



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MEXICO

CAMPUS CHAPULTEPEC
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
INCORPORADA A LA U.N.A.M

“Estudio bacteriológico de
Helicobacter pylori y su
implicación en la patología
gastrointestinal”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A
EDITH FLORES VELÁZQUEZ

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. VÍCTOR MANUEL SÁNCHEZ HIDALGO



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente	M. en C. Eduardo del Rey Pineda
Vocal	M. en C. Víctor Manuel Sánchez Hidalgo
Secretario	M. en C. Juan Antonio Jiménez Scherer
1er Suplente	Q.F.B. Javier Araiza Santibáñez
2do Suplente	Q.F.B. Gerardo García Camacho

M. en C. Víctor Manuel Sánchez Hidalgo
Director de Tesis

Edith Flores Velázquez
Sustentante

DEDICATORIA

Me resulta difícil poder expresar lo que se siente llegar, se que a partir de aquí es donde realmente comienza, pero el primer paso era llegar.

El presente trabajo resume años de grandes esfuerzos que dejan muchas satisfacciones.

Mamá, se que sin tu apoyo me hubiese resultado mucho muy difícil, por no decir imposible, gracias por compartir conmigo cada paso en este gran proyecto de mi vida. Gracias por siempre estar presente.

Papá, ¿sabes que tú deseo me trajo hasta aquí?. Gracias por tu insistente recomendación, gracias porque siempre has tenido palabras para el corazón.

Heri, gracias por compartir conmigo este tiempo, gracias por hacerte parte de esto, por tu apoyo incondicional, gracias por estar aquí.

Marquis, te quiero, gracias por tus: ¡Puedo ver como haces tu trabajo!

Isa y Manuel, gracias por su apoyo a distancia y por su patrocinio del instrumento tecnológico.

Abuelita, no tengo palabras, mil gracias, por tus oraciones, por tus consejos, por la bendición que eres en mi vida.

A dos personas que caminaron junto a mi, cada quien de diferente manera, por algún motivo ya no está o ya no está cerca, pero me enseñaron a conocer más de mi, me enseñaron el significado de la amistad y el amor de la manera que va más haya del entendimiento, que me enseñaron que a pesar de las tormentas, aún existen azules tranquilos en la mar...

Edith

AGRADECIMIENTO

Mi Jesús gracias por la bendición de ver cada amanecer junto a ti. Gracias por este hermoso privilegio, gracias por permitirme llegar.

Prof. Víctor Manuel, si pudiera encontrar el inicio y el final sabría por donde empezar, solo puedo decirle que estoy profundamente agradecida con usted, por ser el guía, por su dedicación, por su tiempo y ¿Por qué no? Por su infinita paciencia. Gracias por su conocimiento, por coincidir, por permitirme conocerlo y por ayudarme a llegar. Toda mi admiración para usted. Lo voy a extrañar.

Prof. Eduardo, Prof. Juan Antonio, Prof. Javier y Prof. Gerardo, gracias por tomarse el tiempo, gracias por aceptar ser parte de este trabajo. Gracias por transmitir sus conocimientos y compartir de sus experiencias. Mi reconocimiento y gratitud a todos y cada uno.

Chayito, Darinel y Nutrición ¡No me olvido!

Sandra, gracias por tu consejo sabio, por tu experiencia e insistencia. Por tu preocupación para que todo saliera mejor, gracias por tu orientación. Gracias por permitirme compartir contigo el final.

A mi familia, gracias a todos, son parte importante para mi. A mi familia en Cristo. Carnalito, gracias por ser esa alma gemela, a tu hermosa familia por ser parte de mi gente, gracias por ese amor totalmente correspondido.

Erika, gracias por compartir conmigo esos 4 ½ que parecían no terminar.

Gracias a todas las personas que Dios a puesto en mi camino, que son especiales por estar ahí, gracias por escucharme, gracias por compartir conmigo.

Se que al final este es el resultado de la suma de muchos esfuerzos, así que no me queda más que decir sino un profundo ¡Gracias!

Edith

INDICE

	Página
Planteamiento, Objetivos y Justificación	
1. Introducción.....	1
1.1 Reseña histórica	
1.2 De <i>Campylobacter</i> a <i>Helicobacter</i>	
1.3 Importancia de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	
2. Clasificación.....	7
2.1 Manual de Bergey	
2.2 Reino <i>Procarionte</i>	
2.3 Características más usuales para clasificar a las bacterias	
2.4 Clasificación bacteriana	
2.5 Taxonomía	
3. Características morfológicas, tintoriales e identificación.....	22
3.1 <i>Campylobacterias</i>	
3.2 Características morfológicas de <i>Helicobacter pylori</i>	
3.3 Características tintoriales de <i>Helicobacter pylori</i>	
3.4 Identificación	
4. Cultivo y características de crecimiento.....	30
4.1 Cultivo	
4.2 Características de cultivo	
4.3 Técnicas de aislamiento e identificación	
4.4 Resistencia	
4.5 Metabolismo	
5. Estructura antigénica.....	40
5.1 Distribución de <i>Helicobacter pylori</i>	
5.2 Características de virulencia	
5.3 Implicación de <i>Helicobacter pylori</i> en el proceso de apoptosis	
5.4 <i>Helicobacter pylori</i> y la enfermedad ulceró péptica	
5.5 De la enfermedad ulcerosa al cáncer gástrico	
6. Pruebas diagnósticas de laboratorio.....	50
6.1 Diagnóstico	
6.2 Métodos directos agresivos	
6.3 Métodos directos no agresivos	
6.4 Métodos indirectos agresivos	

6.5	Métodos indirectos no agresivos	
6.6	Pruebas de sensibilidad a antimicrobianos	
7.	Patogenia y patología	60
7.1	Concepto general de inmunidad	
7.2	Patogenicidad microbiana	
7.3	Resultados de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	
7.4	Características clínicas de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	
8.	Epidemiología, control y tratamiento	73
8.1	Epidemiología	
8.2	Prevalencia de la infección	
8.3	Historia natural de la infección	
8.4	Transmisión de <i>Helicobacter pylori</i>	
8.5	Evidencias de la transmisión gastro – oral	
8.6	Evidencias de la transmisión oro – fecal	
8.7	Tratamiento	
9.	Referencias Bibliograficas	85
10.	Apéndice	

PLANTEAMIENTO

El presente trabajo está dirigido a la recopilación de información acerca de una bacteria pleomórfica que en los últimos 12 años ha tomado gran importancia, pues ha demostrado ser el agente causal de la úlcera duodenal y otras patologías gástricas, además de haber tomado ya un lugar sumamente importante y trascendente para los profesionales de la salud dedicados al estudio, diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad gastroduodenal y otras patologías.

Por el aumento notable de información sobre la diversidad de estudios que han surgido de *Helicobacter pylori*, existe la necesidad de elaborar una síntesis sobre las características bacteriológicas y patogenicidad, por lo que consideré necesario conjuntar en una investigación bibliográfica, los hallazgos y el conocimiento que han arrojado los diversos trabajos de investigación sobre esta singular bacteria, y que este trabajo se convierta en una guía y fuente de consulta para los profesionales y estudiantes de las ciencias biológicas que tengan un especial interés sobre *Helicobacter pylori*.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En mi inquietud por conocer con más profundidad sobre el conocimiento científico, junto con los motivos que describo a continuación, me estimularon a investigar las características bacteriológicas "*sui generis*" de *Helicobacter pylori*.

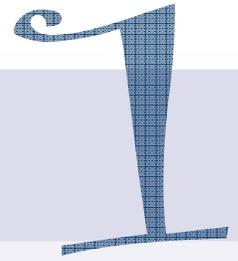
Un primera motivación para abordar esta investigación fue, que durante una etapa de mi vida familiar, dos de mis seres queridos, se vieron afectados por una enfermedad gastrointestinal, que aún en manos de médicos especialistas, fue difícil de establecer su diagnóstico, lográndose determinar al agente patógeno, como *Helicobacter pylori*, después de un tiempo de la aplicación y desarrollo de diversos procedimientos de laboratorio y estudios clínicos.

Posteriormente, el interés que surgió durante mi formación profesional, fue al abordar el estudio bacteriológico de *H. pylori*, sus características estructurales, morfológicas, metabólicas, cultivo e identificación, entre otras, las cuales observé que establecen una diferencia notable entre el estudio de esta bacteria patógena gastroduodenal, con respecto a los procesos microbiológicos comunes y afines al diagnóstico bacteriológico, que son utilizados en el estudio de otros grupos de bacterias patógenas.

Otros estudios importantes que me motivaron a desarrollar esta investigación son: que desde el punto de vista epidemiológico, se ha descrito que *H. pylori* tiene una distribución mundial, que en países en vías de desarrollo como México, las malas condiciones higiénicas pueden ser un factor predisponente para la infección por este microorganismo y sobre todo, uno de los aspectos más importantes en la patología humana, por el daño que causa esta bacteria en la invasión y colonización de la mucosa gástrica, es que, en pacientes con gastritis crónica, *H. pylori* al estimular la proliferación celular y factores de crecimiento, junto con un incremento del índice de mutación del DNA de la mucosa gástrica infectada, puede influenciar su evolución hacia un carcinoma gástrico.

Los objetivos del presente trabajo de investigación fueron:

- ❖ Recopilar y analizar la información de diversas fuentes bibliográficas haciendo énfasis en la información de los últimos diez años.
- ❖ Elaborar un documento, a manera de monografía, que sea fuente de difusión de los aspectos más sobresalientes sobre las características microbiológicas y metabólicas, de estudios diagnósticos de laboratorio, de los aspectos inmunológicos, de estudios epidemiológicos, mecanismos de invasión y establecimiento de la gastritis o úlcera duodenal, y los hallazgos que avalan la posible evolución hacia algún tipo de carcinoma gastroduodenal, en el humano.
- ❖ Se pretende proveer a profesionales, estudiantes o personas interesadas en *Helicobacter pylori*, una herramienta de consulta para un mejor conocimiento de las características de la bacteria.



Introducción



1. Introducción

1.1 Reseña histórica

1.2 De Campylobacter a Helicobacter

1.3 Importancia de la infección por Helicobacter pylori



1. INTRODUCCION

Desde los albores del siglo XXI, la infección por *Helicobacter pylori*, sigue siendo desde su descubrimiento por los médicos australianos Barry Marshall y Robin Warren (Figura 1) en 1982, uno de los fenómenos científicos de mayor envergadura de la literatura biomédica mundial, desde el momento en que ellos lograron su cultivo a partir de una biopsia gástrica.

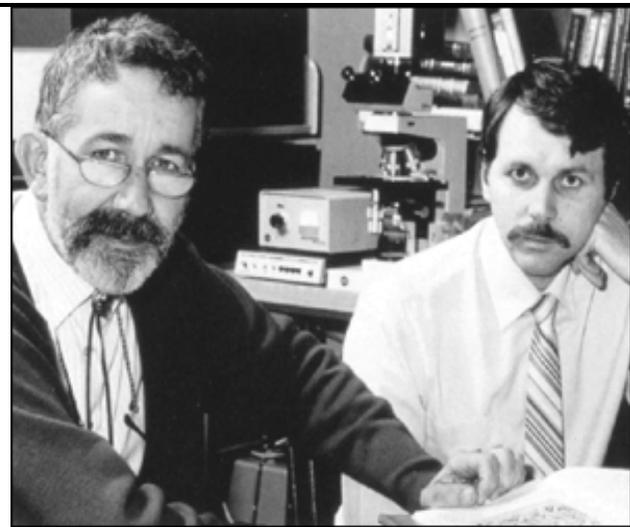


Figura 1 Robin Warren (izquierda) y Barry Marshall en su laboratorio de Perth, Australia a mediados de los años 80¹.

Desde un principio, esta bacteria Gram negativa ha provocado un profundo interés entre bacteriólogos, gastroenterólogos, especialistas en enfermedades contagiosas, biólogos estudiosos del cáncer, epidemiólogos, patólogos y científicos farmacéuticos.

La posibilidad de que una bacteria fuese el agente patógeno que causara la gastritis, las úlceras pépticas, y con el tiempo, la aparición de un cáncer, era un reto difícil de demostrar; por lo que, para convencer a sus colegas y al mundo científico, Barry Marshall bebió una suspensión de *Helicobacter pylori* y con ello demostró y validó uno

de los principios, de los postulados establecidos por Koch, sobre la patología bacteriana; en este caso específico, para la gastritis, y así confirmo la hipótesis, de que esta bacteria es el agente etiológico de estos padecimientos gástricos¹.

A partir de la confirmación del agente patógeno, el diagnóstico y el tratamiento de esta enfermedad gastroduodenal ha cambiado drásticamente. La enfermedad de la úlcera péptica, actualmente se considera como una enfermedad de tipo contagiosa, en la que la eliminación del agente etiológico, es la cura.

Ante las evidencias que se acumulan día con día, se incrementa el consenso de reconocer cada vez más, la importancia que la infección por *Helicobacter pylori* tiene sobre el desarrollo del cáncer gástrico, además de evaluar también la posible acción patógena que esta bacteria puede generar en otras enfermedades del tracto gastrointestinal. Otra investigación, es la evaluación de las terapias antimicrobianas, ya que hasta el 2002, aun no se cuenta con alguna que sea efectiva².

1.1 Reseña histórica

A finales del siglo XIX Bizzozero describió la presencia de bacterias espirales en el estómago de perros y gatos; sin embargo, no adquirió verdadera importancia hasta que se cultivó *Helicobacter pylori*, en Australia en 1982, a partir de muestras de mucosa gástrica de pacientes con úlcera y gastritis. Desde 1989, se le considera la especie tipo de un nuevo género, *Helicobacter* en el que existen al menos otras 19 especies.

La presencia de bacterias espirales en el estómago humano fue descrita por primera vez por Kreinitz en 1906. Sin embargo, no fue sino hasta inicios de los años 80's cuando Robin Warren redescubrió el germen y estableció por primera vez su relación con la inflamación gástrica y la úlcera. Robin Warren animó a Barry Marshall a intentar aislar la bacteria. Los intentos de cultivar la bacteria resultaron infructuosos hasta que, casualmente, los frascos de cultivo de la biopsia número 35 quedaron olvidados durante las vacaciones de Semana Santa de 1982; al regresar de vacaciones, Marshall observó la presencia de unas bacterias en cultivo que no se correspondían con ninguna especie

conocida. Había aislado por primera vez *Helicobacter pylori*, sin duda, uno de los descubrimientos más importantes en Medicina en los últimos 25 años³.

A pesar de que muchos reportes en la literatura, anteriores a este suceso, informaron de la presencia de bacterias en forma de espiral, ninguno estableció la correlación de esta bacteria como agente patógeno con la enfermedad gastroduodenal.

Debe tenerse presente que inicialmente *H. pylori* fue denominado como *Campylobacter pyloridis* y luego *Campylobacter pylori* antes de nombrarlo como *Helicobacter pylori* en 1989; la literatura científica tiene pruebas del gran interés en *Helicobacter* por la frecuencia de artículos de investigación que han sido publicados sobre este microorganismo como se muestra en la Figura 2.

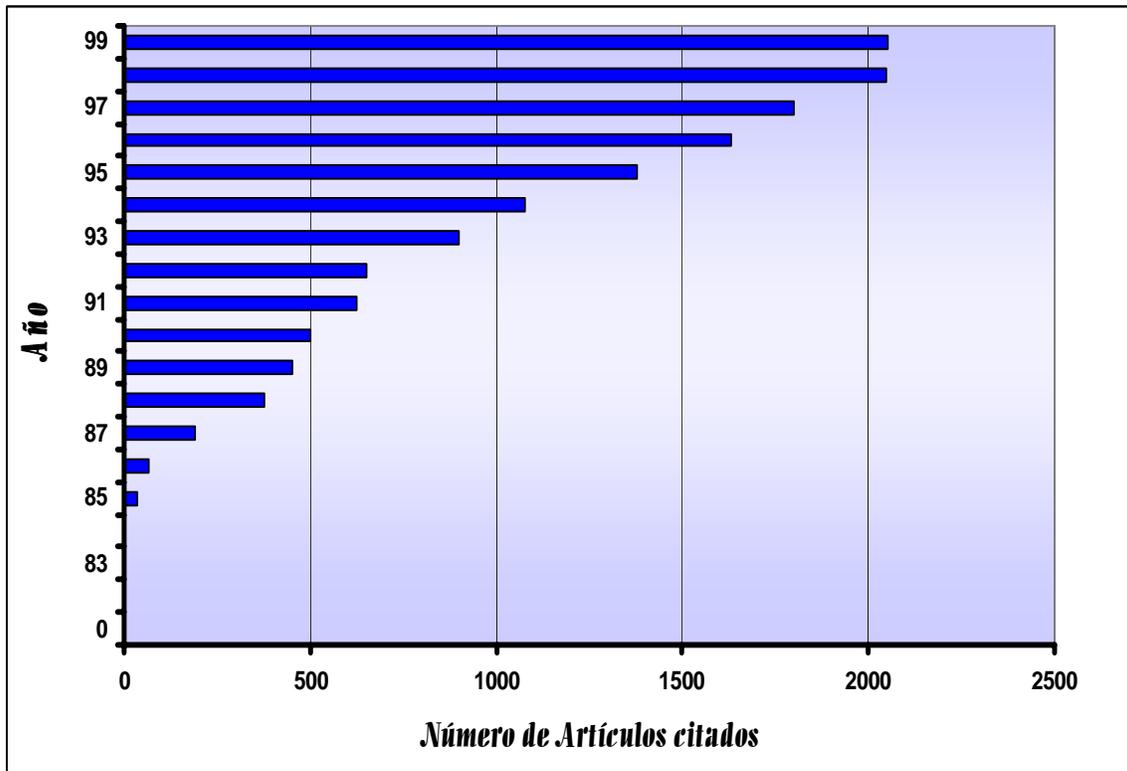


Figura 2 Artículos sobre *Helicobacter pylori* citados en Medline desde su cultivo. La base de datos del Medline se investigó de acuerdo a las palabras claves utilizadas como "*Campylobacter pyloridis*", "*Campylobacter pylori*" y "*Helicobacter pylori*". El número total de artículos citados para las tres categorías se muestra por años. En 1999, fue el último año en el cual existió una base de datos completa, 2091 artículos fueron publicados sobre este tópico¹.

El número de artículos cada vez fue incrementándose cambiando las palabras claves de *Campylobacter pyloridis*, a *C. pylori* hasta *Helicobacter pylori*. De 1997 al 2000, hubo más artículos publicado sobre *Helicobacter* que sobre *Salmonella* y *Bacillus*, y el número de estudios divulgados fue comparable a los de *Staphylococcus* y *Mycobacterium*, que estaban por debajo de *Escherichia coli*, la especie bacteriana más citada.

El descubrimiento de que *H. pylori* estaba implicado en diferentes patologías gástricas, ha supuesto un cambio conceptual, ya que es la primera vez que una bacteria se considera como causante de un proceso gástrico el cual era tratado de forma paliativa pero no curativa¹.

1. 2 De *Campylobacter* a *Helicobacter*

En los primeros estudios realizados con esta bacteria, se pensó que podía ser una nueva especie dentro del género *Campylobacter* por su aspecto en la tinción de Gram y su requerimiento microaerofílico, aunque presentaba ciertas características atípicas. Sin embargo, los estudios genómicos modernos, especialmente el análisis de secuencias del ácido ribonucleico ribosomal 16S (ARNr), permitieron demostrar que *Campylobacter* y *Helicobacter* eran dos géneros diferentes.



Figura 3 Imagen de *Campylobacter jejuni* en tinción de Gram³

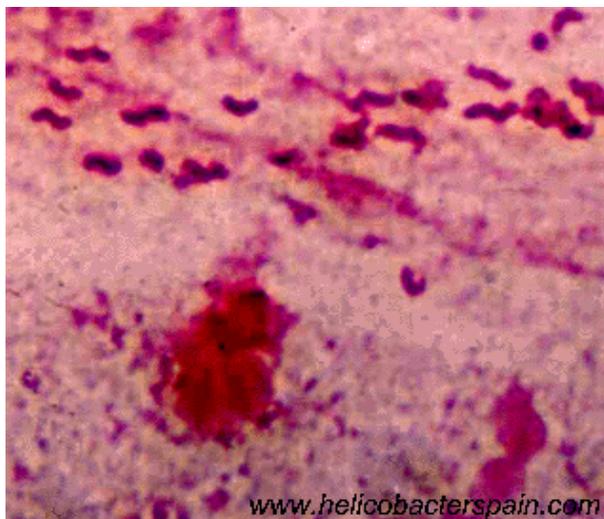


Figura 4 Imagen de *Helicobacter pylori* en tinción de Gram³

1. 3 Importancia de la infección por *H. pylori*

Helicobacter pylori es un bacilo Gram negativo curvado que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano y que se ha asociado con diferentes enfermedades digestivas.

La implicación de estas bacterias en la gastritis crónica activa, su asociación con la úlcera gastroduodenal y su inclusión por parte de la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer de la Organización Mundial de la Salud (IARC) en 1994 colocó a *Helicobacter pylori* entre los agentes carcinógenos tipo 1, lo que ha convertido a la bacteria en uno de los microorganismos de mayor interés en patología humana³.



Clasificación



2.1 *Manual de Bergey*

2.2 *Reino Procariote*

2.3 *Características más usuales para clasificar a las bacterias*

2.3.1 *Genoma bacteriano*

2.3.2 *Características del cromosoma bacteriano*

2.3.2.1 *Secuencia genómica*

2.4 *Clasificación bacteriana*

2.4.1 *Clasificación de bacterias patógenas para el hombre*

2.4.1.1 *Eubacterias Gram negativas con pared celular*

2.4.1.2 *Eubacterias Gram negativas no fototróficas. Con pared celular*

2.5 *Taxonomía*



2.1 MANUAL DE BERGEY

El **Manual de Bergey** es la referencia primaria para describir las características bacterianas; actualmente existen dos versiones de este Manual, el **Manual de Bergey de Bacteriología Determinativa** (9ª. Edición en 1994), el cual es un sólo volumen de referencia dedicado exclusivamente a la identificación bacteriana y el **Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática** que es un compendio de cuatro volúmenes que contiene una información descriptiva más detallada, y es útil para la clasificación de las bacterias. La segunda edición del primer volumen del *Manual Bergey de Bacteriología Sistemática* fue publicada en el verano del 2001⁴.

El **Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática**, es la autoridad reconocida sobre la taxonomía bacteriana, dividido en cuatro volúmenes, donde cada volumen contiene varias secciones y cada sección contiene varios géneros relacionados. Brevemente, el contenido de cada volumen es el siguiente:

Volumen 1 (1984). Bacterias gram negativas de importancia médica y comercial: espiroquetas, espirilos y bacterias curvas, bacilos gram negativos aeróbicos y aeróbicos facultativos, anaerobios obligados, cocos gram negativos, aerobios y anaerobios, bacterias reductoras de sulfato y de azufre, rickettsias y clamidias, micoplasmas.

Volumen II (1986). Bacterias gram positivas de importancia médica y comercial: cocos gram positivos, formadores y no formadores de esporas, micobacterias y actinomicetos no filamentosos.

Volumen III (1989). Bacterias gram negativas restantes: bacterias deslizantes, fototróficas, cubiertas, formadoras de yemas y apendiculadas; cianobacterias; bacterias litotróficas y las arqueobacterias.

Volumen IV (1989). Actinomicetos filamentosos y bacterias relacionadas⁴.

En el *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática*, la lista detallada de los géneros, es la siguiente⁴:

<p>Volumen I</p> <p>SECCION 1</p> <p>Las espiroquetas</p> <p>Orden I: Spiroquetales</p> <p>Familia I: Spirochaetaceae</p> <p>Género I: <i>Spirochaeta</i></p> <p>Género II: <i>Cristispira</i></p> <p>Género III: <i>Treponema</i></p> <p>Género IV: <i>Borrelia</i></p> <p>Familia II: Leptospiraceae</p> <p>Género: <i>Leptospira</i></p> <p>Otros organismos</p> <p>Espiroquetas del intestino posterior de termitas y <i>Cryptocercus punctulatus</i></p> <p>SECCION 2</p> <p>Bacterias aeróbicas microaerófilicas, móviles, helicoidales / vibrioides Gram negativas</p> <p>Género: <i>Aquaspirillum</i></p> <p>Género: <i>Spirillum</i></p> <p>Género: <i>Azospirillum</i></p> <p>Género: <i>Oceanospirillum</i></p> <p>Género: <i>Campylobacter</i></p> <p>Género: <i>Bdellovibrio</i></p> <p>Género: <i>Vampirovibrio</i></p>	<p>SECCION 3</p> <p>Bacterias no móviles (o raramente móviles), Gram negativos, curvas</p> <p>Familia I: Spirosomaceae</p> <p>Género: <i>Spirosoma</i></p> <p>Género: <i>Runella</i></p> <p>Género: <i>Flecotobacillus</i></p> <p>Otros géneros</p> <p>Género: <i>Mycrocyclus</i></p> <p>Género: <i>Meniscos</i></p> <p>Género: <i>Barchyarcus</i></p> <p>Género: <i>Pelosigma</i></p> <p>SECCION 4</p> <p>Bacilos y cocos Gram negativos aeróbicos</p> <p>Familia I: <i>Pseudomonadaceae</i></p> <p>Género: <i>Pseudomonas</i></p> <p>Género: <i>Xanthomonas</i></p> <p>Género: <i>Frateuria</i></p> <p>Género: <i>Zooglea</i></p> <p>Familia II: <i>Azotobacteraceae</i></p> <p>Género: <i>Azotobacter</i></p> <p>Género: <i>Azomonas</i></p> <p>Familia III: <i>Rhizobiaceae</i></p> <p>Género: <i>Rhizobium</i></p> <p>Género: <i>Bradyrhizobium</i></p> <p>Género: <i>Agrobacterium</i></p> <p>Género: <i>Philobacterium</i></p> <p>Familia IV: <i>Methylococcaceae</i></p> <p>Género: <i>Methylococcus</i></p> <p>Género: <i>Methylomonas</i></p>	<p>Familia V: <i>Halobacteriaceae</i></p> <p>Género: <i>Halobacterium</i></p> <p>Género: <i>Halococcus</i></p> <p>Familia VI: <i>Acetobacteraceae</i></p> <p>Género: <i>Acetobacter</i></p> <p>Género: <i>Gluconobacter</i></p> <p>Familia VII: <i>Legionellaceae</i></p> <p>Género: <i>Legionella</i></p> <p>Familia VIII: <i>Neisseriaceae</i></p> <p>Género: <i>Neisseria</i></p> <p>Género: <i>Moraxella</i></p> <p>Género: <i>Acinetobacter</i></p> <p>Género: <i>Kingella</i></p> <p>Otros géneros</p> <p>Género: <i>Beijerinckia</i></p> <p>Género: <i>Ferxia</i></p> <p>Género: <i>Xanthobacter</i></p> <p>Género: <i>Thermus</i></p> <p>Género: <i>Halomonas</i></p> <p>Género: <i>Alteromonas</i></p> <p>Género: <i>Flavobacterium</i></p> <p>Género: <i>Alcaligenes</i></p> <p>Género: <i>Serpens</i></p> <p>Género: <i>Janthinobacterium</i></p> <p>Género: <i>Brucella</i></p> <p>Género: <i>Bordetella</i></p> <p>Género: <i>Francisella</i></p> <p>Género: <i>Lampropedia</i></p>
--	---	--

2.2 REINO *Procaryotae*

El reino *Procaryotae* está dividido en cuatro categorías: (I) *Eubacterias* Gram negativas con pared celular, (II) *Eubacterias* Gram positivas con pared celular, (III) *Eubacterias* sin pared celular y (IV) *Arqueobacterias*, (Figura 5). Actualmente, a toda bacteria se le asigna un género y una especie⁵.

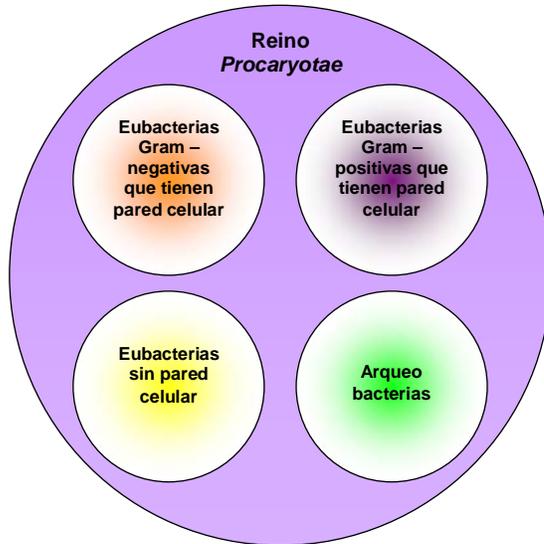


Figura 5 El reino *Procaryotae* está dividido en cuatro categorías definidas, según la estructura de la pared celular. La mayoría de las bacterias son Gram negativas con pared formada por multicapas con una capa fina de peptidoglicanos. Típicamente, las bacterias Gram positivas tienen la pared formada por una capa gruesa de péptidoglicanos. Las bacterias que carecen de pared celular, son llamadas micoplasmas; y las arqueobacterias tienen la pared con un polipéptido semejante a un péptidoglicano, pero carecen del ácido murámico⁵.

- ★ Categoría I: *Eubacterias* Gram negativas con pared celular. Agrupa a todas las bacterias que presentan una pared celular con multicapas, que además contiene una capa delgada de péptidoglicanos, la cual se localiza entre la membrana citoplásmica y la pared celular. (El término *eubacteria* significa “bacteria verdadera”, el cual distingue a estas células procariontas, de las arqueobacterias, que se clasifican en el dominio *Archae*).
- ★ Categoría II: *Eubacterias* Gram positivas con pared celular. Contiene a las bacterias con una pared celular, que muestra una capa gruesa compuesta principalmente por péptidoglicanos.
- ★ Categoría III: *Eubacterias* sin pared celular. Contiene a todas las bacterias que carecen de pared celular. Estas bacterias típicas son flexibles y carecen de una morfología definida. Las bacterias en esta categoría comúnmente son llamadas **micoplasmas**.

- ★ Categoría IV: *Arqueobacterias*. Agrupa a las bacterias que no contienen al típico péptidoglicano, ya que este carece del ácido murámico; es decir, no hay NAM (ácido N-acetilmurámico) incorporado hacia la molécula semejante al péptidoglicano en su pared celular. La taxonomía microbiana se encuentra nuevamente en un estado de cambio, estableciendo las razones por las que estas bacterias se ubican en la categoría IV. Las bacterias en esta categoría son llamadas **arqueobacterias**, ya que cuando fueron descubiertas, se pensó que eran los antepasados primitivos de las bacterias. Hoy en día, se cree que representa a sólo una de las tres líneas de la evolución, dando lugar a las **arqueobacterias** actuales. El concepto del dominio de taxonomía ha sido propuesto para reflejar este acontecimiento evolutivo⁵.

2.3 CARACTERISTICAS MAS USUALES PARA CLASIFICAR A LAS BACTERIAS

De las características enumeradas, la más importante para su identificación, es el tipo de célula, es decir, definirla como célula procariótica. La siguiente característica corresponde a la morfología, le sigue el metabolismo y la forma de reproducción, que se van utilizando de forma jerárquica para la identificación bacteriana en general, mientras que, para la asignación de especie, es útil la serotipificación, tipificación y el análisis del DNA, que proporcionan de manera importante, información diferencial en la distinción de especies y su variación⁵.

2.3.1 Genoma bacteriano (DNA)

La mayoría de los genes en las células bacterianas se encuentran dentro del cromosoma. Los datos disponibles respecto a la secuencia del genoma indican que la mayoría de los genomas procariotas consisten en una molécula única de DNA circular. Muchas bacterias contienen genes adicionales en los plásmidos, que varían en tamaño, desde unos cuantos kpb, hasta 100 kpb. Los replicones son círculos de DNA (que integran a cromosomas y plásmidos), los cuales contienen la información genética necesaria para su propia replicación. En las procariotas, los genes no se encuentran

separados del citoplasma a través de membranas, mientras que en las células eucariotas se encuentran compartimentalizadas. Con algunas excepciones, los genes bacterianos en general, son haploides.⁶

Los genes indispensables para el crecimiento bacteriano se encuentran en el cromosoma, mientras que los plásmidos contienen genes vinculados con funciones especializadas. Muchos plásmidos como portadores de genes, son los responsables de transferirlos, de una bacteria a otra, así como otros genes evolutivos independientes pueden asimilarse por plásmidos que están esparcidos entre esta población bacteriana. Una consecuencia de estos eventos genéticos se observa, por ejemplo, en la rápida diseminación de la resistencia bacteriana a los antibióticos transmitida por plásmidos, después del uso sin un control médico adecuado de estos compuestos, principalmente en los hospitales⁷.

2.3.2 Características del cromosoma bacteriano

El cromosoma de una bacteria es de forma circular con una circunferencia de aproximadamente 1 nm y es de 100 a 1000 veces más largo que el soma bacteriano, en el que se encuentra contenido. La mayoría de los cromosomas bacterianos contienen millones de nucleótidos y codifican algunos miles de genes (Cuadro 1). Cuando está completamente superenrollado, el cromosoma ocupa aproximadamente el 10% del citoplasma bacteriano⁵.

Como se muestra en el Cuadro 1, *H. pylori* contiene un cromosoma circular con 1,67 millones de nucleótidos con un total de 1590 genes.⁵

Cuadro 1. Genomas

Organismo	Número de nucleótidos – Número de genes
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2 millones de nucleótidos – 4225 genes
<i>Borellia burgdorferi</i>	1.4 millones de nucleótidos (910,000 cromosomas bacterianos – 853 genes)
<i>Escherichia coli</i>	4.7 millones de nucleótidos – 4000 genes
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.8 millones de nucleótidos – 1743 genes
<i>Helicobacter pylori</i>	1.67 millones de nucleótidos – 1590 genes
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.66 millones de nucleótidos – 1738 genes
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4.41 millones de nucleótidos – aproximadamente 4000 genes
<i>Mycoplasma genitalium</i>	580,070 nucleótidos – 480 genes
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2.2 millones de nucleótidos – 2200 genes
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.8 millones de nucleótidos – 2400 genes
<i>Thermotoga maritima</i>	1.86 millones de nucleótidos – 1877 genes
<i>Treponema pallidum</i>	1.14 millones de nucleótidos – 1041 genes
<i>Vibrio cholerae</i>	4.0 millones de nucleótidos – 1041 genes
Herpes simple virus tipo 1 (HSV – 1)	150,000 nucleótidos – 75 genes
VIH (Virus de inmunodeficiencia humana)	10,000 nucleótidos – aproximadamente 10 genes
Cytomegalovirus humano (HCMV)	230,000 nucleótidos – 208 genes
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.1 millones de nucleótidos – 5885 genes
Humano	4 billones de nucleótidos – 30,000 genes

2.3.2.1 Secuencia del genoma

En agosto de 1997, se publicó la secuencia completa del genoma de *H. pylori* 26695, sólo 15 años después de que se cultivara por primera vez. Este es el sexto genoma de procariontes que fue secuenciado. Posteriormente en enero de 1999, fue secuenciado el genoma completo de J99, otra cepa de *H. pylori*, lo que permitió la comparación de los genomas entre sí.

El conocimiento del genoma permite estudiar los genes específicos de *H. pylori* que son indispensables para la colonización, la patogenicidad o la supervivencia de la bacteria ³,

Figura 6 Representación gráfica del genoma de *H. pylori* 26695

Representación gráfica del primer genoma secuenciado de *H. pylori*. Se puede observar el tamaño del genoma y los colores corresponden a regiones que codifican para proteínas con funciones diversas (tomado de: Tomb y col. Nature 1997; 388: 539-547).

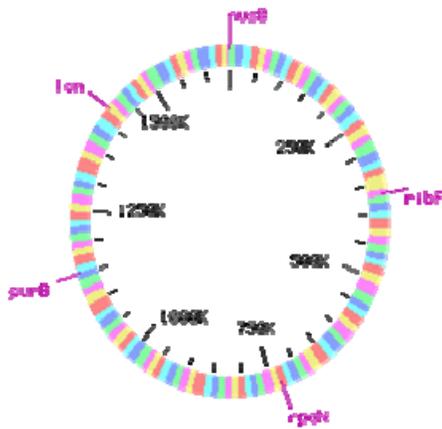
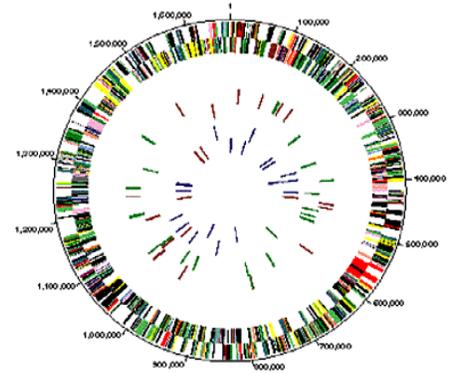


Figura 7 Representación gráfica del genoma de *H. pylori* J99.

Representación gráfica del segundo genoma de *H. pylori* secuenciado. Se puede observar el tamaño del genoma (Tomado de: Alm y col. Nature 1999; 397: 176-180).

2.4 CLASIFICACION BACTERIANA

A continuación se describe brevemente, las características importantes para clasificar a las bacterias.

2.4.1 Clasificación de bacterias patógenas para el hombre

Las bacterias patógenas se encuentran en tres de las cuatro categorías del Reino *Prokaryotae* (Cuadro 2). Las arqueobacterias no contienen especies patógenas.

Cuadro 2. Clasificación de algunas bacterias patógenas importantes, y la enfermedad de tipo general que cada patógeno causa⁵.

Eubacterias Gram negativas con pared celular		Eubacterias Gram positivas con pared celular	
<i>Bacteroides fragilis</i>	Infecciones quirúrgicas	<i>Actinomyces</i> especies	Varias
<i>Bordetella pertussis</i>	Respiratorias	<i>Bacillus</i> especies	Varias
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastrointestinal	<i>Clostridium botulinum</i>	Botulismo /sistema nervioso
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Infecciones de los ojos / genitourinario	<i>Clostridium perfringens</i>	Infecciones de heridas
<i>Escherichia coli</i>	Gastrointestinal	<i>Clostridium tetani</i>	Tetanos / Sistema nervioso
<i>Haemophilus influenzae</i>	Meningitis	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Respiratorias
<i>Helicobacter pylori</i>	Úlceras	<i>Listeria monocytogenes</i>	Meningitis
<i>Legionella pneumophila</i>	Neumonía	<i>Mycobacterium leprae</i>	Lepra
<i>Leptospira</i> especies	Fiebre	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Genitourinario	<i>Nocardia</i> especies	Respiratorias
<i>Neisseria meningitidis</i>	Meningitis	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Respiratorias
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Infecciones respiratorias	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Respiratorias
<i>Rickettsia</i> especies	Gastrointestinales	<i>Staphylococcus aureus</i>	Infecciones de la piel / gastrointestinal
<i>Salmonella</i> especies	Gastrointestinales		
<i>Shigella</i> especies	Genitourinario		
<i>Treponema pallidum</i>	Gastrointestinal		
<i>Vibrio cholerae</i>	Gastrointestinal		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Sistema linfático		
<i>Yersinia pestis</i>			
Eubacterias sin pared celular		Arqueobacterias	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Respiratorias	No patógenas	
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Genitourinario		

Puesto que la bacteria patógena de interés en este trabajo, es *Helicobacter pylori*, sólo se describen las características del grupo de las bacterias Gram negativas, al que esta bacteria pertenece de acuerdo a las propiedades tintoriales que posee⁵.

2.4.1.1 *Eubacterias* Gram negativas con pared celular

Categoría I, *Eubacterias* Gram negativas con pared celular. Este grupo contiene al mayor número de bacterias, con gran variedad de especies, en el Cuadro 3, sólo se muestran las bacterias de importancia patógena.

Cuadro 3. Eubacterias Gram – negativas No fototróficas con pared celular ⁵	
Bacilos aeróbicos y cocos <i>Bordetella pertussis</i> <i>Brucella abortus</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Neisseria meningitides</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Espiroquetas <i>Borrelia burgdoferi</i> <i>Borrelia recurrentes</i> <i>Leptospira especies</i> <i>Treponema pallidum</i>
	Bacilos anaeróbicos rectos, curvos y helicoidales <i>Bacteroides fragilis</i>
Bacilos anaeróbicos facultativos <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Salmonella especies</i> <i>Shigella especies</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pestis</i> <i>Vibrio cholerae</i>	Bacterias Aeróbicas/ microaerófilicas, móviles, helicoidales/vibrioides <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Helicobacter pylori</i>
	Rickettsias y Clamidias <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Rickettsia especies</i>

Todas estas bacterias tienen la pared celular formada por multicapas, que por el tipo de compuestos químicos que integran su composición, le confieren la característica tintorial de Gram negativas. Esta categoría está dividida en dos grupos, basada en la relación entre la reproducción bacteriana y la influencia de la luz: bacterias no fototróficas y bacterias fototróficas.

Las bacterias no fototróficas son no fotosintéticas, por lo que no dependen de la luz para su crecimiento. Con pocas excepciones, las bacterias patógenas Gram negativas son - no fotosintéticas. El término fototrófico indica que el crecimiento es dependiente de la luz (de *photo* – luz y de *trophic*- comida)⁵.

2.4.1.2 Eubacterias Gram negativas no fototróficas. Con pared celular.

Este grupo se divide en 14 subgrupos de Eubacterias Gram negativas no fototróficas que tienen pared celular. Muchas son agentes causantes de serias enfermedades. Realizan una gran variedad de funciones, aunque su clasificación depende de dos características:

- ★ Morfología (utilizada para diferenciar 11 de los 14 subgrupos)
- ★ Requerimiento de oxígeno para su crecimiento (utilizado para la diferenciación de 5 de los 14 subgrupos)

Otro características que son importantes en la diferenciación de las bacterias son: el metabolismo, la movilidad y el tipo de reproducción.

De estos subgrupos, seis son de importancia patógena. El proceso de clasificación, considerando las características bacterianas mencionadas para ello, se realiza de una forma ordenada a partir de grupos grandes hacia grupos pequeños. Al tomar en cuenta una característica diferencial, permite formar subgrupos específicos, por ejemplo, al considerar la relación entre el requerimiento de oxígeno y la morfología, conlleva a cinco subgrupos.

- ★ Bacilos aeróbicos y cocos
- ★ Bacilos anaeróbicos facultativos
- ★ Bacilos anaeróbicos rectos, curvos y helicoidales.
- ★ Cocos anaeróbicos
- ★ Bacterias Aeróbicas/ microaerofílicas, móviles, helicoidales/vibrioides.

Dentro de estos subgrupos, se consideran únicamente a aquéllos que tienen bacterias de importancia médica⁵.

A continuación, se muestran los géneros y las especies de las bacterias patógenas, de acuerdo a la anterior clasificación de los cinco subgrupos⁵:

Cuadro 4. Eubacterias Gram negativas con pared celular
Bacterias Gram negativas, Patógenas no fototróficas que afectan
al hombre, ubicadas en seis subgrupos.⁵

- ❖ Cocos y Bacilos aeróbicos
Bordetella pertussis
Brucella abortus
Legionella pneumophila
Neisseria gonorrhoeae
Neisseria meningitidis
Pseudomonas aeruginosa
- ❖ Bacilos anaeróbicos facultativos
Escherichia coli
Haemophilus influenzae
Salmonella (especies)
Shigella (especies)
Vibrio cholerae
Yersenia enterocolitica
Yersenia pestis
- ❖ Bacilos anaeróbicos, rectos, curvos o helicoidales.
Especies Bacteroides.
- ❖ Aeróbicos / Microaerofílicos, móviles, Helicoidales / Bacterias
vibrioides
Campylobacter jejuni
Helicobacter pylori
- ❖ Espiroquetas
Borrelia burgdorferi
Borrelia recurrentis
Leptospira (especies)
Treponema pallidum
- ❖ Rickettsias y Chlamidias
Rickettsia (especies)
Chlamydia trachomatis
Chlamydia pneumoniae

Como se observa en el Cuadro 4, *Helicobacter pylori* está clasificada dentro del grupo de las Bacterias aeróbicas/ microaerofílicas, móviles, helicoidales/vibrioides.

Los microorganismos aeróbicos/microaerofílicos, helicoidales/vibrioides móviles se distinguen por tres características: su requerimiento de oxígeno, su morfología y movilidad. Las bacterias móviles pueden ser de tipo aeróbica o microaerofílica; en cuanto a su forma de tipo helicoidal o vibriode, se localizan en una amplia diversidad de

ambientes. De los dos géneros presentes en este subgrupo, *Campylobacter jejuni* es uno de los agentes microbianos causantes de cuadros diarreicos; mientras que, *Helicobacter pylori* coloniza el estómago y el intestino delgado, siendo el agente clave en el desarrollo de las úlceras gástricas⁵.

2.5 TAXONOMIA

Desde su cultivo en 1982, *Helicobacter pylori* ha estado sujeto a diferentes denominaciones, hasta adquirir su nombre definitivo:

- CLO (*Campylobacter like organism*).
- GCLO (*Gastric Campylobacter like organism*).
- *Campylobacter pyloridis*.
- *Campylobacter pyloric*.
- *Campylobacter pylori*.
- *Helicobacter pylori*: (1989) especie tipo de un nuevo género, ***Helicobacter***.

Helicobacter, *Campylobacter*, *Areobacter* y *Wolinella* pertenecen a un grupo distinto de bacterias que se clasifican como: Superfamilia VI del ARNr, que está relacionado lejanamente con otras eubacterias.

Las especies del género *Helicobacter* se han dividido en (Cuadro 5):

- α Las especies bacterianas que viven en el estómago.
- α Las que viven en el intestino, tanto del hombre como de los animales.³

Cuadro 5. Bacterias del género <i>Helicobacter</i> y sus asociaciones ⁹				
Especies	Flagelos		Huésped habitual	Asociación
	Número	Tipo ^a		
Gástricas				
^b <i>H. pylori</i> (especie tipo)	4-8	Up/Bp	Hombre	Gastritis crónica activa; fuerte asociación con úlcera péptica y cáncer gástrico
<i>H. mustelae</i>	4-8	Bp,L	Hurones	No patología, a veces gastritis y ulceración
<i>H. nemestrinae</i>	4-8	Up/Bp	Macaco	No patología
<i>H. acinonyx</i>	4-8	Up/Bp	Leopardo	Gastritis
<i>H. felis</i>	14-20	Bp,F	Gato, perro	No patología/a veces gastritis
<i>H. bizzozeronii</i>	10-20	Bp	Perro	No patología
<i>H. salomonis</i>	5-7	Bp	Perro	No patología
^b <i>H. heilmannii</i>	≥ 9	Bp	Gato y perro	Gastritis
Intestinales				
^b <i>H. cinaedi</i>	1-2	Up/Bp	Hámster	No patología en hámster; proctocolitis en hombres homosexuales.
<i>H. fennelliae</i>	1-2	Up/BP	-	Proctocolitis en hombres homosexuales
^b <i>H. canis</i>	2	Bp	Perro	Enteritis, hepatitis Aislado de un niño
^b <i>H. westmeadii</i>	1	Up	-	Bacteremia en hombres con SIDA
<i>H. cholecystus</i>	1	Up	Hámster	Colangiofibrosis, pancreatitis
<i>H. hepaticus</i>	2	Bp	Ratones	Hepatitis; coloniza en ciego y colon
<i>H. bilis</i>	3-14	Bp,F	Ratones	Hepatitis; coloniza en ciego y colon
<i>H. rodentium</i>	2	Bp (noE)	Ratones	-
<i>H. muridarum</i>	10-14	Bp,F	Roedores	No patología, puede colonizar en estómago y causar gastritis en roedores viejos
<i>H. trogontum</i>	5-7	Bp,F	Rata	No patología conocida
^b " <i>Flexispira rappini</i> "	10-20	Bp,F	Ovejas, ratones	Abortos ovinos; ha sido aislado de pacientes con diarrea crónica
ABREVIATURAS:				
^a Up: unipolar, Bp: bipolar, L: lateral, F: Fibrillas periplásmicas, (noE): sin vaina				
^b infecciones en el hombre				

En la literatura se han reportado a otras especies que pertenecen al género *Helicobacter*, también como agentes causales etiológicos de patologías en el hombre; a continuación, se describen la taxonomía, el agente etiológico y la enfermedad que causan¹⁰.

Cuadro 6. <i>Helicobacter pylori</i> y otras especies relacionadas¹⁰		
Grupo III con rRNA Homólogo^A	Fuente	Enfermedad en el hombre
<i>Helicobacter pylori</i>	Humano	Gastritis, Linfoma Gástrico
<i>Helicobacter nemestrinae</i> ^b	Humano	Gastritis
<i>Helicobacter CLO-3</i>	Humano	Proctitis
<i>Helicobacter pennelliae</i>	Humano	Gastroenteritis, Sepsis, Proctocolitis
" <i>Helicobacter sp cepa maiz</i> " ^b	Humano	Artritis séptica
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Humano	Gastroenteritis, Sepsis Proctocolitis
" <i>Flexispira rappini</i> " (<i>Helicobacter rappini</i>)	Humano	Gastroenteritis
a. Especies más comúnmente reconocidas en la nomenclatura. b. Indica la posición filogenética basada en ácidos nucleicos		

Como se observa en el cuadro anterior, existen otras especies de *Helicobacter* que infectan la mucosa gástrica, pero son extremadamente poco frecuentes⁷. Asimismo, otras especies de *Helicobacter* se están aislando de sitios de tipo no gástrico en humanos y pueden estar implicados en algunas de las enfermedades que carecían de un agente etiológico específico¹.

Características morfológicas, tintoreales e identificación



3.1 Campylobacterias

3.1.1. Campylobacter – Helicobacter

3.2 Características morfológicas de Helicobacter pylori

3.2.1 Morfología

3.2.2 Formas cocoides de Helicobacter pylori: formas de muerte o resistencia

3.3 Características tintoreales de Helicobacter pylori

3.3.1 Tinción de Gram

3.3.2 Tinción de Giemsa

3.4 Identificación

3.4.1 Visión microscópica



3.1 CAMPYLOBACTERIAS

Las especies de los géneros *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter* y *Helicobacter* son bacilos Gram negativos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Las campilobacterias están presentes en muchas especies animales, incluso en varias domésticas. El *Vibrio cholerae* produce una enterotoxina que causa el cólera, una diarrea acuosa profusa que conduce rápido a la deshidratación y muerte. El *Campylobacter jejuni* es causa común de enteritis en humanos. El *Helicobacter pylori* causa gastritis y enfermedad por úlcera duodenal⁷.

3.1.1 *Campylobacter* - *Helicobacter*

Los microorganismos del género *Campylobacter* causan enfermedades tanto diarreicas como sistémicas y se encuentran entre las causas infecciosas de mayor distribución mundial; la infección por *Campylobacter* de animales domésticos también muestra una amplia distribución. La clasificación de las bacterias dentro de la familia *Campylobacteriaceae* suele modificarse con frecuencia. Algunas especies previamente clasificadas como *Campylobacter* se reclasifican en el género *Helicobacter*.

Como ya se señaló anteriormente, en 1982, fueron observados bacilos en forma de espiral que recordaban a *Campylobacter* en pacientes con **gastritis tipo B**. Los microorganismos fueron clasificados al principio como *Campylobacter*, pero más adelante se incluyeron en un nuevo género, *Helicobacter*. Varias características separan *H. pylori* del género *Campylobacter* (Veáse, Cuadro 7), en particular, *H. pylori* posee un penacho de flagelos polares en un extremo (de cuatro a ocho flagelos), la producción de ureasa y con secuencias distintas de genes del ARN ribosomal (ARNr)¹¹.

Helicobacter pylori es la especie asociada con gastritis y más recientemente ha sido implicada en la producción de úlceras duodenales, así como en el origen de cáncer gástrico¹².

Cuadro 7. Pruebas bioquímicas y susceptibilidad a antibióticos para la diferenciación e identificación de <i>Campylobacter</i> y <i>Helicobacter</i> ¹² .						
Reacción de prueba	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. fetus</i> ssp <i>fetus</i>	<i>H. pylori</i> ^a	<i>H. cinaedi</i> ^b	<i>H. fennelliae</i> ^c
Crecimiento a: 25° C	-	-	+	-	-	-
Crecimiento a: 37° C	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a: 42° C	+	+	+/-	-	-	-
Oxidasa	+	+	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+
Ureasa	-	-	-	+	-	-
Reducción del nitrato	+	+	+	-	+	-
Hidrólisis del hipurato	+	-	-	-	-	-
Susceptibilidad al ácido nalidíxico	S	S	R	R	S	S
Susceptibilidad a cefalotina	R	R	S	S	S	S
^{a.} Antes <i>Campylobacter pylori</i> ^{b.} Antes <i>Campylobacter cinaedi</i> ^{c.} Antes <i>Campylobacter fennelliae</i>						

3.2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE *Helicobacter pylori*

3.2.1 Morfología

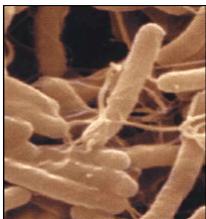


Figura 8. Fotografía de Microscopía electrónica de *Helicobacter pylori*^β

Helicobacter pylori es un bacilo Gram negativo, en forma de espiral, muestra dimensiones de 0,5 a 1,0 μm de ancho y 3 μm de largo, microaerófilico, móvil, posee de 4 - 8 flagelos polares recubiertos por una vaina de estructura lipídica, que parecen tener la misión de proteger

a los flagelos de su degradación por el medio ácido, poseen una estructura terminal bulbar, lo cual, tal vez le permite desplazarse más fácilmente a través de la mucosa gástrica. También posee una membrana citoplásmica con lipopolisacáridos que parecen constituir un mecanismo que le favorece evadir la respuesta del huésped. Además, tiene una estructura única de péptidoglicanos, que son diferentes a los que presentan otras bacterias Gram

negativas. El agente patógeno también transporta una citotoxina vacuolizante, que ejerce el fenotipo poco común de vacuolización en las células del huésped¹.

3.2.2 Las formas cocoides de *Helicobacter pylori*: Formas de muerte o de resistencia

Helicobacter pylori existe en dos formas: una forma espiral cultivable y una forma cocoide. Ambas pueden encontrarse en el estómago y en el duodeno, aunque la mayoría presentan la morfología bacilar espiral. La forma cocoide prácticamente no se adhiere a las células epiteliales, ni es capaz de inducir la producción de interleucina 8.

La conversión morfológica de la forma espiral a la forma cocoide se ha descrito en *Helicobacter pylori* cultivado bajo diversas condiciones adversas, como: la aerobiosis, el pH alcalino, la alta temperatura, una incubación prolongada, el tratamiento con un inhibidor de la bomba de protones, o con un antibiótico, o el efecto del óxido nítrico, etc.

Como aún se desconoce, el modo de transmisión de *Helicobacter pylori*, se especula con la posibilidad de que la forma cocoide, sea una forma de resistencia, capaz de soportar las condiciones adversas que encuentra esta bacteria, en el medio ambiente, y que tal vez, sea reversible a la forma espiral, en el momento en que se vuelvan a dar las condiciones óptimas³.

3.3 CARACTERÍSTICAS TINTOREALES DE *Helicobacter pylori*

La técnica de tinción a partir de una biopsia gástrica es un procedimiento fácil, rápido, de muy bajo costo y alta utilidad, en el estudio de la infección por el microorganismo. Se han utilizado diferentes tinciones como la de Gram (Véase apéndice, Pág.2), Gram modificada o bien el examen en fresco utilizando un microscopio con contraste de fases. Otras tinciones han mostrado su utilidad, no sólo para determinar el diagnóstico de la infección, sino también para conocer el grado de patología gástrica. Entre ellas

sobresalen las tinciones de Giemsa, Genta, la tinción triple de carbofucsina/azul de Alcina/hematoxilina-eosina y tinciones de inmunohistoquímica.

Las tinciones previamente descritas, han sido modificadas, como la tinción de Gram modificada, utilizando como contracolorante carbofucsina y dejándola actuar durante un tiempo superior al habitual (de 2-5 minutos).

La visión microscópica tiene una sensibilidad y especificidad menor que la del cultivo y para obtener mejores resultados, es necesario realizar una muestra densa en el portaobjetos, lo cual se consigue, ya sea, bien impregnando intensamente la biopsia a lo largo del mismo, o bien colocando sobre el portaobjetos 2-3 gotas de la biopsia homogeneizada. Para conseguir una buena sensibilidad se recomienda partir de dos biopsias, una de antro y otra de cuerpo.^{13, 14}

3.3.1 Tinción de Gram

La tinción Gram es un tipo de tinción diferencial, es decir, no se tiñen del mismo modo todos los tipos celulares. Las bacterias reaccionan de dos formas distintas a esta tinción, las Gram positivas se ven al microscopio de color púrpura y las negativas de color rojo. La pared celular en *Eubacterias* está formada por una estructura más o menos rígida de un peptidoglucano, la mureína. Las bacterias Gram positivas tienen este compuesto como componente mayoritario de sus paredes celulares (hasta el 90%), mientras que en las Gram negativas no lo es y no alcanza el 20% del total relativo. La pared celular de las Gram negativas, es una estructura en capas múltiples de bastante complejidad, mientras que las de Gram positivas, suele ser una estructura más gruesa y estar formada por un solo tipo de molécula.

El peptidoglucano es una molécula construida por un disacárido, formado por N-acetilglucosamina y N-acetilmurámico unidos a través de enlaces β , y un tetrapéptido unido a la N-acetilglucosamina que suele alternar aminoácidos L y D de la alanina, D-ácido glutámico y lisina o ácido diaminopimélico. Estas cadenas se unen entre ellas formando una ultra estructura a través de enlaces peptídicos entre los aminoácidos, que termina rindiendo una estructura rígida y continua, que es la pared celular bacteriana.¹⁴

Las bacterias Gram positivas tienen diversas capas del peptidoglucano y las Gram negativas solo una, diferencia que permite establecer una distinción sistemática.

Ambos tipos de bacterias absorben el colorante a través de su pared celular; sin embargo, al lavar la extensión con alcohol, las células se deshidratan contrayéndose el peptidoglucano, como las Gram negativas dejan espacios en la estructuración de su pared celular sale el colorante de la célula, pero en las Gram positivas, no. Cuando se trata la preparación con el segundo colorante, las Gram negativas se tiñen de rojo, pero las Gram positivas, que no han dejado salir el primer colorante, se ven de color púrpura. (Ver apéndice, Pág. 2)¹⁴.

3.3.2 Tinción de Giemsa

La tinción de Giemsa emplea como colorante fundamental, una mezcla de tiacínicos catódicos, que colorean el núcleo, y la eosina para coloración citoplasmática. Estas sustancias están disueltas en alcohol metílico. Su fundamento está en la disociación controlada de las sales de eosinato, que ocurre por la mezcla de Giemsa con agua destilada. La cromatina nuclear adopta la tinción azul violácea algo distinta a la habitual para los colorantes tiacínicos y que recibe la denominación de efecto Giemsa (Veáse apéndice, Pág. 3)¹⁵.

3.4 IDENTIFICACION

3.4.1 Visión microscópica

Helicobacter pylori presenta la misma respuesta característica de tinción, al igual que las bacterias, que han sido clasificadas como Gram negativas, es decir, mostrando la coloración rojiza característica del colorante secundario de safranina; la tinción permite observar al microorganismo en forma de bacilo curvado o espiral, cuando éste es aislado a partir de la mucosa gástrica; y un poco más recto, cuando se encuentra en medios de cultivo artificiales.³

La visión microscópica cuando se utilizan colorantes cromogénicos (por ejemplo, bromuro de etidio), muestra imágenes muy definidas, como se muestra en la siguiente serie de láminas:



Figura 9 Tinción de Gram a partir de un cultivo en placa de agar de *Helicobacter pylori*

Durante su cultivo en medios artificiales *H. pylori*, pierde su estructura completamente espirilar o de sacacorchos y adquiere una estructura algo más recta, aunque sigue siendo curvado. La bacteria se observa de color rosa, ya que la bacteria muestra la estructura típica, de un bacilo Gram negativo³.

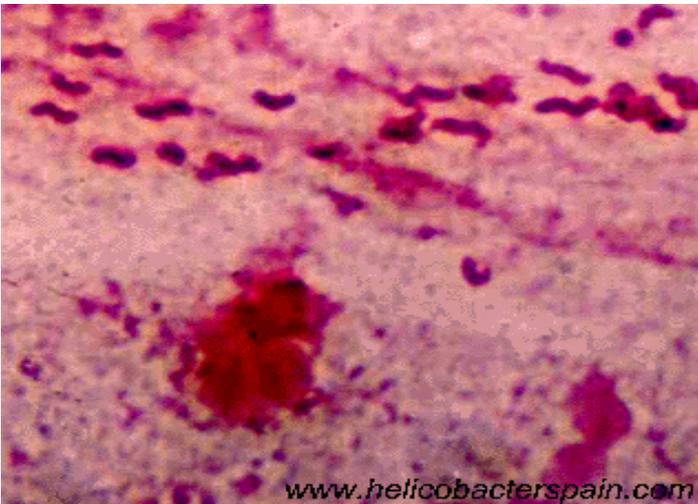


Figura 10 Tinción de Gram a partir de biopsia gástrica

Cuando se realiza una extensión a partir de una biopsia de antro gástrico y se tiñe con Gram, se pueden observar los bacilos de morfología curvada y Gram negativos³.

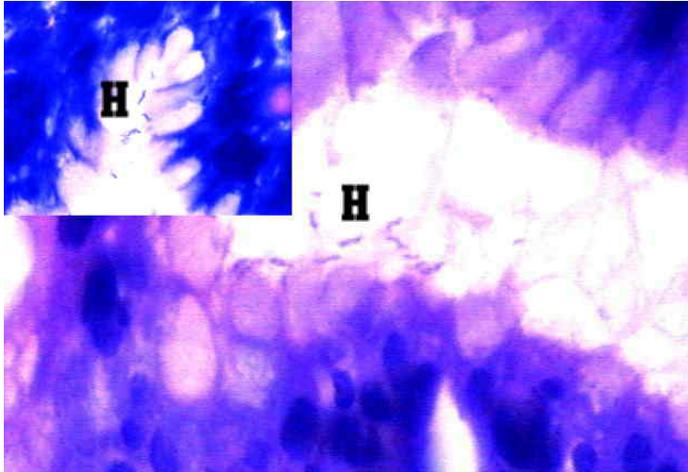


Figura 11 Tinción de Gram a partir de una biopsia gástrica.

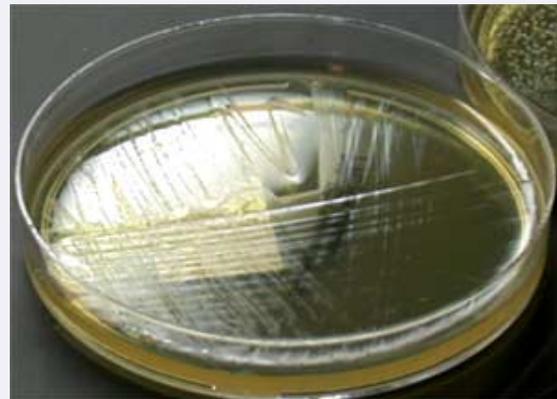
Al aplicar la tinción de Giemsa a una extensión de biopsia de antro gástrico, se pueden observar los bacilos de morfología curvada³.



Figura 12 Tinción con bromuro de etidio a partir de biopsia gástrica

El bromuro de etidio es capaz de intercalarse entre las bases del ADN de la bacteria y emite fluorescencia que permite su observación en un microscopio de fluorescencia. En esta imagen se puede observar la morfología espiral o de sacacorchos de *H. pylori*³.

Cultivo y características de crecimiento



4.1 Cultivo

4.1.1 Transporte y conservación de la muestra

4.1.2 Procesamiento de la muestra

4.1.3 Medios de cultivo

4.1.4 Condiciones de incubación

4.2 Características de cultivo

4.2.1 Morfología colonial

4.3 Técnicas de aislamiento e identificación

4.3.1 Características diferenciales

4.3.2 Características bioquímicas

4.4 Resistencia

4.4.1 Capacidad de crecimiento de *H. pylori* a pH entre 2-3

4.5 Metabolismo



4.1 CULTIVO

4.1.1 Transporte y conservación de la muestra

Debe tenerse presente, que *H. pylori* es un microorganismo lábil, por lo que, el procesamiento de la muestra debe realizarse de una forma rápida, una vez que esta ha sido obtenida.

No obstante, la mejor alternativa parece ser, el procesar la biopsia durante las primeras cuatro horas, posteriores a la recolecta de la muestra¹³.

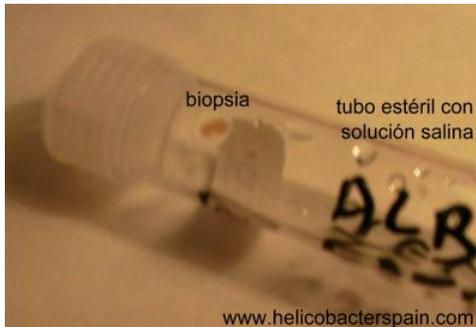


Figura 13. Si el procesamiento es inmediato, se debe introducir la biopsia en un tubo estéril con 0,5 mL de suero salino, para evitar la desecación de la biopsia. *H. pylori* permanece viable en el suero salino, hasta aproximadamente por 6 horas³.



Figura 14 Si la siembra se realiza con un periodo mayor a las 6 horas de la toma, la biopsia debe introducirse en un medio de transporte semisólido para aumentar la viabilidad de la bacteria hasta por 48 horas, si se conserva en refrigeración a 4 °C.³

4.1.2 Procesamiento de la muestra

Previo a la inoculación, es conveniente realizar una homogeneización adecuada de la biopsia con un mortero de cristal o preferiblemente, con un triturador eléctrico con un pequeño volumen de suero fisiológico. El objetivo no es romper completamente el tejido,

sino incrementar la liberación de las bacterias de la superficie del mismo. Una vez realizada la homogeneización de la muestra, se deben colocar dos gotas del homogeneizado en un medio selectivo y otras dos, en otro medio no selectivo^{13, 14}.

4.1.3 Medios de cultivo

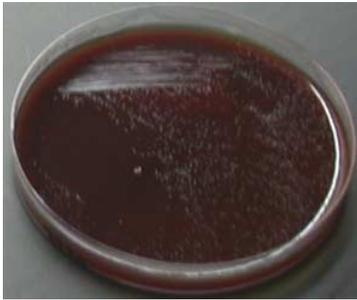


Figura 15 Cultivo *Helicobacter pylori*[®]

H. pylori es un microorganismo capaz de crecer en distintos medios de cultivo, siempre y cuando se tome en cuenta, que requiere diferentes factores de crecimiento. Es difícil de cultivarlo en medio líquidos, aunque se ha logrado hacerlo con menores dificultades a partir de caldo de *Brucella*, Infusión cerebro-corazón, en Mueller-Hinton y tripticasa soya; todos ellos suplementados con nutrimentos, siendo más comúnmente utilizado, el suero bovino fetal.

Los medios de cultivo sólidos base más frecuentes son el: agar Mueller-Hinton y el agar Columbia y los suplementos más comúnmente empleados son: la sangre o derivados de ella. Otros suplementos son el suero de caballo, lisado de eritrocitos, extracto de levadura, peptona, sangre de carnero, caballo o humana o productos derivados de la sangre y rico en nutrimentos.

Dos aspectos importantes a considerar en relación con la sangre son: en primer lugar la cantidad utilizada, ya que un aumento en la proporción al 7-10% mejora significativamente el crecimiento en comparación con el 5%. En segundo lugar el tipo de sangre utilizada, encontrándose un crecimiento más denso con sangre de caballo al 10% y lisada al 7%.

Con el objeto de evitar el sobrecrecimiento de contaminantes que pueden acompañar a *H. pylori* en la biopsia es necesaria la utilización de inhibidores que no afecten su viabilidad. *H. pylori* es resistente *in vitro* a la vancomicina, sulfametoxazol, trimetoprim, cefsulodina y polimixina B, los cuales pueden utilizarse en los medios selectivos para su aislamiento^{13, 14}.

4.1.4 Condiciones de incubación

H. pylori es un microorganismo microaerófilico que requiere para su crecimiento una atmósfera con las siguientes características: 5-10% de O₂, 5-10% de CO₂ y 80-90% de N₂ a 35-37 °C, una humedad del 95% y un periodo de incubación de 7 a 10 días (*extraordinariamente prolongado comparado con el resto de las bacterias Gram negativas*), antes de considerar negativo el cultivo. Estas condiciones se obtienen bien utilizando cabinas microaerófilicas (Figura 16) o con sobres comerciales que proporcionen las características anteriores. Estos últimos proporcionan resultados satisfactorios, pero tienen como inconveniente, la necesidad de reemplazar los sobres una vez que son abiertas las jarras¹³.



Figura 4 Jarra de anaerobiosis para el crecimiento de *H. pylori*. Existen sistemas que permiten la creación de una atmósfera adecuada para el crecimiento de *H. pylori* y de otros microorganismo microaerófilicos, cuando se introducen en una jarra con las placas de cultivo. La jarra debe cerrarse herméticamente para conseguir la adecuación de la atmósfera¹³.

4.2 CARACTERÍSTICAS DE CULTIVO

Al cabo del período de incubación, se observan las colonias. En agar sangre, las colonias son pequeñas (alrededor de 1 a 2 mm de diámetro), translúcidas, e incoloras. En agar con tetrazolium, las colonias son rojas, y contrastan fácilmente con el color amarillo del medio.

4.2.1 Morfología colonial

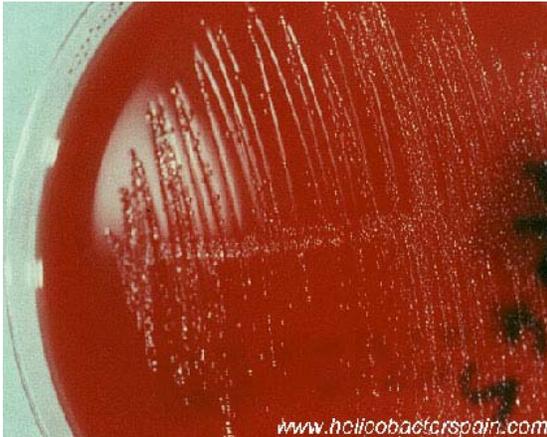


Figura 17 Las colonias de *H. pylori* presentan una morfología característica con aspecto brillante y transparente de 1 a 2 mm de diámetro³.



Figura 18 *H. pylori* crece en medios de cultivo artificiales con suplemento de sangre o derivados, después de 5 días de incubación en atmósfera microaerofílica y a 35 °C³.



Figura 19 *H. pylori* puede conservarse, una vez crecido, en un congelador a -80 °C o en nitrógeno líquido³.

4.3 TECNICA PARA AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Helicobacter*

El siguiente procedimiento tiene como propósito el estudio de la biopsia, para lograr el aislamiento e identificación de *Helicobacter pylori* como posible agente causal de un cuadro gastroentérico.¹⁰

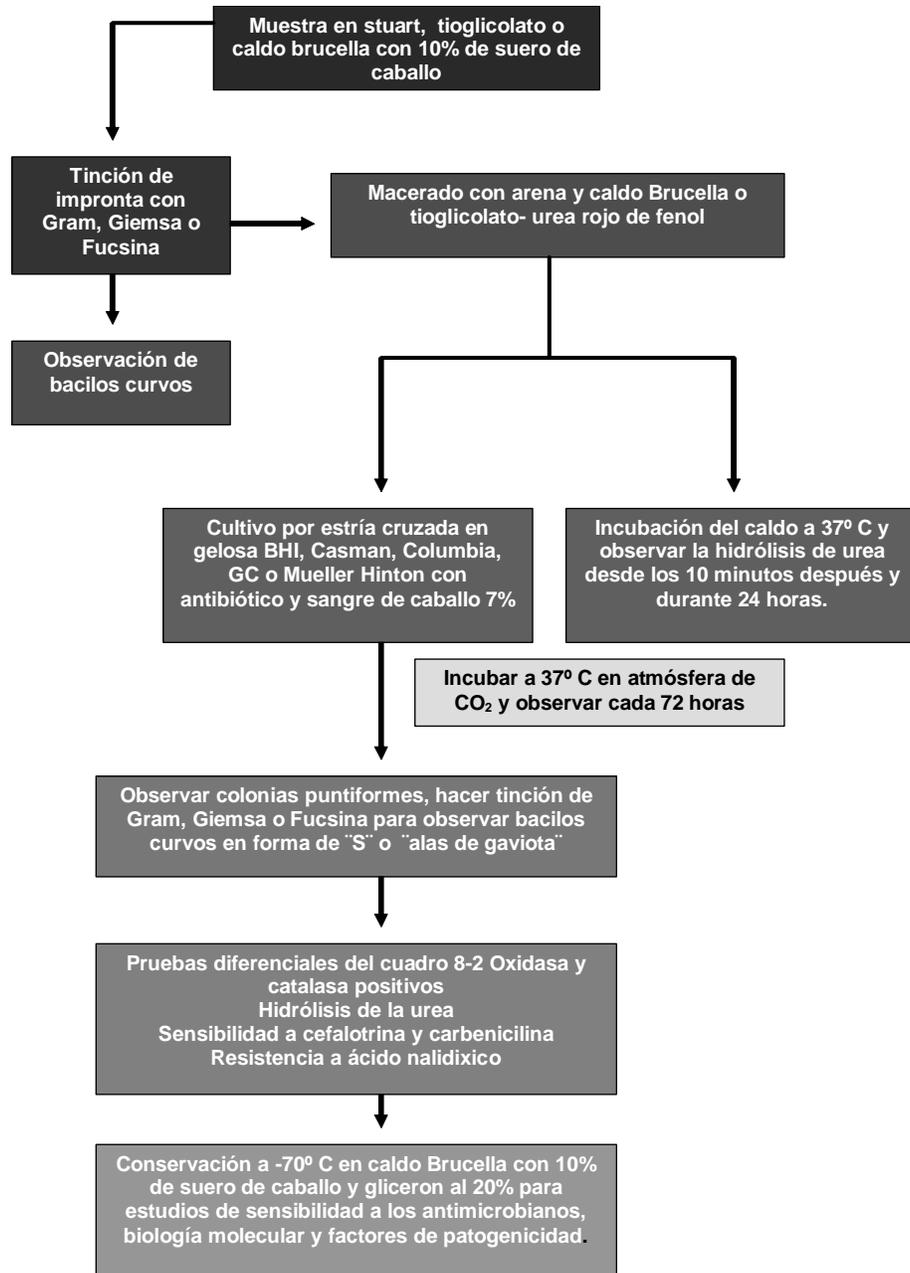


Diagrama 1 Aislamiento e identificación de *Helicobacter*

4.3.1 Características diferenciales de las especies del género

Helicobacter^{4, 10}

CARACTERISTICAS	<i>H. fennelliae</i>	<i>H. cinaedi</i>	<i>H. pullorum</i>	<i>H. pylori</i> ^b
α Hemó	+	+	+	+
α Lisis				
Oxidasa	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+
Ureasa	-	-	-	+
Reducción de selenito	-	-	-/+	-
Fosfatasa alcalina	-/+	-/+	-	+
Indócil acetasa	+	-/+	-	-/+
Crecimiento a				
37° C en atmósfera normal	-	-	-	-
37° C microaerofílica	+	+	+	+
37° C en anaerobiosis	-	-	+	-
Resistencia a				
Acido nalidíxico 30 mg	-	-	-	+/-
Cefalotina 30 mg	-	+	+	-
Cefoperasona	-/+	+	+	-
Carbenicilina	-	-/+	+	-

a = Todas las pruebas de acuerdo a publicaciones previas y análisis con programas iDsc con cepas de referencia.

b = Incluye aislamientos humanos, porcino y mono Rhesus.

Cuadro 8 Pruebas que se llevan a cabo para la diferenciación de las diferentes especies de *Helicobacter*

4.3.2 Características bioquímicas

Helicobacter pylori posee diferentes enzimas que utiliza para obtener energía o para defenderse del ambiente hostil en el que se encuentra. Estas características bioquímicas se han utilizado como métodos de identificación. Las enzimas principales que pueden detectarse en el laboratorio y que permiten una identificación correcta de *H. pylori* son:

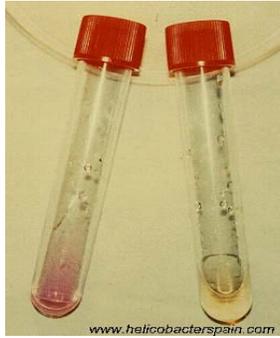


Figura 20 Ureasa: Es una enzima capaz de hidrolizar la urea produciendo amonio y como consecuencia se produce una alcalinización alrededor de su sitio de acción. Esta característica puede detectarse en el laboratorio mediante el cambio de color (rosa) que se produce al variar el pH del medio que contiene urea (Véase apéndice, pag 3)

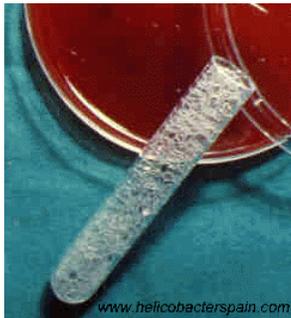


Figura 21 Catalasa: Es un enzima capaz de descomponer el agua oxigenada y convertirla en agua liberando oxígeno. Esta liberación de oxígeno se observa visualmente por la producción de burbujas.



Figura 22 Oxidasa: Es un enzima capaz de oxidar un determinado sustrato formando un compuesto coloreado (púrpura) en presencia de oxígeno.³

4.4 RESISTENCIA A pH EXTREMADAMENTE ACIDO.

4.4.1 Capacidad de crecimiento de *H. pylori* a pH entre 2-3.

La mayoría de las bacterias resisten poco el medio ácido que presenta el estómago, debido a la excreción de los jugos gástricos (con alto contenido de protones); sin embargo, algunas bacterias presentan tanto la capacidad de revertir esta acidez al mínimo, mediante el efecto de bombear protones (H^+) hacia el exterior de la célula,

como la biosíntesis de proteínas protectoras contra la acidez (denominada: respuesta de tolerancia a la acidez).⁵

Algunos microorganismos sobreviven en ambientes ácidos, al inducir el incremento del pH del entorno, en el caso de *Helicobacter pylori* durante su crecimiento, es capaz de invadir y habitar en el estómago, contrarrestando la acidez del entorno (pH entre 2 y 3), por la degradación de la urea y liberación del amoníaco (NH₃), el cual, a su vez al reaccionar con el agua, neutraliza el medio.⁵

4.5 METABOLISMO

El metabolismo es la suma de todos los procesos químicos que tienen lugar en una bacteria. Incluye los procesos usados para obtener energía, convertir la energía en formas utilizables y en última instancia, para realizar un trabajo, como rotar un flagelo bacteriano o biosintetizar sus propios compuestos químicos celulares. Las diferencias metabólicas, de la misma manera que cualquier otra diferencia, pueden ser utilizadas en la taxonomía microbiana^{5, 16, 17, 18}.

Algunos procesos o vías metabólicas son comunes en todos los organismos, pero otros son únicos o limitados a grupos específicos de organismos. Esto es especialmente cierto en el caso de las bacterias, ya que presentan una gran diversidad de vías metabólicas. Como resultado de ello, las bacterias son diferentes en:

- ★ Su dotación de enzimas
- ★ Su manera de metabolizar varios sacáridos.
- ★ Su habilidad para metabolizar varios aminoácidos.
- ★ Su habilidad de transformación fotosintética.

A veces la actividad metabólica de un microorganismo es altamente extraordinaria que puede utilizarse en el diagnóstico de una enfermedad. Por ejemplo, en el caso que nos ocupa de *Helicobacter pylori*, este posee un enzima, la *ureasa* excepcionalmente activa, la cual hidroliza a la urea en bióxido de carbono y amoniaco. Esta característica singular

de *H. pylori* ha promovido el desarrollo de pruebas de aliento simples y no invasivas para el diagnóstico de úlceras y por lo tanto, como resultado positivo importante de la prueba diagnóstica, ser indicativa de la presencia de *H. pylori*, al detectar esta actividad enzimática sobre la urea.

En este tipo de *pruebas de aliento*, el paciente ingiere una disolución acuosa preparada con urea en polvo (que contiene el isótopo ^{13}C no radioactivo), posteriormente el paciente respira a través de un popote que se encuentra dentro de un pequeño vial de la prueba; durante este proceso queda atrapado el bióxido de carbono. Después, el vial es sometido a la determinación de su contenido de $^{13}\text{CO}_2$. Una concentración alta de $^{13}\text{CO}_2$, indica que la urea ha sido degradada por el *Helicobacter pylori*. (Las moléculas orgánicas en el cuerpo contienen principalmente al isótopo del C^{12} , por lo tanto la presencia de $^{13}\text{CO}_2$, indica que la urea en solución en la prueba, estuvo siendo degradada por la ureasa bacteriana. ^{5, 16, 17, 18}

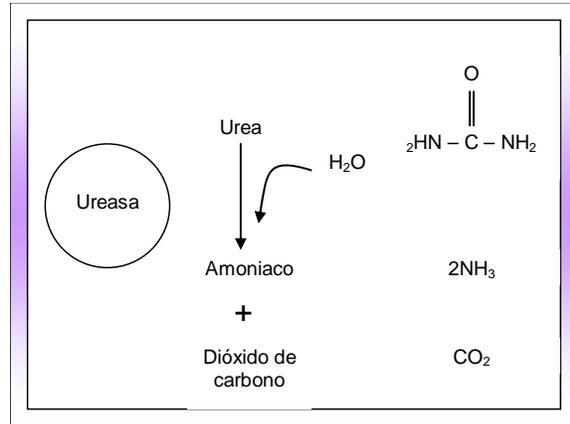


Figura 5 La enzima ureasa de *Helicobacter pylori* convierte la urea en amoniaco y dióxido de carbono.

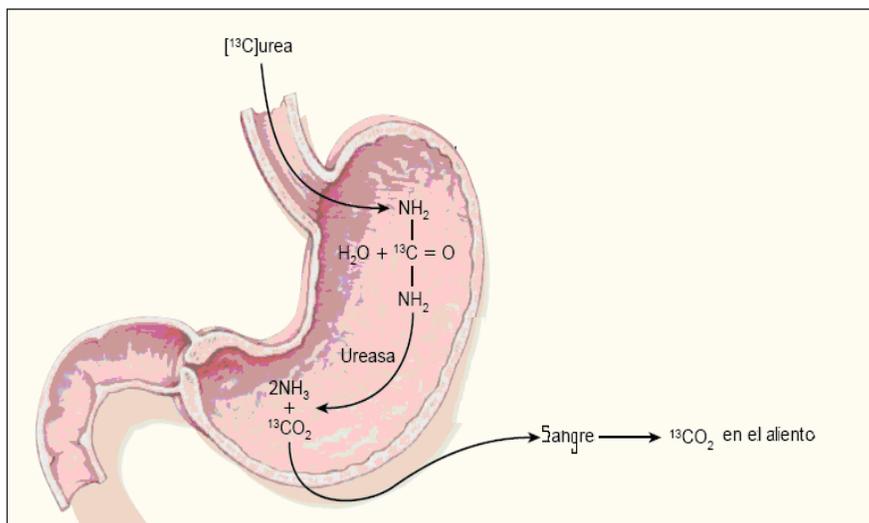
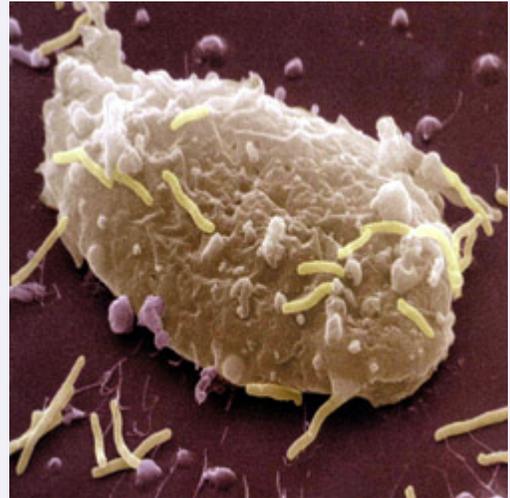
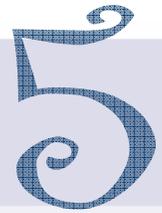


Figura 24. El test que muestra la hidrólisis enzimática al ingerir urea (el carbono 14 es un isótopo radioactivo, y el carbono 13 es un isótopo estable) la enzima ureasa se presenta en altas concentraciones en la infección por *Helicobacter pylori*.^{19, 20, 21, 22, 23,}

Estructura antigénica



5.1 Distribución de Helicobacter pylori

5.2 Características de virulencia

5.3 Implicación de Helicobacter pylori en el proceso de apoptosis

5.3.1 Inducción de la apoptosis

5.3.2 Regulación de la apoptosis

5.4 Helicobacter pylori y la enfermedad ulceró péptica

5.5 De la enfermedad ulcerosa al cáncer gástrico



5.1 DISTRIBUCION DE *Helicobacter pylori*

Hasta hoy, los estudios epidemiológicos han estimado que *H. pylori* reside en el tracto gastrointestinal de aproximadamente el 40% de los adultos en países desarrollados, y no menos del 80%, en los de los países en vías de desarrollo. Por lo anterior, estos resultados sugieren, que *H. pylori*, es la causa más común de las úlceras pépticas. (El término péptico se deriva de la palabra griega: "digestión"). Las úlceras pépticas existen tanto en el estómago, como en el duodeno, o bien, en la región superior del intestino delgado que está más próxima al estómago⁵.

H. pylori también se ha relacionado con la gastritis crónica (la inflamación de estómago) y con el cáncer de estómago. Mundialmente, el cáncer de estómago, es el segundo tipo más común de cáncer, después del cáncer de pulmón. El concepto de úlcera péptica por una etiología bacteriana, es la primera dificultad para la comunidad médica, aceptarlo, debido a la creencia predominante de que las úlceras resultan por la producción de ácido, aunado a menudo, con la tensión o estrés de la vida diaria, junto con el estilo de vida. En una demostración dramática, como ya fue descrito, Barry Marshall ingirió una suspensión del *H. pylori*, y como consecuencia, contrajo la gastritis grave. Posteriormente, Marshall se trató con bismuto y amoxicilina, con lo que logró la curación de la infección y la gastritis⁵.

La ruta de transmisión del *H. pylori* aún no es comprendida del todo. El reservorio de *H. pylori* parece ser el hombre, y el agente patógeno aparentemente se trasmite de persona a persona. Por los resultados en estudios epidemiológicos, parece ser que *Helicobacter pylori* probablemente es adquirido durante la infancia por vía oral - fecal u oral - oral (A través de las secreciones salivales o por el contenido gástrico repetido mecánicamente). Por lo que, el control de la infección por *H. pylori* debe considerar estas posibles rutas durante la infancia y la infancia temprana; se deberá promover y establecer la higiene personal y que la población alcance mejores condiciones de vida, ya que ambas situaciones juegan un papel crítico en el establecimiento de la infección⁵.

5.2 CARACTERISTICAS DE LA VIRULENCIA

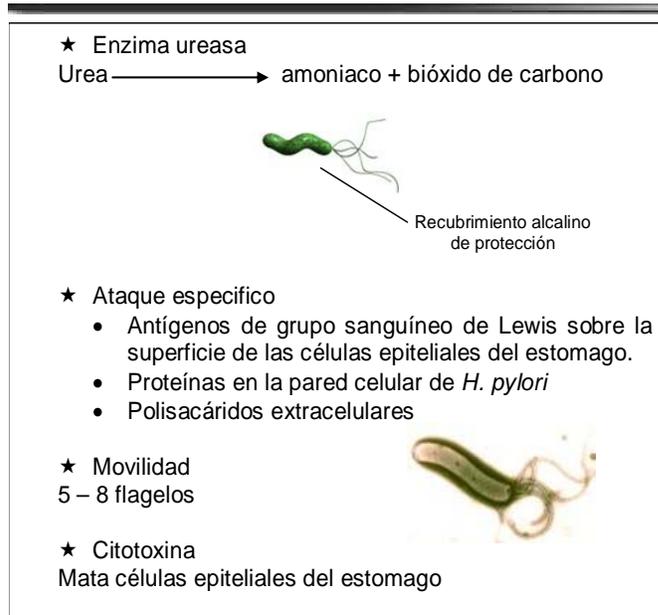


Figura 25 Factores de virulencia de *Helicobacter pylori*

Las enzimas metabólicas que posee *Helicobacter pylori* pueden ser utilizadas para producir daño en los tejidos y para defenderse de las condiciones adversas del ambiente en el que tiene que sobrevivir. Pero además, *H. pylori* posee otras características que le permiten colonizar la mucosa gástrica del estómago, e inducir daños en los tejidos o liberarse de los mecanismos de defensa del huésped⁵.

La virulencia de *H. pylori* está relacionada con serias características, como se describen en la Figura 6. Entre las características de virulencia, se pueden destacar:

- ★ Primero, *H. pylori* produce una ureasa altamente activa, está calculado que es de 10 a 100 veces más activa que otras ureasas bacterianas; la ureasa cataliza a la urea a bióxido de carbono y amoniaco, compuestos que favorecen, que *H. pylori* moldee un escudo protector alcalino, alrededor de sí misma. Lo cual, es especialmente importante en el ambiente ácido del estómago. Sin embargo, las pruebas también indican que *H. pylori* podría necesitar un ambiente ácido en presencia de urea. El ácido del estómago podría proporcionar al agente patógeno, la protección en contra del incremento suicida de pH.
- ★ Segundo, *H. pylori* debilita el baño de moco protector del estómago y del duodeno, lo que permite al ácido penetrar hasta la capa inferior de la sensible línea de la mucosa. Tanto el ácido, como la bacteria, irritan el recubrimiento gastroduodenal y causan las llagas o úlceras.⁵

- ★ *H. pylori* es capaz de sobrevivir en el ácido del estómago, ya que segrega enzimas que neutralizan ese ácido. Este mecanismo permite a *H. pylori* confeccionarse un área segura donde establecerse (la línea de moco protector).²⁵
- ★ Un tercer factor de virulencia, es la movilidad *H. pylori* posee de cuatro a ocho flagelos polares muy fuertes, los cuales le confieren una gran movilidad y le permiten desplazarse a través de la mucosidad viscosa que cubre la pared del estómago, lo cual le evita ser eliminado mediante los mecanismos defensivos del huésped.^{3,5}
- ★ Un cuarto factor de virulencia, es la morfología estructural de tipo espiral. La forma espiralada propia de la estructura de la bacteria le permite introducirse a través de la capa de moco gástrico, actuando al desplazarse, en forma semejante a un sacacorchos, y por lo tanto, favoreciendo su acercamiento a las células epiteliales gástricas^{3,5}.
- ★ Un quinto factor de virulencia, es una citotoxina vacuolizante que produce la formación de ácidos en el citoplasma de muchos tipos diferentes de células eucariotas¹. Este efecto lo producen más de la mitad de los aislamientos clínicos de *H. pylori* y aquellos que poseen la toxina se han asociado con cuadros más graves de la enfermedad. La toxina está codificada por un gen denominado *vacA*, que está presente en todos los aislamientos, produzcan o no la toxina, aunque la secuencia del gen parece ser diferente^{3,5}.
- ★ El sexto factor de virulencia, son las adhesinas. Posee una gran variedad de adhesinas que reconocen de forma específica a los receptores de la mucosa gástrica y se unen a ellos, iniciando la colonización bacteriana^{3,5}.
- ★ El séptimo factor de virulencia, es la proteína CagA. Se ha descrito la presencia de una proteína codificada por el gen *cagA* que podría estar implicada en el proceso de activación de la toxina vacuolizante (*cagA*= gen asociado a citotoxina). La presencia de esta proteína podría influir en la respuesta inflamatoria y aumentar la secreción de interleucina. El gen *cagA* se encuentra localizado en una región del cromosoma que se conoce como Isla de patogenicidad (PAI).³

- ★ *Helicobacter pylori* presenta diversos factores que propician el medio para su colonización en el ser humano, en el siguiente Cuadro 9, se describen los factores de virulencia y patogenicidad, que coadyuvan a la supervivencia en el huésped.²⁵

Cuadro 9. Factores de virulencia y patogenicidad³



5.3 IMPLICACION DE *Helicobacter pylori* EN EL PROCESO DE LA APOPTOSIS

El mecanismo patogénico responsable de la amplia diversidad de manifestaciones clínicas de *H. pylori* aún no está totalmente del todo esclarecido.

En 1994, la Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de su Agencia para la Investigación en Cáncer (IARC), consideró que *H. pylori* era un agente carcinógeno del grupo 1 para el hombre.

El mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica es un proceso biológico que depende del balance entre proliferación y muerte celular programada, o apoptosis. La progresión tumoral es un proceso multipasos, en el que la regulación de la proliferación y la muerte celular programada están alteradas.^{3, 26}

El papel de *H. pylori* en la *carcinogénesis gástrica*, se apoya casi exclusivamente en datos epidemiológicos y en estudios prospectivos histopatológicos. Pero no hay evidencias de que *H. pylori* o sus productos citotóxicos tengan efecto mutagénico.

La apoptosis es un proceso codificado genéticamente, irreversible, activo y fisiológico que se caracteriza por distintos cambios morfológicos y bioquímicos en la célula. Este proceso juega un importante papel en la homeostasis y desarrollo de los tejidos, incluyendo el tracto gastrointestinal.

La apoptosis sucede bajo condiciones fisiológicas normales, participando la célula activamente en ella ("*suicidio celular*"). Así, este tipo de muerte celular es la que con más frecuencia ocurre durante la renovación celular normal, la homeostasis tisular, la embriogénesis, la inducción y el mantenimiento de la tolerancia inmune, el desarrollo del sistema nervioso y la atrofia tisular dependiente del sistema endocrino.

Durante la apoptosis, la célula activa un mecanismo intrínseco de suicidio que sistemáticamente la transforma mediante cambios morfológicos y bioquímicos característicos. Estos incluyen translocación de fosfolípidos (fosfatidilserina) desde la superficie interna a la externa de la membrana plasmática, agregación de la cromatina, condensación citoplasmática y nuclear, y formación de cuerpos apoptóticos que contienen ribosomas, mitocondria morfológicamente intacta y material nuclear. *In vivo*, estos cuerpos apoptóticos son rápidamente reconocidos y fagocitados por macrófagos o células epiteliales adyacentes. Debido a estos eficientes mecanismos para eliminar células apoptóticas *in vivo* la respuesta inflamatoria está eliminada.^{3, 26}

5.3.1 Inducción de apoptosis

H. pylori induce apoptosis e incrementa la proliferación de células epiteliales gástricas como se deduce de distintos estudios. El mecanismo de inducción de apoptosis durante la infección por *H. pylori*, es desconocido^{3, 26}.

La adherencia puede ser importante en la inducción de apoptosis por el microorganismo debido al contacto del microorganismo con las células epiteliales. Sin embargo, extractos solubles de *H. pylori* o altas dosis de lipopolisacárido purificado pueden

también inducir apoptosis, sugiriendo que puede no ser necesaria la bacteria completa. La inducción de apoptosis puede, no solo, depender de la bacteria entera y de los productos bacterianos, sino también de la respuesta inflamatoria asociada. Los mediadores inflamatorios Interferón γ (IFN- γ) y Factor de necrosis tumoral α -(TNF- α) aumentan la apoptosis inducida por *H. pylori*. Un posible mecanismo para su interacción, es a través de la regulación del receptor Fas sobre la célula epitelial gástrica por citocinas. Otras señales potenciales desde *H. pylori* o desde la respuesta inflamatoria para inducir apoptosis, incluyen amonio, ureasa, radicales oxígeno y ceramida, pero esto, no ha sido examinado en detalle.

La infección con cepas con el gen *cagA* se han asociado con una enfermedad más severa y con un mayor riesgo de desarrollar *cáncer gástrico*. Un estudio realizado en pacientes adultos (Peek y cols., 1997) con *H. pylori*, sugiere que la infección con cepas *cagA* positivas, produce un aumento de la proliferación de las células epiteliales gástricas, pero que no está asociado con un aumento de apoptosis, dando lugar a una alteración en el proceso de renovación celular normal del epitelio gástrico.^{3, 26}

5.3.2 Regulación de apoptosis

Como muchas funciones de las células animales, el programa de muerte celular está regulado por señales desde otras células, las cuales pueden activarlo o suprimirlo. Estas interacciones célula-célula son parte del complejo control "*social*" que garantiza que células individuales trabajen para el bien del organismo, como un todo.

En el estudio de los mediadores moleculares de apoptosis se ha visto un aumento de la expresión del supresor tumoral p53 y de la proteína pro-apoptótica BaK en respuesta a la infección por *H. pylori*.^{3, 26}

La proteína p53 es esencial para la inducción de apoptosis como respuesta a un daño cromosómico. Actúa por bloqueo de la replicación del ADN de las células dañadas.

Si las lesiones del cromosoma no pueden ser reparadas en cierto tiempo, las células mueren por apoptosis. El gen que codifica p53 está inactivado por mutación en el 50% de los cánceres humanos incluyendo los gástricos, lo que permite a las células

cancerosas sobrevivir y proliferar, aun cuando su ADN esté dañado; lo que favorece la acumulación de futuras mutaciones. La deficiencia en la expresión de p53 tiene similares efectos a la sobreexpresión de Bcl-2.

Los altos niveles de Bcl-2 promueven cáncer por inhibición de apoptosis, prolongando, de este modo, la supervivencia celular. Ahora está bien establecido que Bcl-2 es el miembro prototipo de una gran familia de genes que codifican proteínas que pueden inhibir (por ejemplo, Bcl-2, Bcl-xL) o promover (por ejemplo, Bax, Bcl-xS, BaK) la apoptosis. La sobreexpresión de Bcl-2 puede conducir a células resistentes a la apoptosis y de ese modo favorecer el crecimiento maligno.^{3, 26}

5.4 *Helicobacter pylori* Y LA ENFERMEDAD ULCEROPEPTICA

En conjunto, la presencia de sustancias con actividad citotóxica, de enzimas que procuran un ambiente adecuado para la bacteria y de mediadores inflamatorios (ya sea producidos por el microorganismo o por el sistema inmunológico del hospedero) neutralizan los sistemas de defensa de la mucosa gástrica, permiten la penetración tisular y estimulan la inflamación local, todo lo cual hace posible que la colonización evolucione hacia infección, y de allí a gastritis y ulceración. Aunque se requiere la confluencia de otros factores, *Helicobacter pylori* es, también, el principal agente etiológico de la úlcera duodenal. En esta entidad, como resultado de fenómenos de metaplasia, células epiteliales gástricas aparecen en el duodeno y con ellas, viene la bacteria, causando una intensa inflamación local que deteriora la resistencia de la mucosa, permitiendo el ataque del ácido clorhídrico y conduciendo finalmente a la ulceración.¹⁶

En el origen de la úlcera duodenal es muy importante la ya mencionada interferencia de *H. pylori* con los mecanismos que controlan la producción de ácido clorhídrico. Los pacientes infectados por el microorganismo sufren marcada hiperproducción de gastrina, ya que el amonio generado por la bacteria interfiere con la señal ácida que, en condiciones normales, sirve como mensaje de retroalimentación negativa sobre las células G del antro, creando un falso ambiente de alcalinidad. Así, aumenta la liberación

de gastrina y es mayor el estímulo sobre las células parietales, de manera que éstas liberan altas cantidades de ácido clorhídrico (figura 26).²⁶

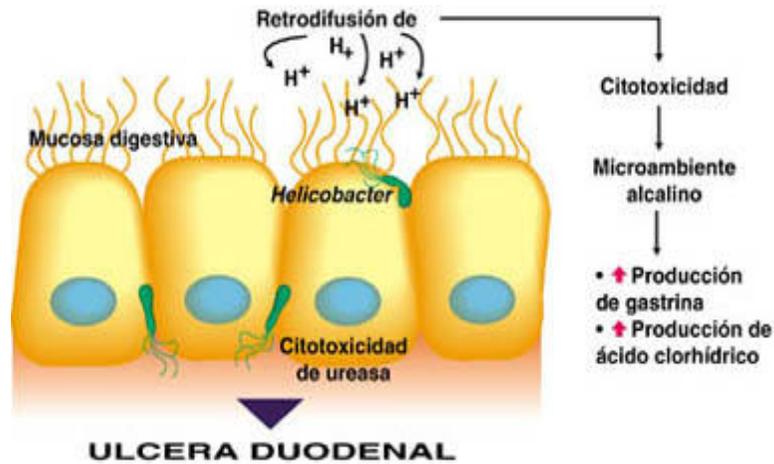


Figura 26 La colonización de *Helicobacter pylori* conduce a gastritis y ulceración. Aunque se requiere la presencia de otros factores, la bacteria es el principal agente etiológico de la úlcera duodenal al alterar los mecanismos que controlan la producción de ácido clorhídrico²⁶.

5.5 DE LA ENFERMEDAD ÚLCEROSA, AL CÁNCER GÁSTRICO

Si bien, el adenocarcinoma gástrico es una neoplasia de origen multifactorial, hoy día se considera que en la génesis de la misma, ocupa un papel fundamental la infección por *Helicobacter pylori*. Numerosas y extensas investigaciones epidemiológicas han confirmado la existencia de una sólida asociación entre el desarrollo de cáncer gástrico y la infección por esta bacteria. Tal asociación es más consistente en el caso de los adenocarcinomas que aparecen en regiones diferentes y aquellos de variedad intestinal o difusa. Es preciso señalar que la mayoría de personas infectadas con *H. pylori*, no desarrollarán cáncer.

Aunque hasta el momento no se conocen por completo los mecanismos responsables de la inducción neoplásica por parte de esta bacteria, ni por qué hasta un 90% de los portadores nunca desarrollan enfermedad maligna, las pruebas disponibles indican que *H. pylori* actúa como un cofactor de primer orden. Por una parte, los productos

derivados del metabolismo bacteriano favorecen la producción local de sustancias carcinógenas, como radicales libres, nitritos y nitrosaminas; por otra parte, la infección en sí misma altera las propiedades físicas y químicas de la mucosa, disminuyendo la producción de ácido ascórbico y otros agentes antioxidantes. Además, la lesión del epitelio se traduce, inicialmente en atrofia y metaplasia intestinal, que luego deviene en displasia y transformación maligna.

Otra neoplasia estrechamente relacionada con *H. pylori* es el linfoma no Hodgkin del estómago, que tiene enormes similitudes histológicas con el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT, siglas del inglés Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). En condiciones normales, la pared del estómago carece de tejido linfoide, pero como resultado de la infección crónica por el microorganismo, los linfocitos comienzan a infiltrar la submucosa y se organizan formando un tejido especializado; además, el estímulo antigénico constante induce la proliferación monoclonal de linfocitos T. Más adelante y por razones todavía desconocidas, tales células empiezan a exhibir un comportamiento maligno y proliferan sin ningún control, dando lugar al linfoma gástrico (**figura 27**). En algunas series, hasta un 98.4% de estos linfomas coexisten con gastritis crónica activa, una lesión claramente vinculada con la infección por *Helicobacter*.²⁶

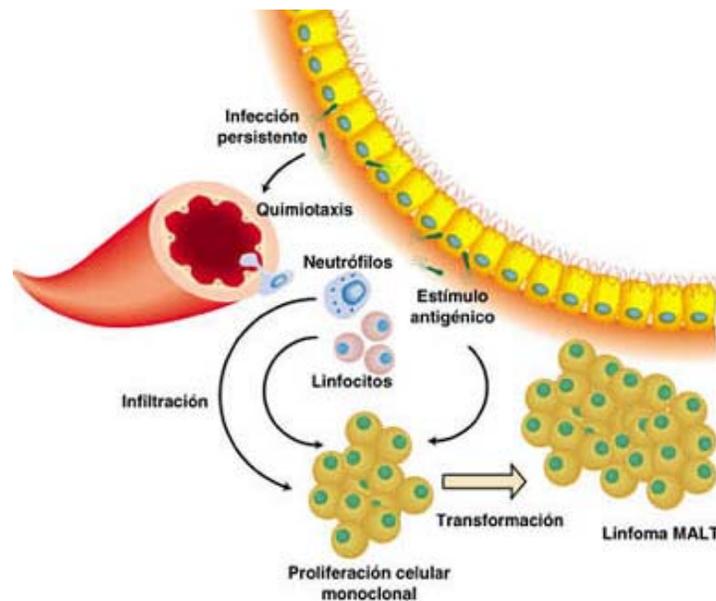


Figura 27 Secuencia de eventos que conduce a la aparición de linfomas MALT en la pared gástrica. El estímulo antigénico persistente, debido a la presencia de infección crónica, promueve la infiltración y proliferación de linfocitos en la pared gástrica²⁶.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

6.1 Diagnóstico

6.2 Métodos directos agresivos

6.2.1 Cultivo

6.2.2 Histología

6.2.3 Técnicas moleculares

6.2.3.1 Tipificación molecular de *Helicobacter pylori*

6.2.3.2 Ribotipificación

6.2.3.3 Polimorfismo en longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

6.2.3.4 Proteína C reactiva – polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción PCR/RFLP

6.2.3.5 Amplificación de fragmentos AP-PCR o RAPD

6.3 Métodos directos no agresivos

6.3.1 Técnicas moleculares

6.3.2 Antígeno en heces

6.4 Métodos indirectos agresivos

6.4.1 Ureasa rápida

6.5 Métodos indirectos no agresivos

6.5.1 Prueba de aliento con urea

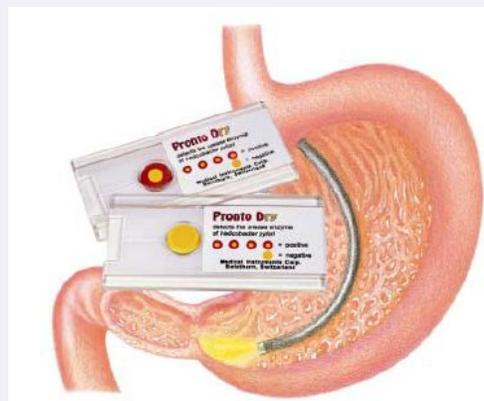
6.5.2 Serología y anticuerpos en saliva

6.6 Pruebas de sensibilidad a antimicrobianos

6.6.1 Dilución en agar

6.6.2 Difusión de E-Test

6.6.3 Difusión de discos



6.1 DIAGNOSTICO

Al igual que en cualquier otra condición, el diagnóstico es esencial antes de iniciar el tratamiento. Existen diferentes métodos para diagnosticar la infección producida por *H. pylori*. Los métodos pueden diferenciarse según el tipo de muestra que se utiliza, si requieren o no la endoscopia (agresivos o no agresivos) y a la forma de detectar el microorganismo (directamente la propia bacteria o de forma indirecta), cualquiera de estas pruebas son de alta especificidad y sensibilidad.³

Cuadro 10 Principales métodos de diagnóstico utilizados en la detección de la infección por *H. pylori*

	Agresivos (biopsia gástrica)	No agresivos
Directos	<ul style="list-style-type: none"> ★ Cultivo ★ Histología ★ Técnicas moleculares (en investigación) 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Técnicas moleculares: jugo gástrico, saliva o heces ★ Antígeno en heces (en investigación)
Indirectos	<ul style="list-style-type: none"> ★ Ureasa rápida 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Prueba del aliento con urea (UBT) ★ Serología ★ Anticuerpos en saliva (en investigación)

A la hora de elegir uno u otro método, hay que tener en cuenta el objetivo del diagnóstico (epidemiológico, diagnóstico o de seguimiento), el centro en el que nos encontramos (experiencia del personal y disponibilidad de medios) y las características del paciente (prevalencia de *H. pylori* en la población, edad del paciente, medicación previa, etc). No se debe olvidar que los métodos han sido elaborados para el diagnóstico de la infección, y que en el caso de la endoscopia, que incluye toma de biopsia para estudio histológico, permite además diagnosticar el tipo de enfermedad. Por otra parte, el cultivo es imprescindible para conocer la sensibilidad a los antimicrobianos, con el fin de aplicar el tratamiento más efectivo en cada paciente, pero también para conocer los porcentajes de sensibilidad en cada población.^{13,27,28,29}

6.2 METODOS DIRECTOS AGRESIVOS

6.2.1 Cultivo

El aislamiento mediante el cultivo de *H. pylori*, es sin duda, el método altamente específico en el diagnóstico del microorganismo. No obstante su sensibilidad varía notablemente en relación con diferentes variables como: la recolección, transporte y almacenamiento de la muestra, los medios de cultivo utilizados y las condiciones de incubación (porcentaje de CO₂ y humedad, principalmente). Se puede considerar como un método tedioso e incluso de difícil realización, pero debe efectuarse de rutina si se realiza la endoscopia, ya que aporta un gran número de ventajas en el estudio de la bacteria. Entre ellas, destaca el conocimiento de la sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, la caracterización de factores de virulencia y la posibilidad de la tipificación de cepas con fines epidemiológicos^{30, 31}.

La muestra más habitual para el cultivo de *H. pylori*, es la biopsia a partir de la mucosa gástrica. El microorganismo se encuentra predominantemente en la parte antral del estómago, excepto en individuos tratados con inhibidores de la bomba de protones (IBP) (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol) y antihistamínicos anti-H₂, en los que se encuentran densidades más grandes en el cuerpo. Igualmente, se encuentra en mayor proporción en el antro gástrico, en comparación con el duodeno, incluso en pacientes con duodenitis. Debido a la distribución "parcheada", para el aislamiento, se recomienda la toma de varias biopsias. Se han utilizado otras muestras gástricas como jugo gástrico, la obtenida mediante la prueba del hilo ("*string test*") y el aislamiento a partir de vómitos, aportando diferentes resultados. *H. pylori* se ha cultivado puntualmente también de muestras extragástricas, como placa dental, esófago, recto y vejiga urinaria.

Cualquier antibiótico con actividad frente a *H. pylori*, reducirá considerablemente el número de bacterias en el estómago. Si el paciente ha estado en tratamiento con antibióticos, Es necesario, esperar al menos cuatro semanas, tras la última dosis para obtener resultados satisfactorios en lo que respecta al cultivo.^{30, 31}

6.2.2 Histología

El estudio histológico de la biopsia permite conocer las lesiones de la mucosa, además de detectar la infección por *H. pylori*. La confirmación histológica de la inflamación de la mucosa es fundamental para el diagnóstico de la gastritis y su clasificación. Además permite detectar zonas de metaplasia intestinal.¹³

6.2.3 Técnicas moleculares

A continuación se describen diferentes técnicas a nivel molecular utilizadas para la identificación y tipificación de *Helicobacter pylori*.

6.2.3.1 Tipificación molecular de *H. pylori*

El diagnóstico molecular y la tipificación de *H. pylori* pueden darnos información invaluable para estudios epidemiológicos y clínicos, así como para determinar la estructura genética de las poblaciones y entender la evolución del microorganismo. Técnicas sensibles y eficientes que nos permitan diferenciar los aislamientos clínicos, se han desarrollado técnicas moleculares basadas en el alto grado de variabilidad genómica entre las cepas de *H. pylori*.¹³

6.2.3.2 Ribotipificación

El principio de este método está basado en la digestión del DNA cromosomal de diferentes cepas de *H. pylori* por endonucleasas de restricción seleccionadas tales como: *HindIII*, *HaeIII* y *DraI*. Subsecuentemente, tales patrones de digestión de los genes ARNr son visualizados por hibridación con sondas específicas de ADN o ARN marcadas radioactiva o no radioactivamente. Este método ha sido aplicado exitosamente para tipificar aislamientos de *H. pylori*.¹³

6.2.3.3 Polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

El ADN cromosomal intacto es digerido por endonucleasas de restricción y separado por corrimiento en electroforesis en gel por campos pulsados (PFGE). Los mapas genéticos pueden ser construidos por hibridación con los fragmentos de restricción con sondas de Acido desoxirribonucleico (ADN) preparadas de genes conocidos.¹³

6.2.3.4 Proteína C reactiva – polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (PCR-RFLP)

Los fragmentos de ADN son primero amplificados usando PCR con iniciadores generados a partir de genes conocidos, seguido por digestiones con enzimas de restricción. Las cepas de *H. pylori* se pueden diferenciar con esta técnica utilizando los genes de las ureasas incluyendo a *ureA*, *ureB*, *ureC* y *ureD*.¹³

6.2.3.5 Amplificación de fragmentos (AP-PCR o RAPD)

Esta técnica involucra amplificaciones al azar de fragmentos de ADN con iniciadores de secuencias de nucleótidos diseñados arbitrariamente. Los perfiles de fragmentos de ADN amplificados azarosamente pueden discriminarse entre las cepas probadas.¹³

6.2.3.6 Tipificación por secuenciación de DNA

Este método está basado en la amplificación por PCR de genes conocidos, que son polimórficos y comunes para todas las cepas de *H. pylori*. Subsecuentemente, las secuencias de nucleótidos de los fragmentos amplificados de diferentes aislamientos son determinadas y comparadas por la secuenciación directa del ADN.¹³

6.2.3.7 Tipificación por proteína C reactiva (PCR) de alelos específicos

Este método ha sido recientemente desarrollado para detectar cepas "ulcerogénicas" basado en regiones representativas de los genes *vacA* y *cagA* de las cepas de *H. pylori*. Se utilizan iniciadores específicos que son generados de regiones individuales para caracterizar de alelos específicos del gen a estudiar (por ejemplo para *vacA* el tipo de alelo de secuencia señal s1a, s1b y s2 y región media m1 y m2).¹³

6.3 DIRECTOS NO AGRESIVOS

6.3.1 Técnicas moleculares

En los últimos años se han desarrollado numerosas técnicas que permiten detectar la presencia del ADN de *H. pylori* directamente en la biopsia gástrica, aunque también en

otras muestras, como heces, saliva o agua. La mayoría de las técnicas se basan en la PCR, tanto clásica como en tiempo real. El objetivo de todas ellas ha sido:

- ✓ Detección de genes específicos de la bacteria. Permite detectar *H. pylori* en diferentes muestras. Se ha utilizado el estudio del gen de la ureasa (*ureA* o *ureC*), el gen 16S ARNr u otros genes.
- ✓ Detección de factores de virulencia.
- ✓ Detección de mecanismos de resistencia.¹³

6.3.2 Antígeno en heces

Es un método directo no invasivo que permite la detección de antígeno de *H. pylori* en muestras de heces. Existen varios sistemas comerciales que permiten detectar la presencia de antígeno en heces con anticuerpos policlonales o monoclonales y pueden existir pequeñas diferencias entre ellos^{32, 33}.

Se ha descrito como válida para establecer el diagnóstico inicial, verificar la eficacia del tratamiento en las cuatro o seis semanas posteriores a su realización y comprobar la reaparición de una infección. Se trata de un ensayo cualitativo (no cuantitativo). La técnica aporta una información muy valiosa por la fácil obtención y conservación de las muestras, se puede realizar en cualquier laboratorio de microbiología y no necesita la colaboración del paciente (como en el caso de la prueba del aliento). Es muy útil en niños pequeños. Puede utilizarse tanto para el diagnóstico de colonización por *H. pylori* como para el seguimiento después del tratamiento erradicador.

El primer equipo comercializado fue el Premier Platinum HpSA (Meridian diagnostics) consiste en una técnica de análisis inmuno-enzimático preparado con anticuerpos policlonales anti-*H. pylori*. Presenta excelente especificidad, pero existen datos variables de sensibilidad (de 57,7% a 96,6%, según los estudios).

Recientemente, se ha desarrollado un sistema de inmunocromatografía ImmunoCard STAT HpSA (Meridian Diagnostics) realizado con anticuerpos monoclonales que presenta valores de sensibilidad de 73 a 96%, aunque todavía está poco estudiado.^{32,}

³³

Por lo tanto, en función de los estudios actualmente disponibles, el sistema más recomendable es el sistema de EIA con anticuerpos monoclonales por sus mejores resultados en cuanto a sensibilidad de la técnica y por la buena reproducibilidad.^{32, 33}

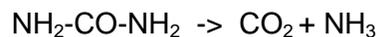
6.4 INDIRECTOS AGRESIVOS

6.4.1 Ureasa rápida

H. pylori posee una ureasa que le capacita para la colonización y persistencia en la cavidad gástrica. Se localiza tanto en la membrana externa como en el espacio periplásmico, y está compuesta por complejos de una estructura hexamérica. La potencia de la ureasa es muy superior a la de otras bacterias.^{34, 35}

La enzima cumple tres funciones principales: Protección frente al ácido de la mucosa gástrica, provisión de nitrógeno en forma de amonio y como factor de virulencia en la patogenia de la úlcera gástrica.

Fundamento de la prueba rápida de la ureasa: Consiste en detectar la presencia de la enzima de la siguiente forma: *H. pylori* descompone la urea en anhídrido carbónico y amoniaco, lo cual genera un pH básico que va a ponerse en evidencia mediante el cambio de color del medio de naranja-amarillo a rosa fuerte debido a la acción del indicador de pH.^{34, 35}



La prueba de la ureasa rápida se puede realizar directamente con la muestra de biopsia gástrica, obtenida mediante endoscopia digestiva alta. Para el diagnóstico se recomiendan dos biopsias, una de cuerpo y otra de antro. Las muestras pueden ser inoculadas en la misma sala de endoscopias por lo que no necesitan ningún medio de transporte. Existen diferentes reactivos comerciales dirigidos a detectar la enzima a partir de la biopsia. Todos ellos contienen urea a diferentes concentraciones (Se estima que hasta un máximo del 6%, porque concentraciones superiores pueden inhibir la enzima) y un indicador de pH y varían en el diseño de los mismos: existen "test" de gelosa como Clotest®, HUTtest® y Hpfast® en los que la muestra se introduce en un medio semisólido que contiene los reactivos, "tests" de membrana, en los que los

reactivos están contenidos en una tira de papel, como Pyloriteck® y Pronto Dry® y "tests" en medio líquido como Helicochek®.^{34, 35}

En general son sistemas comerciales muy sencillos de utilizar y los resultados se interpretan en un intervalo corto de tiempo (media hora), observando el cambio en el color del reactivo. Los resultados de sensibilidad y especificidad son en general superiores al 80% y 90%, respectivamente.

También se puede utilizar una solución preparada en el laboratorio que contenga urea al 3-4% e indicador de pH; sin embargo, los resultados de sensibilidad pueden resultar algo menores. La solución se puede preparar con 60 g/L de urea, 0,012 g/L de rojo fenol, 2 g/L de KH_2PO_4 , 1 g/L de peptona, 5 g/L de NaCl y 10 g/L de glucosa en agua destilada.^{34, 35}

6.5 INDIRECTOS NO AGRESIVOS

6.5.1 Prueba del aliento (*Urea Breath Test*, Ubt)

Es un método indirecto que se basa en la presencia de la ureasa de *H. pylori*. El paciente ingiere una solución con urea marcada isotópicamente con ^{13}C (no radioactivo) o ^{14}C (radioactivo) y se recoge el aliento durante 30 minutos, después de la ingestión de la solución de urea; previamente se habrá recogido otra muestra de aliento basal. Si *H. pylori* se encuentra en el estómago, éste hidroliza la urea gracias a su ureasa y se libera CO_2 marcado (^{13}C o ^{14}C) que se absorbe, difunde a sangre y transporta a los pulmones y es liberado con el aliento³⁶.

Los resultados se miden como la relación de ^{13}C o $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la prueba con respecto al estándar. Tanto el sistema radiactivo como el no radiactivo presentan similares porcentajes de sensibilidad, aunque generalmente se prefiere el no radiactivo, si se dispone del espectrómetro de masas.

Estas pruebas tienen una excelente sensibilidad (95%) y especificidad (100%) para el diagnóstico y seguimiento del tratamiento antimicrobiano, con la ventaja de ser una

prueba global que valora la presencia de *H. pylori* en el estómago y no se ve sometido al sesgo que pueden tener otras pruebas por la distribución “parcheada” de la bacteria en el estómago. También tienen otras ventajas, como el ser una prueba no invasora y no depender de las condiciones de transporte, ni de la experiencia del personal técnico. La prueba del aliento indica una infección actual por la bacteria, ya que en una infección pasada, el resultado sería negativo. Por esto, es útil como seguimiento del tratamiento realizado, 4 a 6 semanas después de finalizado. Recientemente, se está utilizando un nuevo analizador con espectrometría de infrarrojos que permite la realización de la técnica en la consulta del clínico en pocos minutos.³⁶

6.5.2 Serología y anticuerpos en saliva

Los métodos serológicos se basan en la detección de anticuerpos específicos frente a *H. pylori* en suero, saliva u orina. Las técnicas serológicas se realizan con una muestra de suero.

La serología es útil en el estudio de poblaciones seleccionadas; sin embargo, su principal problema radica en que no puede diferenciar la infección activa de la exposición previa al microorganismo. *H. pylori* provoca una respuesta inmunitaria, tanto local como sistémica. El sistema inmune responde con un aumento transitorio de IgM, seguido de un aumento de anticuerpos de los tipos IgG e IgA que persisten durante la infección. Puesto que los anticuerpos IgM se detectan sólo transitoriamente, tienen poco valor para el diagnóstico. La principal respuesta sistémica es de tipo IgG por lo que la detección de estos anticuerpos es la más utilizada para el diagnóstico.¹³

Se han utilizado varias clases de antígenos, que van desde células enteras o sonicadas, hasta antígenos parcial o altamente purificados (ureasa, etc.). La detección de anticuerpos específicos contra algunas proteínas del microorganismo, como CagA y VacA puede tener especial interés en estudios sobre virulencia. La técnica más utilizada es el Inmunoensayo enzimático (EIA) cuantitativo, que permite, además del diagnóstico primario, la monitorización del tratamiento. Los métodos serológicos cualitativos muestran peores resultados y los métodos rápidos no se recomiendan. Las técnicas que detectan anticuerpos en saliva y en orina son atractivas, ya que estas muestras son fáciles de obtener, pero en ellas, la concentración de anticuerpos es más baja que en

suero. Los métodos basados en la técnica del Western Blot se utilizan para el estudio de la respuesta frente a antígenos concretos, como CagA y VacA.¹³

6.6 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS

La determinación de la sensibilidad *in vitro* de *H. pylori* a los agentes antimicrobianos es importante, ya que la resistencia primaria o adquirida a varios antibióticos, se asocia con la ausencia de erradicación de la bacteria en el estómago.

6.6.1 Dilución en agar

Es el método de referencia, pero no aplicable de forma rutinaria para cada cepa, aunque es válido para confirmar los resultados obtenidos por otros métodos y realizar estudios con el objeto de conocer la tasa global de resistencia en un área determinada.

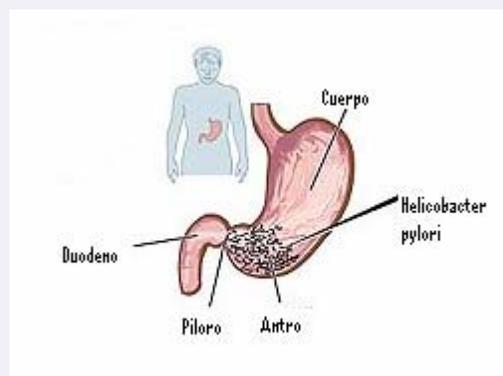
6.6.2 Difusión con E-test

Es un método cuantitativo para realizar las pruebas de sensibilidad *in vitro* basado en la difusión. El método del epsilómetro está especialmente recomendado en organismos exigentes y cuando se deben probar pocos microorganismos o pocos antibióticos. Tiene diferentes ventajas sobre los métodos tradicionales de dilución en agar, dilución en caldo o difusión en agar. La correlación de este método con la dilución en agar no es buena cuando se estudia metronidazol.

6.6.3 Difusión con discos

Es el método más fácil y barato para determinar la sensibilidad *in vitro*, pero no hay muchos estudios de correlación entre los valores de la Inmunidad medida por células (CMI) y los diámetros de inhibición en el caso de *H. pylori*, por lo que no es el método más adecuado. Teniendo en cuenta que el método de dilución en agar no es aplicable de rutina y el método del E-test es caro y que también se observan discrepancias con metronidazol.^{37, 38, 39}

Patogenia y Patología



- 7.1. *Concepto general de inmunidad*
 - 7.1.1 *Mecanismos de la inmunidad natural*
 - 7.1.2 *Compuestos químicos antimicrobiales*
 - 7.1.3 *Protección del estomago*
- 7.2. *Patogenicidad microbiana*
- 7.3 *Resultados de la infección por Helicobacter pylori*
- 7.4 *Características clínicas de la infección por Helicobacter pylori*
 - 7.4.1 *Gastritis*
 - 7.4.2 *Úlcera péptica*
 - 7.4.3 *Cáncer gástrico*
 - 7.4.4 *Linfoma gástrico tipo MALT*
 - 7.4.5 *Manifestaciones extradigestivas*



7.1 CONCEPTO GENERAL DE INMUNIDAD

El cuerpo humano posee un sistema inmunológico complejo que le otorga inmunidad, contra la invasión de microorganismos patógenos. La inmunidad entonces, se considera como la adquisición por el organismo de propiedades defensivas nuevas y específicas como consecuencia de una infección. Ampliando este concepto, bajo esta denominación se indica el conjunto de factores humorales y celulares, específicos o no de la sustancia introducida, que protegen al organismo contra las agresiones infecciosas y parasitarias o tóxicas y contra las proliferaciones malignas (exceptuando los fenómenos de tolerancia).⁴⁰

El sistema inmunológico funciona en dos niveles (Figura 28). Por una parte, con límites amplios en su interacción con los microorganismos, al utilizar mecanismos severos inespecíficos o no-selectivos. Estos mecanismos actúan contra un diverso número de microorganismos, incluyendo entidades biológicas, como los virus. Por otro lado, el sistema inmunológico puede ser específico o de límites selectivos sobre sus interacciones microbianas. Los mecanismos específicos incrementan la capacidad del organismo para reconocer con exactitud a microorganismos particulares.⁵

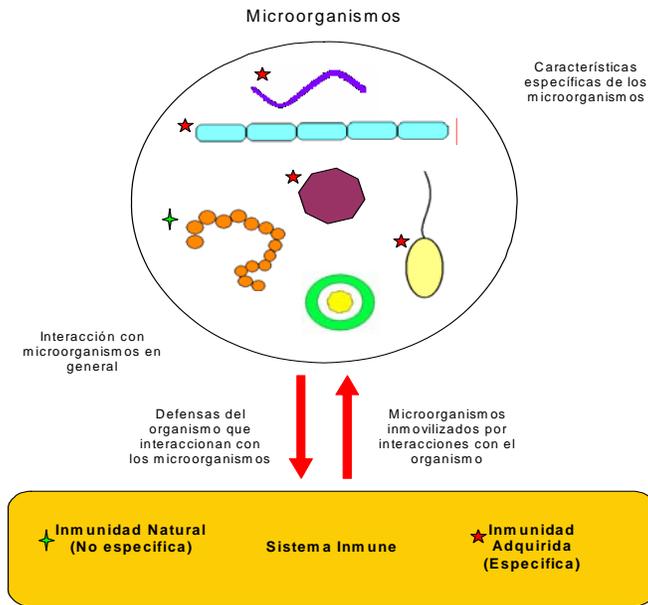


Figura 28 El sistema inmunológico es una red compleja de mecanismos inespecíficos y altamente específicos que regulan las interacciones con los microorganismos. Los medios no específicos, constituyen la denominada inmunidad natural, la cual interactúa con los microorganismos en general. Los medios altamente específicos pueden reconocer finas huellas digitales moleculares de los microorganismos, lo que constituye la inmunidad adquirida y favorece que el organismo responda ante la presencia de un microorganismo en particular.⁵

Los mecanismos inespecíficos de la inmunidad abordan a los microorganismos en general, denominada inmunidad natural o inmunidad innata, ya que es del todo funcional, desde el nacimiento, o aún, en ausencia de un contacto previo con los microorganismos.

Los mecanismos específicos de la inmunidad que actúan contra microorganismos individuales, es denominada inmunidad adquirida, ya que ésta, sólo se desarrolla después de su interacción con microorganismos patógenos particulares, y no de inmediato después del nacimiento. Estos mecanismos responden a una estimulación molecular. Representan un potencial para la inmunidad, estos vienen a jugar un papel importante en su interacción con los microorganismos, al estar limitada la inmunidad natural.⁵

7.1.1 Mecanismos de la inmunidad natural

Cuando los microorganismos entran en contacto con el organismo, estos usualmente confrontan mecanismos innatos o naturales en la primera inmunidad. La inmunidad natural puede interactuar como “una sombrilla de protección” contra los

microorganismos patógenos, cuando estos penetran en el cuerpo y causan enfermedad. (Figura 29). La inmunidad natural es la primera línea de defensa del organismo. Existen tres mediadores de la inmunidad natural⁵:

- ★ Barreras antimicrobianas
- ★ Compuestos químicos antimicrobianos
- ★ Células fagocíticas

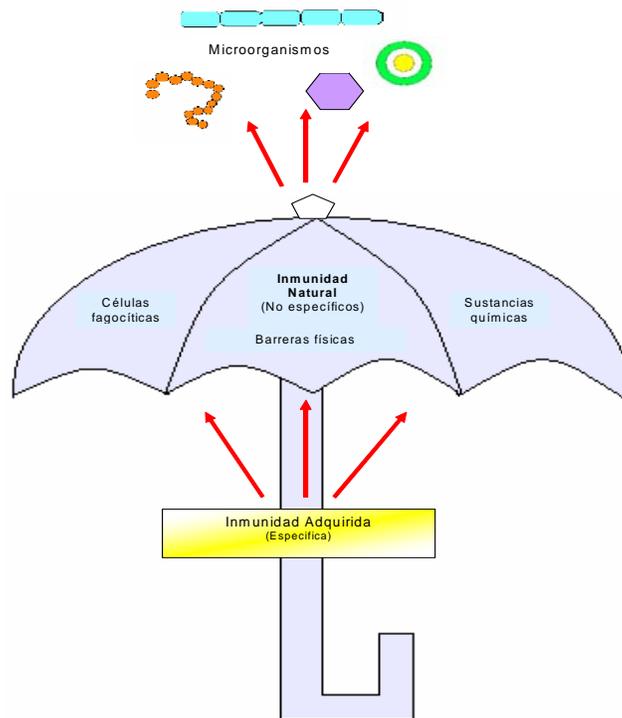


Figura 29 Inmunidad natural: actúa como una sombrilla que protege al organismo al interactuar con los microorganismos en general, antes de que los mecanismos de inmunidad adquirida, entren en funciones.⁵

7.1.2 Compuestos químicos antimicrobianos

Para esta investigación en particular, sólo se hará mención de las sustancias químicas antimicrobianas. En general, en el organismo existen diversas sustancias químicas antimicrobianas que integran la inmunidad natural:

- ✓ Mucosidad
- ✓ Grasas y ácidos grasos
- ✓ Ácidos estomacales
- ✓ Lisozima
- ✓ Interferón
- ✓ Transferrina
- ✓ Lactoferrina

De este grupo, por la relación que guardan con *H. pylori*, se puntualiza sobre la importancia de la mucosidad epitelial y los ácidos estomacales.

Las mucosas de las membranas, recubren a las células de los epitelios, las cuales secretan una sustancia llamada moco. Por ejemplo, los microorganismos que son atrapados en el moco del tracto respiratorio o de la pared estomacal, son expulsados por las células epiteliales.

Ácidos estomacales: La acidez del jugo gástrico impide el crecimiento de un gran número de microorganismos. El jugo gástrico es una mezcla de ácido clorhídrico, enzimas y mucosa secretados por el estómago. Esta mezcla es altamente ácida, ya que presenta un pH inferior a 3.0. El ambiente ácido del estómago es una excepcional y formidable barrera química contra la mayoría de los microorganismos patógenos y sus toxinas. Sin embargo, hay varias enfermedades gastrointestinales, de ciertos patógenos microbianos y sus toxinas, que pueden sobrevivir durante su paso a través del estómago.⁵

7.1.3 Protección del estómago

Durante la digestión, la comida se desplaza de la boca al esófago y al estómago. El siguiente suceso es la secreción del ácido clorhídrico estomacal y la enzima pepsina. Del estómago, la comida pasa al duodeno, donde continúan la digestión y

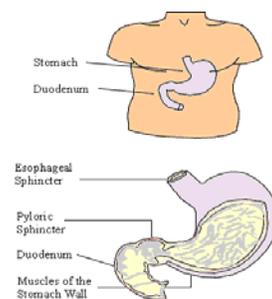


Figura 30 Estómago y duodeno⁴¹

absorción de los nutrimentos (Figura 30). Sin una protección por la presencia de la mucosa estomacal, el ácido clorhídrico y la pepsina alterarían a la pared de estómago.

Para protegerse, el tejido de estómago da trabajo a un número de defensas y mecanismos de reparación.

La primera línea de defensa es una capa mucosa, la cuál contiene bicarbonato que neutraliza al ácido del estómago. Después, las membranas celulares en la pared del estómago, contienen lípidos, los cuales repelen a los iones solubles en agua, como por ejemplo, los hidrogeniones. Finalmente, cualquier ión que traspasa la capa de la superficie es retirado por el flujo sanguíneo. La circulación de la sangre es también esencial para desarrollar la mucosidad, y para mantener la capa alcalina, la cual es continuamente liberada de fibrina y detritus celulares debajo de la mucosidad.

En ausencia de la capa mucosa, el ácido empezaría a atacar la primera capa del estómago. Normalmente, esto no sería un problema, porque la primera capa del estómago está siendo liberada constantemente. Pero si el forro interior es destruido más rápido que reemplazado, puede desarrollarse una úlcera. Con la acidez y la falta persistente de mucosidad, la úlcera podría crecer y llegar al flujo de sangre subyacente lo suficientemente profundo. Cuando eso ocurre, la úlcera puede haber perforado la pared de estómago y el ácido clorhídrico del estómago y pepsina pueden directamente, actuar sobre el tejido.⁴¹

7.2 PATOGENICIDAD MICROBIANA

Una enfermedad es un estado de las funciones disminuidas en una persona, animal, o planta. Específicamente, se consideran las propiedades y los mecanismos de los microorganismos, que les permiten causar la enfermedad. Las enfermedades causadas por microorganismos o parásitos multicelulares son llamadas en general, enfermedades transmisibles o infecciosas o contagiosas. Las enfermedades que resultan por alguna otra causa, son denominadas no infecciosas o no transmisibles.

Hay muchas otras causas de enfermedades no transmisibles, además de las alteraciones genéticas, incluyendo la radiación ultravioleta, que causa cierta clase de cáncer de piel, y el humo de tabaco, agente causal del cáncer de pulmón junto con las enfermedades del corazón por alteraciones cardíacas. Los términos transmisibles y contagiosos no determinan que un microorganismo debe invadir nuestro cuerpo o colonizar su superficie. Por ejemplo, un microorganismo puede ser responsable de una enfermedad si produce toxinas, los cuales pueden acumularse en la comida o el agua por lo que, al ingerir la comida o el agua contaminadas, sobreviene la enfermedad.

Conforme se aprende más acerca de una enfermedad, el hombre cambia sus ideas acerca de la naturaleza de ella, Por ejemplo, hasta mediados de los años ochenta, se creía que las úlceras se desarrollaban como consecuencia del estrés y el tipo de dieta; sin embargo, al descubrir la presencia de *Helicobacter pylori* en los tejidos alterados que conforman la lesión, se demostró que la presencia de esta bacteria es la principal causa de la mayoría de estas úlceras.⁵

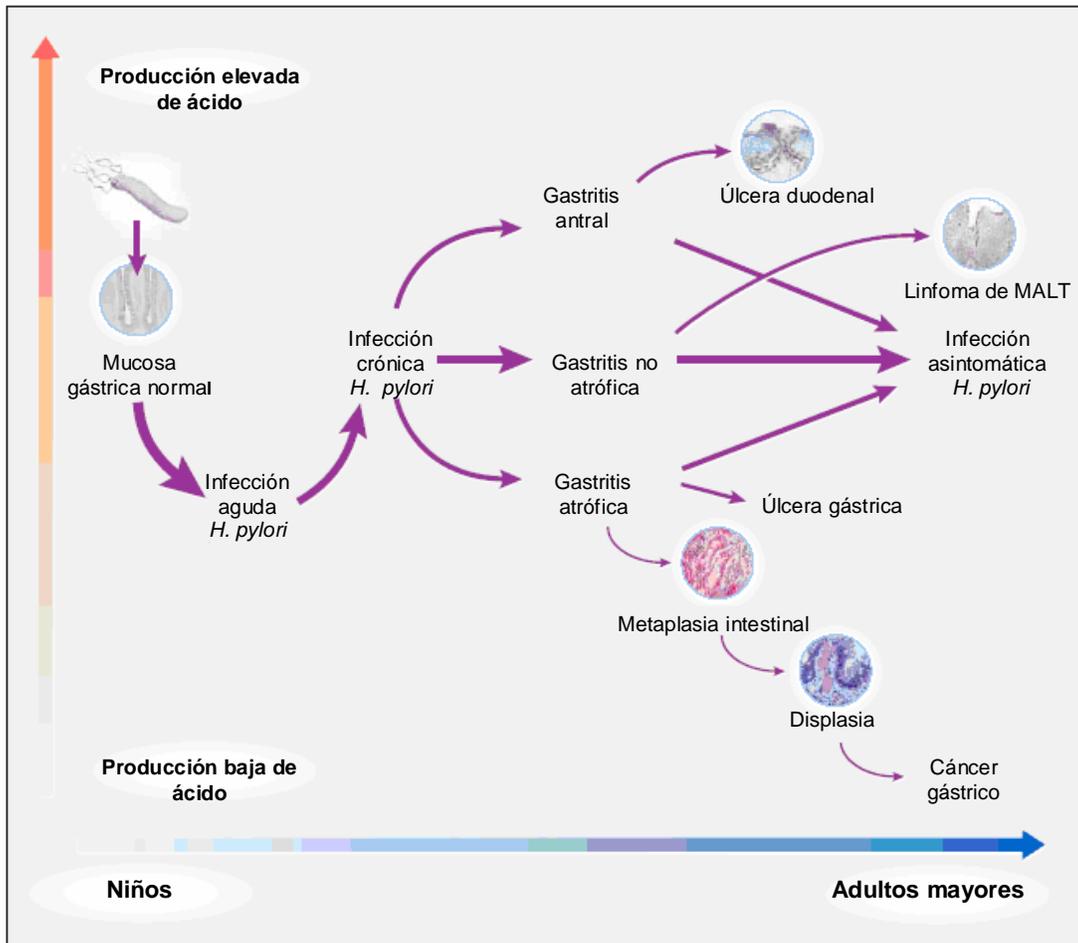


Figura 31. El curso clínico de la infección por *Helicobacter pylori* es altamente variable y es influenciado por otros agentes microbianos y factores del medio. ^{42,43}

7.4 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori*

Cuando *H. pylori* coloniza la mucosa gástrica humana produce una gastritis superficial que puede permanecer así durante el resto de la vida o bien, al cabo de años o décadas, puede desarrollar un úlcera péptica (duodenal o gástrica) o una gastritis atrófica, que podría ser el primer paso para la evolución a un cáncer gástrico. También puede desarrollarse un tipo de linfoma, poco frecuente, que es el linfoma gástrico tipo MALT (*mucosa associated lymphoid tissue*).

Todavía no se conoce claramente, por qué en unos pacientes la enfermedad es casi asintomática, mientras que en otros, se producen enfermedades digestivas de diferente gravedad. Existen factores genéticos predisponentes en el paciente, como el grupo sanguíneo, el tipo de antígeno Lewis o el tipo de HLA. También existen factores ambientales como las condiciones socioeconómicas, el consumo de tabaco o la dieta (la ingestión de sal actúa como factor agresivo de la mucosa, mientras que el consumo de alimentos anti-oxidantes actúa como factor protector), que pueden influir en el desarrollo de un tipo u otro de la enfermedad. Por otro lado, los factores de patogenicidad de la propia bacteria pueden tener su efecto en el desarrollo de la enfermedad.^{13, 44, 45}

7.4.1 Gastritis

La gastritis, que se origina después de la infección por *H. pylori*, puede desarrollarse sin manifestaciones o bien originar la expresión clínica propia de gastritis aguda (dolor epigástrico, náuseas y vómitos). La gastritis aguda por *H. pylori* es un diagnóstico poco frecuente y cuando se ha descrito ha sido tras ingestión accidental o en voluntarios. Su curso es de 7 a 10 días y puede evolucionar a la eliminación espontánea de *H. pylori* o, más frecuentemente, a su cronicidad (Figura 32).



Figura 32 En la imagen se observa el aspecto de la mucosa del estómago cuando se realiza una endoscopia digestiva en un paciente con gastritis antral asociada a *H. pylori*.⁵

La gastritis crónica se caracteriza por infiltración inflamatoria crónica, constituida por linfocitos y células plasmáticas, con presencia de folículos linfoides y un grado variable de actividad (infiltración inflamatoria aguda). La gastritis crónica por *H. pylori* es un proceso dinámico que evoluciona hacia la atrofia que afecta al antro y a la mucosa transicional y se extiende en dirección al cuerpo. También se puede asociar a metaplasia intestinal como respuesta a la agresión crónica. En áreas metaplásicas no se detecta *H. pylori* y la inflamación es menor que en las no metaplásicas. La atrofia y la metaplasia son dos procesos diferentes que

pueden presentarse de forma independiente.^{13, 46, 47}

7.4.2 Úlcera péptica

La asociación de *H. pylori* con la úlcera duodenal es clara, ya que el 90-95% de los pacientes con úlcera duodenal, presentan este microorganismo y la úlcera cicatriza al erradicar la bacteria. Con respecto a la úlcera gástrica, también existe una clara relación, aunque sólo un 70% de este tipo de úlcera está asociado con la presencia de *H.*

pylori, pero algunas úlceras son causadas por el uso prolongado de antiinflamatorios no esteroideos (AINES), asociados a la aspirina o ibuprofeno. En algunos casos, tumores cancerosos de estómago o páncreas pueden causar úlceras.¹³

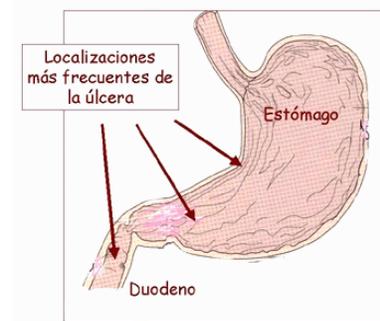


Figura 33 Localizaciones más frecuentes de la úlcera péptica.

La úlcera péptica es una llaga en la cubierta del estómago o duodeno, que es el comienzo del intestino delgado. Las úlceras se originan principalmente a nivel gástrico o del duodeno (Figura 34).^{3, 48}

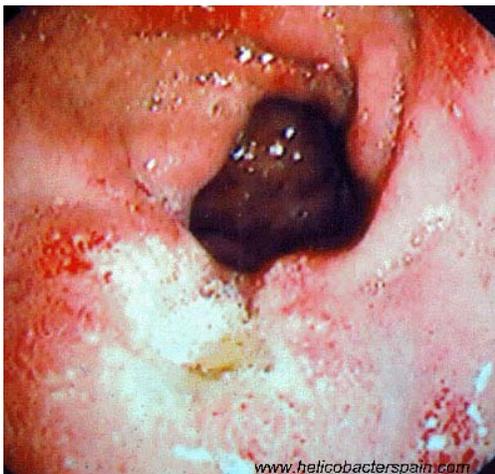


Figura 34 Imagen de úlcera duodenal observada mediante endoscopia digestiva³

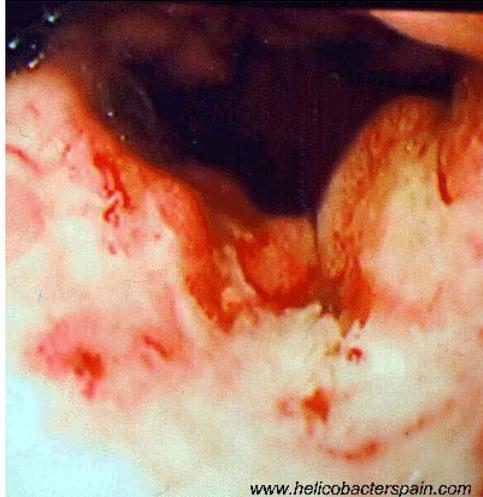


Figura 35 Imagen de úlcera gástrica observada mediante endoscopia³

7.4.3 Cáncer gástrico

En el año 1994, la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer de la Organización Mundial de la Salud (IARC) incluyó a *H. pylori* como agente biológico carcinógeno para el hombre (categoría 1) basándose en evidencias epidemiológicas que le asocian con cáncer gástrico.³ Por otra parte, el papel de *H. pylori* en el cáncer gástrico también se comprende, porque la gastritis crónica es un factor de riesgo para el desarrollo de este tipo de cáncer. Además, el 70% de los pacientes con cáncer gástrico son positivos para *H. pylori*.¹³

H. pylori es considerado un factor de riesgo en el desarrollo del cáncer de estómago, con una prevalencia de la infección por *H. pylori* entre el 69 y el 94% en pacientes con cáncer gástrico, comparado con el 47 al 76% en el grupo control.^{3, 49, 50, 51, 52}



Figura 36 Imagen de Carcinoma Gástrico observada mediante endoscopia (Atlas Endoscópico, Dr. Eduardo Segal)⁵³

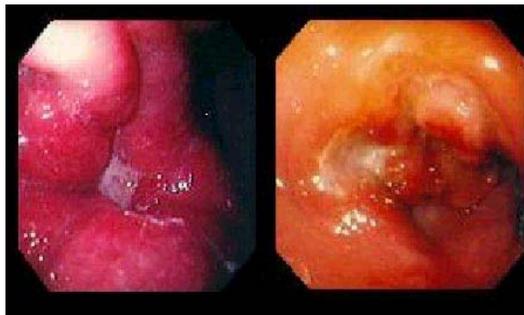


Figura 37 Imagen observada mediante método Endoscópico de Carcinoma Gástrico (Atlas Endoscópico, Dr. Eduardo Segal)⁵³

7.4.4 Linfoma gástrico tipo MALT

El 90% de los pacientes con linfoma MALT son positivos para *H. pylori*. Es un tipo de linfoma que se localiza preferentemente en el antro del estómago, dado que es la zona donde existe más tejido linfoide. Además, varios estudios apoyan la asociación de *H. pylori* con esta enfermedad, puesto que tras la erradicación de la bacteria se ha observado la regresión del linfoma.¹³

Definición: *MALT*: “Tejido Linfoide Asociado a Mucosas”

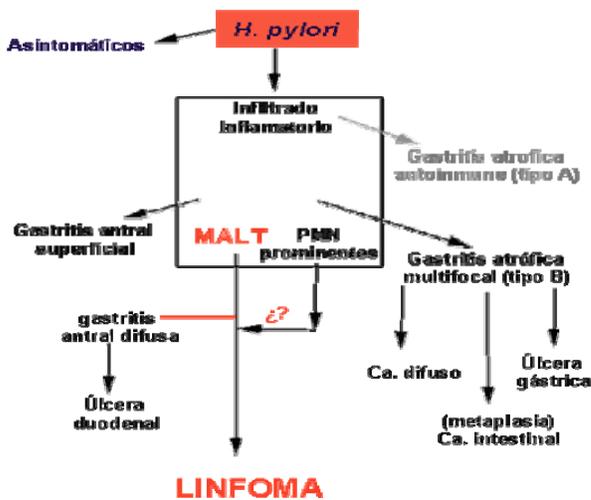
El linfoma MALT es un Linfoma no Hodgking de células B, extranodal, encuadrado dentro del grupo de los *linfomas de la zona marginal* (junto a los Linfomas B Esplénico y Linfoma B Ganglionar *de la zona marginal*).

Clasificación:

- Linfoma MALT de BAJO GRADO: Se observan células linfoides maduras tipo B. Además en muchos casos existe trisomía del cromosoma 3 (como, en general, ocurre con los linfomas de la zona marginal).
- Linfoma MALT DE ALTO GRADO: En el que ya hay células centroblásticas (y en algunos casos células de tipo inmunoblástico).

*Se han descrito algunos casos de paso de Linfoma de BAJO a ALTO grado
 **La leucemización de este tipo de Linfoma es excepcional.

Patogenia:



El proceso comienza con una inflamación de la mucosa gástrica con más o menos grado de destrucción de células gástricas. *H. pylori* se aloja en ellas, creando una nube de amonio gracias a que posee un enzima, la ureasa, para defenderse del medio ácido. Allí, actúa extracelularmente sobre las vacuolas de mucina, y provocando en muchos casos, una erosión de la mucosa. Inicialmente puede existir una gastritis antral difusa

Figura 38 Proceso de infección de *Helicobacter pylori*.^{28, 54}

y los linfocitos emigran a territorio gástrico, hasta los capilares de la lámina propia. Posteriormente, puede aparecer una colonización de los folículos con rara infiltración medular. En caso extremo, se desarrollará el linfoma tipo MALT gástrico.^{3, 28, 54}

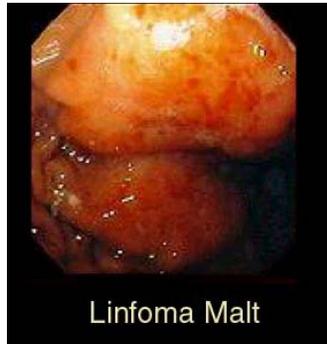


Figura 39 Imagen de Linfoma tipo MALT observada mediante endoscopia (Atlas Endoscópico, Dr. Eduardo Segal)⁵³



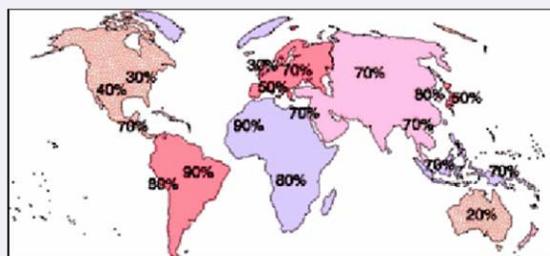
Figura 40 Imagen observada mediante método Endoscópico de Linfoma Gástrico (Atlas Endoscópico, Dr. Eduardo Segal)⁵³

7.4.5 Manifestaciones extradigestivas

Se ha intentado asociar la infección por *H. pylori* con diferentes enfermedades no digestivas como cardiovasculares (aterosclerosis, cefalea primaria, fenómeno de Raynaud primario), de piel (rosácea, alopecia areata, urticaria idiopática crónica), autoinmunes (Síndrome de Sjögren, neuropatía isquémica óptica anterior no arterítica), hepáticas (encefalopatía hepática) y respiratorias (bronquitis crónica, asma bronquial, cáncer de pulmón).¹³



Epidemiología control y tratamiento



8.1 Epidemiología

8.2 Prevalencia de la infección

8.3 Historia natural de la infección

8.3.1 Origen de la infección

8.3.1.1 *Los animales como fuente potencial de Helicobacter pylori*

8.3.1.2 *El agua como fuente potencial de Helicobacter pylori*

8.4 Transmisión de Helicobacter pylori

8.4.1 *Factores que influyen en la transmisión de Helicobacter pylori*

8.4.1.1 *Situación socio – económica*

8.4.1.2 *Ruta de transmisión*

8.5 *Evidencias de la transmisión gastro – oral*

8.6 *Evidencias de la transmisión oro – fecal*

8.7 *Tratamiento*



8.1 EPIDEMIOLOGIA

En 1982, cuando Barry Marshall y Robyn Warren aislaron por primera vez el agente patógeno gástrico *Campylobacter pyloridis*, ningún gastroenterólogo hubiese pronosticado que casi 20 años después, esta bacteria demostraría ser una de las bacterias más comunes en las infecciones humanas y el agente etiológico superior en las enfermedades gastrointestinales. Hoy en día, esta bacteria bajo la denominación de *Helicobacter pylori*, queda establecida como el agente etiológico de gastritis aguda o crónica y como el factor predisponente en el desarrollo de la úlcera péptica, del carcinoma gástrico y del linfoma (MALT) -tejido linfoide asociado a la mucosa con células-B.^{55, 56}

8.2 PREVALENCIA DE LA INFECCION

La infección por *Helicobacter pylori* es ubicua e infecta a hombres y mujeres. Aunque la infección ocurre alrededor del mundo, existen diferencias significativas en la prevalencia de la infección dentro y entre los países. En general, la incidencia de *H. pylori* en los países en desarrollo es mas baja, que aquellos en vías de desarrollo. Esta diferencia en la prevalencia de la infección se atribuye a la ruta de adquirir la infección por *H. pylori* durante la infancia. Esto se ilustra con estudios de la conducta en China del Sur, en general la prevalencia de la infección en sujetos chinos fue significativamente más alta que en los sujetos de origen australiano.¹ Al examinar los datos relacionados con la edad, la incidencia mostró una relación directa con la edad por debajo de los 10 años con una relación directa con la ruta de adquisición de *H. pylori*., la prevalencia de la infección en niños australianos es del 4%, en comparación con el 27% en niños chinos.^{55, 57}

En un grupo de estudio de adolescentes chinos, la tasa de infección fue del 70%; en Nigeria, la tasa de prevalencia mostró datos importantes, el 58% de los niños seropositivos con un año de edad llega al 91% a los 10 años.^{58, 59}

Los datos epidemiológicos de otros países en desarrollo y en vías de desarrollo avalan esta observación, con una prevalencia del 0 al 5% de la infección por *H. pylori*, en niños menores de 10 años residentes en países desarrollados en comparación con un 13 a 60% en niños residentes en países en vías de desarrollo. Durante estas edades se ha observado un aumento común de la incidencia de 0.5 a 2% por año ^{60, 61, 62, 63, 64}.

La incidencia de la infección se ha propuesto que aumenta de los sujetos jóvenes a los adultos. Es decir, las personas son inicialmente infectadas durante la infancia y en el caso de los países en desarrollo, los niveles de infección de *H. pylori* disminuyen en la juventud, sobre todo en los países en desarrollo, lo cual se atribuye a una mejoría gradual en la atención médica, en las condiciones de saneamiento y en un incremento en la calidad óptima de vida¹.

A continuación, en la figura 14 se muestra como el número de individuos infectados es superior en países subdesarrollados, que poseen tasas de prevalencia más altas al compararse con los sujetos de estudio de los países desarrollados.

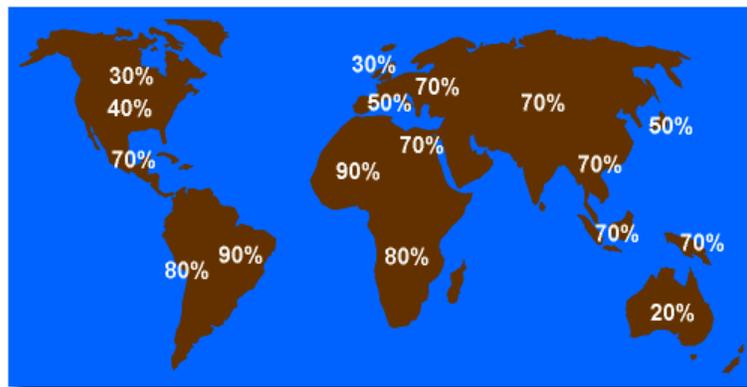


Figura 41 Prevalencia mundial de *Helicobacter pylori*¹²

Como se observa en la figura anterior, la incidencia es muy alta en África, Asia y en muchas partes de América Central y del Sur, mientras que es relativamente baja en el norte y oeste de Europa, Norteamérica y Australia. En los Estados Unidos y Europa Occidental los niños son infectados con escasa frecuencia. En contraste, del 60 al 70 % de los niños de los países subdesarrollados muestran seropositividad a la bacteria a la edad de 10 años y la prevalencia de la infección se mantiene alta. ⁶⁵

En los países occidentales se encontró que la prevalencia de la infección por el *Helicobacter pylori* en los adultos de cualquier edad, oscila entre el 20 y el 40 %, mientras que en los países del Tercer Mundo, alcanza cifras del 60 al 80 %.⁶⁶ Estos datos indican, sin lugar a dudas, que la infección por esta bacteria ocupa el primer lugar, por su frecuencia, entre todas las infecciones bacterianas que afectan al género humano.^{67, 68}

Por los datos arrojados en los diversos estudios epidemiológicos, se puede concluir que en los países no desarrollados, el aumento de la incidencia, en relación con la infección con respecto la edad, están íntimamente relacionados, debido a que la mayor parte de la población se encuentra ya infectada, durante la infancia, ya que prevalecen pésimas condiciones socioeconómicas y de higiene básicas. Posteriormente, las generaciones más jóvenes se han infectado con menos frecuencia, en cuanto se mejora la higiene básica. La incidencia de la infección por *H. pylori*, en países desarrollados es menor comparándose con los países en desarrollo, lo que confirma que la situación socio – económica, es un factor determinante e importante.⁵⁸

8.3 HISTORIA NATURAL DE LA INFECCION.

La adquisición natural de la infección por *H. pylori*, en su mayor parte, ocurre durante la infancia. Una vez que la bacteria se establece en la mucosa gástrica, persiste a lo largo de la vida. Algunos estudios en la niñez indican, que en los primeros años de vida, es común que la bacteria sea de tipo transitoria, antes de que se establezca la infección; sin embargo, en estudios de la incidencia, el monitoreo demostró que *H. pylori* incide en los mismos niños durante varios años. Aunque diversos estudios demuestran la pérdida de la bacteria en niños, como los realizados por Granstrom y col.⁶⁹; desafortunadamente no hubo control del uso de antibióticos, factor que puede afectar el estado de permanencia de *H. pylori*. Otros estudios concluyen que, la tendencia a la baja de la prevalencia, indica que la infección podría ser común en niños pequeños⁷⁰. Otro grupo de estudios muestra una diferencia en niños, en cuanto a la adquisición y la pérdida de la infección al considerar el nivel socioeconómico y las características raciales ; por ejemplo, la adquisición de la infección entre niños afroamericanos, fue cuatro veces

mayor, que en los niños caucásicos. Tomando en consideración las evidencias, se puede establecer que la aparición de la infección sucede en los primeros años de vida y puede ocurrir de forma espontánea; sin embargo, es importante considerar que son necesarios otros estudios, para determinar cuales factores pueden dar lugar a la adquisición natural de la infección en los niños¹.

8.3.1 Origen de la infección

El reservorio de la bacteria parece ser el estómago humano, dado que el microorganismo posee características muy particulares para adaptarse a este medio hostil. Si bien, todavía no se han dilucidado por completo los mecanismos de transmisión de la infección, se conoce que los factores que muestran una relación directa con la alta prevalencia, incluyen: el hacinamiento dentro de las viviendas, compartir las camas, la ausencia de agua corriente en el hogar, el contacto cercano de persona a persona o, donde los alimentos son compartidos, por ejemplo asilos y sitios de reclusión.^{26, 58}

Las malas condiciones de higiene ambiental, directamente relacionadas con el nivel socioeconómico, constituyen el mayor factor de riesgo para adquirir la infección.

Diversos estudios han propuesto que el origen de la adquisición de *H. pylori* ocurre en un ambiente común. En particular, los animales y el agua se han considerado como posibles fuentes potenciales de la infección¹.

8.3.1.1 Los animales como fuente potencial de *H. pylori*

Algunos estudios demostraron la posibilidad de adquirir *Helicobacter pylori* durante la convivencia y el manejo de animales o sus productos, por ejemplo, la actividad de los carniceros en los rastros o los pastores cuidadores de ovejas.⁷⁰

En el Centro Médico Santa Isabel de Boston en Estados Unidos de Norteamérica, un grupo de investigadores realizó valiosos estudios, donde quedó demostrada la

participación de la mosca doméstica como transportador de *H. pylori*, al tomar muestras de alimentos y/o de heces contaminados con esta bacteria (Figura 42).

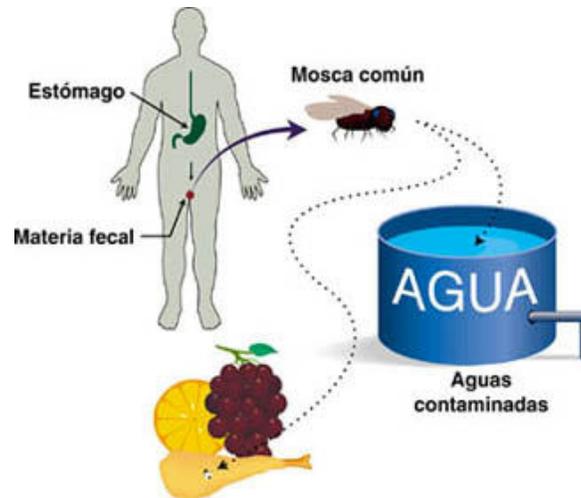


Figura 42 Esquema de los mecanismos involucrados en la transmisión de la infección por *H. pylori*. Estudios recientes han demostrado que la mosca común es un eficiente transportador de la bacteria y cumple un papel importante al contaminar los alimentos.⁵⁹

La bacteria viable fue aislada de las heces de los portadores y con potencial para infectar, lo cual es una evidencia adicional a favor de la teoría que considera a la vía fecal-oral, como la principal ruta de transmisión, como más adelante se describe con mayor detalle en las evidencias de transmisión por esta ruta.⁷¹

8.3.1.2 El agua como fuente potencial de *H. pylori*

En países de América del Sur, algunos estudios informan que un mayor número de niños pequeños se han infectado con *H. pylori*, por la ingestión de agua surtida de fuentes externas, que cuando consumen agua potable surtida al interior de sus hogares. Otros sitios de posible infección por agua, ha sido demostrado en niños que practican la natación en los ríos y en las piscinas; o bien, que han consumido vegetales contaminados con aguas residuales.^{72, 73} En contraste a estos estudios seroepidemiológicos, en la China del Sur, no se ha demostrado al agua como fuente de

infección con *H. pylori*, ya que a pesar de que la mayoría de los sujetos hierven el agua antes del consumo, la prevalencia de la infección es alta (45%).^{1,74}

Los intentos de demostrar mediante cultivo a *H. pylori* a partir de muestras de agua no han tenido éxito. Estos fracasos sugieren que puede existir un deterioro de la célula bacteriana, cuando *H. pylori* es expuesto a condiciones ambientales adversas, ya que el microorganismo presenta una forma cocoide, la cual es viable, pero no cultivable.

Existe la controversia, de como esta forma cocoide viable es importante en la transmisión. Aunque los primeros estudios reportaron que la forma cocoide no cultivable de *H. pylori* es metabolitamente activa, los estudios más recientes sugieren que la forma cocoide, es una forma “aletargada” o latente y posiblemente represente etapas tempranas de la muerte de la bacteria.¹

En conclusión, a pesar de una investigación exhaustiva y grandes esfuerzos por encontrar en el medio ambiente, fuentes de contaminación con *H. pylori*, no se ha demostrado que exista algún reservorio importante, fuera del estómago humano. Estos hallazgos no son sorprendentes, dado que el análisis de la secuencia del genoma de *H. pylori*, muestra que esta bacteria no posee la dotación completa de enzimas necesarias para efectuar exclusivamente, un metabolismo aeróbico o anaeróbico y de aquí su capacidad para sobrevivir en un medio natural, parece poco probable.^{1,75}

8.4 TRANSMISION DE *H. pylori*

En diversos estudios que han intentado aislar a *H. pylori* a partir de varios reservorios diferentes al humano, concluyen que el fracaso constante para lograrlo, sugiere que el contacto directo de persona a persona, sea el modo más probable de transmisión. En estos estudios, el incremento en la incidencia de la infección por *H. pylori*, ha sido un hallazgo consistente, lo que sugiere que el contacto entre las personas, es uno de los mecanismos importantes en la diseminación de esta bacteria patógena. La importancia de adquirir la infección por este contacto cercano, es enfatizado por la conclusión de

que, la incidencia de la infección con *H. pylori* se incrementa significativamente entre los miembros de la familia de niños infectados con este microorganismo.¹ Los estudios realizados entre los miembros de la familia, visualizan que la transmisión de *H. pylori* ocurre principalmente dentro del núcleo familiar. El riesgo de infección de un niño, se ha informado que es aproximadamente ocho veces mayor si la madre está infectada y cuatro veces más, si el padre se encuentra infectado.⁷⁶

La mayoría de los estudios demuestran que la transmisión es de tipo intrafamiliar; sin embargo, el estudio de un caso controlado en familias en Bangladesh con respecto a la incidencia de la infección en padres de niños *H. pylori* positivo, informó ser la misma, que en los padres con niños *H. pylori* negativos. La conclusión parece indicar que en algunos países, el origen de la infección por *H. pylori*, puede ubicarse fuera del seno familiar.⁷⁷

Otro aspecto estudiado es como influye en la transmisión, la composición de familia, el riesgo de contraer la infección, se ha demostrado que se incrementa conforme aumenta el número de hermanos dentro de la familia (Goodman y cols).⁷⁸

8.4.1 Factores que influyen en la transmisión del *H. pylori*

8.4.1.1 Situación socioeconómica

Un gran número de estudios realizados en diversos países han mostrado que la situación socioeconómica está relacionada con el incremento de la infección por *H. pylori*; sobre todo, el tipo de nivel socioeconómico que predomina durante la niñez. Debe considerarse que el estado socioeconómico es un criterio muy amplio, ya que abarca factores como la higiene, el saneamiento, las oportunidades de vida y de educación, algunos de estos factores o todos, se ha informado que pueden influir en el nivel de la infección, dentro de una población.

Otro factor importante que se ha estudiado, tanto en países desarrollados como en los en vías de desarrollo, es la densidad alta dentro de las viviendas, la cual se relaciona

constantemente con una incidencia incrementada de la infección por *H. pylori*. La importancia del factor de la sobrepoblación en la adquisición de *H. pylori*, es acentuada por la conclusión de que el compartir una misma cama durante la infancia, se asocia con un incremento en la prevalencia de la infección.¹

La influencia de las condiciones de vida en la prevalencia de la infección por *H. pylori*, esta claramente ilustrada, en los países donde las condiciones socioeconómicas han mostrado mejoras significativas durante las últimas décadas. Por ejemplo, en Japón la disminución en la prevalencia de la infección de *H. pylori* en sujetos menores a los 40 años de edad, se ha estado relacionado con una mejoría importante en la economía japonesa, y en las condiciones de vida, después de la Segunda Guerra Mundial. Una tendencia semejante fue observada en Corea, otro país que recientemente ha logrado mejorías sólidas en sus niveles de vida.^{79, 80, 81}

8.4.1.2 Ruta de transmisión

Con respecto a la ruta de transmisión, se puede establecer que es el asunto más polémico de la investigación epidemiológica del *H. pylori*. Debido a que, tanto la ubicación de la infección por *H. pylori*, como la necesidad prioritaria de la mucosa *in vivo* para su proliferación, parece ser que a ingestión es la vía más probable para adquirir la bacteria. Sin embargo, ya sea que *H. pylori* alcance la cavidad oral vía gastro – oral, oral – oral, o la ruta fecal – oral se abre la conjetura. Uno de las mayores dificultades es intentar cultivar *H. pylori* a partir de heces o de la cavidad oral es la presencia en estos sitios de la microbiota autóctona. Estas bacterias tienden a crecer mucho más rápidamente que *H. pylori* y por lo tanto, incluso si *H. pylori* está presente, enmascararán su presencia¹.

8.5 EVIDENCIAS PARA LA TRANSMISION *GASTRO – ORAL*

La presencia de *H. pylori* en los jugos gástricos es de un 58% en pacientes infectados, lo que aumenta la posibilidad de que el reflujo del jugo gástrico pueda representar un

vehículo importante en la transmisión para este microorganismo. Efectivamente el contacto directo con las secreciones gástricas ha sido implicado en la incidencia más alta de la infección por *H. pylori* reportada en estudios de Gastroenterología y en los informes epidemiológicos de *Helicobacter gastritis*, después de experimentos por medio de intubación gástrica.¹

La posibilidad de que la vía gastro–oral pueda ser la más importante ruta de transmisión de *H. pylori* en la niñez, ha sido postulada por varios investigadores. Por ejemplo, un informe postuló que la ruta más probable de la transmisión de *H. pylori* era la vía de las secreciones de estómago o vómitos. Aunque en ese momento no había pruebas para respaldar esta situación, el vómito y la regurgitación del material gástrico dentro de la boca son bastante comunes en la infancia y podrían representar una ruta importante de la transmisión.^{82, 83}

8.6 EVIDENCIA DE LA TRANSMISION *ORO-FECAL*

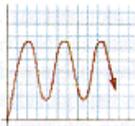
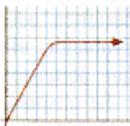
Existen un limitado número de pruebas que pudiesen concretar la idea del posible paso de *H. pylori* a través del intestino. Algunos grupos han demostrado que existe un efecto letal de los jugos biliares sobre *H. pylori*; por lo que la posible supervivencia de la bacteria, después del tránsito a través del tracto intestinal, parece poco probable.¹

Los intentos de cultivar *H. pylori* a partir de heces en general han fracasado. El intento de determinar la presencia de DNA de *H. pylori* en las heces por la técnica del PCR ha dado resultados altamente variables. Mientras que algunos estudios han informado sobre la detección del DNA de *H. pylori* en las heces de 25 a 90 % de sujetos infectados por esta bacteria, otros han reportado menos del 10% de los sujetos *H. pylori* positivos que tienen DNA de *H. pylori* en sus heces. Aunque la detección del DNA de *H. pylori* en las heces puede aportar pruebas que apoyan la ruta de transmisión fecal–oral, debe considerarse que es importante resaltar que los hallazgos de DNA de *H. pylori*, no necesariamente establece que este microorganismo sea viable y esté presente en las heces.^{1, 82, 83, 84}

8.7 TRATAMIENTO

La infección por *Helicobacter pylori* resulta de difícil tratamiento. El interior de la luz gástrica es un lugar inhóspito, donde no llegan las células que se encargan de defender al organismo. Tampoco llegan bien muchos antibióticos. Por esto es necesario asociar varios medicamentos antiulcerosos y antibióticos para conseguir eliminar la infección. El tratamiento que se recomienda actualmente, asocia tres medicamentos distintos (dos antibióticos y un fármaco que disminuye la producción de ácido por el estómago), administrados durante una semana. Antes de iniciar el tratamiento el médico debe asegurarse de que su paciente no es alérgico a ninguno de los medicamentos que deberá tomar.³⁵

Figura 43 Cuadro de comparación entre el modelo antiguo y el actual del tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*³⁵

	MODELO VIEJO	MODELO NUEVO
CAUSA 	El exceso de acidez en el estómago ataca los tejidos y produce inflamación.	La bacteria <i>H. pylori</i> segrega toxinas causantes de la inflamación del estómago, dando lugar a lesiones de la mucosa. 
TRATAMIENTOS  	Dieta suave , con productos lácteos cada hora, comidas moderadas, sin cítricos o picantes y eliminación del alcohol y la cafeína. Bloqueantes de los receptores H₂ para rebajar los niveles de histamina circulante, que fomenta la producción de ácido en el estómago. Cirugía para extirpar las úlceras que no respondan a la medicación o en las que sea difícil controlar la hemorragia. En los años setenta constituía la intervención más frecuente que realizaban los internos en cirugía. En la actualidad es bastante rara.	Régimen de antibióticos. En febrero de 1994 un grupo de estudio del norteamericano Instituto Nacional de la Salud (NIH) recomendó un ciclo de dos semanas de duración para el tratamiento de la úlcera: amoxicilina o tetraciclina, metronidazol (Flagyl) y subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol). En diciembre de 1995 una comisión asesora de la FDA recomendó la aprobación de dos tratamientos de duración de cuatro semanas basados en claritromicina (Biaxin) con omeprazol (Prilosec) o ranitidina-citrato de bismuto (Tritec). Ciclos de una semana suelen resultar bastante eficaces. 
EXITO 	En los pacientes que interrumpen el tratamiento de bloqueantes de los receptores H ₂ se eleva a un 50 % el riesgo de que recidive su úlcera en el plazo de seis meses. Y a un 95 % la probabilidad de que la úlcera reaparezca dentro de los dos años.	Las recidivas desaparecen si se elimina la infección bacteriana subyacente. 

El régimen antibiótico seleccionado debe asegurar la completa erradicación de la bacteria y evitar las recurrencias de la infección. Ahora bien, el criterio de erradicación significa que al cabo de cuatro semanas de concluido el tratamiento, no se detecta el germen en la mucosa gastroduodenal, ya sea por medio de métodos histológicos o con

las pruebas indirectas de actividad metabólica bacteriana (prueba rápida de ureasa o detección de urea en el aliento).^{20,85, 86, 87}

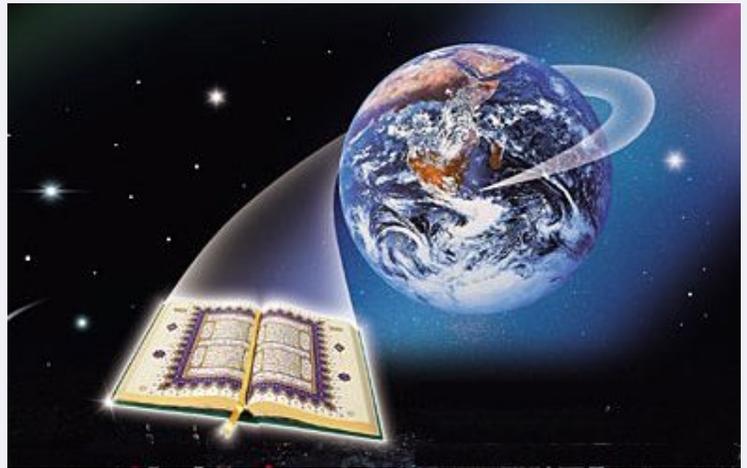
Puesto que los esquemas de monoterapia antibiótica, han demostrado una y otra vez que son poco efectivos, pues se acompañan de bajos índices de erradicación (inferiores a 50%) y altas tasas de recurrencia de la infección (hasta 80%), en la actualidad se prefieren los regímenes combinados. Así, las terapias conjugadas con, por lo menos, tres fármacos son la alternativa más racional para erradicar la bacteria, lograr la curación de las lesiones y prevenir las recurrencias de la enfermedad. Por la gran eficacia y seguridad demostrada en múltiples ensayos clínicos, se prefieren aquellos regímenes que comprenden dos agentes antimicrobianos, asociados a sales de bismuto o a agentes antisecretores ácidos, ya que brindan una eficacia terapéutica cercana a 90% (Cuadro 11).^{57, 88, 89, 90, 91, 92, 93}

Terapias combinadas para el manejo de la enfermedad por <i>Helicobacter pylori</i>	
1. Terapias con tres medicamentos	<ul style="list-style-type: none">• Metronidazol + Tetraciclina + Bismuto (MTB)• Metronidazol + Amoxicilina + Bismuto (MAB)• Metronidazol + Claritromicina + Inhibidor de bomba (MCI)• Metronidazol + Amoxicilina + Inhibidor de bomba (MAI)• Amoxicilina + Claritromicina + Inhibidor de bomba (ACI)
2. Terapias con cuatro medicamentos	<ul style="list-style-type: none">• MTB + Inhibidor de bomba• MAB + Inhibidor de bomba• MTB + Antagonista de receptores H2• MAB + Antagonista de receptores H2• MCI + Antagonista de receptores H2• MAI + Antagonista de receptores H2• ACI + Antagonista de receptores H2
3. Terapias con cinco medicamentos	<ul style="list-style-type: none">• MTB + Antagonista de receptores H2 + Inhibidor de bomba• MAB + Antagonista de receptores H2 + Inhibidor de bomba

Cuadro 11 Los fármacos con un mejor perfil bactericida contra *H. pylori* incluyen metronidazol y sus derivados, amoxicilina, tetraciclina, claritromicina, azitromicina y sales de bismuto. Todos estos antibióticos son secretados en el jugo gástrico y muestran un grado apropiado de actividad a pH bajo. La terapia triple convencional incluye metronidazol, sales de bismuto y tetraciclina o amoxicilina y debe administrarse durante, al menos, 14 días, para asegurar tasas de erradicación superiores a 80%. Por muchos años metronidazol fue considerado el pilar de la terapia antibacteriana contra *H. pylori*, pero desde hace algún tiempo han aumentado los reportes acerca de la aparición de cepas resistentes. Este aspecto es de particular importancia a la hora de seleccionar los antibióticos a administrar.¹⁶



Referencias Bibliográficas



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Harry L.T. Mobley, George L. Mendz, Stuart L. Hazell, ***Helicobacter pylori* Physiology and Genetics**. USA: ASM PRESS Washington, D.C.; 2001:003-014 p.
2. Sebastián Wuerbaum MD y Pierre Michetti MD. ***Helicobacter pylori***. **The New England Journal of Medicine** 2002; 347 (15): 1175-86.
3. <http://www.helicobacterspain.com>
Fecha de consulta: 10.Feb.06

Hsu P y cols. <i>Helicobacter pylori</i> Infection and the Risk of Gastric Malignancy . <i>Am J Gastroenterol</i> 2007; 102: 1–6.
Vries y cols. The Detection, Surveillance and Treatment of Premalignant Gastric Lesions Related to <i>Helicobacter pylori</i> Infection . <i>Helicobacter</i> 2007; 12: 1–15
Ernst PB y cols. The Translation of <i>Helicobacter pylori</i> Basic Research to Patient Care . <i>Gastroenterology</i> 2006; 130: 188–206.
Jung y cols. The complete genome sequence of a chronic atrophic gastritis <i>Helicobacter pylori</i> strain: Evolution during disease progression . <i>PNAS</i> 2006; 103: 9999–10004.
Hocker M, Hohenberger P. <i>Helicobacter pylori</i> virulence factors . <i>Lancet</i> 2003; 362: 1231-1233.

4. García del Valle Araceli, Zamudio Duran M. de las Mercedes, **Manual Microbiología Medica**. México: UNAM; 1998: 230 p
5. Batzing L. Barry, **Microbiology and Introduction**. USA: Brooks/Cole, Thomson Learning; 2002:780 p.
6. Mathews Christopher K, Van Holde K F, Ahern Kern G, **Bioquímica**. España: Addison Wesley; 2003:1368 p
7. Brooks F Geo, Batel S Janet, Stephen A Morse, **Microbiología Medica de Jawetz, Melnick y Adelberg**. México: Manual Moderno, 2002: 890p
8. Alm RA, Ling SL, Morr DT, et al. **Genomic sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori***. *Nature* 1999; 397: 80.
9. Martin Skirrow. ***Helicobacter pylori*: Microbiología, Clínica y Tratamiento: Retos para el Siglo XXI**, Prous Science, 1999

10. Hernández Méndez, José T., Cano Ramos, Elsa, Giono Cerezo, Silvia y Aparicio Ozores Gerardo, **Bacteriología Médica Diagnóstica**. México: Ediciones Cuellar, 2003: 86, 88p.
11. Carmona O, Gómez M. J, Montes T, Marcano C y Marino F, **Microbiología Médica**, de Divo. Venezuela: Mc Graw Hill Interamericana, 1997: 189 p.
12. Patrick R. Murray, George S. Kobayashi, Michael A. Pfaller, Ken S. Rosenthal. **Microbiología médica**. España: Harcourt, 2001:730p.
13. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. <http://www.seimc.org/protocolos/microbiologia/cap17.htm> Consulta: 16.Ago.2006
14. Mandigan, Martinko, Parker, Brock **Biología de los Microorganismos**. USA: Pearson/ Prentice Hall, 2004: 1011p
15. Pardo F. J. **Anatomía Patológica**, Primera Edición, Mosby 1997
16. Dun BE, Phandinis SH, **Structure, function and localization of *Helicobacter pylori* urease**. Yale J Biol Med 1998; 71: 63 – 73.
17. Scott DR, Weeks D, Hong C, Postius S, Melchers K, Sachs G. **The role of internal urease in acid resistance of *Helicobacter pylori***. Gastroenterology 1998; 114: 58 – 70.
18. Dunn BE, Campbell GP, Perez – Perez GI, Blaser MP. **Purification and characterization of urease form *Helicobacter pylori***. J Biol Chem 1990; 265: 9464 – 9.
19. Brosch G, Adamek R, Sandmann M, et al. **Comparison of biopsy urease test and histologic examination for detection of *Campylobacter pylori* in duodenal and antral biopsies**. Hepatogastroenterology 1987; 34:236-41.
20. Goopwin CS, Blincow E, Warren JR, Waters TE, Sanderson CR, Easton L. **Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pylorodis* from endoscopic biopsies for gastric mucosa**. J. Clin Pathol 1985; 38: 1127-31.
21. Bruck GE. Smith JS, **Medium supplementation form growth of *Campylobacter pylorodis***. J, Clin Microbiol 1987; 25: 597-9.
22. Marshall BJ, Warren JR, FrNCIS gj, Langton JR, Goodwin CS, Blincow ED. **Rapid urease test in the management of *Campylobacter pylorodys* – associated gastritis**. Am J. Gastroenterolgy 1987; 82: 200-10.
23. Westblum TU, Mandan E. Kemp J, Sublik MA. **Evaluation of rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection**. Jx Clin Microbiology 1988; 26: 1393-4.

24. John H Walsh MD, Walter L Peterson MD, **The treatment of *Helicobacter pylori* infection in the management of peptic ulcer disease.** The New England Journal of Medicine 1995; Vol. 333 No. 15, 948 – 991.

25. B Obst, S Wagner, KF Sewing y W Beil. ***Helicobacter pylori* causes DNA damage in gastric epithelial cells.** Carcinogenesis 2000; 21(6):III-5

26. <http://www.iladiba.com/upr/1997/No41997/htm/helic.asp>

Fecha de consulta: 20.Feb.06

Correa P. Helicobacter pylori and the cell cycle. Journal of The National Cancer Institute 1997; 89: 836-837.
Peek R, Moss S, Tham K, Pérez-Pérez G, Wang S, Miller G, Atherton J, et al. Helicobacter pylori cag A+ strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. Journal of The National Cancer institute 1997; 89: 863-868
Goodwin C, Mendall M, Norfield T. Helicobacter pylori infection. Lancet 1997; 349: 265-269
Bateman DN. Proton-pump inhibitors: three of a kind? Lancet 1997; 349: 1.637-1.638
Schlemper R, Itabashi M, Kato Y, Lewin K, Riddell R, Shimoda T, et al. Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between japanese and western pathologists. Lancet 1997; 349: 1.725-1.729

27. Graham DY, Kudo M, Reddy R, Opekun AR, **Practical rapid, minimally invasive, reliable non endoscopic method to obtain *Helicobacter pylori* for culture.** Helicobacter 2005; 10: 1 – 3.

28. Tang YL, Gan RL, Dong BH, Jiang RC, Tang RJ. **Detection and location of *Helicobacter pylori* in human gastric carcinomas.** World J Gastroenterol 2005; 11: 1387 – 91.

29. KA Krogfelt, P Lehours, F Megraud. **Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection.** Blackwell publishing Ltd, Helicobacter 2005; 10: 5 – 13.

30. Fresnadillo Martínez MJ, Rodríguez Rincón M, Blázquez de Castro AM, García Sánchez E, García Sánchez JE, Trujillano Martín I, Cordero Sánchez M, Alvarez Alvarez P, Paz Bouza J, García-Rodríguez JA. **Comparative evaluation of selective and nonselective media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies.** Helicobacter 1997; 2:36-39.

31. MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. **Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiologic methods.** J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003; 36:616-622.

32. Andrews J, Marsden B, Brown D, Wong VS, Wood E, Kelsey M. **Comparison of three stool antigen tests for *Helicobacter pylori* detection.** J Clin Pathol 2001; 56: 769-771.
33. Koletzko S, Konstantopoulos N, Bosman D, Feydt-Schmidt A, van der Ende A, Kalach N, Raymond J, Russmann H. **Evaluation of a novel monoclonal enzyme immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool from children.** Gut 2003; 52: 804-806.
34. Laine L, Lewin D, Naritoku W, Estrada R, Cohen H. **Prospective comparison of commercially available rapid urease tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori*.** Gastrointest Endosc 1996; 44:523-526.
35. Morio O, Rioux-Leclercq N, Pagenault M, Corbinais S, Ramee MP, Gosselin M, Bretagne JF. **Prospective evaluation of a new rapid urease test (Pronto Dry) for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection.** Gastroenterol Clin Biol 2004; 28:569-573.
36. Vakil N, Vaira D. **Non-invasive tests for the diagnosis of *H. pylori* infection.** Rev Gastroenterol Dis 2004; 4:1-6.
37. Lascols C, Lamarque D, Costa JM, Copie-Bergman C, Le Glaunec JM, Deforges L, Soussy CJ, Petit JC, Delchier JC, Tankovic J. **Fast and accurate quantitative detection of *Helicobacter pylori* and identification of clarithromycin resistance mutations in *H. pylori* isolates from gastric biopsy specimens by real-time PCR.** J Clin Microbiol 2003; 41:4573-4577.
38. López-Brea M, Alarcón T. **Sensibilidad a los antimicrobianos en la infección por *Helicobacter pylori*.** En *Helicobacter pylori*: retos para el siglo XXI. Microbiología, clínica y tratamiento. Manuel López-Brea (editor). Prous Science, Barcelona 1999, pp. 281-305.
39. McNulty C and the PHLS *Helicobacter* Working Group. ***Helicobacter pylori* susceptibility testing by disc diffusion.** J Antimicrob Chemother 2002; 49:601-609.
40. J. F. Bach, Ph. Lesavre, **Inmunología**, España: Masson; 2000: Tercera edición, 289 p
41. <http://www.aegastro.es/info>
Fecha de consulta: 17.Feb.06
42. Dixon MF. **Pathology of gastritis and peptic ulceration** In: Mobley HLT, Mendz GL, Hazel SL, eds *Helicobacter pylori*: physiology and genetics. Washington, D. C.: ASM Press 2001; 459-69.
43. Sulebaum S, Michetti Pierre, ***Helicobacter pylori* infection.** N Engl J Med, Vol 347, No. 15 2002; 1175- 86.f

44. Figueiredo C, Machado José Carlos, Yamaoka Yoshio, **Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection**. Vol. 10 (Suppl 1), Blackwell Publishing Ltd, Helicobacter 2005; 14-20.
45. Fischbach W, Chan Annie On- On, ChonYu Won Benjamin. ***Helicobacter pylori* and gastric malignancy** Blackwell Publishing Ltd, Helicobacter Vol 10, 2005; 34-39.
46. Zhang C, Yamada N, Wu YL, Wen M, Matsukura N. **Comparison of *Helicobacter pylori* infection and gastric mucosal histological features of gastric ulcer patients with chronic gastritis patients**. World Gastroenterol 2005; 11: 1387 – 91.
47. Warren JR, Marshal BJ. **Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis**. Lancet 1983; 1273 (Warren), 1273 – 5 (Marren).
48. Pietrousti A, Luzzi I, Gomez MJ, Magrini A, Bergamaschi A, Forlini A, Galante A. ***Helicobacter pylori* duodenal colonization is a strong risk factor for the development of duodenal ulcer**. Alimen Pharmacol There 2005; 21: 909 – 1015.
49. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al. ***Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer**. N Engl J Med 2001; 345: 7849.
50. Parsonnet J, Freedman GD, Vandersteen BP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, Sibley RK. ***Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma**. N Engl J Med 1991; 325: 1127 – 31.
51. Parsonnet J, Fiedman GD, Vadersteen DP, et al. ***Helicobacter pylori* in infection and the risk of gastric carcinoma**, N England J Med 1991; 325: 1127-31.
52. Forman D, Newel DG, Fullerton F, et al. **Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation**. B M J 1991; 302: 1302-5
53. Atlas Endocópico, Pertenece a Dr. Eduardo Segal. egsegal@intramed.net.ar. <http://www.cursosparamedicos.com>. Fecha de consulta: 06-Septiembre-2006
54. Radaszkiewics T, Draosics B, Bauer P. **Gastrointestinal malignant lymphomas of the mucosa-associated lymphoid tissue: factors relevant to prognosis**. Gastroeterology 1992; 102: 1628 – 38.
55. Mitchell HM, YY.Li PJ Hu, Q. Liu, M. Chen, G.C. Du, Z.J. Wang, A. Lee, and S.L. Hazell. **Epidemiology o *Helicobacter pylori* in Southern China – identification of early childhood as the critical period for acquisition**. J. Infected. 1992; 166: 149-153.
56. Kikuchi S, Dore Maria P, **Epydemiology of *Helicobacter pylori* infection**. Helicobacter Vol. 10, 2005; 1-4.

57. Shmueli H, Samra A, Azhkenaz S, Dinar G, Chodick G, Yahar J. **Association of *Helicobacter pylori* infection with *Shigella* gastroenteret is in young children** Am J Gastroenterol 2004; 99: 2041-5.

58. <http://www.helicobacter.com.br/mapa.gif>
Fecha de consulta: 20.Feb.06

59. Mendall MA, **Childhood livin conditions and *Helicobacter pylori* seropositivity in adult life.** Lancet 1992; 339: 896-9.

60. Al Moagel, MA, DG Evans, ME Abdulghani, E Adam, DJJ Evans, HM Malaty, and DY Graham. **Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Saudi Arabia and comparision of those with gastrointestinal symptoms.** Am. J. Gastroenterol.1990; 85: 944-948.

61. Graham DY, E Adam, GT Reddy, JP Agarwal, R Agarwal. D. J. Evans, HM Malaty, and DG Evans. **Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India. Comparision of developing and developed countries** Dig. Dis. Sci 1991;36: 1084-1088.

62. Jones, DM, J. Eldridge, AJ Fox. P. Sethi, and PJ Whor well. **Antibody to the gastric *Campylobacter* like – organism (“*Campylobacter pyloridis*”) – clinical correlation sand distribution in the normal population** J. Med. Microbiol 1986; 2: 57-62.

63. Megraud F, MP Brassens Rabbe, F Denis, A Belbouri, DQ Hoa. **Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations** J.Clin Microbiol 1989; 27: 1870 – 1873.

64. Perez – Perez GI, DN Taylor, I Bodhidatta, J Wongrichanala, WB Baze, BE Duna, PD Echeverria, MJ Blazer. **Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infections in Thailand.** J. Infect Dis 1990; 161: 1237 – 1241

65. Hill, M., ***Helicobacter pylori* Microbiology Eur Cancer Prev** 1996 29:4-5

66. Marshall BJ, **History of discovery of *Campylobacter pylori***; En: Blaser M. J. ed *Campylobacter pylori* in gastritis and peptic ulcer disease. New York 1989: 7-23

67. <http://www.bys.sld.cu/revistas/mg>
Fecha de consulta: 20.Feb.06

68. <http://www.med.unne.edu.ar/revista/revista138/helycobacter.htm>
Fecha de consulta: 20.Feb.06

69. Gastrom M., Y Tindberg, M. Blennow.. **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.

70. Redlinger T, K.O'Rourke, KJ Goodman. **Age distribution of *Helicobacter pylori* seroprevalence among young children in a United States/ Mexico**

border community: evidence for transitory infection. Am. J. Epidemiol. 1999;150: 225-230.

71. Vaira D, C D'Anastasio, J Holton, JF Dowsett, M Lodei, F Bertoni, E Beltrandi, P Grauenfels, PR Salmon, L Gandolfi.. **Campylobacter pylori in abattoir workers: is it a zoonosis?** Lancet ii: 1998, 725-726.

72. Hopkins RJ, PA Vial, C Ferrecio, JO Valle, P Prado, V Sotomayor, RG Russel, SS Wasserman, JG Morris. **Seroprevalence of Helicobacter pylori in Chile – vegetables may serve as one route of transmission.** J. Infect. Dis 1993; 168: 222- 226.

73. Holten K, SW Han, H Enroth, PD Klein, AR Ope Kun, RH Gilman, OG Evans, L Engstrand, DY Graham, F Elzaatari. **Helicobacter pylori in the drinking water in Peru.** Gastroenterol 1996; 110: 1031 – 1035.

74. Mitchell HM, Y YLi, PJ Hu, Q Liu, M Chen, G G Du, ZJ Wang, A Lee, SL Hazell. **Epidemiology of Helicobacter pylori in Southern China – identification of early childhood as the critical period for acquisition** J. Infect. Dis. 1992; 166: 149 – 153.

75. Tomb JF, O White, AR Kerlavage, TA Clayton, GG Suttor, D Fleischmann, KA Ketchum, HP Klek, S Gill, Dougherty, K Nelson, J Quacbenbush, L X Zhou, S Peterson, B Loftus, D Richardson, R. Dodson, HG Khalak, A Glodek, K Mckenney, LM Fitzgerald, N Lee, MD Adams, E. K. Hickey.. **The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori** Nature. 1997; 388: 539 – 547.

76. Rothenbacher D, Bode G, Berg G, Knayer U, Gonser T, Adler G, Brenner H. **Helicobacter pylori among preschool children and their parents: evidence of parent – child transmission.** J. Infect. Dis. 1999; 179: 398 – 402.

77. Sarker, SA, Rahman MM, Mahalanabis D, Bardham PK, Hildebrand P, Beglinger C, Gyr K. **Prevalence of Helicobacter pylori infection in infants and family contacts in a poor Bangladesh community.** Dig. Dis. Sci 1995; 40: 2669 – 2672.

78. Goodman KJ, Correa P.. **Transmission of Helicobacter pylori among siblings** Lancet 2000; 355: 358 – 362.

79. Rothenbacher D, Bode G, Winz T, Berg G, Adler V, Brenner H. **Helicobacter pylori in out – patients of a general practitioner – prevalence and delerminants of current infection.** Epidemiol. Infect. 1997;119: 151 – 157.

80. Van Zanten, S.. **Do – socio- economic status, marital status and occupation influence the prevalence of Helicobacter pylori infection?** Aliment. Pharmacol Ther 1995; 9: 41-44.

81. Malaty HM, Kim JG, Kim SD, Graham DV, **Prevalence of Helicobacter pylori infection in Korean children – inverse relation to socioeconomic**

status despite uniformly high prevalence in adults. Am. J. Epidemiol. 1996;143: 257 – 262.

82. Hulten KS, Han W, Enroth H, Klein PD, Opekun AR, Gilman RH, Evans DG, Engstrand L, Graham DY, Elzaatari F. . ***Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru.** Gastroenterology 1996; 110: 1031 – 1035.

83. Varoli O, Landini MP, Laplaca M, Tucci A, Corinadesi R, Paparo GF, Stanghellini V, Barbara. **Presence of *Helicobacter pylori* in gastric juice.** Am. J. Gastroenterol 1991;86: 249.

84. Lin SK, Lambert JR, Schembri MA, Nicholson L, Johnson IH. **The prevalence of *Helicobacter pylori* in practicing dental staff and dental students.** Ausst Dent. J. 1998; 43: 35 – 39.

85. Yahav J y cols. **Susceptibility-guided vs empiric tretreatment of *Helicobacter pylori* infection after treatment failure.** Dig Dis Sci 2006

86. Vakil N. ***Helicobacter pylori* Treatment: A Practical Approach.** Am J Gastroenterol 2006;101:497–499.

87. Lee JH y cols. **Impact of clarithromycin resistance on eradication of *Helicobacter pylori* in infected adults.** Antimicrob Agents Chemother 2005 (Abr); 49: 1600-1603.

88. Ford AC, Delaney BC, Forman D, Moayyedi P. **Eradication therapy in *Helicobacter pylori* positive peptic ulcer disease: systematic review and economic analysis.** Am J Gastroenteol 2004; 99: 1833- 55.

89. Gisbert JP, Pajares JM. **Systematic review and meta – analysis is 1- week proton pump inhibitor based triple therapy sufficient to heal peptic ulcer?** Aliment Pharmaclo Ther 2005; 21: 795 – 804.

90. Ghazzowi IM, Oberdat WA, Zurrebat FA, **Triple therapy with pantoprazole, clarithromycin and amoxicillin for eradication in patients with *Helicobacter pylori* positive duodenal ulcers.** Saudi Med J 2004; 25: 1006-9.

91. Megraud FH, ***Helicobacter pylori* antibiotic resistance prevalence, importance and advances in testing.** Gut 2004; 53: 1374- 84.

92. Bytzer P, O Morain Colm. **Treatment of *Helicobacter pylori* of *Helicobacter pylori*.** Blacwell publishing Ltd. Helicobacter 2005; 10: 40- 46.

93. Megraud F. **Update on therapeutic options for *Helicobacter pylori* related diseases.** Curr infect. Dis Rep 2005; 7: 115-20.



Apéndice

- A. *Tinción Gram*
 - *Técnica*
- B. *Tinción Giemsa*
 - *Técnica*
- C. *Prueba de ureasa*
 - *Principio*
 - *Bioquímica*
 - *Medios de cultivo*
 - *Pruebas rápidas*



Tinción Gram

Fundamento

La técnica consiste en aplicar 4 reactivos:

- ★ Cristal violeta, es el colorante primario y el primer reactivo de la serie e imparte su color a todos los microorganismos del frote.
- ★ El segundo reactivo es una solución de yodo, denominada yodo de Gram o lugol, que actúa como mordente (aumenta o refuerza la unión entre el colorante y el sustrato, formando un complejo cristal violeta-yodo-ribonucleato de magnesio)
- ★ El tercer reactivo es una mezcla de alcohol- acetona, que actúa como decolorante, disolviendo y arrastrando fuera de las células (la decoloración sólo se lleva a cabo en las bacterias Gram negativas) al colorante primario
- ★ El cuarto reactivo, es la safranina o colorante de contraste e imparte el color sólo a las bacterias que durante la decoloración perdieron al colorante primario.¹

Técnica



1. R. M. Ramírez Gama, B. Luna Millán, O. Velásquez Madrazo, et al. Manual de Prácticas de Microbiología General. México: Facultad de Química, UNAM; 2001: 29, 42 p.

Tinción Giemsa

Fundamento

La tinción de Giemsa emplea como colorante fundamental, una mezcla de tiacínicos catódicos, como el azur A,B y azul de metileno, que colorean el núcleo, mientras que la eosina para coloración citoplasmática, estas sustancias están disueltas en alcohol metílico. Su fundamento está en la disociación controlada de las sales de eosinato, que ocurre por la mezcla de Giemsa con agua destilada. La cromatina nuclear adopta la tinción azul violácea algo distinta a la habitual para los colorantes tiacínicos y que recibe la denominación de efecto Giemsa.²

Técnica

1. Desparafinar y lavar con agua corriente las secciones.
2. Teñir en una solución diluída de Giemsa (4 ml de tintura en 100 ml agua destilada neutra) por 24 horas.
3. Enjuagar rápidamente en agua destilada.
4. Diferenciar rápidamente en 0,5% ácido acético hasta que la sección queda rosada.
5. Enjuagar en agua destilada. Seque la sección con papel de filtro.
6. Deshidratar rápidamente en alcohol absoluto. Aclarar con xileno.
7. Observar al microscopio.²

Prueba de Ureasa



Principio

Determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco por la acción de la enzima ureasa, con la resultante alcalinidad.

Urea	2.0	g
Solución acuosa de rojo fenol, 0.4% (P/V)	2.5	mL
Fosfato sódico, Na ₂ HPO ₄ , 10 mmol, pH 6.3	0.1	g
Agua Oxoid No. 4	0.4	g
Agua desionizada	100.0	mL

3. Fraccionar: 200 µL/orificio en placas de microtitulación de Linborough de fondo plano con 96 orificios; vencimiento refrigeradas (2 – 8 °C) a los 10 días.
4. Inoculación: 5 µL (denso) por punción en los orificios con pipeta de siembra múltiple.
5. Incubación
 - a. Temperatura ambiente (22 – 25 °C)
 - b. Evitar la exposición a la luz; colocar en un armario. Si se expone a la luz, el cultivo puede desarrollar peróxido, el cual puede interferir con la reacción de ureasa.
6. Interpretación
 - a. Observar el cambio de color después de 5 y 30 minutos y en los siguientes tiempos: 1, 2, 3, 12 y 18 h.

Medio no selectivo (NSM)

1. Prueba de selección rápida para el aislamiento y la detección de ureasa por *H. pylori*; puede utilizarse para las biopsias del antro gástrico.
2. Ingredientes: pH 6.8

Agar base Columbia	39.0	g
Iso Vitales, 2%	20.0	mL
Hemina	10.0	mg
Urea	20.0	g
Rojo Fenol	1.2	mg
Agar granulado	4.0	g
Agar desionizado	980.0	mL

3. Medio selectivo (SM: aditivos antimicrobianos opcionales; elimina la flora contaminante.

Trimetroprima	5.0	mg
Vancomicina	10.0	mg
Anfote3ricina B	5.0	mg
Cefsulodina	5.0	mg

4. Esterilización

- a. Urea y rojo fenol: filtración (Millipore); 0.22 Mm de diámetro de poro.
- b. Agar Columbia: autoclave, 121 °C, 15 lb, 15 min; enfriar y agregar la urea, el rojo fenol y los antibióticos.

5. Fraccionamiento: 15 – 20 mL/placa (15*100 mm).

6. Inoculación: muestras de biopsia mantenidas en 0.4 mL de caldo para brucellas; homogeneizadas y vertidas en las placas dentro de las 2 h.

7. Incubación: 35 °C, en atmósfera de microaerofilia (jarra Campy Pak).

8. Microorganismo para el control de calidad

- a. Positivo (+): *Helicobacter pylori*, ATCC 11637, NCTC 11637; cambio de color en el curso de 1 h.

- b. Negativo (-)

Proteus vulgaris ATCC 13315; cambio de color en 24 h

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853; cambio de color en 48 h

Campylobacter jejuni ATCC 32292; sin cambio de color

9. Interpretación

- a. Controlar para determinar el cambio de color a los 5 y 30 min y a 1, 2, 3, 6, 24, 36 y 48 h.

- b. Positivo (+)

(1) Color amarillo a rojo

(2) Crecimiento bacteriano visible después de 3 días.

c. Negativo: sin cambio de color

H. pylori da una reacción inmediata en el curso de 1 h y el medio se torna completamente rojo a las 3 h., *H. pylori* posee una ureasa altamente activa, de peso molecular alto y produce una abundante cantidad de ureasa cuando se le cultiva en medio sólido.

PRUEBAS RAPIDAS

Discos urea

1. Fabricantes
 - a. BBL, urease (UR) Minitex disks (discos para ureasa (UR) Minitex); junto con la coloración Gram y la prueba de oxidasa, pueden ser usados para la rápida confirmación de *H. pylori*
 - b. Disco, urea disks (discos de urea).
2. Resultados dentro de 1 – 4 h de incubación.

CLO Striptest (prueba con tira reactiva CLO)

1. Fabricante: Delta West Ltd., Australia Occidental, Australia.
2. Ureasa rápida para *H. pylori*.
3. Seguir las directivas del fabricante
4. Leer después de los 15 minutos y a 1, 3 y 20 h.³

3. Jean F. MacFaddin. Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de Importancia Clínica, Tercera Edición. Argentina: Editorial Médica Panamericana 2003: 397 – 410 p.