagelo desnudo en cada extremo (Harry y cols, 2001).

Helicobacter pylori

H. pylori es un organismo bacteriano Gramnegativo microaerófilo, tiene forma de espiral se observa en forma de S simple o doble (una a continuación de la otra), mide de 2.5 a 4 μm de largo y 0.5 a 1 μm de grosor (figuras 1, 2 y 3), posee múltiples flagelos en un polo y está dotado de movilidad activa. Este microorganismo es de difícil cultivo en los medios habituales, pero puede ser aislado en medios de cultivos apropiados. Se sitúa profundamente en la capa de la superficie epitelial y donde el pH es fisiológico, sin embargo también produce enzimas como la ureasa que genera la producción de amonio y que alcaliniza el medio gástrico para su crecimiento (Brooks y cols, 1999).

Su morfología curvada le permite realizar movimientos tipo tornillo para poder penetrar la capa mucosa de la pared gástrica, la motilidad de esta bacteria incrementa cuando la viscosidad aumenta, lo que le permite alejarse del medio ácido que predomina en la superficie (Harry y cols, 2001).



Fotografías de *Helicobacter pylori*.

Epidemiología.

Más del 50% de la población mundial se encuentra infectada por *H. pylori*, (Figueroa y cols, 1997). La prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en individuos mayores de 60 años es elevada no solamente en México, sino también a nivel mundial. Además de la edad, existen otros factores que participan en la infección,

como el socioeconómico, hecho que refleja una mayor prevalencia y a una edad más temprana en países no desarrollados, en relación a aquellos industrializados (Grendel y cols, 1997).

Los estudios epidemiológicos mostraron que la infección por *H. pylori* ocurre en la población mundial. Sin embargo, la incidencia de la infección entre países desarrollados y en vías de desarrollo es significativamente diferente.

Por ejemplo, en los desarrollados la incidencia anual de infección se presenta entre el 0.5% y el 1% para menores de 10 años y la infección aumenta hasta en un 50% en adultos, con un promedio de edad de 60 años. Por el contrario, se estima que en los países en vías de desarrollo aproximadamente el 80% de las personas se infectan con *H. pylori* a una edad promedio de 10 años, con un total de 900,000 casos nuevos cada año, en donde cuatro de cada cinco casos son diagnosticados (Mohar, *et al* 2003).

Por otro lado, en el grupo de afro-americanos, hispanos e indios nativos que viven en esos países, la infección por el microorganismo se observa desde edades tempranas y la transmisión intrafamiliar es alta (Muñoz y cols 1997).

En algunos países como en México se han observado regiones de mayor riesgo, como las zonas altas del estado de Chiapas donde existen grupos indígenas que presentan una alta incidencia de cáncer gástrico asociado al microorganismo (Mohar y cols 2003).

Estómago.

El estómago es un saco hueco y elástico con forma de J, siendo la parte más ancha del tubo digestivo. Su superficie externa es lisa, mientras que la interna presenta numerosos pliegues que favorecen la mezcla de los alimentos con los jugos digestivos. En este lugar las sustancias alimenticias permanecen almacenadas durante un tiempo antes de pasar al intestino en un estado de digestión avanzado (IMSS, 2003).

Morfología

Se encuentra compuesto por una región cardiaca, que limita con el esófago mediante un esfínter llamado cardias; una región media, llamada cuerpo o antro, y una región pilórica que comunica con el intestino a través del esfínter pilórico. El estómago es musculoso, por lo que gracias a sus contracciones se completa la acción digestiva mecánica. Además, en él se realiza también parte de la digestión química, gracias a la acción del jugo gástrico secretado por las glándulas que existen en sus paredes. Se sitúa en la zona superior de la cavidad abdominal, ubicado en su mayor parte a la izquierda de la línea media. La gran cúpula del estómago, llamada fundís, descansa bajo la bóveda izquierda del diafragma. El esófago penetra por la zona superior, o curvatura menor, a poca distancia bajo del fundís. La región inmediata por debajo del fundís se denomina cuerpo (IMSS, 2003).

La porción inferior, se incurva hacia abajo, hacia adelante y hacia la derecha, y está formada por el antro y el conducto pilórico. Este último se continúa con los tejidos del estómago incluyen una cubierta externa fibrosa que deriva del peritoneo y, debajo de esta, una capa de fibras musculares lisas dispuestas en estratos diagonales, longitudinales y circulares (IMSS, 2003).

En la unión del esófago y el estómago, la capa muscular circular está mucho más desarrollada y forma un esfínter, el cardias. La contracción de este músculo impide el paso de contenido esofágico hacia el estómago y la regurgitación del contenido gástrico hacia el esófago (IMSS, 2003).

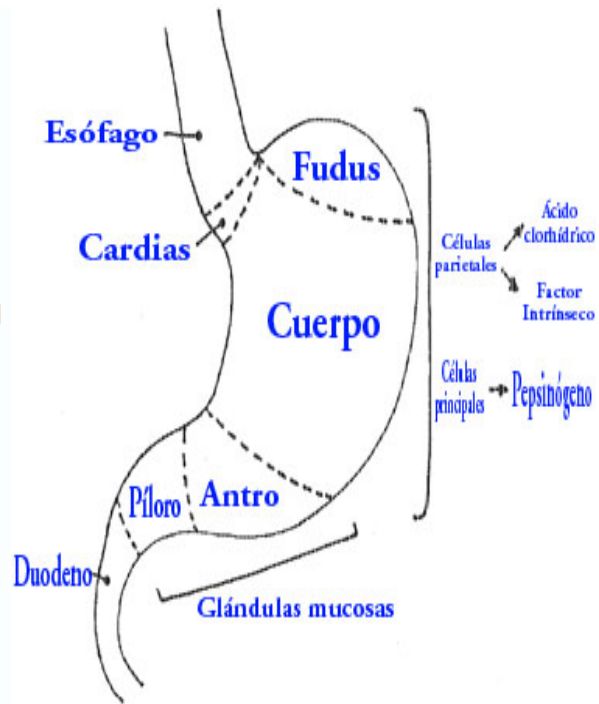
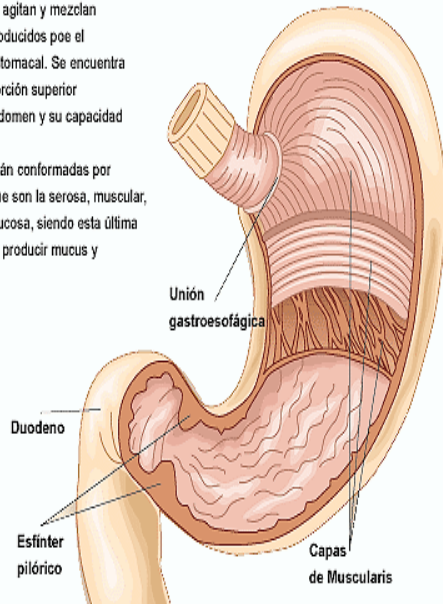
En la unión del píloro y el duodeno existe una estructura similar, el esfínter pilórico. La submucosa es otra capa del estómago, formada por tejido conjuntivo laxo, en el cual se encuentran numerosos vasos sanguíneos, linfáticos y terminaciones nerviosas del sistema nervioso vegetativo. La capa más interna, la mucosa, contiene células secretoras, algunas de las cuales producen ácido clorhídrico, que no solo neutraliza la reacción alcalina de la saliva, sino que proporciona un carácter ácido al contenido gástrico y activa los jugos digestivos del estómago (IMSS, 2003).

Las enzimas que se encuentran en el jugo gástrico son la pepsina, que en presencia de ácido fragmenta las proteínas en peptonas, la renina, que coagula la leche, y la lipasa, que rompe las grasas en ácidos grasos y glicerol. Un tercer tipo de células producen mucosidades para proteger al estómago de sus propias secreciones. Cuando un trastorno psicossomático o patológico impide la secreción adecuada de mucosidad, la mucosa gástrica se erosiona y se forma una úlcera (IMSS, 2003).

Estructura del estómago

En este saco en forma de "J", los alimentos se agitan y mezclan con los jugos producidos por el revestimiento estomacal. Se encuentra ubicado en la porción superior izquierda del abdomen y su capacidad es de 1,5 litros.

Sus paredes están conformadas por cuatro capas, que son la serosa, muscular, submucosa y mucosa, siendo esta última la encargada de producir mucus y jugo gástrico.



Fotografías del estómago Humano.

Patología del estómago

La patología digestiva asociada a *Helicobacter pylori* es la Gastritis crónica, Úlcera péptica y Linfomas (MALT). La Gastritis crónica es una inflamación del revestimiento del estómago que se presenta gradualmente y que persiste durante un tiempo prolongado. La úlcera péptica es una pérdida de sustancia en la mucosa de las regiones del tracto digestivo expuestas a la acción del ácido clorhídrico y la pepsina, que se extiende hasta la submucosa o muscularis mucosa. El linfoma del Tejido Linfoide Asociado a las Mucosas (MALT). Se encuentra englobado dentro de los linfomas de células B, extranodal, y encuadrado dentro de los linfomas de la zona marginal, siendo posible el compromiso de los nodos linfáticos y de otros órganos durante su evolución.

Tipos de gastritis, Ulceras y desarrollo de cáncer

La gastritis crónica es una inflamación que afecta a la mucosa y no tiene sintomatología definida; puede ser asintomático y tiene básicamente dos etapas:

La gastritis crónica “superficial que es la primera etapa donde se presentan alteraciones degenerativas en las células del istmo, infiltración de linfocitos y plasmocitos, principalmente en la porción superficial de la lámina propia; dicha infiltración generalmente incluye una variable cantidad de neutrófilos (Harry, 2001).

La gastritis crónica “atrófica es la etapa mas avanzada, esta caracterizada por la perdida del tejido glandular debido al continuo daño de la mucosa, y es un factor común en todos los procesos patológicos que causan un daño a la mucosa gástrica (Harry, 2001).

La pérdida de dicho tejido puede estar seguida a la ulceración de la mucosa, dicho daño puede ser causado por un proceso inflamatorio prolongado. A esta complicación se le conoce como ulcera péptica, que es una pérdida focal de tejido que compromete al menos todo el espesor de la mucosa y parte de la submucosa, pudiendo extenderse a todo el espesor del órgano (Harry, *et al*/2001).

La úlcera péptica se presenta en forma de crisis recurrente que se resuelve por la cicatrización de la úlcera; estas crisis suelen repetirse meses o años después. Se encuentra a zonas vecinas a mucosa productora de ácido clorhídrico y pepsina. Miden de de 1 a 3 centímetros de diámetro, son circulares u ovaladas, de borde neto y con paredes verticales. Las zonas donde se crea mas frecuente una úlcera péptica son el

duodeno, el estomago la zona yeyunal de las anastomosis gastroyeyunales y el divertículo de Meckel (en mucosa de tipo intestinal vecina a mucosa de tipo fúndico). La úlcera péptica es importante por su recurrencia en la población mexicana, hasta el 2002 se reportaban 28630 casos (Duarte, 2002).

Cabe mencionar que otra complicación es el desarrollo del cáncer gástrico que se basa en un daño progresivo de las lesiones en una gastritis crónica superficial, que evoluciona a una atrófica en la que una infiltración inflamatoria importante con agregados foliculares linfoides destruyen la mucosa a tal grado que ocurre pérdida de las funciones, con ello se induce una metaplasia intestinal, una displasia gástrica y finalmente cáncer (Rivas-Traverso, 2000).

El padecimiento de gastritis crónica fue atribuido a situaciones como el régimen alimenticio, la forma y personalidad del individuo, falta de higiene e incluso algunos factores que intervienen con el estrés mas un desequilibrio entre los denominados factores agresores (ácido clorhídrico, pepsina, etc.) y algunos protectores como la irrigación, estos factores intervendrían en la génesis de esta patología, de tal manera que el microorganismo tendrá un rol decisivo en la aparición de la enfermedad ulcerosa y donde la transmisión se puede dar de persona a persona, vía oral-oral, a través de las vías respiratorias oro-gástrico y fecal-oral (Marshall, 1995).

Patología de *Helicobacter Pylori* Factores de virulencia.

La búsqueda de los factores causantes de ulceración por *H pylori* se ha intensificado en los últimos años, detectándose a la ureasa bacteriana, adhesinas, hemaglutininas y la producción de una toxina vacuolizante.

Ureasa.

El jugo gástrico normal posee un pH < 4, el cual le confiere un carácter bactericida y por tanto capaz de eliminar a muchas de las bacterias que llegan al estómago con la ingesta de agua y alimentos, por ello epidemiológicamente se hace referencia al estómago como la “barrera ácida”. Por lo tanto, la colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori*, implica la capacidad de esta bacteria para sobrevivir en ese ambiente ácido.

Cuando se descubrió esta bacteria su localización gástrica presumía un comportamiento acidófilo; pero la confirmación de que el pH óptimo para su cultivo era cercano a la neutralidad, se transformaba en uno de los escollos importantes que se enfrentó al principio de la historia de *H. pylori*, pues a parte de aceptar que una bacteria tendría como nicho esa barrera ácida, no había una explicación para tal resistencia al pH ácido. La clave para la adaptación al pH gástrico reside en la producción de ureasa (Eaton y cols, 1991).

Esta enzima (urea amidohidrolasa) cataliza la hidrólisis de urea para proporcionar amonio y carbamato, el cual se descompone para producir otra molécula de amonio y ácido carbónico, con lo cual neutraliza el microambiente de las glándulas gástricas colonizadas. El efecto neto de esas reacciones es un aumento del pH. También explica el hecho de la asociación de la bacteria con los espacios intercelulares del epitelio gástrico, por los cuales se excreta urea. La ureasa es la enzima más

estudiada de todos los productos de *H. pylori*, y representa alrededor de un 5% del total de sus proteínas celulares (Hu y cols, 1990).

Se localiza en el citosol de la bacteria y en su superficie, aunque esta última localización puede tratarse de un mecanismo no específico para la exportación de la enzima; posee un peso molecular de 600 kDa y está codificada por siete genes denominados *ureA* a *ureG* (Mobley y cols, 1996).

Los dos primeros *ureA* y *ureB* codifican las subunidades de 26.5 kDa y 60.3 kDa, respectivamente. Luego *ureC*, *ureD*, *ureE*, *ureF* y *ureG* son considerados genes accesorios, localizados en el cromosoma y son homólogos a los genes que codifican la ureasa de *Proteus mirabilis*, *Klebsiella aerogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Bacillus* spp termofílicos (Maeda, 1990).

El descubrimiento reciente del gen de la glutamina sintetasa *glnA*, sirve de base para sustentar este papel, ya que la única ruta por la cual el amonio puede ser incorporado en aminoácidos y proteínas es mediante el glutamato, para producir glutamina en la reacción catalizada por la glutamina sintetasa (Mobley y cols, 1996).

Por otra parte, el hidróxido de amonio generado durante la hidrólisis de urea contribuye significativamente al daño histológico asociado con esta infección; aunque debe enfatizarse que directamente el amonio no es tóxico, si no que el daño infringido es el resultado del ión hidróxido generado por el equilibrio del amonio con el agua. Éste desdobra el moco gástrico, haciéndolo más fluido, con lo cual la bacteria puede desplazarse más fácilmente, para ganar los espacios intercelulares. Pero, en esta capa de moco funciona uno de los mecanismos que protegen la mucosa del propio ácido, lo cual se conoce como el gradiente de bicarbonato; por lo tanto, al licuarse el moco se pierde parte de esa protección, lo que colabora en la génesis de la gastritis,

máxime que las células G de la mucosa estarán detectando un pH neutro que promoverá la liberación de gastrina para estimular la producción de ácido.

En última instancia, el paciente presenta hipergastrinemia e hiperacidez gástrica, lo que agrava la lesión inicial. Otro ejemplo de esa acción patogénica del amonio se muestra en cultivos celulares, cuya acción es inversamente proporcional a la concentración de amonio generado por la hidrólisis de urea, lo que se ha demostrado con células derivadas de carcinomas humanos y con células (suzuki y cols, 1992).

La actividad de la urea también puede ser responsable indirectamente del daño tisular mediante su interacción con el sistema inmune, estimulando el estallido respiratorio de neutrófilos. Ello se ha demostrado experimentalmente con células intactas de *H. pylori*, las cuales son capaces de cebar e inclusive causar una activación directa del estallido respiratorio de leucocitos neutrófilos polimorfonucleares (PMN), monocitos y además, ejerce acción quimiotáctica sobre otras células inflamatorias mediante liberación de citocinas proinflamatorias e intermediarios del oxígeno reactivo que colaboran con el proceso inflamatorio (Suzuki y cols. 1992).

Los extractos acuosos de *H. pylori* inducen la expresión de CD11/CD18 en neutrófilos, aumentan la permeabilidad vascular y promueven su adhesión mediante las moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) del endotelio, Bodger y cols (1998). Cuando esos extractos contienen una alta concentración de ureasa pueden activar monocitos mediante una vía LPS-independiente Mai y cols (1991). El potencial de virulencia de esta enzima se refleja en la fuerte respuesta de inmunoglobulinas séricas generada contra ella, detectada en pacientes con gastritis activa de *H. pylori*.

Por todo esto, la ureasa mediante una variedad de mecanismos es responsable parcialmente del reclutamiento inicial de monocitos y neutrófilos, de una mayor

activación y estimulación del sistema inmune, así como de la producción de una lesión inflamatoria local asociada con la licuefacción del moco gástrico, lo cual indirectamente expone la mucosa a la acción del pH ácido del estómago.

Factores de adherencia de *Helicobacter pylori*.

La colonización de la mucosa lleva implícito como paso previo la capacidad de la bacteria para adherirse al epitelio gástrico lo cual es esencial para la inducción de gastritis (Finlay y cols, 1989).

Esta adherencia ocurre mediante la interacción entre las adhesinas bacterianas y los receptores del hospedero que están representados por algunas proteínas de la matriz extracelular. De tal manera que las lesiones inducidas por la adherencia son de tipo adhesión-efacelación, estructuralmente son similares a las producidas por *E. coli* enteropatógena (EPEC). Estas lesiones se caracterizan por la pérdida de las microvellosidades del epitelio gástrico en el sitio de adhesión, lo que conduce a la formación de una estructura similar a un pedestal de unos 5 μ m de diámetro, con uniones estrechas entre la bacteria y la superficie celular (Finlay y cols, 1989).

Helicobacter pylori infecta sólo mucosa de tipo gástrico, debido a esa estrecha relación con la excreción de urea y posiblemente a la expresión de receptores en ese epitelio. La adhesión a la mucosa gástrica hace que la toxina se libere justo en el epitelio blanco. Además, estudios *in vitro* demuestran que la adherencia es necesaria para la inducción y liberación de citocinas proinflamatorias (Madsen y cols 1991; Sharma y cols. 1994), por lo tanto, la adherencia no debe ser considerada como un evento aislado si no más bien como parte de un proceso complejo que involucra quimiotaxis. Los múltiples flagelos y la morfología espiral de *H. pylori* enfatizan la importancia del movimiento dirigido, el cual está determinado por la detección de quimiotaxinas específicas del hospedero (Crow y cols. 1995; Emodi y cols, 1995).

Hemaglutininas.

H. pylori es capaz de aglutinar eritrocitos debido a su interacción con glucosaminas de grupos sanguíneos, algunos de los cuales también se expresan en células epiteliales, lo que indirectamente indica una función adherente. Debido a que los perfiles de hemaglutinación son importantes en el proceso de adherencia de *Helicobacter pylori* a las células de la mucosa gástrica, grupos de investigadores han usado hemaglutininas para el estudio de adhesinas tipo lectinas (Taylor y cols. 1992).

Los resultados obtenidos de la aglutinación sugieren que el mayor componente hemaglutinante de *Helicobacter* es una proteína con una especificidad de receptor determinada por la configuración NeuAc (2-3) Gal del ácido siálico. Una mayor caracterización de la HA utilizando métodos complementarios permitió la identificación de dos proteínas, una con un peso de 20-25 kDa y la otra de 57k Da, (Evans y cols, 1989), identificaron una proteína de 20k Da expuesta en la superficie de la bacteria con un receptor específico de ácido siálico que reconoce la configuración NeuAc(alfa2-3)Gal, (Evans y cols. 1989).

Papel de *vacA* y *cagA*

H. pylori puede inducir la formación de vacuolas en una gran variedad de células eucariotas. Inicialmente se pensó que dicha acción no era de carácter tóxico, pues no era neutralizada por antitoxinas bacterianas; además, el amonio liberado por la actividad de la ureasa puede inducir un daño similar. Sin embargo, posteriormente se logró purificar la toxina responsable de tal alteración, la cual debido a su acción ha sido denominada “toxina vacuolizante”, ya que ella induce la formación de vacuolas en las células afectadas, hallazgo que también se ha constatado en biopsias de pacientes afectados. Contra esta toxina se han identificado anticuerpos en personas infectadas con *Helicobacter* (Leunk, 1988; Cover, 1992).

El hallazgo de esa toxina es una característica fenotípica que podía ser detectada *in vitro*, lo que motivó a numerosos investigadores a estudiar aislamientos de pacientes con diferentes manifestaciones clínicas, que incluían desde cuadros leves como la gastritis superficial hasta úlceras, tratando de correlacionar ambos hechos: presencia de toxina y asociación con patología importante. Los resultados obtenidos indicaron

que las cepas toxigénicas se aislaban significativamente con más frecuencia de pacientes con úlceras pépticas que de aquellos que sólo presentaban gastritis leves.

Esto permitía entonces contar con criterios para identificar las cepas más virulentas, lo que condujo a la búsqueda de métodos genéticos que permitieran identificar las cepas toxigénicas. No obstante, la identificación del gen responsable de esa toxigenicidad llevó a resultados incongruentes, puesto que la mayoría de las cepas contenían ese gen, ahora conocido como *vacA* ("vacuolization associated gen"). Este gen ha sido clonado y su análisis sugiere que codifica una proteína que posee una señal aminoterminal corta, que es escindida para permitir su paso a través de la membrana citoplasmática y una carboxiterminal de 45kDa que actúa como poro. La secuencia de la toxina madura no demuestra homología con otras toxinas conocidas (Cover y cols, 1994; Phadnis y cols, 1994).

La búsqueda de una respuesta para la incongruencia entre la citotoxicidad y la presencia del *gen vacA*, llevó al hallazgo del *gen cagA* ("cytotoxin associated gen") cuya presencia se relaciona con la expresión del *gen vacA* y por lo tanto con la toxigenicidad. Además, está presente sólo en las cepas aisladas de pacientes sintomáticos. En los países desarrollados el 60% de las cepas son *cagA+*; pero en los países en vías de desarrollo la proporción de *cagA+* es mayor (Blazer y cols. 1996).

Las cepas *cagA+* al ser más virulentas están asociadas con ulceración duodenal, gastritis atrófica, adenocarcinoma y recientemente se ha demostrado que producen una profunda inflamación con una densidad bacteriana en el antro gástrico de alrededor de 5 veces la inducida por cepas *cagA*, (Atherton y cols. 1994).

Por lo tanto, la identificación de los genes *vacA* y *cagA* permite identificar las cepas con mayor virulencia y por tanto asociadas con cuadros clínicos más severos (Atherton y cols. 1994).

Transmisión de *Helicobacter pylori*

Transmisión oro-oral. La base de tal propuesta ha sido debida al hallazgo de *Helicobacter pylori* en la placa dental, en saliva o bien la identificación de su genoma en saliva; también se apoya en las reacciones positivas de ureasa en muestras de saliva; pero otras bacterias de la flora oral podrían dar esta prueba positiva, por lo que tal prueba no es muy aceptada (IMSS, 2003).

Transmisión oro-gástrica. Esta posibilidad se apoya en la ocurrencia de algunos brotes asociados con manejo y desinfección inadecuada de gastroscopios. Tal posibilidad llevaría también a relacionarle con el vómito, lo que en cierta medida podría explicar las altas tasas de infección en niños, ya que estos vomitan más frecuentemente que los adultos, además de que frecuentemente se llevan objetos a la boca (IMSS, 2003).

Transmisión feco-oral. Esta vía explica más fácilmente la marcada diferencia en la prevalencia de *Helicobacter pylori* en países en desarrollo comparada con países desarrollados, cuyo patrón guarda un cierto paralelismo con las tasas de enfermedades diarreicas en esos mismos países. A pesar de que hay informes esporádicos sobre el aislamiento de la bacteria a partir de heces e incluso se ha descrito el método para tal aislamiento, esos hallazgos no son sistemáticos. La dificultad de aislar *Helicobacter* a partir de heces se relaciona con su alta susceptibilidad in Vitro a los antimicrobianos empleados en medios de cultivo selectivos (IMSS, 2003).

La colonización de la mucosa lleva implícita la capacidad de adherencia que posee la bacteria, lo cual es esencial para la inducción de gastritis, esto ocurre mediante la interacción de adhesinas bacterianas y los receptores del hospedero que están representadas por algunas proteínas de la matriz extracelular.

Básicamente se sabe que los pacientes sintomáticos presentan cepas con ciertos genes activos como *vacA* (productora de la toxina vacuolante) *cagA* (asociado a la producción de citosina) y la proteína activadora de neutrófilos, que se traducen tan solo en cuadros clínicos más severos (Chelimsky y cols, 2004).

Se ha descrito que la aparición de la úlcera péptica se debe al deterioro de la mucosa; debido a toxinas y enzimas potencialmente tóxicas como las citotoxinas, ureasa, micinasa, lipopolisacaridasa, lipasa, fosfolipasa A2, hemolisinas etc. Todas estas son desencadenantes de la inflamación invadiendo la mucosa, así como de la activación de Neutrófilos, Monocitos y Macrófagos, Leucotrieno B4, inhibición de migración de Linfocitos, activación de Plaquetas, Fenómenos Autoinmunes, Degranulación de Eosinófilos, entre otros como resultado de la patogenicidad decisiva del germen (Marshall, 1995).

Todos los factores mencionados incrementan los niveles de gástrina en el desarrollo de la enfermedad ulcerosa, se ha observado en pacientes portadores de *Helicobacter pylori* por lo que las secreciones de acidez no se reducen sino se elevan mientras que las zonas infectadas por *Helicobacter pylori* tienen una mayor alcalinidad debido a la producción de amonio dando a nivel local un falso mensaje al organismo interpretando una falsa secreción (Marshall, 1995).

La bacteria afecta a la zona del antro extendiéndose al cuerpo gástrico en individuos de avanzada edad y como consecuencia ocasiona la anemia perniciosa, siendo también responsable de mecanismos inmunológicos, por tanto origina una inflamación evolucionando a una atrofia de la mucosa gástrica alterando la secreción del ácido peptico (Marshall, 1995).

Por otro lado; seres humanos y animales desarrollan una respuesta inmune local a través de un aumento significativo de inmunoglobulina G (IgG). Sin embargo, estas inmunoglobulinas no son protectoras y el microorganismo permanece viable en la capa de mucus gástrico o firmemente adherido al epitelio gástrico. Esto implicaría la existencia por años de la bacteria infectando la mucosa gástrica de humanos (Loutit, 1998).

La respuesta inmune también incluye la producción de inmunoglobulina A (IgA), que se une a la superficie de las bacterias, y la atracción de gran número de células inflamatorias a la mucosa gástrica colonizada (Heilmann y Borchard, 1995; Loutit, 1998).

Métodos diagnósticos.

Un gran número de pruebas diagnósticas invasivas y no invasivas pueden ser utilizadas para confirmar la presencia de *Helicobacter pylori* en pacientes humanos (Gitnick, 1999).

Entre estos métodos de diagnóstico se conocen dos tipos.

El primero es de tipo “invasivo” donde se encuentra la endoscopia, la toma de biopsias y la prueba de ureasa, los dos primeros son de alto costo y requieren de mucho tiempo y aunque la prueba de la ureasa es rápida y de bajo costo es menos eficaz ya que otras bacterias Gramnegativas la producen también.

Los métodos no “invasivos” son el segundo tipo; aquí entra la prueba de carbono marcado y otra es la de Serología. Esta prueba permite la evaluación de anticuerpos en sangre, orina y saliva, es de bajo costo y muy efectiva. Los métodos serológicos más utilizados en padecimientos extra-intestinales son la hemaglutinación en látex, inmunofluorescencia, la inmunodifusión en geles de agar y el ensayo inmunoabsorbente ligado a una enzima ELISA (Valdez, 1988).

La técnica de ELISA ha mostrado una mayor eficacia, porque tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 72%, además permite detectar inmunoglobulinas (anticuerpos) de tipo IgG e IgM, para diferenciar entre infecciones recientes o pasadas (Gilbert y cols, 2001).

Muchas pruebas serológicas han sido utilizadas para diagnosticar *H.pylori* en pacientes humanos por lo que algunas de estas pruebas aún no están disponibles para determinar la bacteria directamente; sin embargo la alta afinidad de las IgG en el humano pueden apoyar la radicación de la bacteria, (Dubois, 1995; Figueroa y col, 1997; Sutton, 1998).

Para la detección de IgG, IgM, e IgA séricos se ha utilizado la técnica de ELISA, que ha funcionado muy bien en etapa experimental, esto para la determinación de estas inmunoglobulinas en suero o plasma total, orina y saliva, (Sutton, 1998).

Solo las pruebas serológicas basadas en la medición de IgG han sido aprobadas como métodos diagnósticos en pacientes humanos, por la Food and Drug Administration de Estados Unidos (Gao y Moore, 1998).

Las inmunoglobulinas son anticuerpos que actúan de manera específica con el antígeno que estimula su producción, son glucoproteínas constituidas de cadena polipéptica ligera (L) y pesada (P), la molécula más sencilla de inmunoglobulina tiene forma de (Y) y consta de cuatro cadenas, dos H y dos L.

Existen cinco tipos de inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgE e IgD. De estas IgM e IgG representan una defensa importante contra bacterias y virus, pero la especificidad de IgM es muy baja y por eso IgG se utiliza como estándar, además de que es el anticuerpo predominante en la respuesta secundaria por lo que permanece en el sistema mientras la infección perdura. La IgG tiene cuatro subclases de acuerdo a las diferencias antigénicas en la cadena H y al número y ubicación de los puentes disulfuro que las enlazan, (Ramón, 2001).

Tratamiento

Se han empleado diversos esquemas terapéuticos contra la bacteria *Helicobacter pylori* que buscan la erradicación de la misma a través de la combinación de drogas bacteriostáticas o bactericidas como lo son: amoxicilina, tetraciclina, sales de bismuto que no crean resistencia, eritromicina, clindamicina, quinolonas, metronidazol etc (ver cuadro 1), (Peterson 1991).

<i>Farmacos</i>	<i>Dosis</i>	<i>Duración</i>
<i>A. Bismuto</i>		
<i>Subcitrato</i>	<i>240 mg/4v al día</i>	<i>14 días*</i>
<i>Subsalicilato</i>	<i>600 mg/3v al día</i>	<i>14 días*</i>
<i>B. Metronidazol</i>		
<i>500 mg/3v al día</i>		<i>14 días*</i>
<i>C. Tetraciclina</i>		
<i>500 mg/4v al día</i>		<i>14 días*</i>
<i>D. Amoxicilina</i>		
<i>500 mg/4v al día</i>		<i>14 días*</i>
<i>E. Claritromicina</i>		
<i>500 mg/3v al día</i>		<i>14 días*</i>
<i>F. Omeprazol</i>		
<i>40 mg diarios</i>		<i>14 días*</i>
<i>G. Ranitidina 300 mg antes de acostarse 4-6 semanas</i>		

Cuadro 1. Tratamientos terapéuticos

Debido a lo anterior el objetivo en este trabajo fue la detección oportuna de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en suero de pacientes con gastritis crónica ó ulcera péptica

Situación nacional en México.

De acuerdo a estudios nacionales publicados de 1985 - 1999, la infección por *Helicobacter pylori* es muy frecuente en pacientes con una amplia gama de condiciones gastrointestinales, incluyendo adultos (43-92%) y niños (6-100%). Los niveles de anticuerpos IgG específicos alcanzan niveles de 100% en pacientes con úlceras duodenales, 86% en pacientes con gastritis y 75% en pacientes sintomáticos (Figuroa y col, 1997).

Antecedentes

En un estudio realizado por profesionales médicos de la Universidad de Chile y de la Universidad de Maryland, se detectaron niveles séricos de IgG específicos contra *Helicobacter pylori* en 1815 pacientes menores de 35 años de edad. Los niveles de seropositividad detectados superaron el 60% de los pacientes evaluados. Además, este estudio se relaciono con los niveles de IgG con el nivel socioeconómico ya que en sus resultados obtuvieron niveles de IgG de los pacientes con bajo nivel socioeconómico por ingesta de vegetales crudos, probablemente regados con aguas contaminadas (Hodgson y col, 1995).

Otro grupo de investigadores en 1995 estudió 70 niños en edad escolar, con signos de enfermedad gastroduodenal, a los cuales se les realizó un examen endoscópico. Se obtuvieron muestras de mucosa gástrica, las que fueron sometidas al cultivo, análisis histológico y prueba de ureasa. Además se midieron anticuerpos IgG anti-*Helicobacter pylori* en suero de estos pacientes. En el 86% de los individuos se diagnosticó la bacteria en las muestras de la mucosa antral y el 60% presento niveles de IgG significativamente mayores comparados con los individuos negativos. 55 pacientes presentaron gastritis crónica, 9 pacientes úlcera duodenal y 11 pacientes presentaron histología normal (Hodgson y col, 1995).

En 1993 el grupo estadístico EUROGAS detectó la presencia de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* y la relación de cáncer gástrico en mujeres y hombres de 17 poblaciones de 13 países del mundo. En este estudio se encontró una prevalencia por infección de *H. pylori* en más del 50% en la población estudiada.

En (2000) Guillermo Figueroa y cols, realizaron un estudio, en donde detectaron los niveles de anticuerpos IgG específicos para *Helicobacter pylori* en 469 sueros obtenidos de 107 pacientes de entre 20 a 60 años de edad, con úlcera duodenal antes y después de recibir el tratamiento antiulceroso. Con el ensayo de ELISA detectaron que 105 de los 107 pacientes analizados (98%) presentaron anticuerpos IgG contra esta bacteria.

En (1999) Traversa y Hernández, explicaron los métodos de transmisión de *Helicobacter pylori* por las rutas oral, gastro y feco-oral, identificando a la bacteria en saliva y heces fecales. En este trabajo también describieron los métodos para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* en cultivo con ureasa rápido y frotis en biopsias gástricas.

En el 2001 Mohar y cols, realizaron un estudio en Chiapas, México, para conocer la prevalencia de lesiones y la erradicación con antibióticos de *Helicobacter pylori* en el sistema gástrico. El estudio se realizó en 281 personas elegidas de 1178 donantes que presentaban la bacteria, así mismo fueron elegidas aleatoriamente y con edades de 39 a 83 años. Los resultados reflejaron una alta frecuencia de lesiones por *Helicobacter pylori* en pacientes mayores a la mediana edad y lesiones bajas en personas por debajo de los 40 años.

En el (2000) Figueroa realizó un estudio con terapias de antibióticos para erradicar *Helicobacter pylori* en pacientes con úlcera duodenal, en el estudio se midieron anticuerpos por el método de ELISA, a fin de evaluar la erradicación de la bacteria en 107 pacientes con úlcera duodenal (UD). 61 pacientes recibieron amoxicilina, metranidazol, subsalato, de bismuto y omeprazol y 46 solo omeprazol. Como

resultado obtuvieron que 49 pacientes bajo terapia antibiótica lograron erradicar la bacteria y exhibieron una caída sostenida de los títulos de anticuerpos en aquellos que no erradicaron *Helicobacter pylori* en el organismo; la caída fue significativamente menor.

Guiller y cols, en el 2004 realizaron un estudio con medicamentos como tratamientos para pacientes con infección por *Helicobacter pylori*. El estudio utilizó omeprazol. Se les administró 40 miligramos por día de omeprazol a los pacientes por un periodo de 2 meses de tratamiento, obteniendo como resultado la eficacia positiva del antibiótico contra la bacteria dejando no erradicar *Helicobacter pylori* por arriba de un 50% del los pacientes estudiados, dando por referencia al tratamiento.

Muñoz y Franceschis en 1997, estimaron que anualmente ocurren 900,000 casos nuevos diagnosticados de cáncer gástrico a nivel mundial.

En 1997, se trabajó con un banco de sueros procedentes de personas representativas de la población de todos los estados de la República Mexicana (11,605 sueros) cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años. Los resultados mostraron que el 20% de los niños de 1 año de edad presentaron anticuerpos contra *Helicobacter pylori* y que la seropositividad aumentó hasta un 50% en los niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección por el microorganismo en nuestro país se adquiere a edades tempranas y alcanza un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad. La tasa de incremento de seropositividad fue aproximadamente del 5% anual durante los primeros 10 años de la vida (Guiller y cols, 2004).

Objetivos

General.

Detección oportuna de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en suero de pacientes con gastritis crónica ó ulcera péptica.

Particulares:

Medir semicuantitativamente los niveles séricos de IgG contra *Helicobacter pylori* por un método inmunoenzimático.

Establecer los principales factores de riesgo de gastritis crónica ó ulcera péptica por *Helicobacter pylori* en los pacientes estudiados.

Metodología

Selección de pacientes: Para el desarrollo de este estudio y a través de una encuesta (tabla 1.1) se seleccionaron y diagnosticaron como enfermos de gastritis a 102 pacientes pertenecientes a la comunidad de los reyes Iztacala.

Una vez seleccionados los pacientes y en un estado de ayuno de por lo menos 2 horas, se les extrajo una muestra de sangre de 5 ml por el método de punción sanguínea, la cuál fue centrifugada a 3000 rpm durante 3 minutos para obtener el suero.

Detección sérica de IgG contra *H. pylori*

Para el desarrollo de este estudio se utilizó el Kit Immunocomb II *Helicobacter pylori* (ORGENICS), código 60425002, el cual es una prueba rápida para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG contra Hp en el suero o plasma humano. Treinta y seis pruebas pueden ser realizadas con un kit.

Contenido del Kit.

Peines

El Kit contiene 3 peines de plástico, cada peine con 12 dientes y un diente para cada prueba (Fig. 5 y 6). Cada diente se encontró sensibilizado en dos áreas reactivas, punto superior anticuerpo de cabra contra inmunoglobulina humana (control interno) y punto inferior antígeno inactivado de *H. pylori*.

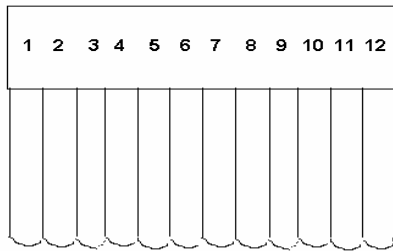


Fig.5

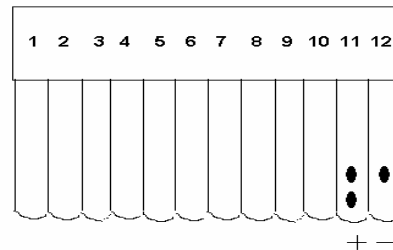


Fig.6

Bandejas de desarrollo.

El kit integra 3 bandejas de desarrollo cubiertas con papel aluminio (Fig 4).

Cada bandeja de desarrollo contiene todos los reactivos necesarios para la prueba

La bandeja de desarrollo consistió en 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada uno.

Los contenidos de cada fila son los siguientes.

Fila A diluyente de la muestra.

Fila B solución de lavado.

Fila C anticuerpos de cabra anti-IgG humano marcados con fosfatasa alcalina.

Fila D solución de lavado.

Fila E solución de lavado.

Fila F solución de sustrato cromogénico que contiene 5-bromo-4-cloro-indolil fosfato (BCIP) y nitrato azul tetrazolio (NBT).

Pozos

F												
E												
D												
C												
B												
A												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Fig. 4 Bandeja de desarrollo.

.Control positivo: El kit contiene un frasco rojo con 0.2 ml de plasma humano inactivado con calor, diluido a nivel crítico de 20 U/ml para anti-*H.pylori* IgG.

Control negativo: contiene un frasco verde con 0.2 ml de plasma humano diluido, inactivado con calor, negativo para *H.pylori*.

Diluyente de la muestra: un frasco con 5ml.

Perforador para los pocillos que estaban tapados con aluminio

CombScale: para la lectura de los resultados de la prueba.

Principio de la prueba

La prueba immunoCom *Helicobacter pylori* IgG es un ensayo inmunoenzimático (EIA) indirecta de la fase sólida, (con un peine de 12 tiras o dientes). Cada diente está sensibilizado en dos áreas reactivas.

1. Punto superior- anticuerpos de cabra contra inmunoglobulina humana (control interno).

2. Punto inferior- antígenos de *Helicobacter pylori* inactivado.

La bandeja de desarrollo consta de 6 filas (A-F) de 12 pocillos cada uno.

Cada fila tuvo una solución reactiva que estuvo lista para ser usada en cada etapa del ensayo.

La prueba se realizó en etapas, pasando el peine de una fila a otra y donde al comienzo de la prueba las muestras se prediluyeron 1:11 y fueron agregadas al diluyente en los pocillos de la fila A de la bandeja de desarrollo.

El peine luego fue insertado en los pocillos de la fila A

Los anticuerpos IgG buscados en las muestras de estar presentes se unieron a los antígenos de *H.pylori* en un punto inferior de los dientes del peine (fig. 5).

Simultáneamente las inmunoglobulinas presentes en las muestras son capturadas por la anti-inmunoglobulina humana del punto superior del peine (control interno).

Los componentes no unidos son lavados con una solución en la fila B y se incubó por 2min. Se agregaron a la solución de la fila C donde el IgG anti-*Helicobacter* capturado en los dientes reaccionan con el anti-IgG humano marcado con fosfatasa alcalina (FA) "unión del conjugado" y se incubaron por otros 20 min, para que pasado este tiempo se lavarán con la fila D y se dejarán por otros 2 min y se volviera a lavar con la solución E.

Por último para obtener la solución de color, en fila F la fosfatasa alcalina unida reacciona con componentes cromogénicos y obtener un color en los puntos azul grisáceo, incubando por 10 minutos. Finalmente se regresan a la fila E para limpiar incubándose 1 minuto y se dejaron secar al aire libre.

El kit contiene un control positivo (IgG- anti *helicobacter pylori*), y un control negativo que fueron incluidos cada vez que se realizó la prueba.

Al término de esta, los dientes usados con el control positivo mostraron dos puntos de color azul grisáceo y los dientes usados con el control negativo mostraron un punto superior y un punto inferior ténue o la ausencia del mismo. El punto superior también apareció en los demás dientes, a fin de confirmar que las muestras fueron agregadas.

Procedimiento de la prueba.

Para el desarrollo de este método se utilizaron pipetas de precisión con puntas desechables con capacidad de 10, 25 y 100 µl, tijeras, cronometro o reloj y micro pocillos de dilución.

Preparación de la prueba.

Los reactivos y las muestras estuvieron listos para trabajar a temperatura ambiente (22 – 26°C).

Para la preparación de la bandeja de desarrollo.

La bandeja de desarrollo se incubó en una incubadora a 37°C por 20 min.

Se cubrió la mesa de trabajo con papel absorbente.

Los reactivos de la bandeja de desarrollo se mezclaron agitando suavemente.

Los niveles de anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* se midieron en el suero de los pacientes mediante el kit comercial de marca Immunocom II *H.pylori* (uso in Vitro, en el grupo de 102 pacientes de la comunidad de los Reyes Iztacala).

108 pruebas fueron realizadas; 3 de ellas para controles positivos, 3 para controles negativos y 102 a pacientes.

Para la preparación del peine: los dientes fueron tomados con guantes de látex.

Los empaques de aluminio se abrieron por un cotado para retirar los peines.

Se utilizaron todos los dientes para no seguir guardándolos unas ves ya abiertos.

Predilución de las muestras y controles.

Se tomaron 10 μ l de cada suero problema y se colocaron en 100 μ l de diluyente.

10 μ l de control (+) en 100 μ l de diluyente y 10 μ l de control (-) en 100 μ l de diluyente.

Después de las preparaciones se tomo 25 μ l de la mezcla de suero y 25 μ l de cada control para ser agregada a la bandeja de desarrollo como se indico en el kit.

Dentro de la bandeja con los pocillos (fig. 4) se agregaron 25 μ l de la muestra a la bandeja 1 de la fila A, una segunda muestra a la bandeja 2 de la fila A, una tercera a la bandeja 3 de la fila A y así sucesivamente hasta picar 10 muestras, se agrego un antígeno como control positivo en la bandeja 11 de la fila A y un control negativo en la bandeja 12 de la fila A cada uno con 25 μ l y los 100 μ l del diluyente para aplicar 25 μ l en los pocillos.

Se aplicó el peine para las 12 muestras con indicadores que hicieron reacción en la bandeja de desarrollo iniciando en la fila A y pasar por todas las demás.

Perforada la hilera de la fila A (fig 4) se introdujo el peine con las 12 tiras (fig 4) y se incubaron por 30 min.

La medición del kit tuvo 6 etapas (A;B;C;D;E;F) que son una reacción de conjugaciones con duración de 67 minutos para poder establecer su lectura semicuantitativa con respecto al método establecido.

En la fila B se lavaron las muestras por 2 minutos, para después meterlos a la fila C donde se realizó la unión del conjugado, esta mezcla duró 20 minutos. Luego de retirarlo se absorbió el líquido adherente.

El segundo lavado y tercer lavado de la fila D y E duró entre 4 y 5 minutos.

En la reacción de color que fue en la fila F se mezclaron las muestras y se dejaron por 10 minutos.

Detección de la reacción.

Se insertaron nuevamente las muestras en la fila E por un minuto para limpiar y se dejaron secar al aire por 2 minutos.

Numero de pacientes en la prueba.

108 pruebas fueron realizadas, de ellas 3 para controles positivos y 3 para controles negativos.

NOTA: Las bandejas de desarrollo se incubaron a 37°C por 20 min antes de trabajarlas ya que estaban en refrigeración como indica el kit.

Posteriormente para la Interpretación de los resultados se realizo una lectura visual donde los resultados fueron positivos si estos salieron igual o mayores en color al control positivo, además de teñir los dos puntos en cada peine, por lo que si fueron positivos se consulto al punto inferior de cada tira o prueba de los peines.

Para los que fueron negativos a la prueba, el colorante de la fila F (figura 4). Fue menos intenso que el control positivo, el punto inferior no tiño solo el punto superior siendo similar al control negativo en color (fig. 6).

Resultados de la prueba y validación.

Los resultados semicuantitativos fueron a través de la tarjeta Comb Scale proveniente del kit donde se obtuvo la ausencia o presencia de los anticuerpos por intensidad de color y se reportaron en U/ml, siendo así:

Baja si es ≤ 20 u/ml, Mediana de $40-80 \leq$ y Alta $120 \leq$ u/ml ó más.

Cuestionario Clínico

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____ Fecha: _____

Domicilio: _____

Ocupación: _____ TEL: _____

Tiene gastritis diagnosticada? Si _____ No _____

Desde cuando esta usted enfermo? _____

A que atribuye su padecimiento? _____

Cuales fueron las molestias que tuvo al principio? _____

Han continuado las molestias iguales? _____

Han aparecido otras molestias actualmente? Si / No Cuales _____

Usted padece de enfermedades? Si _____ No _____ Cuales _____

Cuántas veces come al día? _____ Come en la calle Si / No

Que acostumbra a comer? _____ Fuma _____ Toma _____

Siente molestias en el estomago al comer? _____

En caso que si, con que tipo de alimento? _____

Tiene eructos, agruras, acidez _____ Nauseas _____ Es afecto a los

Picantes _____

Se estresa mucho? _____

De donde es usted? (donde nació)

Viven sus padres _____

Tiene o tuvieron alguna enfermedad? Si NoCuál? _____

De que murieron? Cáncer, diabetes, vejes, etc. _____

En caso de tener gastritis ¿toma algún medicamento? _____ cual-----

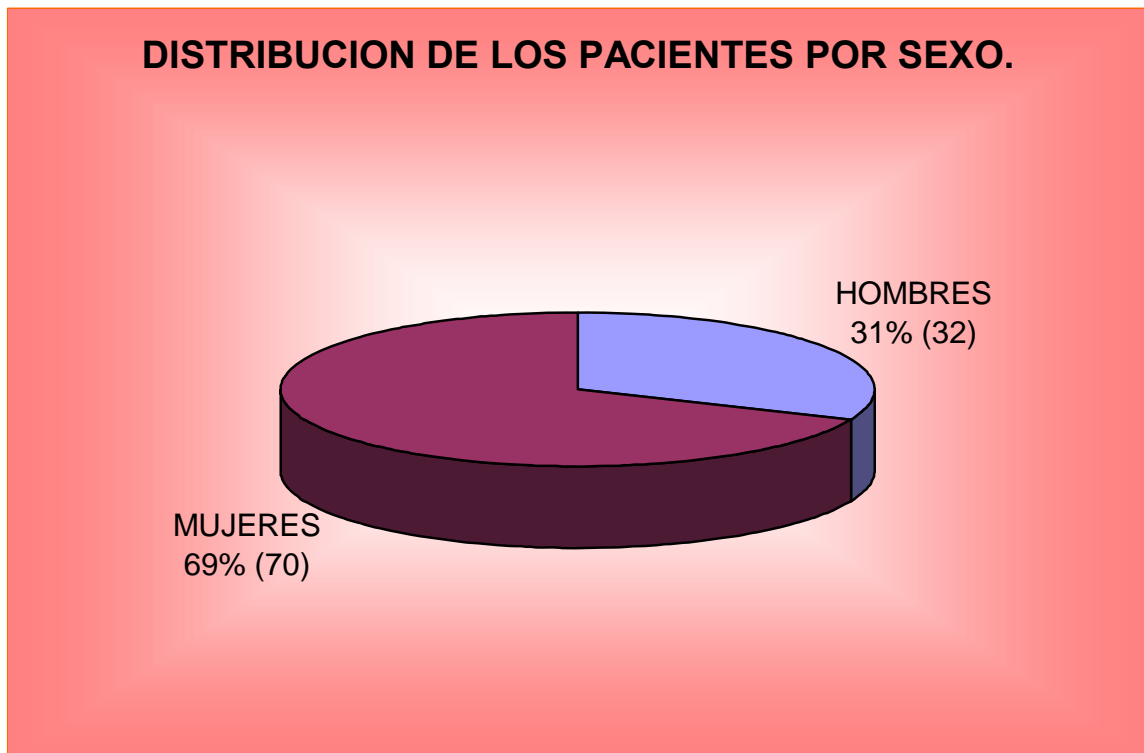
Nota: Algún antecedente clínico en su vida (operaciones, alergias etc). _____

Tabla de cuestionario 1.1

Resultados.

Pacientes analizados.

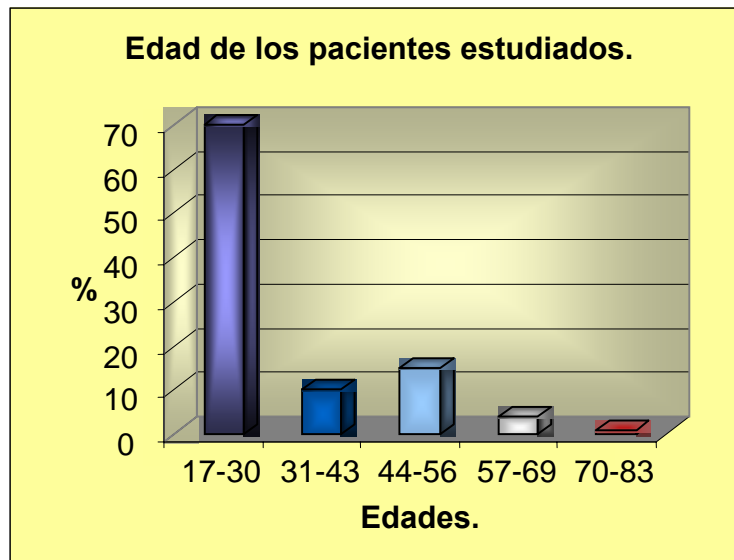
Para el desarrollo de este estudio se muestrearon sèricamente en el laboratorio de Análisis Clínicos de la CUSI un total de 102 pacientes con el diagnóstico de gastritis crónica. En la grafica 1 se aprecia que el 69% de los pacientes correspondió al sexo femenino y el 31% al sexo masculino.



Grafica 1. Porcentajes de los pacientes analizados en relación al sexo.

En la grafica 2 se aprecia que el 70% (72) de los pacientes estudiados se encontró comprendido en el rango de edad de 17 a 30 años, seguido del rango 31 a 43 años

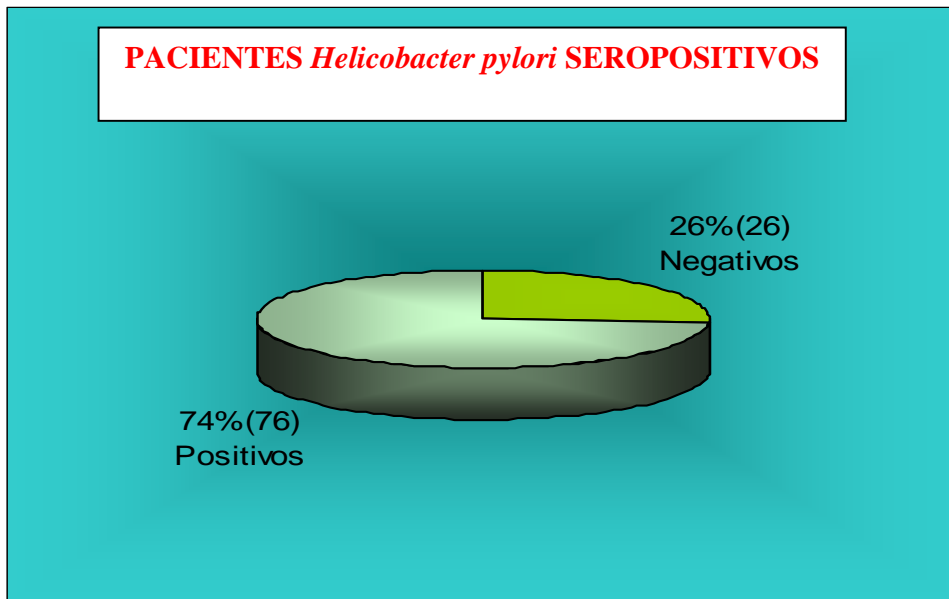
con 10% (10), el rango de 44 a 56 años con 15% (15), de 67 a 69 años con 4%(4) y finalmente el rango de 70 a 83 años con el 1% (1).



Grafica 2. Distribución de los pacientes por edad.

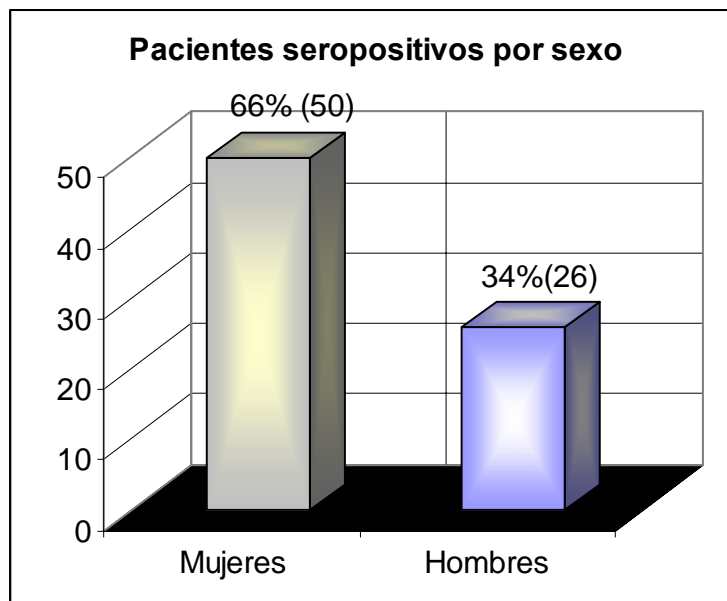
Detección de anticuerpos contra *H. pylori*

La grafica 3 nos muestra que el 74% (76) de los pacientes estudiados presentó anticuerpos contra *Helicobacter pylori*, mientras que el 28% (26) no presentó anticuerpos IgG contra la bacteria.



Grafica 3. Porcentaje de pacientes seropositivos y seronegativos.

En la gráfica cuatro se aprecia el 66% (50) con anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* fueron mujeres, mientras que 34% (26) fueron hombres.



Grafica 4. Porcentaje de pacientes con anticuerpos (IgG) contra *Helicobater pylori* con relación al sexo.

Detección y cuantificación semicuantitativa de anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* en los pacientes con gastritis crónica.

En la tabla 1. Se aprecia que el 47.3% (36) de los pacientes cuya edad se encontró entre 17 a 35 años, presentó niveles bajos de IgG contra *Helicobacter pylori* \geq a 20 u/ml, seguido por el 32.8% (25) con niveles moderados de 40 a 80 u/ml y por último el 19.7% (15) con concentraciones elevadas de >20 u/ml de IgG.

NUMERO DE PERSONAS	PORCENTAJE	VALOR	NIVELES DE (IgG)	EDADES
36	47.3%	≥ 20u/ml	BAJO	17-35 años
25	32.8%	40-80u/ml	MEDIANO	36-50 años
15	19.7%	> 120u/ml	ALTO	51-72 años

Tabla 1. Concentraciones de Inmunoglobulinas (IgG) en los pacientes *H. pylori* seropositivos.

En la tabla 2. Se aprecia que el 46% (35) de los pacientes seropositivos son originarios del D.F, seguido del 31.57 % (24) de los pacientes pertenecientes al Estado de México, 6.57% del estado de Hidalgo, 5.26% de Morelia Michoacán y del Edo. De Guanajuato, en cada caso, 3.94% del estado de Veracruz y el 1% del estado de Morelos.

ESTADO	PORCENTAJE	PACIENTES
D.F	46%	35
Edo México	31.57%	24
Hidalgo	6.57%	5
Morelia	5.26%	4
Guanajuato	5.26%	4
Veracruz	3.94%	3
Morelos	1.31%	1

Tabla 2. Lugar de origen de los pacientes seropositivos.

En la tabla 3 podemos observar que el 43.45% (33) de los pacientes seropositivos fueron estudiantes, el 17.1% (13) fueron amas de casa ó fueron empleados, en cada caso, mientras que el 11.87% (9) fueron profesionistas, 6.57% (5) dedicados al sector obrero y 3.94% (3) personas que se dedican al comercio.

OCUPACION	PORCENTAJE	PACIENTES
Estudiantes	43.45%	33
Hogar	17.10%	13
Empleados	17.10%	13
Profesionistas	11.84%	9
Obreros	6.57%	5
Comerciantes	3.94%	3

Tabla 3. Ocupación de los pacientes *Helicobacter pylori* seropositivos.

Comidas al día.		Donde acostumbran comer.		Que acostumbran comer.	
1 ó 2 veces	3 veces	En la calle	En casa	Grasas é irritantes ácidos.	Poca grasa ó comida balanceada
80%	20%	85%	15%	70%	30%

Tabla 4. Porcentaje de la alimentación de los pacientes seropositivos.

La tabla 4 nos muestran los porcentajes que presentan los pacientes seropositivos donde el 80% de los pacientes con IgG sericos comen una ó dos veces al día, mientras que el 20% si come tres veces al día. El 85% acostumbra a comer en la calle y el 15% lo hace en su casa, con respecto al tipo de alimento que consumen el 70% acostumbra a comer grasas é irritantes ácidos (tacos, tortas, quesadillas, refresco, etc.), el 30% pocas grasas (yogur, comida corrida, etc.).

Estrés		Toman medicamentos		Fuman		Toman	
Mucho	Poco	Si	no	Si	No	Si	No
88%	12%	75%	25%	74%	26%	66%	34%

Tabla 5. Porcentaje sobre el estrés, medicamentos y hábitos de los pacientes seropositivos.

En la tabla 5, podemos observar que 88% de los pacientes se estresa mucho y el 12% solo poco, el 75 % toma algún tipo de medicamento para el estomago y 25% no toma nada, 74% de ellos son fumadores y 26% no lo son, finalmente el 66% tienen el habito de tomar alguna bebida alcohólica y 34% no toman.

Discusión.

Pacientes analizados

Nosotros describimos que para el desarrollo de este estudio se seleccionaron un total de 102 pacientes con el diagnóstico de gastritis crónica, dentro de los cuales el 69% correspondió al sexo femenino y el 31% al sexo masculino, (figura 1) tal porcentaje sobre la mayoría en las mujeres es porque fueron las que asistieron más a la prueba ya que a muchos hombres des da pana ir al medio o analizar para alguna prueba sobre su salud. Los signos y síntomas de selección utilizados en este trabajo han sido previamente propuestos por el IMSS, (Camargo y cols 1994) y por la OMS, (Torres y cols 1994). Se ha reportado que la gastritis es un padecimiento muy común en la población mundial (Blazer, 1996). La organización mundial de la salud (OMS) ha determinado que los síntomas de la gastritis son; agruras, acidez, gases, eructos, mala digestión, sensación de dolor o vómito (Chelimski, 2004), de tal forma que la Agencia Internacional para la Investigación de cáncer ha reportado que cuando alguno de estos síntomas se prolonga por varios días se debe de hacer el diagnóstico diferencial de la gastritis (Torres y cols, 1994).

La gastritis en general se ha caracterizado por que los pacientes tienen sensaciones del tipo de estómago vacío, hambre frecuente, dolor en la boca del estómago, ardor, inflamación abdominal, sobre todo cuando se han adquirido alimentos irritantes (IMSS, 2006). La gastritis es un padecimiento que inicia en el estómago, cuya función principal es la de iniciar la digestión, produciendo jugos gástricos que digiere lo que ingerimos, para posteriormente empujarlo hacia el duodeno (primera parte del intestino delgado) donde continuará el proceso (Gram y cols, 1991). Ya dentro del estomago, las paredes internas se encuentran recubiertas por mucosa gástrica, que de llegar a inflamarse produce la gastritis (Olga silva, 2001). Se considera que las causas más frecuentes de esta inflamación son: el consumo fuerte de irritantes,

grasas, alcohol, también la sobreproducción del jugos gástricos o disminución de los mecanismos de defensa del estómago contra sus propios ácidos, el estrés puede ser un factor importante para activar o desatar la gastritis sin embargo el principal factor responsable de la gastritis es *Helicobacter pylori* (Brooks, 1994).

Helicobacter pylori

Como ya mencionamos en este trabajo se analizaron total de a 102 pacientes con el diagnóstico de gastritis crónica (figura 1). Si bien en este estudio no se identificó a *H.pylori* por lo métodos tradicionales endoscópicos (biopsias y cultivo bacteriano), no podemos descartar la probabilidad de que algunos de nuestros pacientes se encuentren infectados por esta bacteria, toda vez, que se ha reportado que *Helicobacter pylori* es considerado el patógeno gástrico más importante responsable de la gastritis crónica, úlcera péptica y del cáncer gástrico (Aguilar y cols 2001); (Uemura y cols 2001).

La Agencia Internacional de Investigaciones del Cáncer, una rama de la Organización Mundial de la Salud (OMS), definió a este microorganismo como carcinógeno tipo grupo 1, el rango de peligrosidad más alto otorgado a los agentes causantes del cáncer (Agencia Internacional para la Investigación de cáncer, 1994). Se estima que el 50% de la población a nivel mundial se encuentra infectada por *H. pylori* (Mitchell,1999), en donde la prevalencia de infección en países desarrollados varía del 19 al 57% y en los países en vías de desarrollo, este porcentaje se ve incrementado hasta el 80% (Hill, 1996). Recientemente se ha aceptado que la transmisión de *H. pylori* ocurre de persona a persona (Gooeman y cols, 2000), y se ha propuesto que factores como la edad, el bajo nivel socioeconómico y la higiene deficiente juegan un rol importante en la infección, (Torres y cols, 2003).

La patogenia de *H. pylori* se debe a factores de virulencia como: la producción de ureasa (codificada por 7 genes del cromosoma ureA a ureG), que le permite la adaptación al pH del estómago, mediante la hidrólisis de la urea, cuyos productos (amonio y carbamato) se descomponen para producir amonio y ácido carbónico, con lo cual neutraliza el microambiente de las glándulas gástricas colonizadas (Eaton y cols 1991).

El factor de adherencia (debido a adhesinas expresadas), el cual es esencial para la inducción de gastritis (Hessey y cols, 1990), y en donde las lesiones ocasionadas son de tipo adhesión-efacelación y se caracterizan por la pérdida de las microvellosidades del epitelio gástrico en el sitio de adhesión (Smoot y cols, 1993), y finalmente el gen *vacA* (vacuolization associated gen) expresa una toxina que provoca la formación de vacuolas en las células afectadas, donde dicha toxina se ha asociado epidemiológicamente con daños en los tejidos y úlceras pépticas (Cover y cols 1994), y *cagA* (cytotoxin associated gen) cuya presencia se relaciona con la expresión del gen *vacA* y por lo tanto con la toxigenicidad. Además el gen *cagA*, está presente sólo en las cepas aisladas de pacientes sintomáticos. En los países desarrollados el 60% de las cepas son *cagA+*; pero en los países subdesarrollados la proporción de *cagA+* se estima que es mayor (Phadnis y cols 1994).

Detección de anticuerpos contra *H. pylori*

En nuestro estudio nosotros reportamos que el 74% (76) de los pacientes estudiados presentó anticuerpos contra *Helicobacter pylori* (gráfica 3), principalmente en jóvenes (17-30 años, gráfica 2). Nuestros datos contrastan con lo reportado por (Camargo y cols, 2004) en un amplio estudio realizado en 5861 estudiantes (2296 hombres y 3565 mujeres) pertenecientes a 33 municipios en el Estado de Morelos. Estos autores detectaron que la seroprevalencia total fue del 47.6%; del 40.6% en preadolescentes (11-14 años), 48.6% en adolescentes (15-17 años) y 59.8% en adultos jóvenes (18-24

años). En otro estudio seroepidemiológico realizado en nuestro país (1997), en donde se trabajó, con un banco de suero representativo de la población de todos los estados de la Republica Mexicana (11,605 sueros) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años de edad, se encontró que el 20% de los niños ≤ 1 año de edad presentó anticuerpos contra *H.pylori* y que la seropositividad aumentó hasta un 50% en niños de 10 años de edad, lo que indicó que la infección por *H.pylori* se adquiere a edades tempranas y alcanza un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad (Torres y cols 1998).

En otro estudio en donde se evaluó la presencia de inmunoglobulinas en el jugo gástrico de 54 pacientes infectados con *H. pylori*. Se encontró a *H.pylori* en biopsias de 41/54 pacientes y en 25/41 se detectó IgG, en 27/41 IgA y 29/41 IgM. Estos autores concluyeron que el tratamiento con inhibidores de las bombas de protones reduce la secreción de ácido, por lo que aumenta el pH, lo cual favorece la inmunidad humoral. (Alexander y cols, en el 2002).

Debido a que las IgG representan el principal mecanismo de inmunidad contra HP, recientemente se realizó un estudio para establecer si la adquisición placentaria maternal de IgG contra Hp en un grupo de 65 mujeres infectadas, podría proteger a los infantes menores a 1 año de edad contra la infección por esta bacteria. Estos autores después de medir los niveles séricos de IgG contra Hp en los infantes, llegaron a la conclusión de que las IgG transplacentarias no protegían a los infantes contra la infección por *Helicobacter pylori* (James y cols, 2003).

De esta manera la detección de IgG contra Hp ha sido un método indirecto eficaz en la detección de infección por Hp, la cual ataca a la población de todo el urbe, por ejemplo, en un estudio realizado en 1906 pacientes pertenecientes 7 países (Japón,

China, Alemania, Tailandia, entre otros) (18 a 75 años), cuyo objetivo fue evaluar la patología geográfica de la gastritis por esta bacteria, se encontró una mayor prevalencia y severidad de la gastritis con relación a la edad (Yi Liu y cols , 2005).

Se ha reportado que en mas del 50% de la población mundial existe una asociación sérica de IgG con y *H.pylori* (Dubois, 1995; Figueroa, 1997; Sutton, 1998).

Nuestro estudio evidenció la existencia de una asociación entre la gastritis crónica y los niveles séricos de IgG, corroborando lo propuesto por (Loutit, 1998), quien relacionó la presencia de sérica de IgG con la infección por Hp.

Lugar de origen y ocupación de los pacientes.

En este estudio reportamos que los pacientes seropositivos fueron originarios de Michoacán, Cuernavaca, Hidalgo, Veracruz, D.F y el Estado de México (tabla 2). Se ha reportado que la presencia de *H.pylori* no es originaria de un hábitat o de una localidad (Gao y cols, 1996), como lo demuestra el amplio estudio seroepidemiológico realizado en 11,605 pacientes pertenecientes a la población de todos los estados de la República Mexicana, y en donde se evidenció que Hp se presentó en todos los estados de nuestro país, (Torres y cols, 1998).

Se ha reportado que la mayor parte de la población mundial adquiere a *Helicobacter pylori* desde la infancia, perdurando por muchos años e incluso toda la vida (Torres y cols, 1998), y que la prevalencia de Hp es más elevada en personas de las zonas rurales, en donde los factores como el estrés, la higiene, la alimentación, el contagio intrafamiliar etc., favorecen el contagio (EUROGAS, 1993).

En este trabajo nosotros mencionamos que el 43.45% (43) de los pacientes fueron estudiantes, seguido de empleados y personas que se dedican al hogar con 17.1%(13), en cada caso, 11.87%(9) profesionistas, 6.57%(5) obreros y 3.9% (3) al comercio (tabla 3). El hecho de encontrar los niveles séricos de IgG más elevados en los estudiantes, puede ser debido a que se ha reportado que la infección por Hp alcanza hasta un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad (Torres y cols, 1998).

Se ha reportado la higiene inadecuada, el estrés, la dieta, el nivel socioeconómico, entre otros, favorecen a la infección por Hp. (Gao y cols, 1996).

Por otro lado el 26% de los pacientes que no presentaron anticuerpos contra Hp y que presentaban cuadros de gastritis, nos hace suponer que probablemente la causa de este padecimiento pueda ser debido a otros factores a investigar.

Conclusiones

1. En este estudio detectamos que el 74% de los pacientes estudiados presentó anticuerpos contra *Helicobacter pylori*.
2. La mayoría de los pacientes seropositivos correspondió a mujeres jóvenes, principalmente estudiantes.
3. El 47.3% de los pacientes entre 17 a 35 años presentó niveles bajos de IgG contra *Helicobacter pylori*, el 32.8% niveles moderados y el 19.7% niveles elevados.
4. En este estudio se comprobó que la presencia de *Helicobacter pylori* se asoció con otros factores como los malos hábitos de higiene y el bajo nivel socioeconómico.
5. Los resultados mostraron que probablemente *Helicobacter pylori* es el responsable de la gastritis crónica en los pacientes seropositivos, por lo que es indispensable iniciar el tratamiento médico de estos pacientes, a fin de prevenir a tiempo el desarrollo de patologías más severas como las úlceras gástricas o duodenales ó el desarrollo de neoplasias.
6. Finalmente la causa de la gastritis crónica de los pacientes seronegativos puede deberse a otros factores a investigar.

Bibliografía.

Aguilar GR, Ayala G, Fierros-Zárate G. *Helicobacter pylori*: Recent advances in the study of its pathogenicity and prevention. Salud Pública Méx. 2001; 43:237-247.

Alexander Meining. The presence of immunoglobulins in the Gastric juice of patient infected with *Helicobacter pylori* is related to a reduced secretion of acid. Blackwell Publishing. Vol7 Num1. 2002.

Atherton JC, Peek RM, Tham KT, Pérez-Pérez GI, Blaser MJ. Quantitative culture of *Helicobacter pylori* in the gastric antrum: association of bacterial density with duodenal ulcer status and infection with *cagA* positive bacterial strains, and negative association with serum IgG levels. Am J Gastroenterol 1994; 89:1322.

Barer MR, Elliot TSJ, Berkeley D, Thomas JE, Eastham EJ. Intracellular vacuolization caused by the urease of *Helicobacter pylori*. J Infect Dis 1990; 161:1302-4.

Blaser MJ. Role of *vacA* and the *cagA* locus of *Helicobacter pylori* in human disease. Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 (suppl, 1):73-7.

Blaser M.J: Not all *Helicobacter pylori* strains are created equal: should all be eliminated? Lancet (1994); 349:1020-22

Blaser MJ. The bacteria behind ulcers. Sci Am 1996;92-7.

Bodger K, Crabtree JE. *Helicobacter pylori* and gastric inflammation. Br Med Bull 1998; 54:13950.

Brooks, G. Butel, J y Morse, S. 1999 Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Manual Moderno. México.

Camaro.M.Costanza,Lazcano-Ponce Eduardo,Torres Javier,Velasco-Mondragon Eduardo and Correa Pelayo. Determinants of *Helicobacter pylori* seroprevalence in Mexican adolescents. Blackwell Publishing. Vol12 Num5.2004.

Chelimsky, G.Blanchard,S.2004 *Helicobacter pylori*. In children and adolescents.Adolecet Medicine Clinics 15.

Cover TL, Cao P, Murthy UK, Sipple MS, Blasser MJ. Serum neutralizing antibody response to the vacuolating cytotoxin of *H pylori*. J Clin Invest 1992; 90:913-8.

Cover TL, Tummuru MKR, Cao P, Thompson SA, Blaser MJ. Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among *Helicobacter pylori* strains. J Biol Chem 1994; 269:1056-73.

Crowe SE, Alvarez L, Dytoc M, *et al*. Expression of interleukin 8 and CD54 by human gastric epithelium after *Helicobacter pylori* infection *in vitro*. Gastroenterology 1995; 108:656-74.

Eaton KA, Brooks CL, Morgan DR, Krakowka S. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. Infect Immun 1991; 59:2470-5.

Emody L, Carlsson A, Ljungh A, Wädstrom T. Mannose resistant haemagglutination by *Campylobacter* Gastroenterology 1995; 107:656-75

EUROGAS. Una asociación internacional entre infección por *Helicobacter pylori* y el cáncer gástrico. THE LANCET (Ed esp). Vol 23 Num 4. 1993.

Evans DG, Karjalainen TK, Evans DJ Jr, Graham DY. Characterization of gastric epithelial cell . Microbiol Rev 1989; 53:210-30.

Figueroa,G,;Acuña,R,;Troncoso,M,;Portell,D,Toledo,M,;Valensuela,J.1997.Helicobacter pylori in Chile. Clin infect dis 25(5): 983-989.

Figueroa;G,Guillermo.Troncoso,H,Miriam.Toledo;B,M,Soledad et al. Aplicación de serología para confirmar la erradicación de *Helicobacter pylori* en pacientes con úlcera péptica. Rev,med.chile,octubre.2000.Vol,128.Num10,pag.1119-1126.ISSN0034-9887.

Finlay BB, Falkow S. Common themes in microbial pathogenicity. Microbiol Rev 1989; 53:210-30.

Gao,S. y Moore,p.1996.Molecular approaches to the identification of Unculturable infectious Agents.Emerging Infectious Diseases 2(3): 159-167.

Gisbert, J.Parajes, J.2001.Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by Stool antigen determination.A systematic Review.The American Journal of Gastroenterology Vol 96 No 10.

Gitnick.1999. Diagnosis and Management of peptic Ulcer Disease. Second edition.professional Communications Inc.Fulfilment Center.Caddo,OK,USA.63 p.

Goodwin, S.,McConell, W., McCullough, R., McCullough,C.Hill, R., Kasper, G.,1989.Cellular fatty acid composition of *Campylobacter pylori* from primates and ferrets compared with those of other campylobacter.J.Clin.Microbiol.Vol.27.

Gooeman KJ, Correa OP. Transmission of *Helicobacter pylori* among siblings. *Lancet*. 2000;355:358-362; Morris Brown L. *Helicobacter pylori*. Epidemiological routes of transmisión. *Epidemiol Rev*. 2000;22:283-297.

Graham DY, Lew GM, Evans DJ, Jr Klein PD. Effect of triple therapy (antibiotic plus bismuth) on duodenal ulcer healing. *Ann Intern Med* 1991;115:266-9.

Grendel, J. McQuaid, K. 1997. Diagnóstico y tratamiento en gastroenterología. Manual moderno. México.

Guller, Derek, Wirz, A. Angela. *Helicobacter pylori* erradicación releases prolonged increased acid secretion following omeprazol treatment. *Gastroenterology*. Vol, 126. 2004. Number 4. p1980 to p988.

H.I. Maarros, T. Vuobjova, P. Sipponen & K. Villaco. An 18- Year and *Helicobacter pylori* Association of cagA positivity with Development of atrophy activity of Gastritis. Scandinavian University Press; 34:864-869. 1999.

Handt, L., Fox, J., Dewhirst, F, Fraser, G., Paster, B, Yan, L., Rozmiarek, H, Rufo, R. y Stalis, I. 1994. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implication *Infect Immunology*. Vol. 62

Harry, L. Mobley, G., Mendez, S. 2001. *Helicobacter pylori*. Physiology and genetics. ASM Press. USA

Hessey SJ, Spencer J and Wyatt JI. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter* associated chronic gastritis. *Gut*. 1990;31:134-8.

Helmans, K. y Borchard, F. 1995. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological and ultrastructural findings. *Gut*, 32:137-140.

Herrera, T. Acuña, M. Jara, R. Evolución del éxito de la terapia antibiótica para la erradicación de *Helicobacter pylori* mediante serología en pacientes con úlcera duodenal. *Journal*, (INTA), Chile, 1ra ed, 2003. pag 11-16.

<http://www.cfna.es/salud/anales/textos/vol21/suple2/suple2a.html>

Hill M. *Helicobacter pylori*: microbiology. *Eur Cancer Prev* 1996; *Prev* 29:4-5.

[Http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/AnatomiaPatologica/04Digestivo/4estomago1.html](http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/AnatomiaPatologica/04Digestivo/4estomago1.html)

Hodson, M.; Pantoja, H., Latorre, J., Vial, P., Henríquez, A., Wenger, J., Peña, A.; Siri, M., Guiraldes, E. 1995. *Helicobacter pylori*-associated Gastroduodenal disease in symptomatic Chilean children: diagnostic value of serological assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 21(3): 263-268

[Http://www.imss.gob.mx/nr/imss/dpm/dties/default.htm](http://www.imss.gob.mx/nr/imss/dpm/dties/default.htm) Duarte, I

Hu LT, Mobley HLT. Purification and N-terminal analysis of urease from *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1990; 58:992-8.

imbioc@imbiomed.com.mx

IMSS. 2003 Unidad de Medicina Gastrointestinal clínica, Región Norte. México, D.F. IMSS. 103 (supl).

International Agency for Research on Cancer. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* Lyon: JARG; 61:1994, 177-241.

Marshall DG, Dundon WG, Beesley SM, Smyth C J. 1998. *Helicobacter pylori* a Conundrum of Genetic Diversity. *Microbiol.* 144: 2925-2939.

James E.G.Bunn, Julian E. Thomas, Marilyn Harding, WAndrew and Lawrence T. Weaver. Placental acquisition of Maternal specific IgG and *Helicobacter pylori* colonization in infancy. Blackwell Publishing Ltd, 8, Num 5. 107-113. 2003.

Leunk RD, Johnson PT, David BC, Kraft WG, Morgan DR. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol* 1988; 26:93-9.

Louit, J. 1998. Using Molecular Techniques to Diagnose Infectious Diseases. *Infec Med* 12 (9):454-469.

Madsen JE, Vetvik, Aase S. *Helicobacter*-associated duodenitis and gastric metaplasia in duodenal ulcer patients. *APMIS* 1991; 99:997-1000.

Maeda M, Hidaka M, Nakamura A, Masaki H, Uozumi T. Cloning, sequencing, and expression of thermophilic *Bacillus sp* strain TB-90 urease gene complex in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1994; 176:432-42. 60.

Mai UEH, Pérez-Pérez GI, Wahl LM, Wahl SM, Blaser MJ, Smith PD. Soluble surface proteins from *Helicobacter pylori* activate monocytes/macrophages by lipopolysaccharide-independent mechanism. *J Clin Invest* 1991; 87:894-900.

Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for *O3-3*. *Med J Aust* 1985; 142: 436-439.

Marshall BJ. Estado actual de la infección por *Helicobacter pylori*. En: López-Brea, editor. *Helicobacter pylori*. Microbiología, clínica y tratamiento. Madrid: Mosby / Doyma, 1995: 11-22.

Mitchell HM. The epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Curr Top Microbio Inmunol* 1999; 241;11-30.

Mobley HLT. The Role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10 (suppl.):57-64.

.Mohar,A.C,Guarner,J.Goepfert,R.Sanchez;L,H.Alpherin,D.Personnet,J.Alta frecuencia de lesiones precursoras de cáncer gástrico asociadas a *Helicobacter pylori* y respuesta al tratamiento, en Chiapas Mexico.*Gac,med.Mex*;Vol,138.Num:5, 2002.

Muñoz, N. y Francheschi, S. Epidemiology of gastric cancer and perspectives for prevention. *Salud Publica de Mexico*.1997.Vol. 39

N.Bakos,BFeketc,Z.Proheszka,G.Fust,L.Kalabay.High prevalence of IgA and IgG antibodies to 19-KDa *Helicobacter pylori* – associated lipoprotein in chronic urticaria. Blackwell Publishing.Vol12. Num 5.2003.

Olga Silva medicinas .com.mx

Phadnis SH, Janson ID, Normark S, Westblom TU. Pathological significance and molecular characterization of the vacuolating toxin gene of *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun* 1994; 62:1557-65.

Phadnis SH, Janson ID, Normark S, Westblom TU. Pathological significance and molecular characterization of the vacuolating toxin gene of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun*. 1994; 62;1557-65.

Ramon,M.2001 frecuencia de infecciones parasitarias y microbianas en un grupo de pacientes clínicamente sanos de la comunidad de los reyes Iztacala. Tesis de licenciatura.U.N.A.M.FES-I.

[.Revista@salud.gob.mx,](mailto:Revista@salud.gob.mx)

Sharma SA, Tummuru MKR, Blaser M. Characterization of gastric epithelial cell IL-8 induction by *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1994; 89:A244.

.Smoot DT, Resau JH and Naab T. Adherence of *Helicobacter pylori* to cultured human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 1993; 61:350-5.

Sotton,F1998.Diagnosis of H.pylori Infection.Infect Med 15(5):331-336.

Suzuki M, Miura S, Soematsu M, *et al.* *Helicobacter pylori* associated ammonia production enhances neutrophil-dependent gastric mucosal cell injury. Am J Physiol 1992; 263:G719-25.

Taylor NS, Hasubski AT, Fox JG, Lee A. Haemagglutination profiles of *Helicobacter pylori* species that causes gastritis in man and animals. J Med Microbiol 1992; 37:299-303.

Torres J, Pérez-Pérez G, Goodman KJ. Comprehensive review of the natural history of *Helicobacter pylori* infection in children. *Arch Med Res.* 2003;31:431-439.

Torres J,Leal-Herrera y, Perez-Perez G, Gomez A, Camorlinga-Ponce M, Cedillo-Rivera R,Tapia-Conyer R,Muños O.1996.A Community-Based seroepidemiologic Study of *Helicobacter pylori* Infection in México. J Infect Dis.178: 1089-1094.

Traversa,F,R.Hernandez;F. Factores de virulencia patología y diagnostico.Rev,biom.costarrica.2000;11:187-205.

Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Taniyama K, Sasaki N, Schlemper RJ. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med*. 2001;345:784-789.

Valdez, S.1988.Desarrollo de un método Dot-ELISA para la detección de anticuerpos en amibiasis.Tesis de licenciatura.U.N.A.M. FES-I.

Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275.

[www.gastroenterologe.de/ patient/erkrankungen/...](http://www.gastroenterologe.de/patient/erkrankungen/...)

