



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE QUÍMICA FARMACEÚTICO BIOLÓGICA



**Manual de Diagnóstico Microbiológico para
la Identificación de *Helicobacter pylori***

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACEÚTICO BIÓLOGO

PRESENTA

ERIK MANUEL ROMERO ROSAS

DIRECTOR DE TESIS

M.S.P. ROBERTO C. GONZÁLEZ MELÉNDEZ

MÉXICO, D.F., 2013

CON EL APOYO DE
PAPIME PE209012

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi Alma Mater, que como institución promotora del saber y de la educación en México, me brindó un espacio en las aulas de la honorable Facultad de Estudios Superiores Zaragoza; para iniciarme como estudiante y culminar como un profesionalista preparado y a la vez humilde ante los retos que representa ser un hombre de provecho, ante una sociedad cada vez más compleja y competitiva, en un mundo exigente de soluciones

*Al MSP Roberto Cruz González Meléndez,
quien con paciencia y sapiencia, logró
encausar mis conocimientos y aptitudes para
elaborar con éxito esta tesis, que representa la
culminación de mi formación profesional*

*AL Dr. Luis Mora y Mtra. Yolanda Flores
asesores de mi Servicio Social, así como a mis
queridos maestros: Enríqueta, Holber,
Evangelina, Gabriel, Estela, Miriam,
Mercedes, Manuel, Mercedes, Rubén, Alicia,
Margarita que compartieron conmigo sus
conocimientos y experiencias*

*A la QFB Verónica Luqueño por las
facilidades otorgadas para complementar el
desarrollo de esta tesis*

Dedicatoria

Mamá, tu amor y comprensión me han impulsado a lo largo de esta travesía y porque a fin de cuentas, todo te lo debo a tí. Te amo

Papá, tu sabiduría e inteligencia me han guiado siempre, eres un ejemplo a seguir para mí. Te amo y te admiraré por siempre

Alex, porque juntos hemos aprendido a vivir y estoy seguro de que seguiremos así hasta que este viaje termine. Gracias por todo tu apoyo

Dany, porque en muchas ocasiones hemos invertido papeles y has sido tú quien me ha dado valiosas lecciones de vida. Siempre contarás conmigo

Erik Manuel

Í N D I C E

I.	Resumen	1
II.	Introducción	2
III.	Marco Teórico	3
	1. Descubrimiento de <i>Helicobacter pylori</i>	4
	2. Hábitat.....	5
	3. Taxonomía del género <i>Helicobacter</i>	6
	4. Biología celular de <i>Helicobacter pylori</i>	8
	5. <i>Helicobacter pylori</i> como agente causal de enfermedades humanas.....	10
	5.1. Gastritis crónica	11
	5.2. Úlcera péptica	12
	5.3. Adenocarcinoma gástrico (AG)	13
	5.4. Linfoma gástrico	14
	5.5. Dispepsia.....	15
	5.6. <i>Helicobacter pylori</i> y antiinflamatorios no esteroideos.....	15
	5.7. Enfermedad por reflujo gastroesofágico	16
	5.8. Enfermedades no digestivas.....	16
	6. Diagnóstico de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	17
	6.1. Métodos directos	18
	6.1.1. Prueba rápida de la ureasa.....	19
	6.1.2. Histología / Tinción de Gram	19
	6.1.3. Cultivo microbiológico	19

6.1.3.1. Cultivo bacteriano en condiciones microaerofílicas ...	22
6.1.4. Técnicas de biología molecular	23
6.2. Métodos indirectos	24
6.2.1. Prueba del aliento con urea marcada con carbono 13 ó 14.....	24
6.2.2. Detección de anticuerpos en suero y sangre total	25
6.2.3. Detección de antígenos en heces.....	26
IV. Planteamiento del problema.....	27
V. Objetivos.....	27
VI. Método.....	28
VII. Resultados.....	30
VIII. Discusión de Resultados	83
IX. Conclusiones.....	84
X. Propuestas y recomendaciones	84
XI. Referencias	85

I. Resumen

Se elaboró un manual titulado “Manual de Diagnóstico Microbiológico para la Identificación de *Helicobacter pylori*” que contiene un panorama general acerca de la historia, descubrimiento y características biológicas de este agente patógeno; menciona además los diversos métodos existentes para su identificación poniendo especial atención en las metodologías para su diagnóstico microbiológico, y para finalizar, sugiere algunas formas para la prevención y el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*.

Se espera que dicho manual sea de utilidad en el estudio y preparación de los estudiantes en la identificación y el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* y que pueda ser tomado como base para fortalecer el plan de estudios de la licenciatura de Química Farmacéutico Biológica impartida en la FES Zaragoza.

II. Introducción

La gastritis, úlceras pépticas y duodenitis han sido importantes causas de mortalidad y morbilidad en el mundo desde el siglo XIX, sin embargo no fue hasta 1983 cuando Warren y Marshall identificaron a su principal agente causal: *Helicobacter pylori*, que es un bacilo gramnegativo, con forma espiral o curva, caracterizado por ser ureasa, catalasa y oxidasa positivos, microaerofílicos y móviles por flagelos polares.

Se estima que la mitad de la población adulta mundial tiene anticuerpos de tipo IgG en contra de *Helicobacter pylori*, en México, esta cifra asciende hasta 66%, donde el cáncer gástrico es la cuarta causa de muerte en hombres y la quinta en mujeres, presentándose 8,000 nuevos casos cada año con un 77% de mortalidad.

Considerando a *Helicobacter pylori* como el principal agente causal de gastritis no atrófica, gastritis atrófica, metaplasia intestinal, cáncer gástrico y úlceras duodenales, donde *H. pylori* es la responsable del 73%, 85%, 82%, 66% y 88% respectivamente, en México, se reportaron en 2008, un total de 1,553,116 nuevos casos con una incidencia de 2,269.67 casos por cada 100,000 habitantes, siendo principalmente afectadas las mujeres representando el 66.86% de los casos contra un 34.14% de los hombres. Es por ello, que el Sistema único de Información para la Vigilancia Epidemiológica que se lleva en la Dirección General Adjunta de Epidemiología dependiente de la Secretaría de Salud, notifica en forma semanal estos padecimientos con clave *CIE 10 K25-K29*.

Desde 1994 la *International Agency for Research on Cancer* y la Organización Mundial de la Salud consideran a este bacilo gramnegativo como un carcinógeno categoría I en humanos.

Los padecimientos ocasionados por *H. pylori*, de la misma manera que la mayoría de los padecimientos gastrointestinales, son más frecuentes en países en vías de desarrollo. Se consideran como factores de riesgo la edad (la positividad de *H. pylori* se incrementa en personas mayores), el país de origen, la posición socioeconómica, además de hábitos del paciente, tales como el tabaquismo, la elevada ingesta de sal y factores relacionados con la dieta.

III. Marco Teórico

En 1983, los investigadores australianos John Robín Warren (1937 – ?) y Barry Marshall (1951 - ?) propusieron que, contrario a las hipótesis aceptadas hasta esa fecha que describían a la gastritis y úlceras pépticas como enfermedades provocadas por factores genéticos, hábitos, tales como el tabaquismo, y aspectos psicológicos como la ansiedad y la tensión; eran en cambio, enfermedades de tipo infecciosas, originadas por el agente *Helicobacter pylori*; esta declaración, a la postre modificaría las concepciones epidemiológicas, patogénicas y el tratamiento acerca de dichas enfermedades.

Durante el mismo año de 1983 en la obra *Principios de Medicina Interna de Harrison* en su décima edición, se informó que, las úlceras pépticas eran ocasionadas por un desequilibrio entre la secreción de ácido y pepsina y la resistencia de la mucosa gástrica o duodenal.

Hasta ese momento el tratamiento de elección para la gastritis y úlceras pépticas eran la administración de sales de bismuto y antiácidos, agentes terapéuticos que si bien proporcionaban una disminución del malestar en los pacientes, no otorgaban una curación, es por ello que más de la mitad de ellos tendían a recaer y se veían forzados a someterse a tratamientos quirúrgicos, tales como la vagotomía (seccionar a los nervios vagos con la finalidad de interrumpir los impulsos nerviosos emitidos por ese nervio; es una técnica que continúa siendo empleada como tratamiento a úlceras pépticas gastroduodenales) o la gastrectomía parcial (consiste en la remoción parcial del estómago).

Si bien la presencia de microorganismos en el estómago humano ya era conocida desde el siglo XIX, esto gracias a diversos trabajos como los de Bottcher y Letulle que en 1881 describieron la presencia de colonias bacterianas en las úlceras gástricas; o el trabajo de Jaworski, que en 1889 notó la presencia de microorganismos de morfología espiral en el sedimento obtenido de lavados gástricos; o Rosenow, que a principios del siglo XX fue capaz de provocar la aparición de úlceras gástricas en animales de experimentación a los que les inoculaba estreptococos; todos los trabajos anteriores permitían suponer, tal y como los diferentes investigadores sugirieron, que las úlceras gástricas, tal vez tenían un origen o causa bacteriana. Sin embargo, esta teoría no gozó de la aceptación en esa época debido a que se consideraba a estos organismos como muy frecuentes y como parte de la biota normal, esto tal vez debido a que aún no era del todo conocida la identidad del microorganismo o microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal ni sus propiedades fisiológicas y metabólicas.

1. Descubrimiento de *Helicobacter pylori*

Las observaciones realizadas por Warren y Marshall, que terminarían por identificar a *Helicobacter pylori* como el principal agente causal de úlceras pépticas y gastritis se realizaron en el periodo que abarca entre 1979 y 1984. Warren, en 1979 fue el primero en observar a microorganismos de morfología espiral en la mucosa gástrica, además documentó que los episodios de inflamación estaban asociados a dichos organismos; al mismo tiempo, Marshall iniciaba un estudio en el que buscaría a los organismos presentes en pacientes con síntomas diversos en el tracto gastrointestinal superior, finalmente, en 1981 este estudio reveló la presencia de una bacteria gramnegativa, el equipo de investigadores de Marshall, trató, de manera tentativa a un paciente en el que se había encontrado al organismo con tetraciclina, en el que se observó una disminución en el número de neutrófilos en la mucosa gástrica y una aparente desaparición de la bacteria; sin embargo, esta evidencia anecdótica careció de valor científico, hasta que se estudiaron a 100 pacientes en los que se trató cultivar a la bacteria, con el fin de determinar su asociación con los padecimientos gástricos. En 1982 Marshall y Warren obtuvieron biopsias del tejido gástrico de esos mismos pacientes, después de haber firmado un consentimiento y responder a un detallado cuestionario en el que informaron sus hábitos alimenticios, su higiene dental, el uso de fármacos antiinflamatorios y antiácidos.

El procedimiento consistía en tomar dos porciones de la cavidad gástrica, uno de ellos era tomado para su cultivo utilizando diversas técnicas, en especial la incubación en un ambiente microaerófilico, similar al usado para *Campylobacter sp.* La segunda porción era enviada al Dr. Warren para su estudio histológico mediante el uso de la tinción de hematoxilina y eosina. Sin embargo, no fue sino hasta la biopsia del paciente número treinta y cinco que el organismo creció, esto ocurrió debido a un feliz y afortunado evento, debido a que los cultivos fueron dejados en la incubadora durante un fin de semana largo: el de la Semana Santa, fue por ello que los cultivos no fueron revisados sino hasta cuatro o cinco días después de haber obtenido la biopsia; se obtuvieron colonias transparentes de un milímetro de diámetro, hasta ese descubrimiento, los cultivos estaban siendo descartados luego de haber transcurrido 48 horas, que era el tiempo habitual en el que especímenes de la biota normal del tracto gastrointestinal se desarrollaban, sin embargo, esta regla no podía aplicarse a *Helicobacter pylori*.

A partir de ese momento, *Helicobacter pylori* sería cultivado con cierta facilidad en ambientes microaerófilos en cajas con agar sangre de carnero. De los 100 pacientes del estudio, el 65% fue infectado por la bacteria, de los cuales, la gran mayoría padecieron gastritis, 13 de ellos desarrollaron úlceras pépticas.

En ese entonces, *Helicobacter pylori*, fue incluido dentro del género *Campylobacter* y fue denominado como *Campylobacter pylori* o *Campylobacter pyloridis*, esto debido a que comparte características morfológicas y de crecimiento con este género; no fue hasta que Goodwin y Armstrong propusieron la creación del género *Helicobacter* en 1989 con base en las diferencias con respecto al género *Campylobacter* y al género *Wolinella* en cuanto a su secuencia en las cadenas de ARN, su estructura, su morfología y sus características de crecimiento. Describieron que sus ácidos grasos y sus características estructurales diferían de otras campilobacterias; que la mena-quinona metilada (MK-6) estaba ausente en *Campylobacter pylori* siendo que este compuesto es característico de las campilobacterias, y por tanto los antibióticos a los que era susceptible eran distintos a los de otras campilobacterias. Es por ello que se propuso la creación del género *Helicobacter*, nombre que hace alusión a la morfología del microorganismo, que “in vivo” adopta una forma helicoidal pero que en algunas ocasiones tiene forma de vara cuando es cultivado “in vitro”.

2. Hábitat

Helicobacter pylori se caracteriza debido a su capacidad única de sobrevivencia dentro del ambiente extremadamente ácido del estómago, que suele ser una barrera más que efectiva para impedir la colonización gástrica por la mayoría de las especies bacterianas (11). Estos microorganismos se encuentran primordialmente libres en el moco gástrico, localizándose también en la superficie de las células epiteliales o en el intersticio celular. Predomina la localización antral y suelen alcanzar una densidad de 10^6 unidades formadoras de colonias por gramo de tejido (15). Esta bacteria no crece adecuadamente o no lo hace en casos de atrofia gástrica, metaplasia intestinal en el estómago y reflujo biliar, esto último por la acción inhibitoria que las sales biliares ejercen sobre las bacterias. Si bien la mucosa gástrica es su lugar de asentamiento habitual, también ha sido aislada a partir de saliva, placa dental, heces, sangre y secreciones respiratorias en casos de neumonía.

El análisis genético ha permitido comprobar que un individuo puede albergar en su estómago cepas distintas (el 14% de los infectados poseen múltiples genotipos). Se han Identificado diferencias entre las cepas aisladas de distintos continentes y se ha demostrado que las cepas presentes en América Latina tienen mayor similitud a las encontradas en Asia que con las europeas, este hecho contradice una hipótesis que consideraba que *H. pylori* procedía de los colonizadores españoles y, en contraparte, favorece la teoría de la migración de los pueblos asiáticos a través de Alaska hacia América hace más de 10,000 años.

Helicobacter pylori vive en la capa de moco que recubre al epitelio gástrico, un nicho ecológico con un pH ácido, un recambio celular elevado y un movimiento peristáltico continuo con una baja tensión de oxígeno. Este microorganismo es capaz de atravesar las uniones intercelulares, probablemente por la expresión de moléculas que ligan proteínas séricas y de la matriz extracelular del hospedador y se considera rara la invasión celular.

3. Taxonomía del género *Helicobacter*

Filogenéticamente, el género *Helicobacter* pertenece a la clase Epsilonproteobacteria (Cuadro 1). La especie tipo, *Helicobacter pylori*, fue inicialmente incluida en el género *Campylobacter*. Sin embargo, mediante el análisis de las secuencias 16S del ARNr se pudo comprobar la divergencia con otras especies de *Campylobacter*, y de este modo confirmar el hallazgo de un nuevo género bacteriano (9).

Reino Bacteria

Phylum Proteobacteria

Clase Epsilonproteobacteria (Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 1991)

Orden Campylobacteriales (Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 1991)

Familia 1: Campylobacteraceae (Vandamme y De Ley, 1991)

Género tipo: *Campylobacter* (Sebald y Veron, 1963)

Especie tipo: *Campylobacter fetus* (Smith y Taylor, 1919)

Familia 2. Helicobacteraceae (Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 1991)

Género tipo: *Helicobacter* (Goodwin, Armstrong, Harper, 1989)

Cuadro 1. Clasificación filogenética del Género *Helicobacter* (Modificado de 7, 8 y 10).

Además de *H. pylori*, al principio se incluyó en éste género a *H. mustelae*, aislado de la mucosa gástrica de hurones. Posteriormente se han ido descubriendo nuevas especies de *Helicobacter*, adaptadas para sobrevivir en distintos hospedadores animales, tal que hoy en día su número supera la veintena y sigue aumentando al irse descubriendo nuevas especies, algunas pendientes de validación, como *H. cynogastricus*, *H. anseris* y *H. brantae*. Hay especies que afectan a diferentes animales, en ocasiones también a humanos, al igual que *H. pylori* en ocasiones se ha aislado de hospedadores no humanos. Estas nuevas especies no son exclusivamente gástricas, pues muchas tienen su hábitat en el intestino o en el hígado, y su presencia se ha asociado con diversas alteraciones como gastritis, hepatitis o enteritis (5). Por ejemplo, *H. bilis* y *H. hepaticus*, dos especies tolerantes a la bilis, causan en roedores hepatitis crónica, y una especie de *Helicobacter* parece ser la responsable de la inducción de una enfermedad inflamatoria crónica intestinal tipo colitis ulcerosa en un semiprimate (5). La mayoría de las especies del género *Helicobacter* actualmente reconocidas y sus hospedadores se muestran en el cuadro 2.

ESPECIE	HOSPEDADOR HABITUAL	HÁBITAT PRINCIPAL
<i>H. bizzozeronii</i>	Humano, perro, gato, primate	Estómago
<i>H. canis</i>	Humano, perro, gato	Intestino
<i>H. canadensis</i>	Humano	Intestino
<i>H. cinaedi</i>	Humano, hámster, macaco	Intestino
<i>H. fennelliae</i>	Humano	Intestino
<i>H. pullorum</i>	Humano, pollo	Intestino
<i>H. pylori</i>	Humano, macaco, gato	Estómago
<i>H. aurati</i>	Hámster	Intestino
<i>H. nemestrinae</i>	Macaco	Estómago
<i>H. acinonychis</i>	Chimpancé	Estómago
<i>H. bilis</i>	Ratón, perro, rata	Intestino
<i>H. cholecystus</i>	Hámster	Hígado
<i>H. felis</i>	Perro, gato	Estómago
<i>H. hepaticus</i>	Ratón	Intestino
<i>H. mesocricerotum</i>	Hámster	Intestino
<i>H. muridarum</i>	Ratón, rata	Intestino
<i>H. mustelae</i>	Hurón	Estómago
<i>H. salomonis</i>	Perro	Estómago
<i>H. trogontum</i>	Rata	Intestino
<i>H. typhlonius</i>	Ratón	Intestino
<i>H. ganmani</i>	Ratón	Intestino

Cuadro 2. Diferentes especies del Género *Helicobacter* (5).

4. Biología celular de *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori es el microorganismo más frecuentemente encontrado en la mucosa gástrica humana; posee una forma bacilar, espiral o en forma de “S” que reacciona negativamente a la tinción de Gram; cuando es cultivada *in vitro* desarrolla una forma menos espiral asemejándose más a un bacilo curvo aunque en ocasiones también adoptan formas rectas, esféricas, en “U” o en “V”, inclusive, las formas cocoides predominan en cultivos viejos. Cuenta con una longitud de 2.5 a 4.0 μm y de 0.5 a 1.0 μm de ancho.

Es un microorganismo móvil, normalmente posee de 4 a 6 flagelos (*Cuadro 3*), estos flagelos están dispuestos en una posición polar, se encuentran envainados (para proteger al filamento del ácido gástrico), cuentan con 2.5 μm de largo y 30 nm de grosor. La flagelina es la proteína mayoritaria de sus flagelos, pesa 53 KD y es similar a la de *Campylobacter*.

Estudios acerca de su superficie externa empleando ácido tánico, han revelado que presenta una estructura de glucocálix de unos 40 nm de grosor y un pili de 2 nm, que en conjunto, permiten la adherencia a las microvellosidades del epitelio gástrico.

Género	Pared celular	Flagelos	Vaina Flagelar	Bulbo flagelar	Glucocálix
<i>C. jejuni</i> NCTC 11351	Rugosa	Simple, bipolar	Ausente	Ausente	Escaso
<i>H. pylori</i> NCTC 11637 ^T	Suave	Múltiple, unipolar	Presente	Presente	Presente
<i>H. mustelae</i> NCTC 12032	Suave	Múltiple, bipolar y lateral	Presente	Presente	Presente
<i>W. succinogenes</i> NCTC 11488	Variable	Simple, unipolar	Ausente	Ausente	Escaso

Cuadro 3. Estructuras extracelulares en *H. pylori*, *H. mustelae*, *C. jejuni*, *W. succinogenes* (5)

Su pared celular posee un número variable de proteínas membranales; la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida ha develado 3 bandas principales de 54-57, 61-62 y 64 KD. De la misma manera, la pared celular presenta un lipopolisacárido con diferentes conformaciones debido a la variabilidad de sus componentes polisacáridos.

Existen varios factores de riesgo para contraer la infección por *H. pylori*, entre ellos la edad (29), el bajo nivel socioeconómico, deficiencias nutricionales y malos hábitos higiénicos. Actualmente se ha aceptado que la transmisión de *H. pylori* ocurre de persona a persona, aunque los mecanismos de transmisión aun no son del todo claros (28).

En la patogenia por *H. pylori* se han descrito diferentes factores de virulencia, entre los cuales se encuentra el gen *vacA* (*vacuolization associated gene*) y el gen *cagA* (*cytotoxin associated gene*). El gen *vacA* codifica una citotoxina que tiene la capacidad de formar vacuolas en las células epiteliales. El gen *cagA* es un marcador genético para una isla de patogenicidad (*cag PAI*) constituida por 31 genes. Las cepas de *H. pylori* que presentan el gen *cagA* han sido asociadas con ulceración péptica y con cáncer gástrico. Por ello, las cepas de *H. pylori* han sido divididas de acuerdo a su virulencia, en tipo 1 (*vacA*, *cagA* positivo) y tipo 2 (*vacA*, *cagA* negativo) (26).

Se han identificado a diversos factores de virulencia involucrados en la colonización gástrica (*Cuadro 4*), el daño al tejido gástrico y su supervivencia, por ejemplo, los flagelos y adhesinas son esenciales en el proceso de colonización de la mucosa gástrica.

FACTOR DE VIRULENCIA	EFEECTO
Colonización	
Flagelos	Le brinda motilidad a través de la mucina* gástrica
Ureasa	Neutralización del pH ácido estomacal
Adhesinas	Anclaje al epitelio
Daño al tejido	
Enzimas proteolíticas	La glucosulfatasa degrada a la mucina
Vacuolas citotóxicas	Dañan al epitelio gástrico
Ureasa	Tienen un efecto tóxico en células epiteliales interrumpiendo las uniones celulares
Fosfolipasa A	Digiere a los fosfolípidos de las membranas celulares
Supervivencia	
Vigilancia intracelular	Previene la fagocitosis
Superóxido dismutasa	Previene la fagocitosis
Catalasa	Previene la fagocitosis
Forma cocoide	Forma latente
Ureasa	Envaina a los antígenos

*La mucina es un mucopolisacárido que es el principal componente de la mucosa gástrica

Cuadro 4. Principales factores de virulencia en *Helicobacter pylori* (5)

5. *Helicobacter pylori* como agente causal de enfermedades humanas

El descubrimiento de *H. pylori* ha generado una revolución en la Gastroenterología. En el corto periodo de tiempo transcurrido desde su aislamiento, el avance experimentado en el conocimiento de la biología y la fisiopatología de la bacteria ha sido enorme, habiéndose demostrado que constituye la principal causa de gastritis crónica y es un factor necesario para el desarrollo de otras enfermedades digestivas.

En prácticamente todos los infectados por *Helicobacter pylori* se desarrolla una gastritis crónica, que no se acompaña de síntomas, y solamente en una pequeña proporción de los mismos aparecerán enfermedades como la úlcera péptica, el adenocarcinoma gástrico o el linfoma gástrico. Posiblemente, además de la infección como factor iniciador de la inflamación en la mucosa gástrica, y de la presencia de diferentes factores de virulencia del microorganismo, sea necesaria la participación de factores del hospedador y/o del ambiente, de manera que como resultado de su interacción puedan surgir estas diferentes manifestaciones clínicas. Entre los factores del hospedador, podrían ser importantes aquellos que participasen en la distribución de los microorganismos dentro del estómago. Así podrían influir el polimorfismo genético de los receptores de las células epiteliales gástricas a las que se adhieren los microorganismos, y también el nivel de producción de ácido. Si la secreción ácida fuese normal o alta se facilitaría la colonización de predominio antral, asociada a la úlcera duodenal. Si fuese baja, se facilitaría una colonización proximal, con el desarrollo de pangastritis, favoreciendo la aparición de atrofia, y en algunos casos, de adenocarcinoma.

La naturaleza y magnitud de la respuesta inflamatoria, sujetas a variaciones interindividuales, también juegan un papel relevante. Una parte de esta respuesta se encuentra controlada por los genes del complejo de histocompatibilidad, que consiste en un grupo de genes altamente polimórficos que se encargan de codificar a los antígenos leucocitarios humanos (HLA). Determinados alelos específicos de los genes HLA de clase II, podrían predecir la susceptibilidad a la infección y su evolución clínica. Lo mismo puede aplicarse a los genes que codifican citocinas como el factor de necrosis tumoral. En esta infección la respuesta inflamatoria mediada por los linfocitos T es principalmente de tipo Th1, que no parece ser lo más adecuado al tratarse de una infección extravascular, pues, en ese caso debería predominar la respuesta de tipo Th2. La respuesta Th1 podría contribuir a la perpetuación de la infección sin

que se logre eliminar a los microorganismos, mediante la producción de citocinas que promoverían la inflamación, la formación de anticuerpos y el daño al epitelio gástrico por células inmunitarias, existiendo además un incremento de la apoptosis de las células epiteliales. En la inflamación participan también neutrófilos, linfocitos B, células plasmáticas, y diferentes interleucinas como las IL-1, IL-6 e IL-8.

5.1. Gastritis crónica

Mucho antes de que se descubriese a *H. pylori* se sabía que existía una estrecha asociación entre la gastritis crónica y enfermedades como la úlcera péptica y el adenocarcinoma gástrico. Este hecho estimuló la realización de investigaciones a nivel mundial, tratando de conocer la causa o las causas de la gastritis crónica. Se realizaron importantes avances en el conocimiento de la epidemiología de esta entidad, y así descubrieron asociaciones con la edad, la dieta, el tabaco, el nivel socioeconómico y otras variables, pero sin encontrar un patrón aplicable a todas las poblaciones estudiadas. Una vez que los resultados de diferentes estudios permitieron demostrar que la infección por *H. pylori* era la causa principal de la gastritis crónica, resultaba obvio que tales asociaciones deberían corresponderse con esta infección.

La infección por *H. pylori* es fundamentalmente una infección de una superficie mucosa. El microorganismo se encuentra en el moco, unido al epitelio superficial, entre las células epiteliales y en el fondo de las criptas. Origina una importante respuesta inflamatoria, con células polimorfonucleares y mononucleadas, con una densidad bacteriana e inflamatoria más acusadas en las áreas que carecen de secreción ácida, el antro y el cardias. Inicialmente se produce un infiltrado neutrofílico con escasa presencia de células plasmáticas y de linfocitos, disminución de la mucosidad de las células superficiales de la mucosa gástrica y erosiones superficiales. El amonio generado por la ureasa bacteriana, es nocivo para las células epiteliales, y además puede interferir con el ciclo celular. Las proteínas VacA y CagA también participan en el daño epitelial, así como la adhesión bacteriana al epitelio, que facilita la transferencia de toxinas bacterianas a las células epiteliales.

Se distinguen dos patrones de gastritis bien diferenciados, el más frecuente es un infiltrado inflamatorio de predominio antral (gastritis crónica superficial no atrófica), localizado en la proximidad

del epitelio de superficie, que cursa en la mayoría de los casos de forma asintomática y se asocia a la úlcera duodenal. El segundo patrón es la extensión difusa o multifocal de la inflamación hacia el cuerpo y el fórnix gástricos, con destrucción de las glándulas (gastritis crónica atrófica). Se desconocen los mecanismos implicados en la evolución hacia uno u otro tipo, posiblemente participen factores bacterianos, ambientales y del hospedador.

5.2. Úlcera péptica

Durante muchos años la enfermedad ulcerosa péptica ha constituido un problema sanitario de primer orden debido a su alta prevalencia alrededor del mundo. En su primera publicación sobre *H. pylori*, Warren y Marshall habían mencionado la frecuente asociación del microorganismo con la gastritis crónica, lo que les hacía sospechar que podría estar implicado en la etiopatogenia de enfermedades como la úlcera péptica. Sin embargo, la falta de una asociación específica, pues muchos infectados carecen de síntomas, fue durante años el argumento utilizado por algunos investigadores para restar importancia a la teoría infecciosa de la úlcera péptica. Para su plena aceptación, hubo que esperar hasta la publicación de diferentes ensayos clínicos, en lo que se ha demostrado que la erradicación del microorganismo reduce drásticamente la tasa recidiva ulcerosa, hasta un 0 – 20%, en comparación con el 70 – 90% de los individuos que reciben un tratamiento antisecretor sin mantenimiento posterior. Se ha logrado modificar la historia natural de la enfermedad ulcerosa péptica, consiguiéndose para la mayoría de los pacientes la curación definitiva en lugar de una cicatrización temporal, lo que constituye uno de los avances médicos más importantes de las últimas décadas.

La mortalidad de la úlcera péptica es consecuencia de sus complicaciones, la hemorragia, la perforación y la estenosis. En los primeros estudios en que se analizó la prevalencia de la infección en la úlcera complicada, ésta se mostró inferior a la de la úlcera no complicada, oscilando entre el 40 – 90%, posiblemente debido a falsos negativos con las técnicas de diagnóstico utilizadas.

5.3. Adenocarcinoma gástrico (AG)

El adenocarcinoma gástrico constituye una de las causas más frecuentes de mortalidad por cáncer a nivel mundial, afectando principalmente a individuos de países en vías de desarrollo, aunque en algunos países desarrollados como Japón, su incidencia también es elevada (10). En los últimos 50 años, la incidencia y mortalidad por esta neoplasia han decrecido, principalmente en países desarrollados, este fenómeno es atribuible a unas mejores condiciones de vida, con cambios en la conservación de alimentos, un incremento del consumo de frutas y vegetales, y un diagnóstico y tratamiento más oportunos.

En su etiopatogenia se han implicado diferentes factores, atribuyéndose durante años un papel relevante al consumo de sal y a otros factores dietéticos. Actualmente se sabe que la gastritis causada por *H. pylori* puede progresar en algunos casos hacia la atrofia, con destrucción del epitelio glandular y su sustitución por fibrosis y por un epitelio de tipo intestinal, lo que se conoce como metaplasia intestinal. Desde muchos años antes del descubrimiento de la bacteria, la atrofia gástrica era considerada como una lesión precursora del AG, y hace unos 35 años, Correa y colaboradores (1975) habían postulado un modelo de carcinogénesis con una sucesión de cambios histológicos que conducían a la gastritis crónica no atrófica a la atrofia. En un estudio efectuado por el Grupo de Estudios Eurogast (1993), en el que se analizó la prevalencia de la infección en 3194 individuos de 13 países, se ha encontrado una asociación significativa entre la infección por *H. pylori* y la incidencia del AG, hallando un coeficiente de regresión de 2.68; de la misma manera el estudio de Asaka (1997), también ha puesto de manifiesto esta asociación, tanto para el cáncer avanzado como para el cáncer precoz, y en sus dos variantes, intestinal y difusa. Otro de sus hallazgos fue la detección de un menor título de anticuerpos en los casos de cáncer avanzado con respecto al cáncer precoz, lo que sugiere que el desarrollo progresivo de la atrofia crea un ambiente no apto para el crecimiento de *H. pylori*, lo que conlleva a una menor producción de anticuerpos.

La confirmación de esta relación ha sido establecida por Uemura y colaboradores (2001), quienes analizaron a 1526 individuos japoneses de los cuales 1426 estaban infectados. Tras un seguimiento de 8 años, detectaron 36 casos de AG, todos en sujetos infectados, analizando los datos obtenidos por el método de Kaplan-Meier, estimaron que el riesgo de desarrollar cáncer gástrico era de un 5% a los 10 años. Además, encontraron mayor riesgo si estaban presentes atrofia gástrica severa (riesgo relativo: 4.9).

Uno de los factores de virulencia del microorganismo más estudiados es la proteína CagA, que se ha asociado con un riesgo elevado de aparición de AG en estudios efectuados en países occidentales, mientras que en Asia no se ha demostrado esta asociación.

5.4. Linfoma gástrico

El tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) es una parte esencial del sistema inmunitario. En el tracto digestivo, su estructura característica son las placas de Peyer intestinales, que contienen folículos secundarios rodeados de una zona de manto y por fuera de ella una zona marginal que se extiende hacia el epitelio, todo ello constituido por linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y células reticulares dendríticas (11).

En condiciones normales la mucosa gástrica carece de un tejido linfoide organizado como acontece en el intestino, y sin embargo, el estómago es el órgano más afectado por los linfomas del tracto digestivo, tumores generalmente poco frecuentes. La base morfológica sobre la que se desarrollan podría ser la hiperplasia linfoide que con frecuencia acompaña a la infección por *H. pylori* (12).

A principios de la década de los 80's del siglo pasado, se describió un tipo de linfoma gástrico formado por la proliferación monoclonal de linfocitos B, con características morfológicas similares a las del MALT, debido a ello, se acuñó el término linfoma gástrico MALT de bajo grado. Numerosas evidencias han permitido demostrar la estrecha relación entre la infección por *H. pylori* y este tipo de linfomas. Estudios epidemiológicos como los de Wotherspoon y colaboradores (1991) y Edit y colaboradores (1994) han mostrado que la infección puede encontrarse entre el 90 – 100% de los afectados por un linfoma gástrico, y en un trabajo efectuado por Doglioni y colaboradores (1992), en una región con elevada incidencia de este tumor, la infección se ha detectado en el 87% de los casos.

Por el momento, no han sido identificadas cepas específicas de *H. pylori* ni factores de virulencia asociados de manera consistente con el desarrollo de esta enfermedad, pues los resultados de diferentes estudios han sido discordantes. La base etiopatogénica de la misma reside en la infección persistente y la respuesta inflamatoria crónica, con activación de neutrófilos, linfocitos, macrófagos, y la liberación de sustancias, tales como radicales de oxígeno, interleucinas, factor de necrosis tumoral y otras citocinas.

5.5. Dispepsia

La dispepsia constituye uno de los motivos más frecuentes en la práctica clínica diaria en Gastroenterología, por lo que su manejo deberá basarse en la mejor evidencia científica disponible en cada momento. Actualmente es definida como un dolor o molestia crónica o recurrente en el abdomen superior, que puede asociarse a otros síntomas como saciedad precoz, distensión del abdomen superior, náuseas o sensación de plenitud abdominal. Desde el punto de vista etiológico, los pacientes con dispepsia se pueden clasificar en tres grupos principales: 1) los que tienen una causa identificada de los síntomas, como por ejemplo una úlcera péptica, una neoplasia maligna o el antecedente de consumo de fármacos; 2) los que presentan una anomalía fisiopatológica o microbiológica de dudosa importancia clínica, como son la gastritis por *H. pylori*, la dismotilidad gastrointestinal o la litiasis biliar; y 3) los que carecen de una causa identificable de los síntomas.

5.6. *Helicobacter pylori* y antiinflamatorios no esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE's), incluyendo el ácido acetilsalicílico, se encuentran entre los fármacos más utilizados en el mundo. El principal factor que limita su uso es la toxicidad gastrointestinal, pues hasta un 15 – 30% de los pacientes presentan una úlcera, generalmente no complicada. Aunque solamente una pequeña proporción de los consumidores de AINE's, aproximadamente el 1.5%, desarrollarán complicaciones serias gastrointestinales (hemorragia, perforación y estenosis), esto se traduce en una cifra importante de eventos adversos por el elevado número de individuos que a diario consumen este tipo de fármacos. Diferentes estudios han permitido identificar varios factores que incrementan el riesgo de la aparición de estas complicaciones. La infección por *H. pylori* y el consumo de AINE's se consideran factores de riesgo independientes para el desarrollo de la úlcera péptica, y existe controversia sobre la interacción de ambos, pues los estudios que han investigado ambos factores de riesgo muestran resultados discordantes.

5.7. Enfermedad por reflujo gastroesofágico

Ha habido bastante confusión sobre la participación de *H. pylori* en la enfermedad por reflujo gástrico (ERGE). Los dos principales temas de debate han sido la conveniencia de diagnosticar y tratar la infección a los sujetos con reflujo, y si la erradicación de la infección podría contribuir al desarrollo de la ERGE, en sujetos que previamente no tenían esta enfermedad (11). Incluso se ha postulado tras los resultados de diversos estudios como el de Garrido (2003), que se encuentran menor número de infectados entre los sujetos con ERGE que en controles, que la infección podría ejercer un efecto protector sobre la misma. Sin embargo, cabe la posibilidad de que el aumento de la prevalencia de la ERGE en países desarrollados, y la disminución de la infección, sean fenómenos independientes, sin una relación causa-efecto. Al existir la mejoría de las condiciones socioeconómicas y sanitarias, habría una menor transmisión de *H. pylori*. A su vez, estas mejoras se acompañan da cambios en la dieta y en el índice de masa corporal de la población, fenómenos relacionados con la aparición de la ERGE (14).

5.8. Enfermedades no digestivas

Se ha relacionado con la infección por *H. pylori* diversas enfermedades no digestivas como rosácea, migraña, anemia ferropénica, púrpura trombocitopénica, trastornos cardiovasculares y cerebrovasculares. Tanto Leontiadis y colaboradores (1999) como también Richy y Mégraud (2003), realizaron una extensa revisión de la literatura científica para evitar tales asociaciones. Llegaron a la conclusión de que los estudios que las habían establecido tenían muchas limitaciones, de manera que era imposible afirmar contundentemente que la infección podría ser causa de estas enfermedades, desaconsejando por tanto la erradicación de *H. pylori* en tales circunstancias. DuBois y Kearney (2005) han revisado posteriormente la evidencia científica disponible sobre la asociación con la anemia ferropénica idiopática, concluyendo que son necesarios nuevos estudios con mejor diseño para confirmar la relación que parece existir.

Se ha recomendado la erradicación por los expertos de la Tercera Reunión Europea de Consenso sobre *H. pylori*, en los pacientes con anemia ferropénica idiopática y púrpura trombocitopénica idiopática (16). Sin embargo, para la segunda Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *H. pylori*, no se recomienda la erradicación para procesos extraintestinales (17).

6. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Los métodos de diagnóstico empleados por Warren y Marshall (1983) para identificar a *H. pylori* (la tinción de muestras de biopsia gástrica y el cultivo) siguen estando vigentes, pero además se han desarrollado otros métodos para el diagnóstico de esta infección, no existiendo ninguno totalmente perfecto, que identifique sin error a los infectados y a los no infectados. A pesar de esta limitación, hay que decir que la alta sensibilidad y especificidad obtenida con la mayoría de ellos cuando se usan adecuadamente, los ha convertido en herramientas de gran utilidad en la práctica clínica diaria. Estos métodos se han clasificado como métodos invasores o directos o en no invasores o indirectos. Los primeros se basan en la demostración directa de la bacteria mediante el estudio de muestras obtenidas del interior de la cavidad gástrica (generalmente biopsias y secreciones), precisándose para la toma de biopsias de la introducción de un endoscopio por vía oral. No existe unanimidad acerca de la localización y del número de biopsias necesarias para un diagnóstico correcto, y mientras que algunos autores recomiendan una por cada localización elegida, otros recomiendan dos por ser la distribución del microorganismo intermitente. La elección depende además del método diagnóstico a utilizar, de factores como el consumo previo de fármacos, de la presencia de metaplasia o atrofia gástrica y de que el diagnóstico vaya a realizarse antes o después de haber recibido terapia erradicadora. Por haberse demostrado que en la mayoría de los infectados la colonización tiene lugar en el antro gástrico, de este lugar es del que se tomarán una o más muestras, aconsejándose que se tomen de dos a cinco centímetros del píloro (Working Party of the European *Helicobacter pylori* Study Group, 1997). Con respecto al tamaño de las biopsias, se recomienda el empleo de pinzas grandes que proporcionen muestras con un peso de 5 – 10 mg, debiendo estar el material desinfectado con las sustancias que se emplean habitualmente, pues no se ha demostrado que su uso evite la correcta detección del microorganismo. Los métodos directos son de elección en la práctica clínica para efectuar el diagnóstico a un paciente al que se le va a realizar una endoscopia digestiva alta (5).

Los métodos no invasores, no precisan de la endoscopía, y se basan por ejemplo en el aprovechamiento de la actividad ureasa del microorganismo o en la reacción inmunológica humoral que la infección despierta en el huésped. Son de elección en estudios epidemiológicos y en la evaluación de la eficacia de la terapia de erradicación (5).

No se aconseja realizar las pruebas diagnósticas, a excepción de la serología, hasta que hayan transcurrido varias semanas después de finalizar un tratamiento con compuestos de bismuto ó antibióticos (cuatro semanas), y lo mismo se hará si se han empleado antisecretores gástricos (una a dos semanas), puesto que la capacidad diagnóstica de las pruebas se verá reducida por causarse una disminución importante del número de microorganismos y su migración hacia porciones altas de la cavidad gástrica (5).

MÉTODOS DIRECTOS	MÉTODOS INDIRECTOS
Prueba rápida de la ureasa	Prueba del aliento con urea carbono 13 ó 14
Histología/tinción de Gram	Técnicas inmunológicas:
Cultivo microbiológico	Serología
Técnicas de biología molecular	Detección de antígenos en heces

Cuadro 5. Principales métodos de diagnóstico de la infección por *H. pylori* (6)

6.1. Métodos directos

6.1.1. Prueba rápida de la ureasa

Esta técnica fue descrita por McNulty y Wise (1985) es sencilla, rápida y de bajo costo. Consiste en colocar una o más muestras de biopsia gástrica en un recipiente pequeño que deberá contener urea y un indicador que cambiará de color cuando se modifique el pH del medio. *H. pylori* produce grandes cantidades de ureasa y de gran potencia, y si existiese ureasa en las biopsias, la hidrólisis de la urea se traduciría en la formación de amonio y CO₂, con lo que se alcalinizaría el medio, lo que conduciría a un cambio en el color del medio. La prueba se realiza a temperatura ambiente, aumentando la sensibilidad si se hace a 37°C o más, y aunque el resultado positivo suele aparecer en menos de una hora, si transcurrido este tiempo no hay cambio de coloración, todavía podría producirse, por lo que no se desecha hasta transcurridas las 24 horas. Existen varios reactivos comerciales basados en esta técnica que proporcionan resultados bastante concordantes, siendo el CLOtest^R (Delta West, Western Australia) y el Jatrox^R (Röhm Pharma, Weiterstadt, Alemania), dos de los más usados. Estos reactivos comerciales emplean como indicador de pH el rojo de fenol, de modo que la aparición del color rojo implica la presencia de *H. pylori*. La sensibilidad y especificidad descritas para esta prueba superan generalmente el 90% y de-

penden del número de bacterias presentes en la biopsia. Se considera que 10,000 UFC/mL de *H. pylori* sea el número mínimo necesario para que se produzca una reacción positiva.

6.1.2. Histología / Tinción de Gram

La observación de microorganismos con morfología espiral en los cortes de las biopsias gástricas es un método sencillo empleado para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Pueden emplearse distintas tinciones para efectuar la identificación y aunque algunas permiten una mejor visualización, no hay ninguna específica, y la elección del método ha de basarse en la experiencia, la preferencia y las posibilidades con que cuenta el analista. Las bacterias han de buscarse en contacto con el epitelio gástrico, en la barrera mucosa, y aparecen dispersas o agrupadas, muchas veces con distribución irregular. No es necesaria la orientación de la biopsia para la identificación de *H. pylori*, si bien con ello aumenta su detección, y es aconsejable para el análisis histopatológico (2). La técnica de tinción de plata de Warthin-Starry, que fue la empleada por Warren (1983), es de gran utilidad pero muy laboriosa y costosa, por lo que apenas se usa en la actualidad. Con la tinción de hematoxilina-eosina, la más comúnmente empleada en la práctica diaria por los patólogos, es posible apreciar a *H. pylori* cuando se tiene experiencia, y permite además efectuar el estudio de la gastritis causada por la infección. La tinción de Giemsa se emplea para identificar con mayor facilidad a este microorganismo, y es una de las más recomendadas para tal fin, por lo que muchas veces se hace de rutina en las muestras gástricas junto con la tinción de hematoxilina-eosina. Entre otras posibles técnicas de tinción, es posible mencionar la de Brown-Hopps, la coloración de Giménez, la tinción con naranja de acridina, la tinción de Genta y la tinción con azul de metileno, existiendo también técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia (1).

La sensibilidad de estas técnicas oscila entre el 85 y el 90%, y la especificidad es de casi 100%, dependiendo la rentabilidad de la experiencia y dedicación del patólogo, de la tinción empleada y de la cantidad, calidad y lugar o lugares de obtención de las biopsias. Son raros los falsos positivos, debidos a la presencia de otras especies de *Helicobacter*, y también los falsos negativos, lo que puede deberse a la ausencia o al escaso número de bacterias por ser la colonización focal, a la toma de muestras de áreas de metaplasia o atrofia, a la presencia de formas atípicas o a una falta de atención del observador.

La observación en el microscopio óptico de un frotis de la muestra de biopsia en fresco, teñida mediante la tinción de Gram, es una técnica rápida y con mucha eficacia si el observador está entrenado en la búsqueda de las bacterias, para las que se han descrito sensibilidades del 90% y especificidades cercanas al 100%. A pesar de ello, esta técnica no es muy utilizada debido a los eficientes resultados obtenidos con otras técnicas diagnósticas (2).

6.1.3. Cultivo microbiológico

H. pylori puede cultivarse con relativa facilidad a partir de biopsias gástricas, tomadas generalmente del antro gástrico, a dos centímetros del píloro, donde como ya se ha mencionado previamente, la densidad de la colonización suele ser mayor. Puede bastar con la toma de una sola biopsia, aunque se suele recomendar tomar al menos dos de antro o una de antro y otras de cuerpo. Se ha empleado con éxito un método no endoscópico para cultivar *H. pylori*, el test de la cuerda, descrito por los españoles Pérez-Trallero y colaboradores (1995), que aplica un dispositivo comercializado para el diagnóstico de parásitos en el tracto digestivo superior, y consiste en la deglución de una cápsula de gelatina que al disolverse en el estómago libera un hilo de nylon adsorbente de 90 cm, que tras una hora y media es retirado, pues su extremo proximal sobresale un poco a través de la cápsula de tal manera que antes de su deglución se traccione de él y sea sujetado en la cara del sujeto con un trozo de cinta. De esta forma, una vez extraída su porción distal, que ha estado en contacto con la superficie gástrica, puede ser inoculada en un medio de cultivo adecuado. Con esta técnica se han alcanzado recuperaciones del microorganismo que han oscilado entre el 50 y el 97% (19), y se ha propuesto su empleo para evaluar la resistencia a antibióticos tras el fracaso de la terapia erradicadora, evitándose de esta manera la práctica de una endoscopia alta para obtener material para el cultivo. También se ha propuesto la obtención de material para el cultivo mediante la introducción en el estómago de un cepillo, lo que se haría a través de un tubo de plástico insertado por vía oral (18).

El cultivo microbiológico representa la técnica de mayor especificidad diagnóstica, del 100% variando la sensibilidad entre los laboratorios, que es alta si se siguen adecuadamente las normas establecidas, permitiendo además la realización de un antibiograma para evaluar la sensibilidad a los diferentes antibióticos administrados para su erradicación. No está indicada su realización rutinaria por su alto cos-

to, por lo que para establecer el diagnóstico de la infección suele ser suficiente con alguna o algunas de las otras pruebas; tampoco se precisa esta prueba antes del inicio de la terapia, pues hoy en día está estandarizada con base a estudios múltiples de sensibilidad a antimicrobianos.

Se indica generalmente tras el fracaso de dos terapias de erradicación y se utiliza en centros especializados para conocer la prevalencia de las resistencias a antibióticos y su modificación con el paso del tiempo, así como la influencia de éstas en el éxito de la terapia (22).

Helicobacter pylori es frecuentemente encontrada en la cavidad gástrica en personas sin tratamiento; en personas tratadas con fármacos antiácidos, *H. pylori* puede ser encontrada en grandes cantidades en el estomago. También es regularmente encontrada en la cavidad gástrica en personas con duodenitis o úlceras duodenales (aproximadamente en el 50%).

Puede ser cultivada a partir del jugo gástrico únicamente en el 15% de las personas en las que se ha cultivado a partir de la cavidad o de la mucosa gástrica. Aunque también se ha demostrado su presencia en el esófago, recto, vejiga, placa dental y heces y recientemente ha sido detectada en el hígado mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Tiene poca tolerancia frente al oxígeno, en general, una menor tolerancia con respecto a la mayoría de las especies de *Campylobacter*. Tiene un crecimiento ideal en ambientes con 3 al 7% de tensión de oxígeno; es por ello que es cultivada en jarras con kits generadores de gas, en atmósferas microaerofílicas estándares o en cámaras con atmósferas microaerofílicas.

Es capaz de crecer en variados medios sólidos que contienen sangre o bien, productos de la sangre (sangre lisada). Se ha demostrado que cuenta con un mejor crecimiento cuando se utiliza una concentración de sangre de 5-7%. De la misma forma se ha demostrado que es más conveniente utilizar sangre de caballo que de carnero. También se han utilizado agar Brucella y agar Columbia; además existen suplementos disponibles en el mercado como el Skirrow o el Dent que son una buena opción para el cultivo de *H. pylori*. A continuación se presenta un cuadro con las pruebas bioquímicas que pueden ser utilizadas para diferenciar y clasificar a *Helicobacter pylori* después de haber sido cultivada, es necesario aclarar que en la realización de estas pruebas es necesario incubarlas bajo las mismas condiciones microaerofílicas que se utilizaron para su cultivo inicial.

CARACTERÍSTICA	<i>C. jejuni</i>	<i>H. pylori</i>	<i>H. mustelae</i>	<i>W. succinogenes</i>
OXIDASA	+	+	+	+
CATALASA	+	+	+	-
UREASA	-	+	+	-
HIDRÓLISIS DEL HIPURATO	+	-	-	-
REDUCCIÓN DEL NITRATO (EN COND. MICROAEROFILICAS)	+	-	+	+
PRODUCCION DE H ₂ S EN AGAR TSI	-	-	-	D
GAMMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA	-	+	+	-
FOSFATASA ALCALINA	D	+	+	-
MOTILIDAD EN CALDO BHI	+	+	+	+
MOTILIDAD EN PLACA DE AGAR	+	-	-	-
CRECIMIENTO MICROAEROFILICO A:				
25°C	-(2)*	-(4)	-(4)	-(2)
30°C	+(1)	+(2)	+(2)	-(2)
37°C	+(1)	+(2)	+(2)	+(1)
42°C	+(1)	-(4)	+(2)	D(2)
CRECIMIENTO ANAEROBICO A 37°C	+	--	D	+
CRECIMIENTO EN AGAR SANGRE +3.5% NaCl	-	-	-	-
CRECIMIENTO EN GLICINA 0.5%	+	+	+	-
CRECIMIENTO EN GLICINA 1%	+	-	+	-
CRECIMIENTO EN BILIS 1%	+	-	-	+
CRECIMIENTO EN PSD	+	+	-	+
SUCEPTIBILIDAD A ÁCIDO NALIDÍXICO (30 MICROGRAMOS DISCO)	S	R	S	R
SUCEPTIBILIDAD A CEFALOTINA (""""")	R	S	R	R
SUCEPTIBILIDAD A METRONIDAZOL (5 MICROGRAMOS.....)	R	S	S	S

(+): Positivo; (-): Negativo; D: Débil; S: Susceptible; R: Resistente; *Los números entre paréntesis representan el número de días.

Cuadro 6. Pruebas bioquímicas utilizadas en la identificación de *Helicobacter pylori* (6)

6.1.3.1. Cultivo bacteriano en condiciones microaerofílicas

Helicobacter pylori es una bacteria que requiere de un ambiente microaerofílico para poder desarrollarse, este ambiente consiste en un ambiente donde las presiones parciales de O₂ y CO₂ sean de 5 y 10% respectivamente. *H. pylori* encuentra estas condiciones en la mucosa gástrica de los humanos, es por ello que este patógeno infecta y ocasiona diversos padecimientos en esta área del cuerpo.

Estas condiciones se pueden alcanzar en jarras de anaerobiosis utilizando sobres generadores de CO₂ (OXOID). Otro método disponible que puede abaratar costos consiste en utilizar frascos grandes (por ejemplo, frascos dulceros) y colocar dentro de ellos, en un vaso de precipitados 10 mL de agua con tres ALKA seltzer^R; la adición de una vela en el mismo frasco es un método recurrente en diversos estudios consultados, sin embargo, esta adecuación no ha comprobado algún beneficio en el crecimiento bacteriano. Otra opción es la utilización de Incubadoras especiales de CO₂ que se encuentran disponibles en el mercado (49).

6.1.4. Técnicas de biología molecular

Mediante la biología molecular se posible detectar material genético procedente de *H. pylori*. Aunque es un principio se emplearon técnicas de hibridación con sondas marcadas, posteriormente se ha impuesto la técnica de PCR, que amplifica el ADN de *H. pylori*. De esta forma se puede detectar ADN bacteriano en muestras tisulares y fluidos, habiéndose obtenido una sensibilidad y especificidad cercanas al 100% en muestras de jugo gástrico y biopsias gástricas. Puesto que mínimas cantidades de ADN pueden ser detectadas; se pueden producir falsos positivos si no son adecuadas la limpieza y desinfección del endoscopio, las pinzas de biopsia u otro material previamente en contacto con *H. pylori*. Hoy en día se emplea en investigación principalmente, siendo útil es estudio de ADN de las cepas para diferenciar entre reinfección y agravación si reaparece la infección tras la terapia de erradicación. También puede utilizarse esta técnica para identificar factores de patogenicidad y mutaciones asociadas a la resis-

tencia a antibióticos. La falta de normas sobre la metodología empleada, dificulta la comparación de los resultados obtenidos por diferentes equipos investigadores. Es una técnica de precio elevado, que precisa de un equipo sofisticado y personal altamente capacitado (21).

6.2. Métodos indirectos

6.2.1. Prueba del aliento con urea marcada con carbono 13

Esta técnica fue descrita por Graham y colaboradores en 1987 y se fundamenta en el aprovechamiento de la facultad de *H. pylori* para producir la enzima ureasa, capaz de hidrolizar la urea para formar amoníaco y CO₂, que atraviesa la pared gástrica y por la sangre se conduce a los pulmones para su eliminación a través del aire exhalado (6).

En la naturaleza, el carbono se encuentra de dos formas, con masa atómica de 12 y con masa atómica de 13, cuyas proporciones son de un 98.9% y un 1.1% respectivamente, siendo ambos isótopos estables. Cuando el carbono se une con el oxígeno para formar CO₂ se crearán dos formas, CO₂ con masa atómica 44 y CO₂ con masa atómica 45. Durante el proceso de la respiración, en condiciones normales, se elimina CO₂ con masas 44 y 45, con una relación constante entre ellas que prácticamente es la misma en todas las personas, pues está dada por las concentraciones normales de carbono en la atmósfera (5). Si a un sujeto con actividad ureasa en su estómago (debido a *H. pylori*) se le administrase por vía oral urea marcada con carbono 13 (¹³C), su hidrólisis resultaría en la formación de CO₂ con masa 45 y se alteraría la relación normal de CO₂ 45 y CO₂ 44. Se pueden recoger muestras de aire exhalado, una basal previa a la ingestión de la urea y otras a distintos intervalos de tiempo, y analizar en cada una tal relación, que sería proporcional a la hidrólisis en caso de producirse. Un aumento de la misma sería un indicio de la presencia de la actividad ureasa, es decir, la presencia de *H. pylori*. En el caso de la ausencia de *H. pylori*, al no haber ureasa, no se produciría hidrólisis gástrica y no se modificaría la relación entre CO₂ 45 y CO₂ (44).

En lugar del ¹³C, podría también utilizarse el isótopo carbono 14 (¹⁴C) como marcador de la urea, más barato que el anterior pero radiactivo, aunque la dosis administrada al paciente es baja, similar a la radiación de fondo natural recibida durante un día.

En un principio se utilizaban dosis de urea marcada con ^{13}C de 350 mg o más, junto con una comida de prueba semilíquida rica en calorías para retrasar el vaciamiento gástrico y se recogían muestras de aire exhalado secuencialmente durante 180 minutos (5). Actualmente se sigue el protocolo descrito por Logan y colaboradores en 1991, quienes usando también una comida rica en calorías, pero con una dosis de 100 mg de urea marcada con ^{13}C , y demostraron que con dos determinaciones, una basal y otra 30 minutos después de la ingestión de la urea, era suficiente para un diagnóstico preciso.

6.2.2. Detección de anticuerpos en suero y sangre total

La infección por *H. pylori* desencadena una reacción inmunitaria, local y sistémica, cuyo resultado es la formación de anticuerpos contra diferentes antígenos del microorganismo, principalmente inmunoglobulinas (Ig) de tipos IgG e IgA. Puede determinarse la presencia de los mismos en fluidos corporales tales como sangre o suero, y en caso de que se detecten, ha de tenerse en cuenta que no solamente aparecen si hay infección activa, puesto que en caso de que la infección desaparezca, todavía serán detectables durante bastante tiempo, siendo éste uno de los inconvenientes de las pruebas serológicas como método diagnóstico. En la práctica clínica es suficiente la detección de los anticuerpos de tipo IgG al tratarse de una infección crónica, para lo cual se pueden emplear diferentes técnicas, tales como fijación de complemento, aglutinación al látex, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y el inmunoblot, siendo estos dos últimos los más utilizados (6). Algunos optan por la detección conjunta de ambos tipos de anticuerpos (IgG e IgA), para aumentar la sensibilidad diagnóstica. El inmunoblot es la mejor técnica para identificar y caracterizar bioquímicamente las preparaciones antigénicas y sus variaciones, pero es una prueba más laboriosa y más costosa, por lo que se recomienda para investigación o como prueba de segunda línea tras haber efectuado el ELISA.

También se han desarrollado pruebas que detectan anticuerpos anti-*H. pylori* en sangre total obtenida por punción capilar. Este tipo de análisis resultan fáciles de realizar y son de rápida lectura, pero su baja sensibilidad y especificidad les resta eficacia, lo que ha motivado que expertos en la materia no recomienden su utilización (16). Sin embargo, la detección de anticuerpos contra las proteínas VacA y CagA podría proporcionar información de utilidad pronóstica, pues su presencia parece asociada a un mayor riesgo de aparición de enfermedades digestivas, aunque esta asociación no se ha demostrado totalmente y tampoco se recomienda su empleo de forma rutinaria (16).

6.2.3. Detección de antígenos en heces

Es posible detectar antígenos de *H. pylori* en muestras diluidas de heces mediante técnicas de ELISA que emplean anticuerpos policlonales ó monoclonales anti-*H. pylori* (Vaira, 2000; Leodolter, 2002). Las muestras fecales pueden almacenarse hasta 3 días a 2 – 8°C, o de forma indefinida a -20°C. La técnica que usa anticuerpos policlonales ha sido la primera desarrollada y comercializada, y tras una incubación de una hora y lectura con un espectrofotómetro, esta prueba ofrece una sensibilidad del 94.3% y una especificidad del 91.8% según (16).

De más reciente introducción es la técnica que emplea anticuerpos monoclonales, que presenta, con respecto a la anterior una mayor sensibilidad, aunque no demasiado significativa, y una especificidad similar, según un estudio comparativo entre ambos métodos. También pueden detectarse los antígenos de *H. pylori* mediante inmunocromatografía, técnica que al parecer, tiene una buena sensibilidad, especificidad y reproductibilidad (16).

IV. Planteamiento del problema

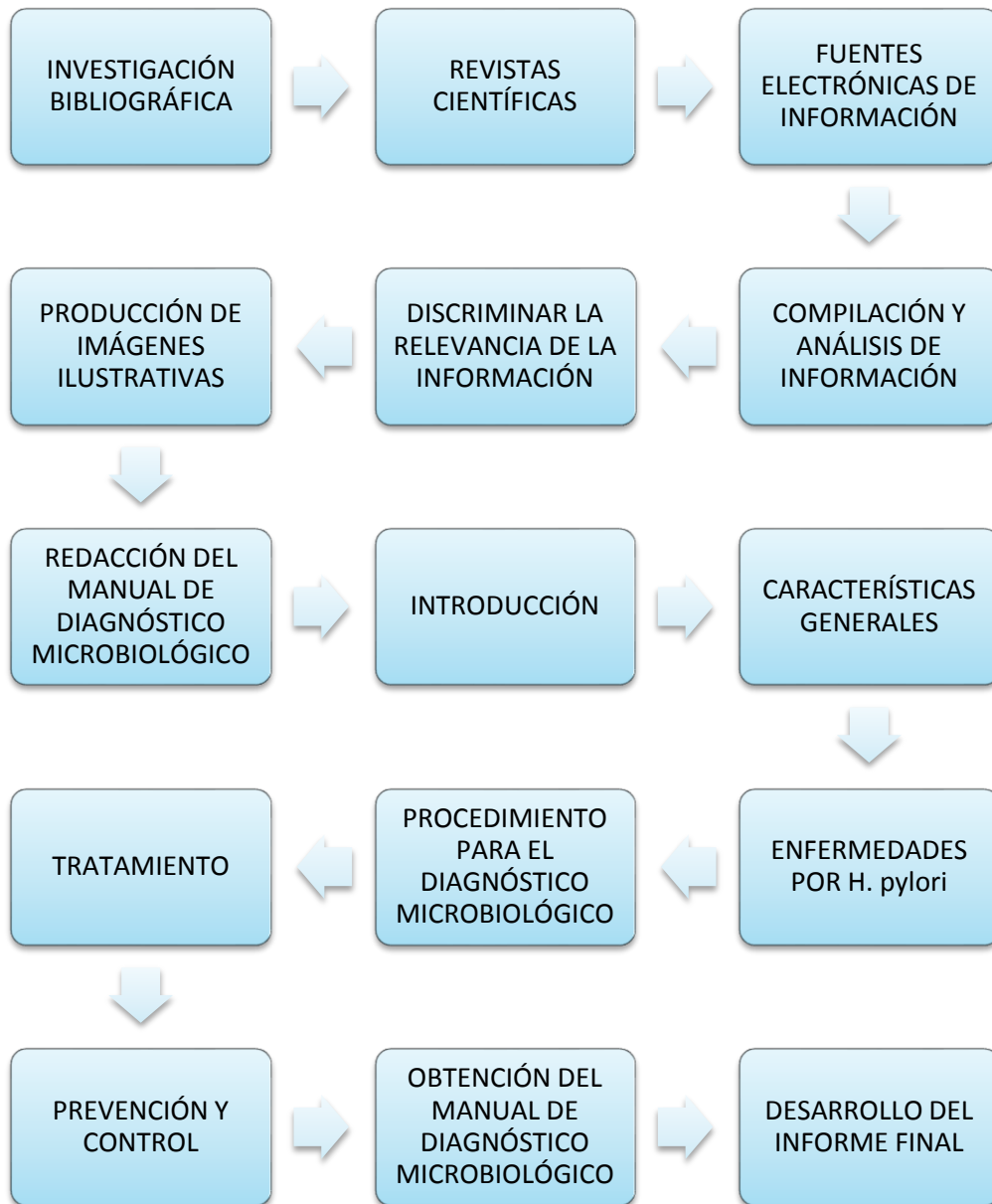
Helicobacter pylori es un microorganismo capaz de ocasionar gastritis crónica, úlcera duodenal y cáncer gástrico, entre otras enfermedades. Se estima que más de la mitad de la población mundial se encuentra infectada por *Helicobacter pylori*, siendo este porcentaje de hasta el 80% en países en vías de desarrollo, como es el caso de México, donde el cáncer gástrico, ocupa la segunda posición como causa de muerte de cáncer en general y es la primera causa de mortalidad dentro de las neoplasias del tubo digestivo; es por ello que se considera de gran importancia la preparación de los profesionales del laboratorio clínico en la identificación de esta bacteria. Se considera que la inclusión de este tema en el programa de estudios de la asignatura de Microbiología Médica, específicamente en el módulo correspondiente al diagnóstico de infecciones del aparato digestivo, a través de la elaboración de un Manual de Diagnóstico Microbiológico sería de gran importancia en la formación académica de los estudiantes, y de gran ayuda para los profesionales de la carrera de Química Farmacéutica Biológica y áreas afines.

V. Objetivos

- Realizar un Manual de Diagnóstico Microbiológico para la identificación de *Helicobacter pylori* que represente un compendio de toda la información necesaria para identificar a esta bacteria a partir de muestras clínicas.
- Realizar un Manual de Diagnóstico Microbiológico que sea utilizado por alumnos y profesionales de la carrera de Química Farmacéutico Biológica y áreas afines.

VI. Método

- a. Tomando como base al tema del diagnóstico microbiológico de *Helicobacter pylori* se realizó una investigación documental en el orden siguiente:
 - i. Libros
 - ii. Revistas científicas
 - iii. Fuentes electrónicas de información
- b. Una vez que, durante la investigación se comenzaron a encontrar con referencias redundantes, es decir, cuando los autores consultados comenzaron a citarse unos a otros, se consideró como concluida la investigación y se procedió a la compilación y al análisis de la información recabada.
- c. Se discriminó la relevancia y utilidad de dicha información tomando en cuenta los objetivos planteados.
- d. Se produjeron imágenes ilustrativas originales para el manual, esto gracias a las facilidades otorgadas por el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, donde se realiza el diagnóstico de esta infección, específicamente en el Laboratorio de Investigación de Infecciones Gastrointestinales.
- e. Se procedió a la redacción del Manual de Diagnóstico Microbiológico para la Identificación de *Helicobacter pylori*, respetando la siguiente estructura:
 - i. Introducción
 - ii. Características generales
 - iii. Enfermedades por *Helicobacter pylori*
 - iv. Procedimiento para el Diagnóstico Microbiológico de *Helicobacter pylori*
 - v. Tratamiento
 - vi. Prevención y control
- f. Por último se desarrolló el informe final, donde se analizó el resultado obtenido y se discutió acerca de la relevancia y los alcances del manual realizado.



VII. Resultados

A partir de la investigación bibliohemerográfica realizada, se recabó y compiló la información necesaria para redactar un manual, titulado “Manual de Diagnóstico Microbiológico para la Identificación de *Helicobacter pylori*” el cual contiene básicamente un panorama general acerca de la historia, descubrimiento y características biológicas de este agente patógeno; menciona además los diversos métodos existentes para su identificación poniendo especial atención en las metodologías para su diagnóstico microbiológico, y para finalizar, sugiere algunas formas para la prevención y el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*.

El Manual realizado cuenta con imágenes ilustrativas tomadas en el Laboratorio de Investigación de Infecciones Gastrointestinales del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

El Manual de Diagnóstico Microbiológico para la Identificación de *Helicobacter pylori* es el producto final de la investigación realizada, y se presenta a continuación.

Manual de Diagnóstico Microbiológico para la Identificación de *Helicobacter pylori*

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Erik Manuel Romero Rosas

P R E S E N T A C I Ó N

El presente trabajo constituye un compendio de toda la información necesaria en el estudio, el diagnóstico clínico y tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori* y tiene por objetivo representar una herramienta de consulta para los profesionistas y estudiantes del Área de la Salud.

Helicobacter pylori se encuentra en hasta el 80% de la población en países en desarrollo, en el caso de México está presente en la mitad de la población adulta; y es el principal agente causal de gastritis crónica y úlcera duodenal que son precursores de cáncer gástrico, que representa el segundo cáncer más frecuente en México.

Es por ello que este Manual de Diagnóstico Microbiológico será de gran utilidad en el Área de la Salud, específicamente para los responsables en el Laboratorio de Diagnóstico Clínico.

C O N T E N I D O

I.	Introducción.....	1
II.	Descubrimiento de <i>Helicobacter pylori</i>	3
III.	Características generales de <i>Helicobacter pylori</i>	5
	a. Taxonomía del género <i>Helicobacter</i>	6
	b. Biología celular de <i>Helicobacter pylori</i>	8
IV.	Enfermedades causadas por <i>Helicobacter pylori</i>	11
	a. <i>Helicobacter pylori</i> como agente causal de enfermedades humanas.....	11
	b. Gastritis crónica.....	12
	c. Úlcera péptica.....	13
	d. Adenocarcinoma gástrico (AG).....	14
	e. Linfoma gástrico.....	16
	f. Dispepsia.....	17
	g. <i>Helicobacter pylori</i> y antiinflamatorios no esteroideos.....	17
	h. Enfermedad por reflujo gastroesofágico.....	18
	i. Enfermedades no digestivas.....	18
V.	Diagnóstico de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	20
	a. Métodos directos.....	21
	i. Prueba rápida de la ureasa.....	21
	ii. Histología / Tinción de Gram.....	23
	iii. Cultivo Microbiológico.....	24
	iv. Técnicas de biología molecular.....	27

b.	Métodos indirectos.....	27
i.	Prueba del aliento con urea marcada con carbono 13.....	27
ii.	Detección de anticuerpos en suero y sangre total.....	28
iii.	Detección de antígenos en heces.....	30
VI.	Procedimiento para el Diagnóstico Microbiológico de <i>Helicobacter pylori</i>	31
a.	Cultivo Microbiológico	31
b.	Tinción de Gram.....	34
c.	Pruebas bioquímicas	38
VII.	Tratamiento de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	39
VIII.	Prevención y control de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	44
a.	Epidemiología.....	44
b.	Prevención.....	46
IX.	Referencias	47

I. Introducción

La gastritis, úlceras pépticas y duodenitis han sido importantes causas de mortalidad y morbilidad en el mundo desde el siglo XIX, sin embargo no fue hasta 1983 cuando Warren y Marshall identificaron a su principal agente causal: *Helicobacter pylori*, que es un bacilo gramnegativo, con forma espiral o curva, móvil debido a sus flagelos polares como se puede apreciar en la figura 1, además de ser ureasa, catalasa y oxidasa positivos.

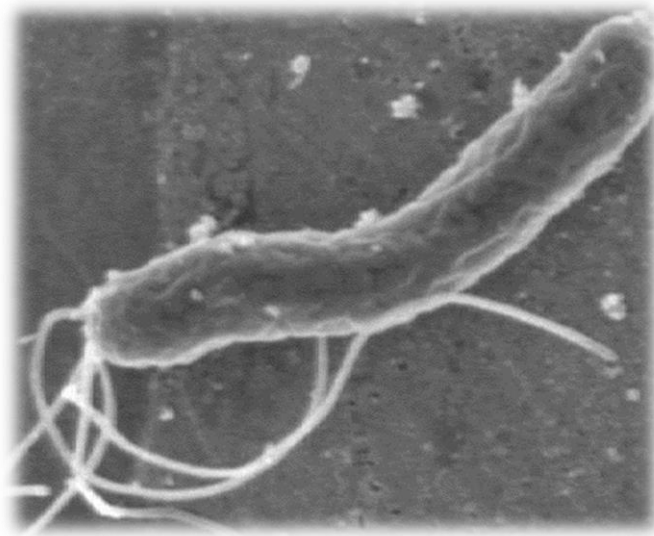


Figura 1. Micrografía electrónica de *Helicobacter pylori*. Cortesía de la Escuela de Biotecnología y Ciencias Biomoleculares, Universidad de Nueva Gales del Sur. (59)

Se estima que la mitad de la población adulta mundial tiene anticuerpos de tipo IgG en contra de *Helicobacter pylori*, en México, esta cifra asciende hasta 66%, donde el cáncer gástrico es la cuarta causa de muerte en hombres y la quinta en mujeres, presentándose 8,000 nuevos casos cada año con un 77% de mortalidad.

Considerando a *Helicobacter pylori* como el principal agente causal de gastritis no atrófica, gastritis atrófica, metaplasia intestinal, cáncer gástrico y úlceras duodenales, donde *H. pylori* es la responsable del 73%, 85%, 82%, 66% y 88% respectivamente, en México, se reportaron en 2008, un total de 1,553,116 nuevos casos con una incidencia de



2,269.67 casos por cada 100,000 habitantes, siendo principalmente afectadas las mujeres representando el 66.86% de los casos contra un 34.14% de los hombres. Es por ello, que el Sistema único de Información para la Vigilancia Epidemiológica que se lleva en la Dirección General Adjunta de Epidemiología dependiente de la Secretaría de Salud, notifica en forma semanal estos padecimientos con clave *CIE 10 K25-K29*.

Desde 1994 la *International Agency for Research on Cancer* y la Organización Mundial de la Salud consideran a este bacilo gramnegativo como un carcinógeno categoría I en humanos.

Los padecimientos ocasionados por *H. pylori*, de la misma manera que la mayoría de los padecimientos gastrointestinales, son más frecuentes en países en vías de desarrollo. Se consideran como factores de riesgo la edad (la positividad de *H. pylori* se incrementa en personas mayores), el país de origen, la posición socioeconómica (*Figura 2*), además de hábitos del paciente, tales como el tabaquismo, la elevada ingesta de sal y factores relacionados con la dieta.

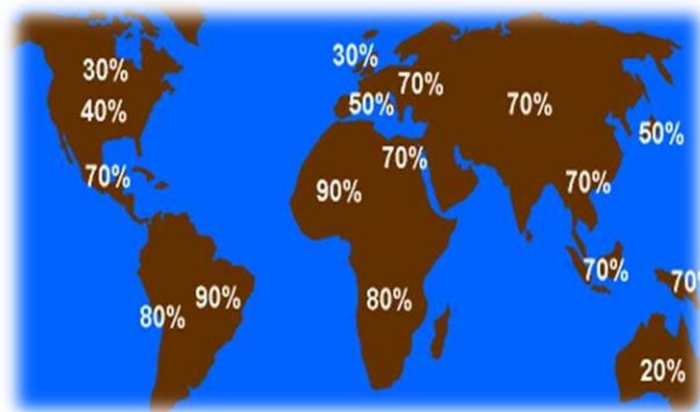


Figura 2. Positividad de IgG's en contra de *Helicobacter pylori* según región geográfica (43)



II. Descubrimiento de *Helicobacter pylori*

En 1983, los investigadores australianos John Robín Warren (1937 - ?) y Barry Marshall (1951 - ?) propusieron que, contrario a las hipótesis aceptadas hasta esa fecha que describían a la gastritis y úlceras pépticas como enfermedades provocadas por factores genéticos, hábitos, tales como el tabaquismo, y aspectos psicológicos como la ansiedad y la tensión; eran en cambio, enfermedades de tipo infecciosas, originadas por el agente *Helicobacter pylori*; esta declaración, a la postre modificaría las concepciones epidemiológicas, patogénicas y el tratamiento acerca de dichas enfermedades.

Durante el mismo año de 1983 en la obra Principios de Medicina Interna de Harrison en su décima edición, se informó que, las úlceras pépticas eran ocasionadas por un desequilibrio entre la secreción de ácido y pepsina y la resistencia de la mucosa gástrica o duodenal.

Hasta ese momento el tratamiento de elección para la gastritis y úlceras pépticas eran la administración de sales de bismuto y antiácidos, agentes terapéuticos que si bien proporcionaban una disminución del malestar en los pacientes, no otorgaban una curación, es por ello que más de la mitad de ellos tendían a recaer y se veían forzados a someterse a tratamientos quirúrgicos, tales como la vagotomía (seccionar a los nervios vagos con la finalidad de interrumpir los impulsos nerviosos emitidos por ese nervio; es una técnica que continúa siendo empleada como tratamiento a úlceras pépticas gastro-duodenales) o la gastrectomía parcial (consiste en la remoción parcial del estómago).

Si bien la presencia de microorganismos en el estómago humano ya era conocida desde el siglo XIX, esto gracias a diversos trabajos como los de Bottcher y Letulle que en 1881 describieron la presencia de colonias bacterianas en las úlceras gástricas; o el trabajo de Jaworski, que en 1889 notó la presencia de microorganismos de morfología espiral en el sedimento obtenido de lavados gástricos; o Rosenow, que a principios del siglo XX fue capaz de provocar la aparición de úlceras gástricas en animales de experimentación a los que les inoculaba estreptococos; todos los trabajos anteriores permitían suponer, tal y como los diferentes investigadores sugirieron, que las úlceras



gástricas, tal vez tenían un origen o causa bacteriana. Sin embargo, esta teoría no gozó de la aceptación en esa época debido a que se consideraba a estos organismos como muy frecuentes y como parte de la flora normal, esto tal vez debido a que aún no era del todo conocida la identidad del microorganismo o microorganismos presentes en el tracto gastrointestinal ni sus propiedades fisiológicas y metabólicas.

Las observaciones realizadas por Warren y Marshall, que terminarían por identificar a *Helicobacter pylori* como el principal agente causal de úlceras pépticas y gastritis se realizaron en el periodo que abarca entre 1979 y 1984. Warren, en 1979 fue el primero en observar a microorganismos de morfología espiral en la mucosa gástrica, además documentó que los episodios de inflamación estaban asociados a dichos organismos; al mismo tiempo, Marshall iniciaba un estudio en el que buscaría a los organismos presentes en pacientes con síntomas diversos en el tracto gastrointestinal superior, finalmente, en 1981 este estudio reveló la presencia de una bacteria gramnegativa, el equipo de investigadores de Marshall, trató, de manera tentativa a un paciente en el que se había encontrado al organismo con tetraciclina, en el que se observó una disminución en el número de neutrófilos en la mucosa gástrica y una aparente desaparición de la bacteria; sin embargo, esta evidencia anecdótica careció de valor científico, hasta que se estudiaron a 100 pacientes en los que se trató cultivar a la bacteria, con el fin de determinar su asociación con los padecimientos gástricos. En 1982 Marshall y Warren obtuvieron biopsias del tejido gástrico de esos mismos pacientes, después de haber firmado un consentimiento y responder a un detallado cuestionario en el que informaron sus hábitos alimenticios, su higiene dental, el uso de fármacos antiinflamatorios y antiácidos.

El procedimiento consistía en tomar dos porciones de la cavidad gástrica, uno de ellos era tomado para su cultivo utilizando diversas técnicas, en especial la incubación en un ambiente microaerofílico, similar al usado para *Campylobacter sp.* La segunda porción era enviada al Dr. Warren para su estudio histológico mediante el uso de la tinción de hematoxilina y eosina. Sin embargo, no fue sino hasta la biopsia del paciente número treinta y cinco que el organismo creció, esto ocurrió debido a un feliz y afortunado evento, debido a que los cultivos fueron dejados en la incubadora durante un fin de semana largo: el de la Semana Santa, fue por ello que los cultivos no fueron revisados sino hasta cuatro o cinco días después de haber obtenido la biopsia; se obtuvieron



colonias transparentes de 1 milímetro de diámetro, hasta ese descubrimiento, los cultivos estaban siendo descartados luego de haber transcurrido 48 horas, que era el tiempo habitual en el que especímenes de la flora normal del tracto gastrointestinal se desarrollaban, sin embargo, esta regla no podía aplicarse a *Helicobacter pylori*.

A partir de ese momento, *Helicobacter pylori* sería cultivado con cierta facilidad en ambientes microaerofílicos en cajas con agar sangre de carnero. De los 100 pacientes del estudio, el 65% fue infectado por la bacteria, de los cuales, la gran mayoría padecieron gastritis, 13 de ellos desarrollaron úlceras pépticas.

En ese entonces, *Helicobacter pylori*, fue incluido dentro del género *Campylobacter* y fue denominado como *Campylobacter pylori* o *Campylobacter pyloridis*, esto debido a que comparte características morfológicas y de crecimiento con este género; no fue hasta que Goodwin y Armstrong propusieron la creación del género *Helicobacter* en 1989 con base en las diferencias con respecto al género *Campylobacter* y al género *Wolinella* en cuanto a su secuencia en las cadenas de ARN, su estructura, su morfología y sus características de crecimiento. Describieron que sus ácidos grasos y sus características estructurales diferían de otras campilobacterias; que la mena-quinona metilada (MK-6) estaba ausente en *Campylobacter pylori* siendo que este compuesto es característico de las campilobacterias, y por tanto los antibióticos a los que era susceptible eran distintos a los de otras campilobacterias. Es por ello que se propuso la creación del género *Helicobacter*, nombre que hace alusión a la morfología del microorganismo, que “in vivo” adopta una forma helicoidal pero que en algunas ocasiones tiene forma de vara cuando es cultivado “in vitro”.

III. Características generales de *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori se caracteriza por su capacidad única de sobrevivencia dentro del ambiente extremadamente ácido del estómago, que suele ser una barrera más que efectiva para impedir la colonización gástrica por la mayoría de las especies bacterianas (11). Estos microorganismos se encuentran primordialmente libres en el moco gástrico, localizándose también en la superficie de las células epiteliales o en el intersticio celular.



Predomina la localización antral y suelen alcanzar una densidad de 10^6 unidades formadoras de colonias por gramo de tejido (15). Esta bacteria no crece adecuadamente o no lo hace en casos de atrofia gástrica, metaplasia intestinal en el estómago y reflujo biliar, esto último por la acción inhibitoria que las sales biliares ejercen sobre las bacterias. Si bien la mucosa gástrica es su lugar de asentamiento habitual, también ha sido aislada a partir de saliva, placa dental, heces, sangre y secreciones respiratorias en casos de neumonía.

El análisis genético ha permitido comprobar que un individuo puede albergar en su estómago cepas distintas (el 14% de los infectados poseen múltiples genotipos). Se han identificado diferencias entre las cepas aisladas de distintos continentes y se ha demostrado que las cepas presentes en América Latina tienen mayor similitud a las encontradas en Asia que con las europeas, este hecho contradice una hipótesis que consideraba que *H. pylori* procedía de los colonizadores españoles y, en contraparte, favorece la teoría de la migración de los pueblos asiáticos a través de Alaska hacia América hace más de 10,000 años.

Helicobacter pylori vive en la capa de moco que recubre al epitelio gástrico, un nicho ecológico con un pH ácido, un recambio celular elevado y un movimiento peristáltico continuo con una baja tensión de oxígeno. Este microorganismo es capaz de atravesar las uniones intercelulares, probablemente por la expresión de moléculas que ligan proteínas séricas y de la matriz extracelular del hospedador y se considera rara la invasión celular.

a. Taxonomía del género *Helicobacter*

Filogenéticamente, el género *Helicobacter* pertenece a la clase Epsilonproteobacteria. La especie tipo, *Helicobacter pylori*, fue inicialmente incluida en el género *Campylobacter*. Sin embargo, mediante el análisis de las secuencias 16S del ARNr se pudo comprobar la divergencia con otras especies de *Campylobacter*, y de este modo confirmar el hallazgo de un nuevo género bacteriano (9).



Reino Bacteria

Phylum Proteobacteria

Clase Epsilonproteobacteria (Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 1991)

Orden Campylobacteriales (Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 1991)

Familia 1: Campylobacteraceae (Vandamme y De Ley, 1991)

Género tipo: *Campylobacter* (Sebald y Veron, 1963)Especie tipo: *Campylobacter fetus* (Smith y Taylor, 1919)

Familia 2. Helicobacteraceae (Garrity, G.M., Bell, J.A., Lilburn, T., 1991)

Género tipo: *Helicobacter* (Goodwin, Amstrong, Harper, 1989)Cuadro 1. Clasificación filogenética del Género *Helicobacter* (Modificado de 7, 8 y 10)

ESPECIE	HOSPEDADOR	HÁBITAT
	HABITUAL	PRINCIPAL
<i>H. bizzoeronii</i>	Humano, perro, gato, primate	Estómago
<i>H. canis</i>	Humano, perro, gato	Intestino
<i>H. canadensis</i>	Humano	Intestino
<i>H. cinaedi</i>	Humano, hámster, macaco	Intestino
<i>H. fennelliae</i>	Humano	Intestino
<i>H. pullorum</i>	Humano, pollo	Intestino
<i>H. pylori</i>	Humano, macaco, gato	Estómago
<i>H. aurati</i>	Hámster	Intestino
<i>H. nemestrinae</i>	Macaco	Estómago
<i>H. acinonychis</i>	Chimpancé	Estómago
<i>H. bilis</i>	Ratón, perro, rata	Intestino
<i>H. cholecystus</i>	Hámster	Hígado
<i>H. felis</i>	Perro, gato	Estómago
<i>H. hepaticus</i>	Ratón	Intestino
<i>H. mesocricerotum</i>	Hámster	Intestino
<i>H. muridarum</i>	Ratón, rata	Intestino
<i>H. mustelae</i>	Hurón	Estómago
<i>H. salomonis</i>	Perro	Estómago
<i>H. trogontum</i>	Rata	Intestino
<i>H. typhlonius</i>	Ratón	Intestino
<i>H. ganmani</i>	Ratón	Intestino

Cuadro 2. Diferentes especies del Género *Helicobacter* (5)

Además de *H. pylori*, al principio se incluyó en éste género a *H. mustelae*, aislado de la mucosa gástrica de hurones. Posteriormente se han ido descubriendo nuevas especies de *Helicobacter*, adaptadas para sobrevivir en distintos hospedadores animales, tal que hoy en día su número supera la veintena y sigue aumentando al irse descubriendo nuevas especies, algunas pendientes de validación, como *H. cynogastricus*, *H. anseris* y *H. brantae*. Hay especies que afectan a diferentes animales, en ocasiones también a humanos, al igual que *H. pylori* en ocasiones se ha aislado de hospedadores no humanos. Estas nuevas especies no son exclusivamente gástricas, pues muchas tienen su hábitat en el intestino o en el hígado, y su presencia se ha asociado con diversas alteraciones como gastritis, hepatitis o enteritis (5). Por ejemplo, *H. bilis* y *H. hepaticus*, dos especies tolerantes a la



bilis, causan en roedores hepatitis crónica, y una especie de *Helicobacter* parece ser la responsable de la inducción de una enfermedad inflamatoria crónica intestinal tipo colitis ulcerosa en semiprimates (5). La mayoría de las especies del género *Helicobacter* actualmente reconocidas y sus hospedadores se muestran en el cuadro 2.

b. Biología celular de *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori es el microorganismo más frecuentemente encontrado en la mucosa gástrica humana; posee una forma bacilar, espiral o en forma de “S” que reacciona negativamente a la tinción de Gram; cuando es cultivada *in vitro* desarrolla una forma menos espiral asemejándose más a un bacilo curvo aunque en ocasiones también adoptan formas rectas, esféricas, en “U” o en “V”, inclusive, las formas cocoides predominan en cultivos viejos. Cuenta con una longitud de 2.5 a 4.0 μm y de 0.5 a 1.0 μm de ancho.

Es un microorganismo móvil, normalmente posee de 4 a 6 flagelos (Cuadro 3), estos flagelos están dispuestos en una posición polar, se encuentran envainados (para proteger al filamento del ácido gástrico), cuentan con 2.5 μm de largo y 30 nm de grosor. La flagelina es la proteína mayoritaria de sus flagelos, pesa 53 KD y es similar a la de *Campylobacter*.

Estudios acerca de su superficie externa empleando ácido tánico, han revelado que presenta una estructura de glucocálix de unos 40 nm de grosor y un pili de 2 nm, que en conjunto, permiten la adherencia a las microvellosidades del epitelio gástrico.

GÉNERO	PARED CELULAR	FLAGELOS	VAINA FLAGELAR	BULBO FLAGELAR	GLUCOCALIX
<i>C. jejuni</i> NCTC 11351	Rugosa	Simple, bipolar	Ausente	Ausente	Escaso
<i>H. pylori</i> NCTC 11637 ^T	Suave	Múltiple, unipolar	Presente	Presente	Presente
<i>H. mustelae</i> NCTC 12032	Suave	Múltiple, bipolar y lateral	Presente	Presente	Presente
<i>W. succinogenes</i> NCTC 11488	Variable	Simple, unipolar	Ausente	Ausente	Escaso

Cuadro 3. Estructuras extracelulares en *H. pylori*, *H. mustelae*, *C. jejuni*, *W. succinogenes* (5)



Su pared celular posee un número variable de proteínas membranales; la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida ha develado 3 bandas principales de 54-57, 61-62 y 64 KD. De la misma manera, la pared celular presenta un lipopolisacárido con diferentes conformaciones debido a la variabilidad de sus componentes polisacáridos.

Existen varios factores de riesgo para contraer la infección por *H. pylori*, entre ellos la edad (29), el bajo nivel socioeconómico, deficiencias nutricionales y malos hábitos higiénicos. Actualmente se ha aceptado que la transmisión de *H. pylori* ocurre de persona a persona, aunque los mecanismos de transmisión aun no son del todo claros (28).

En la patogenia por *H. pylori* se han descrito diferentes factores de virulencia, entre los cuales se encuentra el gen *vacA* (*vacuolization associated gene*) y el gen *cagA* (*cytotoxin associated gene*). El gen *vacA* codifica una citotoxina que tiene la capacidad de formar vacuolas en las células epiteliales. El gen *cagA* es un marcador genético para una isla de patogenicidad (*cag PAI*) constituida por 31 genes. Las cepas de *H. pylori* que presentan el gen *cagA* han sido asociadas con ulceración péptica y con cáncer gástrico. Por ello, las cepas de *H. pylori* han sido divididas de acuerdo a su virulencia, en tipo 1 (*vacA*, *cagA* positivo) y tipo 2 (*vacA*, *cagA* negativo) (26).

Se han identificado a diversos factores de virulencia involucrados en la colonización gástrica (*Figura 3*), el daño al tejido gástrico y su supervivencia, por ejemplo, los flagelos y adhesinas son esenciales en el proceso de colonización de la mucosa gástrica (*Cuadro 4*).



FACTOR DE VIRULENCIA	EFEECTO
Colonización	
Flagelos	Le brinda motilidad a través de la mucina* gástrica
Ureasa	Neutralización del pH ácido estomacal
Adhesinas	Anclaje al epitelio
Daño al tejido	
Enzimas proteolíticas	La glucosulfatasa degrada a la mucina
Vacuolas citotóxicas	Dañan al epitelio gástrico
Ureasa	Tienen un efecto tóxico en células epiteliales interrumpiendo las uniones celulares
Fosfolipasa A	Digiere a los fosfolípidos de las membranas celulares
Supervivencia	
Vigilancia intracelular	Previene la fagocitosis
Superóxido dismutasa	Previene la fagocitosis
Catalasa	Previene la fagocitosis
Forma cocoide	Forma latente
Ureasa	Envaina a los antígenos

*La mucina es un mucopolisacárido que es el principal componente de la mucosa gástrica

Cuadro 4. Principales factores de virulencia en *Helicobacter pylori* (5)

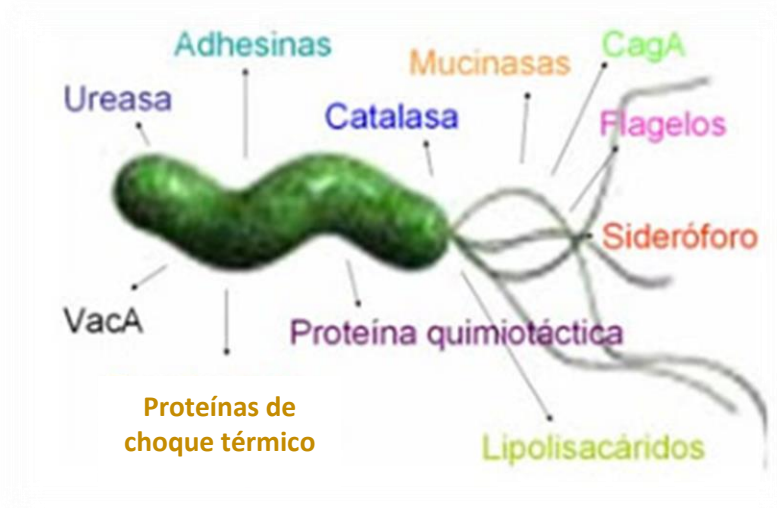


Figura 3. Principales factores de virulencia de *H. pylori* (12)



IV. Enfermedades causadas por *Helicobacter pylori*

El descubrimiento de *H. pylori* ha generado una revolución en la Gastroenterología. En el corto periodo de tiempo transcurrido desde su aislamiento, el avance experimentado en el conocimiento de la biología y la fisiopatología de la bacteria ha sido enorme, habiéndose demostrado que constituye la principal causa de gastritis crónica y es un factor necesario para el desarrollo de otras enfermedades digestivas y no digestivas (Cuadro 5).

Enfermedades digestivas asociadas a <i>Helicobacter pylori</i>
Gastritis crónica
Úlcera péptica
Adenocarcinoma gástrico
Linfoma gástrico
Dispepsia
Reflujo gastroesofágico

Cuadro 5. (Modificada de 10, 39, 50 y 59)

a. *Helicobacter pylori* como agente causal de enfermedades humanas

En prácticamente todos los infectados por *Helicobacter pylori* se desarrolla una gastritis crónica, que no se acompaña de síntomas, y solamente en una pequeña proporción de los mismos aparecerán enfermedades como la úlcera péptica, el adenocarcinoma gástrico o el linfoma gástrico. Posiblemente, además de la infección como factor iniciador de la inflamación en la mucosa gástrica, y de la presencia de diferentes factores de virulencia del microorganismo, sea necesaria la participación de factores del hospedador y/o del ambiente, de manera que como resultado de su interacción puedan surgir estas diferentes manifestaciones clínicas. Entre los factores del hospedador, podrían ser importantes aquellos que participasen en la distribución de los



microorganismos dentro del estómago. Así podrían influir el polimorfismo genético de los receptores de las células epiteliales gástricas a las que se adhieren los microorganismos, y también el nivel de producción de ácido. Si la secreción ácida fuese normal o alta se facilitaría la colonización de predominio antral, asociada a la úlcera duodenal. Si fuese baja, se facilitaría una colonización proximal, con el desarrollo de pangastritis, favoreciendo la aparición de atrofia, y en algunos casos, de adenocarcinoma.

La naturaleza y magnitud de la respuesta inflamatoria, sujetas a variaciones interindividuales, también juegan un papel relevante. Una parte de esta respuesta se encuentra controlada por los genes del complejo de histocompatibilidad, que consiste en un grupo de genes altamente polimórficos que se encargan de codificar a los antígenos leucocitarios humanos (HLA). Determinados alelos específicos de los genes HLA de clase II, podrían predecir la susceptibilidad a la infección y su evolución clínica. Lo mismo puede aplicarse a los genes que codifican citocinas como el factor de necrosis tumoral. En esta infección la respuesta inflamatoria mediada por los linfocitos T es principalmente de tipo Th1, que no parece ser lo más adecuado al tratarse de una infección extravascular, pues, en ese caso debería predominar la respuesta de tipo Th2. La respuesta Th1 podría contribuir a la perpetuación de la infección sin que se logre eliminar a los microorganismos, mediante la producción de citocinas que promoverían la inflamación, la formación de anticuerpos y el daño al epitelio gástrico por células inmunitarias, existiendo además un incremento de la apoptosis de las células epiteliales. En la inflamación participan también neutrófilos, linfocitos B, células plasmáticas, y diferentes interleucinas como las IL-1, IL-6 e IL-8.

b. Gastritis crónica

Mucho antes de que se descubriese a *H. pylori* se sabía que existía una estrecha asociación entre la gastritis crónica y enfermedades como la úlcera péptica y el adenocarcinoma gástrico. Este hecho estimuló la realización de investigaciones a nivel mundial, tratando de conocer la causa o las causas de la gastritis crónica. Se realizaron importantes avances en el conocimiento de la epidemiología de esta entidad, y así



descubrieron asociaciones con la edad, la dieta, el tabaco, el nivel socioeconómico y otras variables, pero sin encontrar un patrón aplicable a todas las poblaciones estudiadas. Una vez que los resultados de diferentes estudios permitieron demostrar que la infección por *H. pylori* era la causa principal de la gastritis crónica, resultaba obvio que tales asociaciones deberían corresponderse con esta infección.

La infección por *H. pylori* es fundamentalmente una infección de una superficie mucosa. El microorganismo se encuentra en el moco, unido al epitelio superficial, entre las células epiteliales y en el fondo de las criptas. Origina una importante respuesta inflamatoria, con células polimorfonucleares y mononucleadas, con una densidad bacteriana e inflamatoria más acusadas en las áreas que carecen de secreción ácida, el antro y el cardias. Inicialmente se produce un infiltrado neutrofílico con escasa presencia de células plasmáticas y de linfocitos, disminución de la mucosidad de las células superficiales de la mucosa gástrica y erosiones superficiales. El amonio generado por la ureasa bacteriana, es nocivo para las células epiteliales, y además puede interferir con el ciclo celular. Las proteínas VacA y CagA también participan en el daño epitelial, así como la adhesión bacteriana al epitelio, que facilita la transferencia de toxinas bacterianas a las células epiteliales.

Se distinguen dos patrones de gastritis bien diferenciados, el más frecuente es un infiltrado inflamatorio de predominio antral (gastritis crónica superficial no atrófica), localizado en la proximidad del epitelio de superficie, que cursa en la mayoría de los casos de forma asintomática y se asocia a la úlcera duodenal. El segundo patrón es la extensión difusa o multifocal de la inflamación hacia el cuerpo y el fórnix gástricos, con destrucción de las glándulas (gastritis crónica atrófica). Se desconocen los mecanismos implicados en la evolución hacia uno u otro tipo, posiblemente participen factores bacterianos, ambientales y del hospedador.

c. Úlcera péptica

Durante muchos años la enfermedad ulcerosa péptica ha constituido un problema sanitario de primer orden debido a su alta prevalencia alrededor del mundo. En su



primera publicación sobre *H. pylori*, Warren y Marshall habían mencionado la frecuente asociación del microorganismo con la gastritis crónica, lo que les hacía sospechar que podría estar implicado en la etiopatogenia de enfermedades como la úlcera péptica. Sin embargo, la falta de una asociación específica, pues muchos infectados carecen de síntomas, fue durante años el argumento utilizado por algunos investigadores para restar importancia a la teoría infecciosa de la úlcera péptica. Para su plena aceptación, hubo que esperar hasta la publicación de diferentes ensayos clínicos, en lo que se ha demostrado que la erradicación del microorganismo reduce drásticamente la tasa recidiva ulcerosa, hasta un 0 - 20%, en comparación con el 70 - 90% de los individuos que reciben un tratamiento antisecretores sin mantenimiento posterior. Se ha logrado modificar la historia natural de la enfermedad ulcerosa péptica, consiguiéndose para la mayoría de los pacientes la curación definitiva en lugar de una cicatrización temporal, lo que constituye uno de los avances médicos más importantes de las últimas décadas.

La mortalidad de la úlcera péptica es consecuencia de sus complicaciones, la hemorragia, la perforación y la estenosis. En los primeros estudios en que se analizó la prevalencia de la infección en la úlcera complicada, ésta se mostró inferior a la de la úlcera no complicada, oscilando entre el 40 - 90%, posiblemente debido a falsos negativos con las técnicas de diagnóstico utilizadas.

d. Adenocarcinoma gástrico (AG)

El adenocarcinoma gástrico constituye una de las causas más frecuentes de mortalidad por cáncer a nivel mundial, afectando principalmente a individuos de países en vías de desarrollo, aunque en algunos países desarrollados como Japón, su incidencia también es elevada (10). En los últimos 50 años, la incidencia y mortalidad por esta neoplasia han decrecido, principalmente en países desarrollados, este fenómeno es atribuible a unas mejores condiciones de vida, con cambios en la conservación de alimentos, un incremento del consumo de frutas y vegetales, y un diagnóstico y tratamiento más oportunos.



En su etiopatogenia se han implicado diferentes factores, atribuyéndose durante años un papel relevante al consumo de sal y a otros factores dietéticos. Actualmente se sabe que la gastritis causada por *H. pylori* puede progresar en algunos casos hacia la atrofia, con destrucción del epitelio glandular y su sustitución por fibrosis y por un epitelio de tipo intestinal, lo que se conoce como metaplasia intestinal. Desde muchos años antes del descubrimiento de la bacteria, la atrofia gástrica era considerada como una lesión precursora del AG, y hace unos 35 años, Correa y colaboradores (1975) habían postulado un modelo de carcinogénesis con una sucesión de cambios histológicos que conducían a la gastritis crónica no atrófica a la atrofia. En un estudio efectuado por el Grupo de Estudios Eurogast (1993), en el que se analizó la prevalencia de la infección en 3194 individuos de 13 países, se ha encontrado una asociación significativa entre la infección por *H. pylori* y la incidencia del AG, hallando un coeficiente de regresión de 2.68; de la misma manera el estudio de Asaka (1997), también ha puesto de manifiesto esta asociación, tanto para el cáncer avanzado como para el cáncer precoz, y en sus dos variantes, intestinal y difusa. Otro de sus hallazgos fue la detección de un menor título de anticuerpos en los casos de cáncer avanzado con respecto al cáncer precoz, lo que sugiere que el desarrollo progresivo de la atrofia crea un ambiente no apto para el crecimiento de *H. pylori*, lo que conlleva a una menor producción de anticuerpos.

La confirmación de esta relación ha sido establecida por Uemura y colaboradores (2001), quienes analizaron a 1526 individuos japoneses de los cuales 1426 estaban infectados. Tras un seguimiento de 8 años, detectaron 36 casos de AG, todos en sujetos infectados, analizando los datos obtenidos por el método de Kaplan-Meier, estimaron que el riesgo de desarrollar cáncer gástrico era de un 5% a los 10 años. Además, encontraron mayor riesgo si estaban presentes atrofia gástrica severa (riesgo relativo: 4.9).

Uno de los factores de virulencia del microorganismo más estudiados es la proteína CagA, que se ha asociado con un riesgo elevado de aparición de AG en estudios efectuados en países occidentales, mientras que en Asia no se ha demostrado esta asociación.



e. Linfoma gástrico

El tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) es una parte esencial del sistema inmunitario. En el tracto digestivo, su estructura característica son las placas de Peyer intestinales, que contienen folículos secundarios rodeados de una zona de manto y por fuera de ella una zona marginal que se extiende hacia el epitelio, todo ello constituido por linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y células reticulares dendríticas (11).

En condiciones normales la mucosa gástrica carece de un tejido linfoide organizado como acontece en el intestino, y sin embargo, el estómago es el órgano más afectado por los linfomas del tracto digestivo, tumores generalmente poco frecuentes. La base morfológica sobre la que se desarrollan podría ser la hiperplasia linfoide que con frecuencia acompaña a la infección por *H. pylori* (12).

A principios de la década de los 80's del siglo pasado, se describió un tipo de linfoma gástrico formado por la proliferación monoclonal de linfocitos B, con características morfológicas similares a las del MALT, debido a ello, se acuñó el término linfoma gástrico MALT de bajo grado. Numerosas evidencias han permitido demostrar la estrecha relación entre la infección por *H. pylori* y este tipo de linfomas. Estudios epidemiológicos como los de Wotherspoon y colaboradores (1991) y Edit y colaboradores (1994) han mostrado que la infección puede encontrarse entre el 90 - 100% de los afectados por un linfoma gástrico, y en un trabajo efectuado por Doglioni y colaboradores (1992), en una región con elevada incidencia de este tumor, la infección se ha detectado en el 87% de los casos.

Por el momento, no han sido identificadas cepas específicas de *H. pylori* ni factores de virulencia asociados de manera consistente con el desarrollo de esta enfermedad, pues los resultados de diferentes estudios han sido discordantes. La base etiopatogénica de la misma reside en la infección persistente y la respuesta inflamatoria crónica, con activación de neutrófilos, linfocitos, macrófagos, y la liberación de sustancias, tales como radicales de oxígeno, interleucinas, factor de necrosis tumoral y otras citocinas.



f. Dispepsia

La dispepsia constituye uno de los motivos más frecuentes en la práctica clínica diaria en Gastroenterología, por lo que su manejo deberá basarse en la mejor evidencia científica disponible en cada momento. Actualmente es definida como un dolor o molestia crónica o recurrente en el abdomen superior, que puede asociarse a otros síntomas como saciedad precoz, distensión del abdomen superior, náuseas o sensación de plenitud abdominal. Desde el punto de vista etiológico, los pacientes con dispepsia se pueden clasificar en tres grupos principales: 1) los que tienen una causa identificada de los síntomas, como por ejemplo una úlcera péptica, una neoplasia maligna o el antecedente de consumo de fármacos; 2) los que presentan una anomalía fisiopatológica o microbiológica de dudosa importancia clínica, como son la gastritis por *H. pylori*, la dismotilidad gastrointestinal o la litiasis biliar; y 3) los que carecen de una causa identificable de los síntomas.

g. *Helicobacter pylori* y antiinflamatorios no esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE´s), incluyendo el ácido acetilsalicílico, se encuentran entre los fármacos más utilizados en el mundo. El principal factor que limita su uso es la toxicidad gastrointestinal, pues hasta un 15 - 30% de los pacientes presentan una úlcera, generalmente no complicada. Aunque solamente una pequeña proporción de los consumidores de AINE´s, aproximadamente el 1.5%, desarrollarán complicaciones serias gastrointestinales (hemorragia, perforación y estenosis), esto se traduce en una cifra importante de eventos adversos por el elevado número de individuos que a diario consumen este tipo de fármacos. Diferentes estudios han permitido identificar varios factores que incrementan el riesgo de la aparición de estas complicaciones. La infección por *H. pylori* y el consumo de AINE´s se consideran factores de riesgo independientes para el desarrollo de la úlcera péptica, y existe controversia



sobre la interacción de ambos, pues los estudios que han investigado ambos factores de riesgo muestran resultados discordantes.

h. Enfermedad por reflujo gastroesofágico

Ha habido bastante confusión sobre la participación de *H. pylori* en la enfermedad por reflujo gástrico (ERGE). Los dos principales temas de debate han sido la conveniencia de diagnosticar y tratar la infección a los sujetos con reflujo, y si la erradicación de la infección podría contribuir al desarrollo de la ERGE, en sujetos que previamente no tenían esta enfermedad (11). Incluso se ha postulado tras los resultados de diversos estudios como el de Garrido (2003), que se encuentran menor número de infectados entre los sujetos con ERGE que en controles, que la infección podría ejercer un efecto protector sobre la misma. Sin embargo, cabe la posibilidad de que el aumento de la prevalencia de la ERGE en países desarrollados, y la disminución de la infección, sean fenómenos independientes, sin una relación causa-efecto. Al existir la mejoría de las condiciones socioeconómicas y sanitarias, habría una menor transmisión de *H. pylori*. A su vez, estas mejoras se acompañan da cambios en la dieta y en el índice de masa corporal de la población, fenómenos relacionados con la aparición de la ERGE (14).

i. Enfermedades no digestivas

Se ha relacionado con la infección por *H. pylori* diversas enfermedades no digestivas como rosácea, migraña, anemia ferropénica, púrpura trombocitopénica, trastornos cardiovasculares y cerebrovasculares (Cuadro 6). Tanto Leontiadis y colaboradores (1999) como también Richy y Mégraud (2003), realizaron una extensa revisión de la literatura científica para evitar tales asociaciones. Llegaron a la conclusión de que los estudios que las habían establecido tenían muchas limitaciones, de manera que era imposible afirmar contundentemente que la infección podría ser causa de estas



enfermedades, desaconsejando por tanto la erradicación de *H. pylori* en tales circunstancias. DuBois y Kearney (2005) han revisado posteriormente la evidencia científica disponible sobre la asociación con la anemia ferropénica idiopática, concluyendo que son necesarios nuevos estudios con mejor diseño para confirmar la relación que parece existir.

Manifestaciones extradigestivas relacionadas a <i>Helicobacter pylori</i>	
Enfermedades Vasculares	Enfermedad isquémica coronaria, Accidente cerebrovascular, Migraña.
Enfermedades autoinmunes	Tiroiditis autoinmune, Artritis reumatoide, Púrpura trombocitopénica autoinmune
Enfermedades dermatológicas	Urticaria crónica, Rosácea, Alopecia areata, Púrpura de Schenlein Henoch
Otras enfermedades extradigestivas	Diabetes mellitus, Encefalopatía hepática, Anemia Ferropénica, Retraso de crecimiento en niños.

Cuadro 6. Manifestaciones extradigestivas relacionadas a *Helicobacter pylori* (17)

Se ha recomendado la erradicación por los expertos de la Tercera Reunión Europea de Consenso sobre *H. pylori*, en los pacientes con anemia ferropénica idiopática y púrpura trombocitopénica idiopática (16). Sin embargo, para la segunda Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *H. pylori*, no se recomienda la erradicación para procesos extraintestinales (17).



V. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Los métodos de diagnóstico empleados por Warren y Marshall (1983) para identificar a *H. pylori* (la tinción de muestras de biopsia gástrica y el cultivo) siguen estando vigentes, pero además se han desarrollado otros métodos para el diagnóstico de esta infección, no existiendo ninguno totalmente perfecto, que identifique sin error a los infectados y a los no infectados. A pesar de esta limitación, hay que decir que la alta sensibilidad y especificidad obtenida con la mayoría de ellos cuando se usan adecuadamente, los ha convertido en herramientas de gran utilidad en la práctica clínica diaria. Estos métodos se han clasificado como métodos invasores o directos o en no invasores o indirectos (*Cuadro 7*). Los primeros se basan en la demostración directa de la bacteria mediante el estudio de muestras obtenidas del interior de la cavidad gástrica (generalmente biopsias y secreciones), precisándose para la toma de biopsias de la introducción de un endoscopio por vía oral. No existe unanimidad acerca de la localización y del número de biopsias necesarias para un diagnóstico correcto, y mientras que algunos autores recomiendan una por cada localización elegida, otros recomiendan dos por ser la distribución del microorganismo intermitente. La elección depende además del método diagnóstico a utilizar, de factores como el consumo previo de fármacos, de la presencia de metaplasia o atrofia gástrica y de que el diagnóstico vaya a realizarse antes o después de haber recibido terapia erradicadora. Por haberse demostrado que en la mayoría de los infectados la colonización tiene lugar en el antro gástrico, de este lugar es del que se tomarán una o más muestras, aconsejándose que se tomen de dos a cinco centímetros del píloro (Working Party of the European *Helicobacter pylori* Study Group, 1997). Con respecto al tamaño de las biopsias, se recomienda el empleo de pinzas grandes que proporcionen muestras con un peso de 5 - 10 mg, debiendo estar el material desinfectado con las sustancias que se emplean habitualmente, pues no se ha demostrado que su uso evite la correcta detección del microorganismo. Los métodos directos son de elección en la práctica clínica para efectuar el diagnóstico a un paciente al que se le va a realizar una endoscopia digestiva alta (5).



Los métodos no invasores, no precisan de la endoscopia, y se basan por ejemplo en el aprovechamiento de la actividad ureasa del microorganismo o en la reacción inmunológica humoral que la infección despierta en el huésped. Son de elección en estudios epidemiológicos y en la evaluación de la eficacia de la terapia de erradicación (5).

No se aconseja realizar las pruebas diagnósticas, a excepción de la serología, hasta que hayan transcurrido varias semanas después de finalizar un tratamiento con compuestos de bismuto ó antibióticos (cuatro semanas), y lo mismo se hará si se han empleado antisecretores gástricos (una a dos semanas), puesto que la capacidad diagnóstica de las pruebas se verá reducida por causarse una disminución importante del número de microorganismos y su migración hacia porciones altas de la cavidad gástrica (5).

MÉTODOS DIRECTOS	MÉTODOS INDIRECTOS
Prueba rápida de la ureasa	Prueba del aliento con urea carbono 13 ó 14
Histología/tinción de Gram	Técnicas inmunológicas:
Cultivo microbiológico	Serología
Técnicas de biología molecular	Detección de antígenos en heces

Cuadro 7. Principales métodos de diagnóstico de la infección por *H. pylori* (6)

a. Métodos directos

i. Prueba rápida de la ureasa

Esta técnica fue descrita por McNulty y Wise (1985) es sencilla, rápida y de bajo costo. Consiste en colocar una o más muestras de biopsia gástrica en un recipiente pequeño que deberá contener urea y un indicador que cambiará de color cuando se modifique el pH del medio. *H. pylori* produce grandes cantidades de ureasa y de gran potencia, y si existiese ureasa en las biopsias, la hidrólisis de la urea se traduciría en la formación de amonio y CO₂, con lo que se alcalinizaría el medio, lo que conduciría a un



cambio en el color del medio. La prueba se realiza a temperatura ambiente, aumentando la sensibilidad si se hace a 37°C o más, y aunque el resultado positivo suele aparecer en menos de una hora, si transcurrido este tiempo no hay cambio de coloración, todavía podría producirse, por lo que no se desecha hasta transcurridas las 24 horas. Existen varios reactivos comerciales basados en esta técnica que proporcionan resultados bastante concordantes, siendo el CLOtest[®] (Delta West, Western Australia) que se muestra en la figura 4 y el Jatrox[®] (Röhm Pharma, Weiterstadt, Alemania), dos de los más usados. Estos reactivos comerciales emplean como indicador de pH el rojo de fenol, de modo que la aparición del color rojo implica la presencia de *H. pylori*. La sensibilidad y especificidad descritas para esta prueba superan generalmente el 90% y dependen del número de bacterias presentes en la biopsia. Se considera que 10,000 UFC/mL de *H. pylori* sea el número mínimo necesario para que se produzca una reacción positiva.

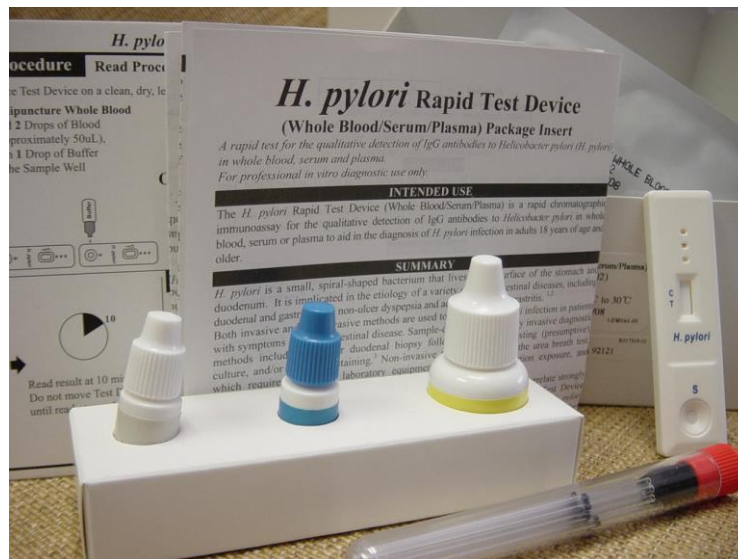


Figura 5. Reactivo comercial CLOtest[®] empleado en la prueba rápida de la ureasa (Tomada en INNSZ)



ii. Histología / Tinción de Gram

La observación de microorganismos con morfología espiral en los cortes de las biopsias gástricas es un método sencillo empleado para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Pueden emplearse distintas tinciones para efectuar la identificación y aunque algunas permiten una mejor visualización, no hay ninguna específica, y la elección del método ha de basarse en la experiencia, la preferencia y las posibilidades con que cuenta el analista. Las bacterias han de buscarse en contacto con el epitelio gástrico, en la barrera mucosa, y aparecen dispersas o agrupadas, muchas veces con distribución irregular. No es necesaria la orientación de la biopsia para la identificación de *H. pylori*, si bien con ello aumenta su detección, y es aconsejable para el análisis histopatológico (2). La técnica de tinción de plata de Warthin-Starry, que fue la empleada por Warren (1983), es de gran utilidad pero muy laboriosa y costosa, por lo que apenas se usa en la actualidad. Con la tinción de hematoxilina-eosina, la más comúnmente empleada en la práctica diaria por los patólogos, es posible apreciar a *H. pylori* cuando se tiene experiencia, y permite además efectuar el estudio de la gastritis causada por la infección. La tinción de Giemsa se emplea para identificar con mayor facilidad a este microorganismo, y es una de las más recomendadas para tal fin, por lo que muchas veces se hace de rutina en las muestras gástricas junto con la tinción anteriormente mencionada. Entre otras posibles técnicas de tinción, es posible mencionar la de Brown-Hopps, la coloración de Giménez, la tinción con naranja de acridina, la tinción de Genta y la tinción con azul de metileno, existiendo también técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia (1).

La sensibilidad de estas técnicas oscila entre el 85 y el 90%, y la especificidad es de casi 100%, dependiendo la rentabilidad de la experiencia y dedicación del patólogo, de la tinción empleada y de la cantidad, calidad y lugar o lugares de obtención de las biopsias. Son raros los falsos positivos, debidos a la presencia de otras especies de *Helicobacter*, y también los falsos negativos, lo que puede deberse a la ausencia o al escaso número de bacterias por ser la colonización focal, a la toma de muestras de áreas de metaplasia o atrofia, a la presencia de formas atípicas o a una falta de atención del observador.



La observación en el microscopio óptico de un frotis de la muestra de biopsia en fresco, teñida mediante la tinción de Gram, es una técnica rápida y con mucha eficacia si el observador está entrenado en la búsqueda de las bacterias, para las que se han descrito sensibilidades del 90% y especificidades cercanas al 100%. A pesar de ello, esta técnica no es muy utilizada debido a los eficientes resultados obtenidos con otras técnicas diagnósticas (2).

iii. Cultivo microbiológico

H. pylori puede cultivarse con relativa facilidad a partir de biopsias gástricas, tomadas generalmente del antro gástrico, a dos centímetros del píloro, donde como ya se ha mencionado previamente, la densidad de la colonización suele ser mayor. Puede bastar con la toma de una sola biopsia, aunque se suele recomendar tomar al menos dos de antro o una de antro y otras de cuerpo. Se ha empleado con éxito un método no endoscópico para cultivar *H. pylori*, el test de la cuerda, descrito por los españoles Pérez-Trallero y colaboradores (1995), que aplica un dispositivo comercializado para el diagnóstico de parásitos en el tracto digestivo superior, y consiste en la deglución de una cápsula de gelatina que al disolverse en el estómago libera un hilo de nylon adsorbente de 90 cm, que tras una hora y media es retirado, pues su extremo proximal sobresale un poco a través de la cápsula de tal manera que antes de su deglución se traccione de él y sea sujetado en la cara del sujeto con un trozo de cinta. De esta forma, una vez extraída su porción distal, que ha estado en contacto con la superficie gástrica, puede ser inoculada en un medio de cultivo adecuado. Con esta técnica se han alcanzado recuperaciones del microorganismo que han oscilado entre el 50 y el 97% (19), y se ha propuesto su empleo para evaluar la resistencia a antibióticos tras el fracaso de la terapia erradicadora, evitándose de esta manera la práctica de una endoscopia alta para obtener material para el cultivo. También se ha propuesto la obtención de material para el cultivo mediante la introducción en el estómago de un cepillo, lo que se haría a través de un tubo de plástico insertado por vía oral (18).

El cultivo microbiológico representa la técnica de mayor especificidad diagnóstica, del 100% variando la sensibilidad entre los laboratorios, que es alta si se siguen adecuadamente las normas establecidas, permitiendo además la realización de un



antibiograma para evaluar la sensibilidad a los diferentes antibióticos administrados para su erradicación. No está indicada su realización rutinaria por su alto costo, por lo que para establecer el diagnóstico de la infección suele ser suficiente con alguna o algunas de las otras pruebas; tampoco se precisa esta prueba antes del inicio de la terapia, pues hoy en día está estandarizada con base a estudios múltiples de sensibilidad a antimicrobianos.

Se indica generalmente tras el fracaso de dos terapias de erradicación y se utiliza en centros especializados para conocer la prevalencia de las resistencias a antibióticos y su modificación con el paso del tiempo, así como la influencia de éstas en el éxito de la terapia (22).

Helicobacter pylori es frecuentemente encontrada en la cavidad gástrica en personas sin tratamiento; en personas tratadas con fármacos antiácidos, *H. pylori* puede ser encontrada en grandes cantidades en el estomago. También es regularmente encontrada en la cavidad gástrica en personas con duodenitis o úlceras duodenales (aproximadamente en el 50%).

Puede ser cultivada a partir del jugo gástrico únicamente en el 15% de las personas en las que se ha cultivado a partir de la cavidad o de la mucosa gástrica. Aunque también se ha demostrado su presencia en el esófago, recto, vejiga, placa dental y heces y recientemente ha sido detectada en el hígado mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Tiene poca tolerancia frente al oxígeno, en general, una menor tolerancia con respecto a la mayoría de las especies de *Campylobacter*. Tiene un crecimiento ideal en ambientes con 3 al 7% de tensión de oxígeno; es por ello que es cultivada en jarras con kits generadores de gas, en atmósferas microaerofílicas estándares o en cámaras con atmósferas microaerofílicas.

Es capaz de crecer en variados medios sólidos que contienen sangre o bien, productos de la sangre (sangre lisada). Se ha demostrado que cuenta con un mejor crecimiento cuando se utiliza una concentración de sangre de 5-7%. De la misma forma se ha demostrado que es más conveniente utilizar sangre de caballo que de carnero. También se han utilizado agar Brucella y agar Columbia; además existen suplementos



disponibles en el mercado como el Skirrow o el Dent que son una buena opción para el cultivo de *H. pylori*. A continuación se presenta el Cuadro 8, con las pruebas bioquímicas que pueden ser utilizadas para diferenciar y clasificar a *Helicobacter pylori* después de haber sido cultivada, es necesario aclarar que en la realización de estas pruebas es necesario incubarlas bajo las mismas condiciones microaerófilas que se utilizaron para su cultivo inicial.

CARACTERÍSTICA	<i>C. jejuni</i>	<i>H. pylori</i>	<i>H. mustelae</i>	<i>W. succinogenes</i>
OXIDASA	+	+	+	+
CATALASA	+	+	+	-
UREASA	-	+	+	-
HIDRÓLISIS DEL HIPURATO	+	-	-	-
REDUCCIÓN DEL NITRATO (EN COND. MICROAEROFILICAS)	+	-	+	+
PRODUCCION DE H ₂ S EN AGAR TSI	-	-	-	D
GAMMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA	-	+	+	-
FOSFATASA ALCALINA	D	+	+	-
MOTILIDAD EN CALDO BHI	+	+	+	+
MOTILIDAD EN PLACA DE AGAR	+	-	-	-
CRECIMIENTO MICROAEROFILICO A:				
25°C	-(2)*	-(4)	-(4)	-(2)
30°C	+(1)	+(2)	+(2)	-(2)
37°C	+(1)	+(2)	+(2)	+(1)
42°C	+(1)	-(4)	+(2)	D(2)
CRECIMIENTO ANAEROBICO A 37°C	+	--	D	+
CRECIMIENTO EN AGAR SANGRE +3.5% NaCl	-	-	-	-
CRECIMIENTO EN GLICINA 0.5%	+	+	+	-
CRECIMIENTO EN GLICINA 1%	+	-	+	-
CRECIMIENTO EN BILIS 1%	+	-	-	+
CRECIMIENTO EN PSD	+	+	-	+
SUCEPTIBILIDAD A ÁCIDO NALIDÍXICO	S	R	S	R
SUCEPTIBILIDAD A CEFALOTINA	R	S	R	R
SUCEPTIBILIDAD A METRONIDAZOL	R	S	S	S

(+): Positivo; (-): Negativo; D: Débil; S: Susceptible; R: Resistente; *Los números entre paréntesis representan el número de días.

Cuadro 8. Pruebas bioquímicas utilizadas en la identificación de *Helicobacter pylori* (6)



iv. Técnicas de biología molecular

Mediante la biología molecular se puede detectar material genético procedente de *H. pylori*. Aunque en un principio se emplearon técnicas de hibridación con sondas marcadas, posteriormente se ha impuesto la técnica de PCR, que amplifica el ADN de *H. pylori*. De esta forma se puede detectar ADN bacteriano en muestras tisulares y fluidos, habiéndose obtenido una sensibilidad y especificidad cercanas al 100% en muestras de jugo gástrico y biopsias gástricas. Puesto que mínimas cantidades de ADN pueden ser detectadas; se pueden producir falsos positivos si no son adecuadas la limpieza y desinfección del endoscopio, las pinzas de biopsia u otro material previamente en contacto con *H. pylori*. Hoy en día se emplea en investigación principalmente, siendo útil el estudio de ADN de las cepas para diferenciar entre reinfección y agravación si reaparece la infección tras la terapia de erradicación. También puede utilizarse esta técnica para identificar factores de patogenicidad y mutaciones asociadas a la resistencia a antibióticos. La falta de normas sobre la metodología empleada, dificulta la comparación de los resultados obtenidos por diferentes equipos investigadores. Es una técnica de precio elevado, que precisa de un equipo sofisticado y personal altamente capacitado (21).

b. Métodos indirectos

i. Prueba del aliento con urea marcada con carbono 13

Esta técnica fue descrita por Graham y colaboradores en 1987 y se fundamenta en el aprovechamiento de la facultad de *H. pylori* para producir la enzima ureasa, capaz de hidrolizar la urea para formar amoníaco y CO_2 , que atraviesa la pared gástrica y por la sangre se conduce a los pulmones para su eliminación a través del aire exhalado (6).



En la naturaleza, el carbono se encuentra de dos formas, con masa atómica de 12 y con masa atómica de 13, cuyas proporciones son de un 98.9% y un 1.1% respectivamente, siendo ambos isótopos estables. Cuando el carbono se une con el oxígeno para formar CO_2 se crearán dos formas, CO_2 con masa atómica 44 y CO_2 con masa atómica 45. Durante el proceso de la respiración, en condiciones normales, se elimina CO_2 con masas 44 y 45, con una relación constante entre ellas que prácticamente es la misma en todas las personas, pues está dada por las concentraciones normales de carbono en la atmósfera (5). Si a un sujeto con actividad ureasa en su estómago (debido a *H. pylori*) se le administrase por vía oral urea marcada con carbono 13 (^{13}C), su hidrólisis resultaría en la formación de CO_2 con masa 45 y se alteraría la relación normal de CO_2 45 y CO_2 44. Se pueden recoger muestras de aire exhalado, una basal previa a la ingestión de la urea y otras a distintos intervalos de tiempo, y analizar en cada una tal relación, que sería proporcional a la hidrólisis en caso de producirse. Un aumento de la misma sería un indicio de la presencia de la actividad ureasa, es decir, la presencia de *H. pylori*. En el caso de la ausencia de *H. pylori*, al no haber ureasa, no se produciría hidrólisis gástrica y no se modificaría la relación entre CO_2 45 y CO_2 44.

En lugar del ^{13}C , podría también utilizarse el isótopo carbono 14 (^{14}C) como marcador de la urea, más barato que el anterior pero radiactivo, aunque la dosis administrada al paciente es baja, similar a la radiación de fondo natural recibida durante un día.

En un principio se utilizaban dosis de urea marcada con ^{13}C de 350 mg o más junto con una comida de prueba semilíquida rica en calorías para retrasar el vaciamiento gástrico y se recogían muestras de aire exhalado secuencialmente durante 180 minutos (5).

Actualmente se sigue el protocolo descrito por Logan y colaboradores en 1991, quienes usando también una comida rica en calorías, pero con una dosis de 100 mg de urea marcada con ^{13}C , y demostraron que con dos determinaciones, una basal y otra 30 minutos después de la ingestión de la urea, era suficiente para un diagnóstico preciso.



ii. Detección de anticuerpos en suero y sangre total

La infección por *H. pylori* desencadena una reacción inmunitaria, local y sistémica, cuyo resultado es la formación de anticuerpos contra diferentes antígenos del microorganismo, principalmente inmunoglobulinas (Ig) de tipos IgG e IgA. Puede determinarse la presencia de los mismos en fluidos corporales tales como sangre o suero, y en caso de que se detecten, ha de tenerse en cuenta que no solamente aparecen si hay infección activa, puesto que en caso de que la infección desaparezca, todavía serán detectables durante bastante tiempo, siendo éste uno de los inconvenientes de las pruebas serológicas como método diagnóstico. En la práctica clínica es suficiente la detección de los anticuerpos de tipo IgG al tratarse de una infección crónica, para lo cual se pueden emplear diferentes técnicas, tales como fijación de complemento, aglutinación al látex, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y el inmunoblot, siendo estos dos últimos los más utilizados (6). Algunos optan por la detección conjunta de ambos tipos de anticuerpos (IgG e IgA), para aumentar la sensibilidad diagnóstica. El inmunoblot es la mejor técnica para identificar y caracterizar bioquímicamente las preparaciones antigénicas y sus variaciones, pero es una prueba más laboriosa y más costosa, por lo que se recomienda para investigación o como prueba de segunda línea tras haber efectuado el ELISA.

También se han desarrollado pruebas que detectan anticuerpos anti-*H. pylori* en sangre total obtenida por punción capilar. Este tipo de análisis resultan fáciles de realizar y son de rápida lectura, pero su baja sensibilidad y especificidad les resta eficacia, lo que ha motivado que expertos en la materia no recomienden su utilización (16). Sin embargo, la detección de anticuerpos contra las proteínas VacA y CagA podría proporcionar información de utilidad pronóstica, pues su presencia parece asociada a un mayor riesgo de aparición de enfermedades digestivas, aunque esta asociación no se ha demostrado totalmente y tampoco se recomienda su empleo de forma rutinaria (16).



iii. Detección de antígenos en heces

Es posible detectar antígenos de *H. pylori* en muestras diluidas de heces mediante técnicas de ELISA que emplean anticuerpos policlonales ó monoclonales anti-*H. pylori* (Vaira, 2000; Leodolter, 2002). Las muestras fecales pueden almacenarse hasta 3 días a 2 - 8°C, o de forma indefinida a -20°C. La técnica que usa anticuerpos policlonales ha sido la primera desarrollada y comercializada, y tras una incubación de una hora y lectura con un espectrofotómetro, esta prueba ofrece una sensibilidad del 94.3% y una especificidad del 91.8% según (16).

De más reciente introducción es la técnica que emplea anticuerpos monoclonales, que presenta, con respecto a la anterior una mayor sensibilidad, aunque no demasiado significativa, y una especificidad similar, según un estudio comparativo entre ambos métodos. También pueden detectarse los antígenos de *H. pylori* mediante inmunocromatografía, técnica que al parecer, tiene una buena sensibilidad, especificidad y reproductibilidad (16).



VI. Procedimiento para el diagnóstico microbiológico de *Helicobacter pylori*

a. Cultivo Microbiológico

1. Se siembra a la muestra obtenida a partir de la biopsia proporcionada o bien de una cepa aislada por estría cruzada, se recomienda realizar esta acción por duplicado o triplicado para asegurar la obtención de colonias aisladas. Los medios de cultivo a emplear deberán ser enriquecidos (*Cuadro 9*), preferiblemente son utilizados el agar BHI enriquecido con sangre o el agar Casman, sin embargo también pueden ser utilizados el agar Skirrow y el agar chocolate.

AGAR CHOCOLATE		AGAR SKIRROW		AGAR CASMAN		AGAR BHI + SANGRE DE CARNERO	
Mezcla de peptonas	15.0 g	Músculo cardíaco (infusión de sólidos)	2.0 g	Proteasa peptona no. 3	10.0 g	Peptona de caseína	16.0 g
Almidón de maíz	1.0 g	Digerido pancreático de caseína	13.0 g	Cloruro sódico	5.0 g	Infusión de cerebro corazón	8.0 g
NaCl	5.0 g	Extracto de levadura	5.0 g	Almidón	1.0 g	Peptona de carne	5.0 g
Fosfato Dipotásico	4.0 g	NaCl	5.0 g	Nicotinamida	0.05 g	Fosfato disódico	2.5 g
Fosfato Monopotásico	1.0 g	Vancomicina	0.01 g	Agar bacteriológico	14.0 g	Cloruro de Sodio	5.0 g
Agar bacteriológico	10.0 g	Trimetropina	0.005 g	Triptona	10.0 g	Dextrosa	2.0 g
Hemoglobina seca	2.0 g	Polimixina B	2500 UI	Extracto de carne	3.0 g	Agar bacteriológico	13.5 g
pH 7.2 +/- 0.2		Agar bacteriológico	15.0 g	Dextrosa	0.5 g	Sangre de carnero, desfibrinada y lisada	5%
		Sangre de caballo, desfibrinada y lisada	7%	Ácido p-Aminobenzoico	0.05 g	pH 7.4 +/- 0.2	
		pH 7.3 +/- 0.2		pH 7.3 +/- 0.2			

Cuadro 9. Medios de cultivo apropiados para el desarrollo de *Helicobacter pylori* (49)



2. Se incuba en condiciones microaerófilas durante 5 a 7 días a 37°C. El ambiente microaerófilo (5% O₂ y 10% CO₂) requerido se logra utilizando sobres generadores de CO₂ (OXOID) utilizando jarras de anaerobiosis (*Figura 6*) o bien, utilizando tres ALKA[®] seltzer en 10 mL de agua dentro de un frasco grande (frasco dulcero); además del empleo de Incubadoras de CO₂ presentes en el mercado (*Figura 7*).

La efectividad de los diferentes medios de cultivo recomendados para el crecimiento de *Helicobacter pylori*, utilizando los diferentes métodos disponibles para la obtención del ambiente microaerófilo se muestran en el cuadro 10.

MEDIO DE CULTIVO	SOBRES GENERADORES DE CO ₂ Y JARRA DE ANAEROBIOSIS	3 ALKA [®] seltzer y frascos dulceros
BHI + SC 5%	+++	+++
AGAR CASMAN	++++	+++
AGAR COLUMBIA	+++	++
AGAR BRUCELLA	++	+
AGAR MUELLER-HINTON	-	-

Cuadro 10. Crecimiento de *Helicobacter pylori* en los diferentes sistemas para la generación de microaerofilia (49)





Figura 6. Jarra de anaerobiosis empleada en el cultivo de *Helicobacter pylori* (Tomada en INNSZ)



Figura 7. Incubadora de CO₂ NAPCO MODEL 4190 empleado para cultivo microaerofílico. (Tomada en INNSZ)

3. La morfología colonial característica de *Helicobacter pylori*, obtenida en agar sangre de carnero al 5% se presenta en el cuadro 11. Las colonias representativas de color café circulares se muestran en las figuras 8 y 9

CARACTERÍSTICA	ASC 5%	BHI + SC 5%
Tamaño	> 1 mm	> 1 mm
Forma	Circular	Circular
Borde	Regular	Irregular
Color	Café	Café
Superficie	Lisa	Lisa
Elevación	Plana	Plana
Luz reflejada	Mate	Mate
Luz transmitida	Traslúcida	Traslúcida
Consistencia	Seca	Seca

Cuadro 11. Morfología colonial esperada en el cultivo de *Helicobacter pylori* (52)



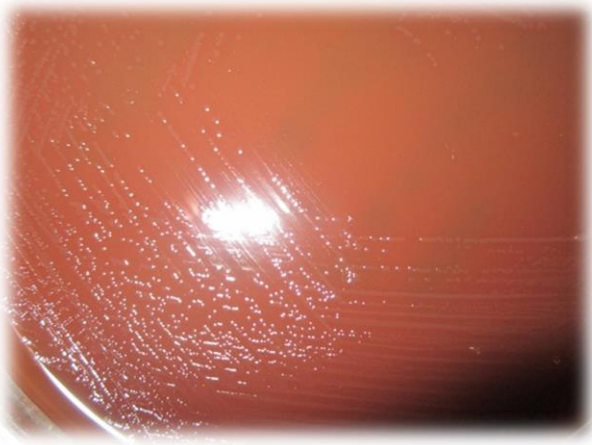


Figura 8. Morfología macroscópica de *Helicobacter pylori* en BHI + SC 5%. (Tomada en INNSZ)

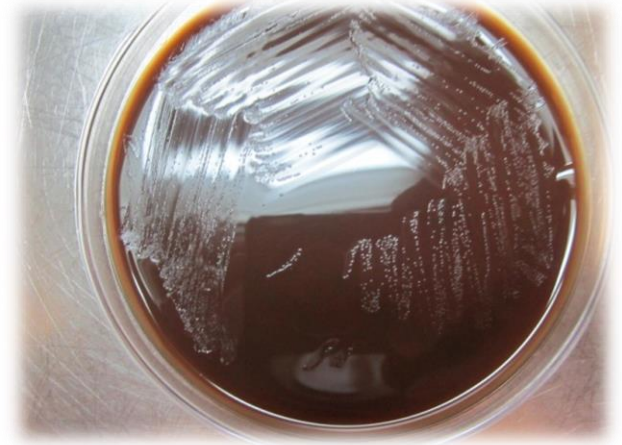


Figura 9. Morfología macroscópica de *Helicobacter pylori* en BHI + SC 5%. (Tomada en INNSZ)

b. Tinción de Gram

Helicobacter pylori es una bacteria gramnegativa que posee una forma bacilar o espiral (forma de “S”). Sin embargo cuando es cultivada “*in vitro*” desarrolla una forma menos espiral asemejándose más a un bacilo curvo, aunque en ocasiones también adopta formas rectas, esféricas, en “U” o en “V”, inclusive, las formas cocoides predominan en cultivos viejos. Para el caso especial de la tinción de *Helicobacter pylori* se recomienda utilizar a la fucsina como colorante de contraste en vez de safranina como se puede apreciar en el cuadro 12, pues según la experiencia adquirida, de esta manera se obtiene una mejor tinción y facilita su lectura en el microscopio.



TÉCNICA DE LA TINCIÓN DE GRAM PARA *Helicobacter pylori*

1. Realizar una suspensión de una colonia aislada de *Helicobacter pylori* en solución salina (Figura 10)
2. Realizar un extendido delgado a partir de la suspensión elaborada sobre un portaobjetos y dejar secar
3. Fijar la muestra haciendo pasar el portaobjetos 2 ó 3 veces sobre la llama de un mechero evitando el calentamiento excesivo
4. Cubrir la superficie del portaobjetos con cristal violeta durante 1 minuto
5. Lavar el exceso de colorante bajo un chorro suave de agua común
6. Cubrir la superficie del portaobjetos con lugol (Yodo de Gram) durante 1 minuto
7. Lavar el exceso bajo el chorro de agua
8. Cubrir el portaobjetos con alcohol-acetona durante 5 segundos
9. Lavar el exceso bajo el chorro de agua
10. Cubrir el portaobjetos con fucsina durante 1 minuto
11. Lavar el exceso bajo el chorro de agua
12. Dejar secar el portaobjetos al aire
13. Observar al microscopio

Cuadro 12. Técnica recomendada para realizar la tinción de Gram. (52)

Figura 10. Suspensión salina de una colonia de *Helicobacter pylori*. (Tomada en INNSZ)

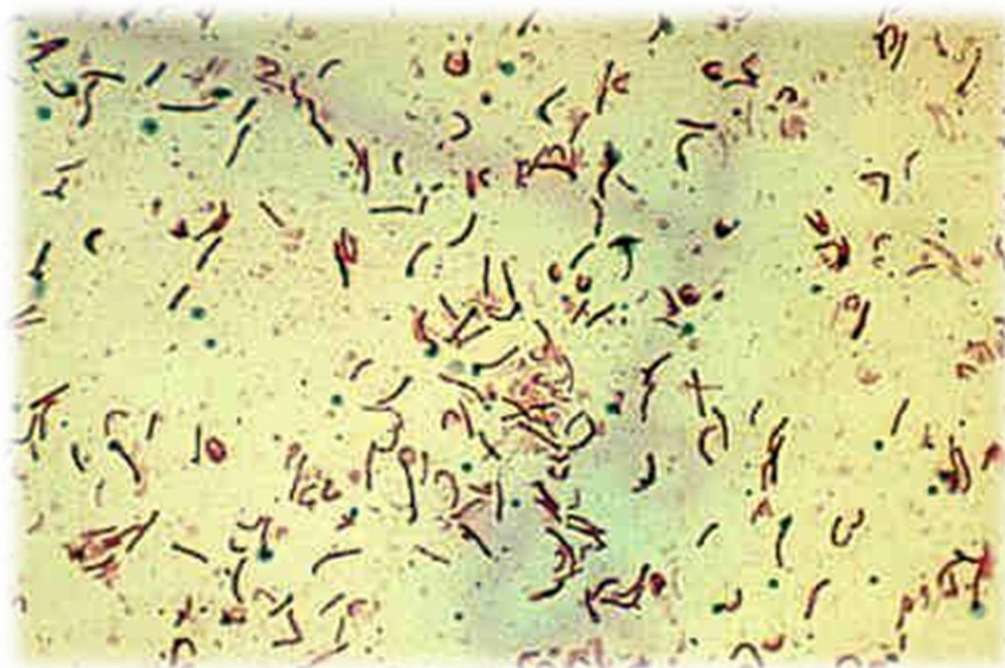


Figura 11. *Helicobacter pylori*. Tinción de Gram. (Tomada en INNSZ)

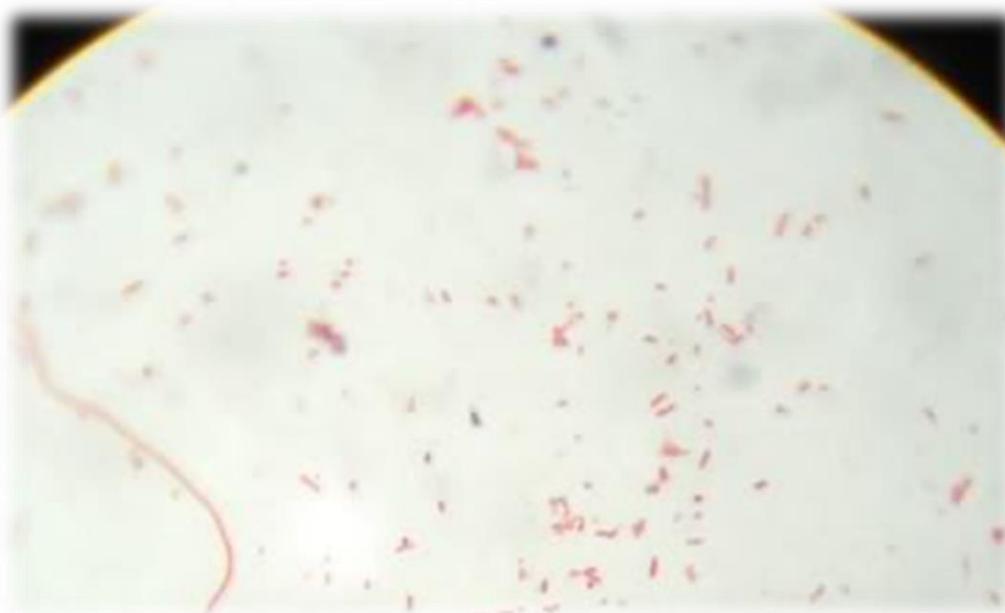


Figura 12. *Helicobacter pylori*. Tinción de Gram. (Tomada en INNSZ)





Figura 13. *Helicobacter pylori*. Tinción de Gram. (Tomada en INNSZ)



c. Pruebas bioquímicas

CARACTERÍSTICA	RESULTADO
OXIDASA	+
CATALASA	+
UREASA	+
REDUCCIÓN DEL NITRATO (EN COND. MICROAEROFÍLICAS)	-
PRODUCCIÓN DE H ₂ S EN AGAR TSI	-
CRECIMIENTO ANAERÓBICO A 37°C	-
SUCEPTIBILIDAD A ÁCIDO NALIDIXICO	R
SUCEPTIBILIDAD A CEFALOTINA	S
SUCEPTIBILIDAD A METRONIDAZOL	S

(+): Positivo; (-): Negativo; D: Débil; S: Susceptible; R: Resistente

Cuadro 13. Resultado de las pruebas bioquímicas características de *Helicobacter pylori*. (Modificado de 6)

En el cuadro 13 se muestran las pruebas bioquímicas empleadas en la práctica clínica de rutina, la prueba de ureasa (Figura 14) y catalasa son suficientes para declarar la presencia de *Helicobacter pylori*, Las pruebas subsecuentes solo son empleadas con propósitos de investigación.



Figura 14. Prueba de Ureasa. Coloración rosa (der) indica positividad a la prueba. En el caso de *Helicobacter pylori*, la reacción positiva es característica y aparece dentro de 5 a 10 minutos una vez que se ha colocado el inóculo. (Tomada en INNSZ)



VII. Tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*

La infección por *Helicobacter pylori* desempeña un papel fundamental en el desarrollo de diversas enfermedades digestivas, por lo tanto su tratamiento clínico es de gran importancia en el ámbito de la salud. Las indicaciones actuales, dictadas por Consenso de Maastricht de 2009 recomiendan tratamiento de erradicación en los siguientes casos (30):

- ✓ Úlcera gástrica
- ✓ Úlcera duodenal
- ✓ Linfoma MALT gástrico
- ✓ Gastritis atrófica
- ✓ Después de remisión de cáncer gástrico
- ✓ Familiares de 1° grado de pacientes con cáncer gástrico
- ✓ Anemia ferropénica idiopática
- ✓ Púrpura trombocitopénica inmune

Existen diversas circunstancias que dificultan la erradicación de esta infección con antibióticos, siendo algunas de ellas inherentes a *H. pylori* y otras a las infecciones bacterianas en general, como primer ejemplo, se debe considerar que los antibióticos comunes no han sido diseñados para alcanzar altas concentraciones en el estómago (sitio de la infección por *H. pylori*) sino para tratar infecciones de manera global, también es posible destacar que *H. pylori* se desarrolla principalmente inmerso en la capa mucosa del estómago, lo cual dificulta su exposición a los antibióticos (33); además de que al estar el estómago en un estado constante de vaciamiento, los antibióticos que llegan a él son trasladados rápidamente hacia el intestino (34).

La eficacia de muchos antibióticos es disminuida por la acidez del ambiente estomacal; sin embargo, algunos antibióticos como las sales de bismuto, la tetraciclina y



el metronidazol están exentos de esta situación. Todo lo anterior se debe tomar en cuenta en las pruebas de susceptibilidad a antibióticos (*Figura 15*) realizadas en el laboratorio clínico.

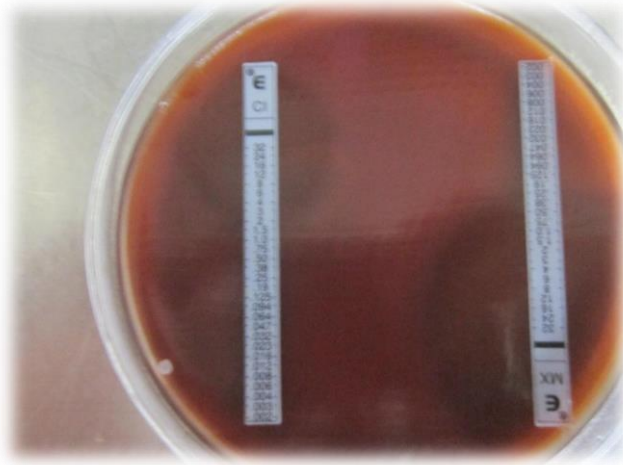


Figura 15. Prueba de inhibición a antibióticos. Se aprecian los halos de inhibición en un cultivo de *Helicobacter pylori* generados por cloranfenicol (izq) y metronidazol (der). (Tomada en INNSZ)

Otros dos factores importantes son el efecto del inóculo y el efecto del biofilm (35). El efecto del inóculo hace referencia a que *H. pylori*, de manera similar a otras bacterias, en poblaciones donde existen altas concentraciones del microorganismo, hay individuos dentro de la población, que no se replican (durmientes) y, por lo tanto, son capaces de sobrevivir a la antibioticoterapia sin ser necesariamente resistentes al antibiótico (35). El biofilm es una población de microorganismos que crecen unidos entre sí, adheridos a superficies o interfaces y envueltos por una matriz de exopolisacáridos que los protege de la acción bactericida del antibiótico (35). Recientemente se ha demostrado que *H. pylori* puede formar biofilm *in vivo*, el cual puede ser un importante mecanismo de persistencia de la infección y protección contra los antimicrobianos.

Las estrategias terapéuticas para vencer esta infección han sido básicamente dos. La primera consiste en utilizar dos antibióticos complementados con ranitidina bismuto citrato para generar una forma más soluble del bismuto, favoreciendo la liberación de este y con ello su contacto y acción sobre el microorganismo (30, 33). El mecanismo de



acción de las sales de bismuto no es del todo conocido, tal vez, al ser un catión divalente interfiera con el traslado del fósforo en la formación de ATP o de algunas enzimas. La otra es utilizar un inhibidor de la secreción de ácido con dos antibióticos como amoxicilina con claritromicina o metronidazol, que aunque experimentalmente no ha sido comprobado su sinergismo (20), teóricamente hay importantes argumentos que afirman que el incremento del pH estomacal favorece la eficacia de los antibióticos mencionados. La elevación del pH produce los siguientes efectos:

- ✓ Disminución de la producción de HCl, que disminuye el volumen de líquido gástrico, aumentando la concentración de los antibióticos tanto en el lumen gástrico como en el moco (36).
- ✓ Aumento del pH, que disminuye la concentración mínima inhibitoria de la claritromicina y de amoxicilina, mejorando la estabilidad de estas moléculas, que es afectada por el pH ácido (37).
- ✓ Actividad más eficiente del sistema inmunológico del individuo al aumentar el pH.
- ✓ La modificación del pH induce cambios importantes en la biología de *H. pylori*. Su sobrevivencia se mantiene en pH entre 4.0 y 8.0, su síntesis proteica se mantiene a pH entre 6.0 y 8.0, y no se multiplica en pH entre 4.0 y 6.0, y de esta manera no sería susceptible a antibióticos como claritromicina o amoxicilina, que para ejercer su efecto, necesitan que la bacteria se replique. (30).

Hoy en día, el tratamiento de primera elección para la erradicación de *Helicobacter pylori* consiste en una triple terapia, que combina la acción de un inhibidor de la bomba de protones con dos antibióticos, preferiblemente claritromicina y amoxicilina. Sin embargo, la eficacia de este tratamiento ha declinado en años recientes, usualmente esta eficacia era de alrededor del 80%, y en estudios recientes, la eficacia ha decaído por debajo del 70% (38, 39); esto probablemente debido a que *Helicobacter pylori* ha incrementado su resistencia frente a la claritromicina (30), esta hipótesis está sostenida en diversos estudios donde en la triple terapia que ha sustituido a la claritromicina por levofloxacino ha demostrado una eficacia mayor al 80%.

El fármaco inhibidor de la bomba de protones de elección es el omeprazol que se utiliza en una dosis de 20 mg / 12 horas; otros inhibidores de la bomba de protones son



el lansoprazol (30 mg / 12 h), pantoprazol (40 mg / 12 h), rabeprazol (20 mg / 12 h) o el esomeprazol (40 mg / 12 h).

Los antibióticos utilizados para la triple terapia son la amoxicilina (1 g / 12 h), la levofloxacin (500 mg / 12 h) y la claritromicina (500 mg / 12 h). Esta triple terapia es recomendada por 10 días, los tres fármacos deben ser tomados juntos preferiblemente durante el desayuno y la cena (30). Esta terapia ha presentado relativamente pocos efectos adversos, principalmente náuseas y gusto metálico.

Efectos adversos de la triple terapia con un inhibidor de la bomba de protones, levofloxacin y amoxicilina durante 10 días (30).

EFEECTO ADVERSO	% DE CASOS
Náusea	5.9%
Gusto metálico	2.9%
Dolor abdominal	2.2%
Diarrea	2.2%
Vómito	1.4%
Otros	12.9%

Cuadro 14. Frecuencia de los efectos adversos a la triple terapia en contra de la infección por *Helicobacter pylori* (30)

También se ha propuesto una terapia cuádruple que consiste en añadir sales de bismuto a los dos antibióticos y el inhibidor de la bomba de protones (omeprazol), lo cual ha demostrado ser más eficaz (90-98% de erradicación) que la terapia triple (80-85%) y con un menor número de efectos colaterales. Otros regímenes son claritromicina-omeprazol o ranitidina-citrato de bismuto o amoxicilina-omeprazol (61).

En el mercado mexicano se encuentran disponibles diversos paquetes para el tratamiento erradicatorio de *H. pylori*, dos de los más comunes son HELICOBALIS[®] Y PYLOPAC[®], ambos paquetes contienen amoxicilina en cápsulas de mg y claritromicina en tabletas de mg, la diferencia se encuentra en el inhibidor de protones utilizado, pantoprazol y lansoprazol en tabletas de 30 mg respectivamente. Están disponibles en presentaciones para 7 y 10 días de tratamiento, sin embargo, los médicos que recetan dichos tratamientos recomiendan seguirlo durante 14 días.

Sin embargo, por razones de costos, como se muestra en el cuadro 15, es aconsejable adquirir los componentes de estos paquetes por separado y preferiblemente



optar por los medicamentos genéricos intercambiables, con lo cual el paciente puede abatir los costos de su tratamiento sin disminuir su beneficio.

OPCIÓN TERAPEÚTICA		COSTO PROMEDIO DEL TRATAMIENTO POR 14 DÍAS	
PYLOPAC^R		\$2,400.00	
HELICOBLIS^R		\$1,600.00	
GÉNÉRICO INTERCAMBIABLE	Pantoprazol / Lansoprazol	\$300.00	\$900.00 COSTO TOTAL
	Claritromicina	\$300.00	
	Amoxicilina	\$300.00	
MÉDICAMENTOS DE PATENTE	Pantoprazol / Lansoprazol (GENOPRAZOL ^R , OLEXIN ^R)	\$400.00	\$3,000.00 COSTO TOTAL
	Claritromicina (KLARICID ^R , KLABET ^R)	\$1,600.00	
	Amoxicilina (AMOXICLAV ^R , AMOXIL ^R)	\$1,000.00	

Cuadro 15. Costo promedio de la terapia erradicatoria en contra de *H. pylori* obtenida a partir de los precios disponibles en los sitios web de las cadenas farmacéuticas con más sucursales en el país, de la misma manera, los nombres de las patentes mencionados son los de mayor volumen de ventas en el mercado mexicano (62, 63, 64)



VIII. Prevención y control de la infección por *Helicobacter pylori*

a. Epidemiología

Desde el punto de vista epidemiológico, la infección por *Helicobacter pylori* se presenta de forma cosmopolita, sin diferencias en relación con las épocas del año. El contagio seguramente se da de persona a persona, aunque no se ha demostrado categóricamente. La infección por *Helicobacter pylori* en niños se ha reportado en todo el mundo. Las mayores tasas provienen de países en desarrollo, más que en los industrializados. La frecuencia de esta infección aumenta directamente con la edad y no existe diferencia entre sexos; la adquisición ocurre principalmente durante la juventud. Muchos estudios han demostrado que la infección por *Helicobacter pylori* es más prevalente en grupos con bajo nivel socio-económico. De igual forma, el vivir en hacinamiento ha sido constantemente identificado como un factor de riesgo para la infección. *Helicobacter pylori* ha sido encontrado en saliva, esófago, estómago, duodeno, placa dental y heces, sin embargo, no se conocen reservorios para *Helicobacter pylori* en el ambiente y no se ha demostrado contagio por transmisión sexual. *Helicobacter pylori* se disemina a través de instrumentos contaminados con material gástrico.

Como se muestra en el cuadro 16, la OMS calcula que la tasa de mortalidad por neoplasias del tubo digestivo es de 5 por cada 100,000, de las cuales considera a *H. pylori* como uno de los principales agentes causales. De la misma manera se ha encontrado que *H. pylori* se encuentra presente en el 24.5% de la población infantil de la Ciudad de Puebla. Se ha encontrado que la prevalencia de *H. pylori* está relacionada directamente con el nivel socioeconómico, tal y como se ha demostrado en el área metropolitana de Houston.



Cuadro 16. Principales hallazgos de la prevalencia de *Helicobacter pylori* (19, 24, 35, 65, 66, 67, 68)

REFERENCIA	TIPO DE ESTUDIO, PAÍS	UNIVERSO DE ESTUDIO, AÑO	OBJETIVO	HALLAZGOS
Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2012	Revisión de base de datos, México	2012	Mantener informados a los profesionales del Área de la Salud acerca de los padecimientos más frecuentes en cada entidad federativa.	El total de nuevos casos acumulados de enfermedades digestivas por organismos distintos a <i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Vibrio</i> y las mal definidas (donde se encuentra <i>H. pylori</i>) en el Distrito Federal hasta la semana 41 del 2012 se contabilizan 315,921 nuevos casos lo que representa una disminución de 5,709 casos con respecto al mismo periodo del 2011; de la misma manera, el Estado de México contabiliza 468,664 nuevos casos lo que representa una disminución de 37,866 casos con respecto al mismo periodo del 2011.
De la Torre A, 2010	Estudio analítico transversal, México	217 pacientes, 2010	Ofrecer una Guía Clínica en el diagnóstico y tratamiento en el área de gastroenterología.	5 por cada 100,000 habitantes es la tasa de mortalidad por neoplasias del tubo digestivo, de las cuales la OMS considera a <i>H. pylori</i> como un importante agente causal al encontrarse clasificado como carcinógeno de tipo 1 en gastritis crónica, gastritis atrófica, metaplasia intestinal, displasia y carcinoma de tipo intestinal.
Montes P, Salazar S, Monge E, 2007	Estudio analítico transversal, Perú	149 pacientes, 2007	Describir las características epidemiológicas de úlcera péptica así como su relación con <i>Helicobacter pylori</i> .	En los casos de úlcera péptica, la frecuencia de infección por <i>Helicobacter pylori</i> es de 65.3%.
González-Carbajal M, 2004	Estudio analítico transversal, Cuba	192 pacientes, 2000-2002	Definir los aspectos epidemiológicos relacionados con la infección por <i>Helicobacter pylori</i> .	La prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en úlcera duodenal, úlcera gástrica, gastritis crónica y en la población asintomática es de 99.0%, 91.0%, 94.0% y 68.0% respectivamente.
Bravo L, Cortes A, 2003	Estudio analítico transversal, Colombia	67 pacientes, 1997	Comparar la prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en las principales ciudades colombianas.	Durante la evaluación de enfermedades gástricas se encontró que <i>Helicobacter pylori</i> se encuentra presente en el 69.1% de los casos.
Lagunes B, 2001	Estudio analítico transversal, México	143 pacientes, 2000	Conocer la prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en niños sanos en edad escolar.	La prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en niños de 6-13 años de edad es de 24.5%.
Crestani R, Saura S, 2000	Estudio analítico transversal, España	45 pacientes, 2000	Conocer la prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en la población en general.	La prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en la población española es de 56.1% sin mostrar diferencia significativa según el sexo, dispepsia, antecedentes de úlcera péptica, gastritis, consumo de alcohol y consumo de tabaco; pero si con la edad (en personas mayores de 70 años la prevalencia es de 73.0% y se encuentra una tendencia ascendente según se mejora la posición socioeconómica.
López L, Fernández C, 1997	Estudio analítico transversal, México	96 pacientes, 1997	Conocer la prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en pacientes con cáncer gástrico.	<i>Helicobacter pylori</i> se encuentra presente en el 87.2% de los pacientes con cáncer gástrico registrados en la Secretaría de Salud del Distrito Federal.
Malaty HM, Graham DY, 1994	Estudio analítico transversal, E.U.	135 pacientes, 1994	Establecer la importancia del nivel socioeconómico en la prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> .	La prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> se encuentra inversamente relacionada con la clase social durante la infancia: se encuentra presente en el 85.0%, 52.0% y 11.0% en los niños de 6-17 años de clase alta, media y baja respectivamente.



a.Prevenición

Hasta que el modo de transmisión y la epidemiología de *Helicobacter pylori* sean mejor entendidas, no se pueden hacer recomendaciones para prevenir la infección por esta bacteria. Sin embargo si es posible destacar que una dieta inadecuada con horarios inconstantes de las comidas, el uso excesivo de fármacos antiinflamatorios, así como estados de ánimo como el estrés o ansiedad pueden agravar los síntomas de la infección.

En Europa y Estados Unidos se han obtenido resultados alentadores al probar la vacunación contra *Helicobacter pylori* en modelos animales, utilizando la administración orogástrica de antígenos de *Helicobacter pylori*. Por otro lado, se ha encontrado que la ureasa recombinante protege contra infecciones en modelos animales, y ha demostrado también ser efectiva en estudios fase 1 en humanos.



IX. Referencias

1. Levinson WE, Jawetz E. *Microbiología e inmunología: Autoevaluación y repaso*. México: Manual Moderno, 2000.
2. García JA, Picazo JJ. *Microbiología médica general*. Barcelona: Harcourt Brace de España, 1998.
3. Perea EJ. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. Barcelona: Doyma, 1992.
4. Kenneth JR, Ray G. *Una introducción a las enfermedades infecciosas*. México: McGraw-Hill, 2005.
5. Mobley H, Mendz GL, Hazell SL. *Helicobacter pylori: Physiology and genetics*. Washington DC: ASM Press, 2001.
6. Clayton CL, Mobley H. *Helicobacter pylori protocols*. New Jersey: Humana Press, 1997.
7. Marshall B, Warren JR. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275.
8. Goodwin CS, Amstrong JA, Chilvers T, et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter mustelae comb. nov.*, respectively, *Int. Syst. Bacteriol* 1989; 39 (4) : 397-405.
9. Goodwin CS, Worsley BW. *Microbiology of Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin N Amer* 1993; 22:5-19.
10. Goodwin CS, Worsley BW. The *Helicobacter* Genus: The history of *H. pylori*. En: *Helicobacter pylori: Biology and clinical practice*. Goodwin CS, Worsley BW. Eds. 1993; 1-14. London. CRC. Press.
11. Talley NJ, Noack KB. The worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infections: asymptomatic infections and clinical states associated with infections in adults. En: *Helicobacter Pylori: Biology and clinical Practice*. Goodwin CS, Worsley BW. Eds. 1993; 63-84. London CRC. Press.
12. Rune SJ. History of *Helicobacter* infection *Scan J Gastroenterol* 1996; 31:2-4.
13. Estrada-Gómez RA, Parra-Ortega I, Martínez-Barreda A, Ruíz-Argüelles GJ. *Helicobacter pylori* infection and thrombocytopenia: A single-institution experience in México. *Rev. Invest. Clin.* 2007; 59 (2): 112-115.
14. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *The Lancet* 1975; 306: 58-60.
15. Asaka M, Takeda H, Sugiyama T, Kato M. What role does *Helicobacter pylori* play in gastric cancer?. *Gastroenterology* 1997; 113: 556-560.
16. Mohar A, Ley C, Guarner J. Alta frecuencia de lesiones precursoras de cáncer gástrico asociadas a *Helicobacter pylori* y respuesta al tratamiento, en Chiapas, México. *Gac. Méd. Méx* 2002; 138 (5): 405-410.
17. Ocadiz R, Sobrino S, García L. Relación entre la infección por *Helicobacter pylori* y el desarrollo de metaplasia en pacientes con gastritis crónica. *Bioquímica* 2005; 30 (1): 13-22.
18. Paniagua GL, Monroy E, Arroniz S, Hoyos L. Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes con gastritis crónica de una zona urbana del Estado de México. *Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.* 2009; 72 (3): 122-128.
19. De la Torre A, Kettenhofen W, Roesch F, et al. Guía de diagnóstico y tratamiento del cáncer gástrico. *Epidemiología, factores de riesgo, variedades histológicas e historia natural*. *Revista*



- de Gastroenterología de México 2010; 2 (75): 237-239.
20. Rojas V, Garza E, Fuentes HA, et al. Diagnóstico no invasivo de gastritis atrófica en pacientes adultos dispépticos. *Medicina Universitaria* 2011; 13 (50): 31-36.
 21. Calva R, Luna JJ, Lagunes B, et al. Prevalencia del *Helicobacter pylori* en tres poblaciones de niños, de la Ciudad de Puebla, México, y sus factores de riesgo. *Revista de gastroenterología de México* 2006; 71 (4): 440-445.
 22. Blaser MI. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J Infect Dis* 1990; 161: 626-633.
 23. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuili R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science* 1999; 284: 1328-1333.
 24. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1997; 10: 720-741.
 25. Tomb J, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 388 (7): 639-647.
 26. Hsin-Ming C, Haggerty TD, De Martel C, Wai-Mun C. Effect of *Helicobacter pylori* Infection on symptoms of gastritis due to enteropathogenic *Escherichia coli* in adults. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 457-464.
 27. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *The New England Journal of Medicine* 1991; 325 (16): 1127-1131.
 28. Camorlinga-Ponce M, Flores-Luna L, Lazcano-Ponce E, et al. Age and severity of mucosal lesions influence the performance of serologic markers in *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal pathologies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 2498-2504.
 29. Serrano A, Candelaria-Hernández M, De la Garza J, Herrera LA. *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. *Cancerología* 2009; 4: 193-204.
 30. Scott D, Weeks D, Melchers K, Sachs G. *The life and death of Helicobacter pylori*. UCLA and Wadsworth VA 1998; 43 (supl 1): S56-S60.
 31. Monés J, Gisbert F, Borda E, et al. Indications, diagnostic tests and *Helicobacter pylori* eradication therapy. Recommendations by the 2° Spanish Consensus Conference. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 2005; 97 (5): 348-375.
 32. Otero Regino W, Trespalacios AA, Otero E. *Helicobacter pylori*: Tratamiento actual, un importante reto en gastroenterología. *Revista Colombiana de Gastroenterología* 2009; 24 (3): 279-292.
 33. Vakil N, Megraud F. Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2007; 133: 985-1001.
 34. Ishack RAH, Awad GAS, Mortada ND, Nour SAK. Preparation in vitro and in vivo evaluation of stomach specific metronidazole loaded alginate beads as local anti *Helicobacter pylori* therapy. *J Control Release* 2007; 119: 207-214.
 35. Coticchia JM, Sugawa C, Tran VR, Gurrola J, Wowalski E, Carron MA. Presence and density of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa in patients with peptic ulcer. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 883-889.
 36. Midolo PD, Turnidge JD, Lambert JR. Bactericidal activity and synergy studies of proton pump inhibitors and antibiotics against *Helicobacter pylori* in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 331-337.
 37. Goddard AF, Jessa MJ, Barret DA, Shaw PN, Idstrom JP, Cederberg C, et al. Effect of omeprazole on the distribution of metronidazole, amoxicillin and clarithromycin in lumen gastric juice. *Gastroenterology* 1996; 111: 358-367.



38. Malaty HM. *Epidemiology of Helicobacter pylori*. *Best Pract res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 205-214.
39. Otero W, Gómez M, Trespalacios AA. *Helicobacter pylori después de todo*. *Temas escogidos de gastroenterología*. *Asociación Colombiana de Gastroenterología* 2007: 43-56.
40. Gisbert JP, Fernández M, Molina J, Pérez A, Prieto B, Matos JM, et al. *First triple therapy with levofloxacin for Helicobacter pylori eradication*. *Alimen Pharmacol ther* 2007; 26: 495-500.
41. Gisbert JP, Castro M, Bermejo F, Pérez A, Ducons J, Fernández M, et al. *Third line rescue therapy with levofloxacin after two H. pylori treatment failures*. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 243-247.
42. Gsbert JP, Gisbert JL, Marcos S; Pajares JM. *Third line rescue therapy with levofloxacin is more effective than rifabutin rescue regimen after two Helicobacter pylori treatment failures*. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1469-1474.
43. Fallush D, Wirth T, Linz B, Pritchard JK, Kidd M, et al. *Traces of human migrations in Helicobacter pylori populatios*. *Science* 2003; 299: 1582-1585.
44. Malaty HM. *Epidemiology of Helicobacter pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 205-214.
45. Megraud F. *Resistance of Helicobacter pylori to antibiotics*. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11 (Suppl 1): 43-53.
46. Clyne M, Labigne A, drum B. *Helicobacter pylori requires an acidic environment to survive in the presence of urea*. *Infect Inmun* 1995; 63: 1669-1673.
47. Schade C, Flemstrom G, Holm L. *Hydrogen ion concentration in the mucus layer on top of acid-stimulated and inhibited rat gastric mucosa*. *Gastroenterology* 1994; 107: 180-188.
48. Axon ATR. *Eradication of Helicobacter pylori*. *Scand Gastroenterol* 1996; 31: 47-53.
49. Majalca C, Rivera J, Ochoa S, Giono S. *Transporte, aislamiento, identificación y conservación de capas de Helicobacter pylori*. *Bioquímica* 2001; 26 (4): 105-114.
50. Piccolomini R, Di Bonaventura G, neri M, et al. *Usefulness of Leifson staining method in diagnosis of Helicobacter pylori infection*. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (1): 199-201.
51. Harris P, Cover TL, Crowe DR, Orenstein JM, Graham MF, Blaser MJ. *Helicobacter pylori cytotoxin induces vacuolation of primary human mucosal epithelial cells*. *Infec Inmun* 1996; 64 (11): 4867-4871.
52. Luqueño V, Perea-Mejia LM, López Y. *Helicobacter y bacterias relacionadas*. *Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales*. 1°ed. México, D.F. INDRE, SSA. P. 295-307.
53. Torres J, Carnolinga M, Pérez G, Gonzalez G, Muñoz O. *Validation or string test for the recovery of Helcobacter pylori from gastric secretion and correlation of its results with urea breath test results, serology, and gastric pH levels*. *J Clin Microbiol* 2001; 39 (4): 1650-1651.
54. Sarmiento QF, Jaramillo L, Murcia S. *Pruebas diagnósticas para Helicobacter pylori*. *Reporte preliminar*. *Hospital de la Misericordia*. *Universidad Nacional de Colombia*. 2001.
55. Dunn BE, Cohen H, Blaser M. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 720-741.
56. Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Princ and Pract Inf Dis Update* 1991; 9: 3-9.
57. Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Its role in disease*. *Clin Inf Dis* 1992; 15: 386-393.
58. Doing P, Trust TJ. *Identification of surface-exposed outer membrane antigens of Helicobacter pylori*. *Infect Inmun* 1994; 62 (10): 4526-4533.
59. Chan FK, Chung SC, Suen BY, Lee YT, Leung WK, Leung VK, et al. *Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patients with*



- Helicobacter pylori* infection who are taking low-dose aspirin or naproxen. *N Engl J Med* 2001; 344: 967-973.
60. Raghutath A, Hungin AP, Wooff D, Childs S. Prevalence of *Helicobacter pylori* in patients with esophageal reflux disease: systematic review. *BMJ* 2003; 326: 737-743.
 61. Romero-Cabello. *Microbiología y Parasitología humana*. México: Médica-Panamericana, 2007.
 62. Farmacias del Ahorro S.A. de C.V. Consultado el 04/10/2012 <<http://www.fahorro.com.mx/>>
 63. Farmacias Similares S.A. de C.V. Consultado el 05/10/2012, <http://www.farmaciasdesimilares.com.mx/productosfarmaciasmexico/viewer.aspx?buscar=MEDICAMENTOS-1>
 64. Farmatodo S.A. de C.V. Consultado el 05/10/2012, <http://www.farmatodo.com.mx/descuentos-de-confianza.php>
 65. Crestani, R, Saura S, Pujolrás R. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en atención primaria de salud. *Atención Primaria* 2000; 25 (8): 104-111.
 66. Montes P, Salazar S, Monge E. Cambios con la epidemiología de la úlcera péptica y su relación con la infección con *Helicobacter pylori*. *Revista de Gastroenterología del Perú* 2007; 27 (4): 382-388.
 67. López L, Fernández C. Infección por *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico en México. Un reto para la prevención y el control poblacional. *Rev. Gastroenterol. Méx* 1997; 62 (1): 22-28.
 68. Malasty HM, Graham DY. Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori*. *International Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1994; 35: 742-745.
 69. Johannes G, Arnoud HM, Van Vliet E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2006; 19 (3): 450-490.



VIII. Discusión de Resultados

A través de la investigación realizada fue posible comprender, poco a poco, la relevancia que tienen las infecciones por *Helicobacter pylori* en la población mexicana, que está relativamente expuesta a ella, debido a su posición socioeconómica, a sus costumbres y hábitos alimenticios. Tomando en cuenta que se estima que más del 50% de la población adulta mexicana ha estado en contacto con este agente patógeno y es considerada como susceptible a desarrollar trastornos tales como gastritis crónica, úlcera péptica y cáncer gástrico entre otros; el diagnóstico de esta infección se vuelve relevante en cuanto a términos de salud pública se refiere.

Muchas veces la falta de conocimiento, capacitación y preparación de los profesionales del área de la salud en la identificación y diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* ocasiona errores en el tratamiento de los pacientes, por lo que pueden desarrollar complicaciones subsecuentes a su estado inicial. Es por ello que se requiere que los alumnos adquieran el conocimiento y se preparen para el diagnóstico e identificación de este microorganismo.

El caso de la conservación de las cepas, conlleva la dificultad de que cuando estas envejecen su resiembra no suele ser exitosa en todos los intentos por lo que se recomienda probar con varios cultivos para incrementar la probabilidad de éxito. Por otro lado durante el cultivo hay que considerar que *Helicobacter pylori* es un microorganismo microaerófilico y por lo tanto requiere de condiciones específicas en cuanto a concentración de CO₂ y O₂ durante su incubamiento se refiere.

En la práctica clínica de rutina, la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 ó 14 es suficiente para establecer el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, sin embargo, pruebas invasivas como la obtención de una biopsia del tejido gástrico lesionado y su subsecuente estudio microbiológico es necesario en casos donde el paciente no muestre mejoría en su cuadro clínico, tal vez debido a un caso de resistencia a los antibióticos comúnmente utilizados en el tratamiento de este padecimiento.

Es en este punto donde el Manual de Diagnóstico Microbiológico realizado toma importancia, ya que este facilitaría el estudio de este agente patógeno representando el primer acercamiento de los

estudiantes de licenciatura en el área de la salud con este agente patógeno. Debido a su contenido, este Manual podría ser de utilidad no solamente en el diagnóstico clínico de rutina sino en diagnósticos donde los tratamientos convencionales no sean exitosos.

Desde el punto de vista académico, el reto de realizar cultivos y pruebas bioquímicas a un microorganismo que requiere de condiciones especiales para desarrollarse como lo es *Helicobacter pylori* con éxito representaría en los alumnos una prueba fehaciente de que sus habilidades en el Laboratorio de Microbiología están mejorando, obteniendo de esta manera, como los más recientes métodos de evaluación y enseñanza llamarían una nueva “competencia”.

IX. Conclusiones

La sociedad actual demanda a las instituciones educativas de nivel superior del área de la salud que forme a profesionistas capaces de enfrentar y resolver los problemas con los que se encontrará durante su práctica profesional. Es por ello que se considera que este Manual de Diagnóstico Microbiológico fortalecerá el plan de estudios de la licenciatura de QFB impartida en la FES Zaragoza al poder ser utilizado como base en la implementación de una nueva práctica en el módulo de Microbiología. Facilitando con ello la instrucción de los estudiantes en la identificación y el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* que representa un padecimiento con el que el futuro QFB muy probablemente se enfrentará durante su vida laboral.

X. Propuestas y recomendaciones

Se sugiere la introducción del estudio de la infección y diagnóstico de *Helicobacter pylori* como una nueva práctica en el plan de estudios del Módulo de Microbiología Médica impartida 9° semestre de la licenciatura de Química Farmacéutico Biológica de la FES Zaragoza tomando como base este Manual de Diagnóstico Microbiológico.

XI. Referencias

1. Levinson WE, Jawetz E. *Microbiología e inmunología: Autoevaluación y repaso. México: Manual Moderno, 2000.*
2. García JA, Picazo JJ. *Microbiología médica general. Barcelona: Harcourt Brace de España, 1998.*
3. Perea EJ. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Barcelona: Doyma, 1992.*
4. Kenneth JR, Ray G. *Una introducción a las enfermedades infecciosas. México: McGraw-Hill, 2005.*
5. Mobley H, Mendz GL, Hazell SL. *Helicobacter pylori: Physiology and genetics. Washington DC: ASM Press, 2001.*
6. Clayton CL, Mobley H. *Helicobacter pylori protocols. New Jersey: Humana Press, 1997.*
7. Marshall B, Warren JR. *Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983; 1: 1273-1275.*
8. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, et al. *Transfer of Campylobacter pylori and Campylobacter mustelae to Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter mustelae comb. nov., respectively, Int. Syst. Bacteriol 1989; 39 (4) : 397-405.*
9. Goodwin CS, Worsley BW. *Microbiology of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin N Amer 1993; 22:5-19.*
10. Goodwin CS, Worsley BW. *The Helicobacter genus: The history of H. pylori. En: Helicobacter pylori: Biology and clinical Practice. Goodwin CS, Worsley BW. Eds. 1993; 1-14. London. CRC. Press.*
11. Talley NJ, Noack KB. *The worldwide prevalence of Helicobacter pylori infections: asymptomatic infections and clinical states associated with infections in adults. En: Helicobacter Pylori: Biology and clinical Practice. Goodwin CS, Worsley BW. Eds. 1993; 63-84. London CRC. Press.*
12. Rune SJ. *History of Helicobacter infection Scan J Gastroenterol 1996; 31:2-4.*
13. Estrada-Gómez RA, Parra-Ortega I, Martínez-Barreda A, Ruíz-Argüelles GJ. *Helicobacter pylori infection and thrombocytopenia: A single-institution experience in México. Rev. Invest. Clin. 2007; 59 (2): 112-115.*
14. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. *A model for gastric cancer epidemiology. The Lancet 1975; 306: 58-60.*
15. Asaka M, Takeda H, Sugiyama T, Kato M. *What role does Helicobacter pylori play in gastric cancer?. Gastroenterology 1997; 113: 556-560.*
16. Mohar A, Ley C, Guarner J. *Alta frecuencia de lesiones precursoras de cáncer gástrico asociadas a Helicobacter pylori y respuesta al tratamiento, en Chiapas, México. Gac. Méd. Méx 2002; 138 (5): 405-410.*
17. Ocadiz R, Sobrino S, García L. *Relación entre la infección por Helicobacter pylori y el desarrollo de metaplasia en pacientes con gastritis crónica. Bioquímica 2005; 30 (1): 13-22.*
18. Paniagua GL, Monroy E, Arroniz S, Hoyos L. *Seroprevalencia de Helicobacter pylori en pacientes con gastritis crónica de una zona urbana del Estado de México. Rev. Med. Hosp. Gen. Mex. 2009; 72 (3): 122-128.*

19. De la Torre A, Kettenhofen W, Roesch F, et al. *Guía de diagnóstico y tratamiento del cáncer gástrico. Epidemiología, factores de riesgo, variedades histológicas e historia natural. Revista de Gastroenterología de México* 2010; 2 (75): 237-239.
20. Rojas V, Garza E, Fuentes HA, et al. *Diagnóstico no invasivo de gastritis atrófica en pacientes adultos dispépticos. Medicina Universitaria* 2011; 13 (50): 31-36.
21. Calva R, Luna JJ, Lagunes B, et al. *Prevalencia del Helicobacter pylori en tres poblaciones de niños, de la Ciudad de Puebla, México, y sus factores de riesgo. Revista de gastroenterología de México* 2006; 71 (4): 440-445.
22. Blaser MI. *Helicobacter pylori and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. J Infect Dis* 1990; 161: 626-633.
23. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuili R. *Helicobacter pylori virulence and genetic geography. Science* 1999; 284: 1328-1333.
24. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori. J Clin Microbiol* 1997; 10: 720-741.
25. Tomb J, White O, Kerlavage AR, et al. *The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. Nature* 1997; 388 (7): 639-647.
26. Hsin-Ming C, Haggerty TD, De Martel C, Wai-Mun C. *Effect of Helicobacter pylori infection on symptoms of gastritis due to enteropathogenic Escherichia coli in adults. Dig Dis Sci* 2011; 56: 457-464.
27. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, et al. *Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. The New England Journal of Medicine* 1991; 325 (16): 1127-1131.
28. Camorlinga-Ponce M, Flores-Luna L, Lazcano-Ponce E, et al. *Age and severity of mucosal lesions influence the performance of serologic markers in Helicobacter pylori-associated gastro-duodenal pathologies. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 2498-2504.
29. Serrano A, Candelaria-Hernández M, De la Garza J, Herrera LA. *Helicobacter pylori y cáncer gástrico. Cancerología* 2009; 4: 193-204.
30. Scott D, Weeks D, Melchers K, Sachs G. *The life and death of Helicobacter pylori. UCLA and Wadsworth VA* 1998; 43 (supl 1): S56-S60.
31. Monés J, Gisbert F, Borda E, et al. *Indications, diagnostic tests and Helicobacter pylori eradication therapy. Recommendations by the 2° Spanish Consensus Conference. Revista Española de Enfermedades Digestivas* 2005; 97 (5): 348-375.
32. Otero Regino W, Trespalacios AA, Otero E. *Helicobacter pylori: Tratamiento actual, un importante reto en gastroenterología. Revista Colombiana de Gastroenterología* 2009; 24 (3): 279-292.
33. Vakil N, Megraud F. *Eradication therapy for Helicobacter pylori. Gastroenterology* 2007; 133: 985-1001.
34. Ishack RAH, Awad GAS, Mortada ND, Nour SAK. *Preparation in vitro and in vivo evaluation of stomach specific metronidazole loaded alginate beads as local anti Helicobacter pylori therapy. J Control Release* 2007; 119: 207-214.
35. Cotichia JM, Sugawa C, Tran VR, Gurrola J, Wowalski E, Carron MA. *Presence and density of Helicobacter pylori biofilms in human gastric mucosa in patients with peptic ulcer. J Gastrointest Surg* 2006; 10: 883-889.

36. Midolo PD, Turnidge JD, Lambert JR. Bactericidal activity and synergy studies of proton pump inhibitors and antibiotics against *Helicobacter pylori* in vitro. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39: 331-337.
37. Goddard AF, Jessa MJ, Barret DA, Shaw PN, Idstrom JP, Cederberg C, et al. Effect of omeprazole on the distribution of metronidazole, amoxicillin and clarithromycin in lumen gastric juice. *Gastroenterology* 1996; 111: 358-367.
38. Malaty HM. Epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Best Pract res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 205-214.
39. Otero W, Gómez M, Trespalacios AA. *Helicobacter pylori* después de todo. *Temas escogidos de gastroenterología. Asociación Colombiana de Gastroenterología* 2007: 43-56.
40. Gisbert JP, Fernández M, Molina J, Pérez A, Prieto B, Matos JM, et al. First triple therapy with levofloxacin for *Helicobacter pylori* eradication. *Alimen Pharmacol ther* 2007; 26: 495-500.
41. Gisbert JP, Castro M, Bermejo F, Pérez A, Ducons J, Fernández M, et al. Third line rescue therapy with levofloxacin after two *H. pylori* treatment failures. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 243-247.
42. Gsbert JP, Gisbert JL, Marcos S; Pajares JM. Third line rescue therapy with levofloxacin is more effective than rifabutin rescue regimen after two *Helicobacter pylori* treatment failures. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1469-1474.
43. Fallush D, Wirth T, Linz B, Pritchard JK, Kidd M, et al. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populatios. *Science* 2003; 299: 1582-1585.
44. Malaty HM. Epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 205-214.
45. Megraud F. Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11 (Suppl 1): 43-53.
46. Clyne M, Labigne A, drum B. *Helicobacter pylori* requires an acidic environment to survive in the presence of urea. *Infect Inmun* 1995; 63: 1669-1673.
47. Schade C, Flemstrom G, Holm L. Hydrogen ion concentration in the mucus layer on top of acid-stimulated and inhibited rat gastric mucosa. *Gastroenterology* 1994; 107: 180-188.
48. Axon ATR. Eradication of *Helicobacter pylori*. *Scand Gastroenterol* 1996; 31: 47-53.
49. Majalca C, Rivera J, Ochoa S, Giono S. Transporte, aislamiento, identificación y conservación de capas de *Helicobacter pylori*. *Bioquimia* 2001; 26 (4): 105-114.
50. Piccolomini R, Di Bonaventura G, neri M, et al. Usefulness of Leifson staining method in diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37 (1): 199-201.
51. Harris P, Cover TL, Crowe DR, Orenstein JM, Graham MF, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* cytotoxin induces vacuolation of primary human mucosal epithelial cells. *Infec Inmun* 1996; 64 (11): 4867-4871.
52. Luqueño V, Perea-Mejia LM, López Y. *Helicobacter y bacterias relacionadas. Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales. 1ªed. México, D.F. INDRE, SSA. P. 295-307.*
53. Torres J, Carnolinga M, Pérez G, Gonzalez G, Muñoz O. Validation or string test for the recovery of *Helcobacter pylori* from gastric

- secretion and correlation of its results with urea breath test results, serology, and gastric pH levels. J Clin Microbiol 2001; 39 (4): 1650-1651.*
54. Sarmiento QF, Jaramillo L, Murcia S. Pruebas diagnósticas para *Helicobacter pylori*. Reporte preliminar. Hospital de la Misericordia. Universidad Nacional de Colombia. 2001.
55. Dunn BE, Cohen H, Blaser M. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 720-741.
56. Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Princ and Pract Inf Dis Update 1991; 9: 3-9.
57. Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Its role in disease. Clin Inf Dis 1992; 15: 386-393.
58. Doing P, Trust TJ. Identification of surface-exposed outer membrane antigens of *Helicobacter pylori*. Infect Immun 1994; 62 (10): 4526-4533.
59. Chan FK, Chung SC, Suen BY, Lee YT, Leung WK, Leung VK, et al. Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patients with *Helicobacter pylori* infection who are taking low-dose aspirin or naproxen. N Engl J Med 2001; 344: 967-973.
60. Raghutath A, Hungin AP, Wooff D, Childs S. Prevalence of *Helicobacter pylori* in patients with esophageal reflux disease: systematic review. BMJ 2003; 326: 737-743.
61. Romero-Cabello. Microbiología y parasitología humana. México: Médica-Panamericana, 2007.
62. Farmacias del Ahorro S.A. de C.V. Consultado el 04/10/2012 <<http://www.fahorro.com.mx/>>
63. Farmacias Similares S.A. de C.V. Consultado el 05/10/2012, <http://www.farmaciasdesimilares.com.mx/productosfarmaciasmexico/viewer.aspx?buscar=MEDICAMENTOS-1>
64. Farmatodo S.A. de C.V. Consultado el 05/10/2012, <http://www.farmatodo.com.mx/descuentos-de-confianza.php>
65. Crestani, R, Saura S, Pujolrás R. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en atención primaria de salud. Atención Primaria 2000; 25 (8): 104-111.
66. Montes P, Salazar S, Monge E. Cambios con la epidemiología de la úlcera péptica y su relación con la infección con *Helicobacter pylori*. Revista de Gastroenterología del Perú 2007; 27 (4): 382-388.
67. López L, Fernández C. Infección por *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico en México. Un reto para la prevención y el control poblacional. Rev. Gastroenterol. Méx 1997; 62 (1): 22-28.
68. Malasty HM, Graham DY. Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori*. International Journal of Gastroenterology and Hepatology 1994; 35: 742-745.
69. Johannes G, Arnoud HM, Van Vliet E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. Clinical Microbiology Reviews 2006; 19 (3): 450-490.