



1. INTRODUCCIÓN

La infección por *H. pylori* es una de las enfermedades crónicas más frecuentes en la actualidad, afectando a todas las personas de cualquier estrato social, raza, sexo o grupo étnico, aunque evidentemente con distinta frecuencia. (Pueyo A. M et al 2003).

Desde que los investigadores australianos Warren y Marshall publicaron en *Lancet* la presencia de una bacteria curva, no identificada, en el epitelio gástrico, han transcurrido aproximadamente 15 años en los cuales se ha podido observar una auténtica revolución de nuevos conocimientos acerca de este germen, y sobre las consecuencias que la infección provoca; *Helicobacter pylori* esta presente en más de la mitad de los seres humanos, por lo que las aportaciones científicas realizadas en toda la historia de la medicina sólo pueden compararse a las efectuadas sobre el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que ha supuesto un profundo cambio que trasciende los límites de la Gastroenterología.

Con el descubrimiento del *Helicobacter pylori*, los conceptos patogénicos de la gastritis, la úlcera péptica y el carcinoma gástrico han cambiado radicalmente. Es una bacteria Gram negativa que coloniza el estómago humano, nicho ecológico muy particular por su bajo pH en donde la mayoría de los gérmenes no puede proliferar.



Helicobacter pylori es capaz de colonizar la mucosa gástrica humana (Warren y Marshall, Lancet 1983), un medio ambiente hostil por lo que la bacteria establece mecanismos especiales para sostener infecciones crónicas que frecuentemente perduran toda la vida, a pesar de la respuesta inflamatoria e inmune desarrolladas por el huésped (Cover et al 1995).

Todas las personas infectadas desarrollan un cuadro clínico caracterizado por una inflamación gástrica crónica que generalmente es asintomática, mientras que en otros casos provoca úlcera péptica (Blaser, 1997), sin embargo en algunas personas se puede observar la aparición de úlcera duodenal en parte mediada por la desregulación de la liberación de gastrina y la subsecuente hipersecreción de HCl.

De acuerdo a diferentes estudios epidemiológicos se sabe que *Helicobacter pylori* coloniza alrededor del 50% de la población mundial, no obstante menos del 20% de esa población infectada no manifiesta ningún tipo de sintomatología.

La prevalencia más baja de esta infección se observa en poblaciones del norte de Europa, japoneses y otras poblaciones asiáticas, sin embargo las tasas más altas se han encontrado en la India, países del África y América Latina. La infección generalmente se adquiere en la infancia y persiste por muchos años en forma crónica (Hirschowitz et al 1997).



En las personas infectadas se puede observar un ligero proceso inflamatorio en la mucosa del estómago cuando se realizan biopsias endoscópicas. Sólo una proporción baja de personas que albergan la bacteria desarrollan en algún momento patología gastroduodenal severa, que incluye a las úlceras gástricas o duodenales y adenocarcinomas o linfomas. Los mecanismos que garantizan la colonización del estómago por el *H. pylori* son complejos y se deben a la combinación de algunos factores que actúan en conjunto.

Este microorganismo sintetiza la enzima ureasa capaz de desdoblar la urea del entorno conduciendo a un pH elevado; su forma helicoidal y la acción de su flagelo le permiten atravesar la gruesa capa de moco que cubre el estómago y en esta forma se puede unir a los antígenos de Lewis que están en las células gástricas de la mucosa. Ahí secreta factores que atraen y estimulan a las células inflamatorias así como a la toxina multifuncional VacA.

La gastritis se origina después de la infección por *H. pylori* puede pasar sin manifestaciones clínicas o bien originar la expresión clínica propia de gastritis aguda (dolor epigástrico, náuseas y vómitos). Esta infección va a permanecer indefinidamente, tanto si se ha desarrollado sintomatología o no, mientras que una infección crónica dará lugar a una gastritis superficial crónica difusa que podría conducir a una gastritis atrófica multifocal, o una atrofia gástrica y a metaplasia gástrica.



El 90% de los pacientes con úlcera duodenal y el 50-80% de los pacientes con úlcera gástrica están infectados por *H. pylori*. Pero sólo es desarrollada por el 10% de las personas infectadas (Parsonnet et al 1991).

En el cáncer gástrico el rol que juega el *H. pylori* aun no se encuentra bien dilucidado ya que al ser un factor importante en el desarrollo de gastritis crónica predispondría al desarrollo de cáncer. Además, la epidemiología indica que los países con alta prevalencia de cáncer gástrico (de antro y de cuerpo) tienen también una alta prevalencia de infecciones por *H. pylori*. Por lo que la OMS lo clasifico como carcinógeno de clase I desde 1994 (Cover et al 1995).

Ante la clara evidencia científica en tan breve espacio de tiempo, la introducción del tratamiento erradicador ha sido un proceso lento. No obstante los protocolos observados en el manejo de la dispepsia, la úlcera péptica y la infección por *Helicobacter pylori* por parte de los médicos de atención primaria no muestran un adecuado consenso para efectivizar la triple terapia según lo establecido en la normativa de los especialistas en Gastroenterología.

En nuestro medio se tiene varios esquemas terapéuticos para el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*, el uso adecuado de antibióticos más un inhibidor de la bomba de protones en una doble terapia incluyen al omeprazol y a la tetraciclina, la triple terapia incluye a la amoxicilina y una cuadruple terapia incluye a un inhibidor de la bomba de protones y dos antibióticos (Tetraciclina y/o Claritromicina).



En el mundo se vienen realizando continuamente muchos estudios sobre la actividad anti – *Helicobacter pylori* de plantas medicinales tanto in vitro como in vivo, buscando una terapia que sea natural o bien brindar un sinergismo con los antibióticos que ayuden a la población a tener mejores tratamientos, como alternativas de plantas con actividad anti – *Helicobacter pylori* podemos citar a la *Cistus laurifolius*, *Cedrus libani*, y muchas otras que están siendo estudiadas para coadyuvar a la erradicación de *Helicobacter pylori*.

Las características ecológicas y culturales de los Andes de Bolivia ofrecen variedad de prácticas respecto a la medicina tradicional, cuyas protagonistas son las plantas medicinales. Se conocen alrededor de 3.000 especies de plantas medicinales identificadas y verificadas en los herbarios del país; sin embargo, las investigaciones no han abarcado la totalidad de las etnias, quienes son los que poseen este conocimiento. En este sentido, la cultura Kallawayá aparece como el líder, pues ha contribuido al conocimiento del uso y manejo de plantas medicinales de la región y con importantes medicinas para la humanidad (Morales R. et al 2006).

A inicios de los años noventa, la Organización Mundial de la Salud (OMS) identificó que el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para asistir problemas de salud, la cual se basa principalmente en el empleo de plantas medicinales (Uicin et al 1993).



Este alto porcentaje de la humanidad relacionado de alguna forma con la medicina tradicional, permite el mantenimiento de dichos conocimientos, sin embargo muchas plantas medicinales se encuentran en peligro de extinción, lo cual incide en la pérdida de recursos genéticos y propiedades tradicionales (Uicin et al 1993).

El conocimiento tradicional sobre las plantas medicinales contiene elementos esenciales, tales como: sistemas empíricos de clasificación, reconocimiento de hábitats de cada una de las especies y técnicas tradicionales de cosecha, almacenamiento, preparación y suministro de estas plantas a la población. Actualmente, la ciencia médica refuerza el conocimiento tradicional respecto a las bondades de las plantas, logrando identificar sustancias químicas con propiedades terapéuticas.

Bolivia cuenta con muy pocas publicaciones a cerca de la actividad anti – *Helicobacter pylori* de plantas medicinales, pese a ser un país que cuenta con una variedad extensa en cuanto a plantas medicinales se refiere.

El estudio realizado presentó las características morfológicas y cultivables de la bacteria; así como también la realización del antibiograma utilizando la concentración mínima inhibitoria (MIC) por dilución en agar, también se evaluó la actividad anti – *Helicobacter pylori* de *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y *Piper elongatum* (Matico) tomando en cuenta que fueron los extractos con mayor actividad en un estudio anterior; y son recomendados por médicos naturistas y tradicionales para el tratamiento de gastritis y úlcera.



2. JUSTIFICACIÓN.

Helicobacter pylori es un microorganismo microaerófilico que coloniza e infecta la mucosa gástrica humana. La infección está distribuida mundialmente y su incidencia varía según la región geográfica y de acuerdo con el nivel socioeconómico de la población.

Dada la prevalencia de la infección por dicha bacteria, es lógico pensar en los grandes esfuerzos que la comunidad científica ha realizado para establecer protocolos diagnósticos y de tratamiento de dicha infección. En la actualidad el aislamiento del *Helicobacter pylori* en el laboratorio; pese a los adelantos tecnológicos es de bastante complejidad, ello debido a las exigencias atmosféricas, nutricionales de la bacteria, así como también a la contaminación cruzada que existe por otras bacterias colonizadoras en el tracto gastrointestinal.

Continuamente se vienen realizando muchos estudios para mejorar la detección de *H. pylori*, como también el de generar nuevas estrategias para el aislamiento e identificación, propiedades de resistencia y sensibilidad a antibióticos, características inmunológicas y moleculares.

El *Helicobacter pylori* es reconocido como el principal agente causal de la gastritis crónica activa y de úlcera péptica. Por muchos años, la medicina tradicional ha utilizado diversas plantas para la preparación de infusiones y así poder tratar los diferentes padecimientos gastrointestinales; en muchos de los casos sin ninguna



evidencia científica que permita explicar la mejoría clínica en los pacientes.

Es importante evaluar la actividad farmacológica de los extractos *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y *Piper elongatum* (Matico) utilizadas comúnmente en el tratamiento de patologías gastrointestinales sobre el *Helicobacter pylori*.

Un obstáculo importante para determinar la sensibilidad y/o resistencia del *H. pylori* frente a los diferentes antibióticos y extractos fue la elección de una metodología adecuada in vitro que nos permita correlacionar los resultados con la actividad.

El área de farmacología del Instituto de Investigación Fármaco Bioquímicas (IIFB) de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas lleva a cabo estudios de plantas medicinales de la herbolaria boliviana cuyo objetivo principal es la de comprobar la actividad biológica o farmacológica descritos en libros de medicina natural y tradicional.

Las investigaciones sobre plantas medicinales es de gran importancia por las aportaciones que nos brindan para poder contar con alternativas terapéuticas que tengan menos efectos adversos y poder mejorar la calidad de vida en la población.

En la revisión bibliográfica se encontró la evaluación de la actividad gastroprotectora in vivo de plantas medicinales en los cuales



se verifico un alto porcentaje de inhibición en la ulceración inducida por etanol en ratones de experimentación (Pinto J. et al 2008), por lo que se pretende encontrar plantas que posean actividad anti – *Helicobacter pylori*, conocido como el agente causal de la úlcera, gastritis, linfoma de MALT y cáncer gástrico, como una terapia natural y alternativa.

En nuestro estudio se realizó el test de sensibilidad mediante el método de dilución en agar como Gold Standard para el *Helicobacter pylori*, ya que los métodos como: el método de micro dilución en caldo es limitado por la dificultad de desarrollo del *Helibacter pylori* en medio líquido. El método de difusión de discos no tiene correlación con las actuales concentraciones inhibitorias mínimas (MICs) y el E-test presenta discrepancias en la interpretación de sensible o resistente al momento de las lecturas.

Por los acápite mencionados anteriormente, resulta de gran importancia la realización de una metodología completa de aislamiento del *Helicobacter pylori*, estandarizar el método de dilución en agar como Gold Standard para determinar su sensibilidad y/o resistencia a los diferentes antibióticos y extractos y definir si los extractos de *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y *Piper elongatum* (Matico) poseen efecto anti- *Helicobacter pylori* a concentraciones definidas.



3. DISEÑO TEÓRICO.

3.1. Marco Teórico.

3.1.1. Antecedentes.

Las publicaciones sobre diversos aspectos de la infección por *Helicobacter pylori* siguen incrementándose año tras año, Todo este caudal de información ha aportado mucha luz sobre numerosos aspectos de la infección que dicha bacteria causa así como sus consecuencias patológicas.

Hacia finales de los años 1970, Robin Warren, trabajando en el Royal Perth Hospital de Australia, observa la presencia de bacterias curvadas en las muestras de biopsia gástrica de enfermos con úlcera gastroduodenal, pero estas observaciones quedan sin el reconocimiento por parte del mundo científico hasta que Barry Marshall, unos años más tarde, realiza un periodo de rotación como médico por el laboratorio del Dr. Warren.(Taylor et al. 1991)

El reconocimiento de la infección gástrica por el *Helicobacter pylori* cambió por completo el concepto de enfermedad gastroduodenal. Las evidencias existentes señalan que el *Helicobacter pylori* juega un rol fundamental en el 95% de las úlceras duodenales y en el 60-70% de las úlceras gástricas. Por otro lado, existen datos concluyentes que



relacionan al *Helicobacter pylori* con la cadena de eventos que conducen al desarrollo de un cáncer gástrico. La infección por *Helicobacter pylori* es una infección altamente prevalente en nuestro medio, y es un hallazgo frecuente en exámenes endoscópicos digestivos altos. (Pueyo A. M et al 2003)

En 1983 los investigadores Robin Warren y Barry Marshall reportaron el aislamiento de microorganismos curvados a partir de biopsias de antro pilórico, este hallazgo dio un recambio conceptual en la gastroenterología.

Actualmente se conoce que *Helicobacter pylori* está asociado a patologías como las gastritis, úlceras, cáncer gástrico y linfoma de MALT. (Alvarez et al., 1997; Alarcón et al., 2004; Majalca et al., 2001; Sánchez et al., 1999; Suerbaum et al., 2005).

En enero de 1984, Marshall acuerda con Stuart Goodwin, microbiólogo que trabajaba en el Departamento de Microbiología Experimental, la inoculación de cultivos puros de *Campylobacter* en cerdos. Eligieron a este animal porque padece gastritis y úlcera gástrica y porque su tamaño facilitaba las gastroscopias.



La asociación entre la infección con *Helicobacter pylori* y cáncer gastroduodenal es tan estrecha que en 1994 la Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) y la OMS lo clasificaron como carcinógeno de clase I dentro de los agentes causales.

Hoy sabemos que la infección por *Helicobacter pylori* es la enfermedad bacteriana crónica más extendida del mundo que afecta a más de la mitad de la población mundial cuya distribución se encuentra vinculada con el grado de desarrollo socio-económico que presenta cada país.

Un estudio realizado en Suecia el año 2000, fue dirigido para determinar la facilidad del cultivo de *H pylori* a partir de biopsias gástricas inmediatamente después de la toma de muestra, se comparo con la prueba rápida de la ureasa en la que se observo el 100% de los resultados con cultivo positivo, existiendo correlación entre ambos métodos de diagnóstico. (Jaup et al, 2000)

En la República mexicana se evaluó los métodos de transporte, el medio de cultivo, las técnicas de conservación de las cepas, en el que se lograron establecer que en agar columbia suplementado con sangre defibrinada de caballo es el mejor medio de cultivo, el medio microaerofílico generado con tres tabletas de alka SELTZER es similar a los métodos comerciales, utilizaron caldo brusella suplementado con 2% de suero fetal bovino para el transporte de las muestras y para su conservación caldo brusella con glicerol al 20% y suero fetal bovino al 2%. (Majalca et al, 2001).



La infección por *Helicobacter pylori* se distribuye a nivel mundial, y la prevalencia está entre el 40% en países desarrollados y el 90% en países que se encuentran en vías de desarrollo (Cave *et al.*, 1997; Duynhoven *et al.*, 2001; Glynn *et al.*, 2002).

En nuestro País existen estudios realizados acerca de *H. pylori*, uno de los primeros estudios evaluó las pruebas de confiabilidad y sensibilidad de las técnicas de diagnóstico. (Galarza, L 1993).

Estudios realizados en ciudad de La Paz, Bolivia, demuestran que aproximadamente el 50% de la población presenta infección por *Helicobacter pylori* (Alvarez, 1997). La transmisión puede ocurrir de persona a persona por vía oral-oral, por vía iatrogénica a través de las sondas y endoscopios. El riesgo de infección se ve acentuado en personas con escasas condiciones socioeconómicas (Alvarez *et al.*, 1997; Cave *et al.*, 1997; Glynn *et al.*, 2002; Suerbaum *et al.*, 2005; Sunga *et al.*, 2005).

Otro estudio encontrado en nuestro medio determino que la prevalencia de infección por *H. pylori* es mayor al 50%, por lo que el método de la prueba de la ureasa es un excelente test predictivo proporcionando una sensibilidad del 93% y que el cultivo bacteriano en agar BHI presenta una sensibilidad del 75% y especificidad del 85%, el estudio histológico sirve como instrumento de apoyo cuando no se cuenta con el cultivo de *H. pylori*, (Álvarez et al, 1997)



Un tercer estudio realizado para determinar la técnica de mayor sensibilidad para el diagnóstico en laboratorio de *H. pylori* presenta los siguientes resultados 60,52% confirmaron una reacción positiva a la prueba de la ureasa, 52,17% de las muestras desarrollaron en Campylobacter Agar Skirrow. (Baldivieso S, 1998).

Otro estudio realizado en el departamento de Santa Cruz fue para determinar la prevalencia del *H. pylori* por medio de la prueba de la ureasa en el que hallaron que el 73.9% fueron *H. pylori* positivos y 26.1% fueron *H. pylori* negativos, y que la prevalencia en el género masculino fue del 75.8% positivos y el resto negativos, y en el género femenino 64.6% fueron positivos y el resto negativos. (Prado R, et al 2000)

H. pylori se encuentra dentro del grupo de los agentes infecciosos con mayor prevalencia en el mundo, donde por lo menos la mitad de la población se encuentra infectada y actualmente es una de las bacterias más estudiadas por ser el principal agente en el desarrollo de la enfermedad úlcero péptica, gastritis crónica activa y el adenocarcinoma gástrico (Zamudio, 2001).

Siguiendo con la investigación otro estudio determinó la seroconversión y la tasa de incidencia de infección por *H. pylori* en un cohorte de niños Bolivianos que viven en zonas rurales a partir de los 21 meses hasta los 6 años de edad, los resultados reportados indican que el 44% fueron positivos, 49% fueron negativos y 7% indeterminado (Glynn, 2002)



Esta infección se ha convertido en un serio problema de salud pública debido a su capacidad de producir inflamación crónica de la mucosa gástrica, úlcera gástrica y por ser factor predisponente de cáncer gástrico en la edad adulta (González, José 2004).

Helicobacter pylori es una bacteria de difícil cultivo in Vitro y cuyo diagnóstico es de suma importancia, en Chile se realizó un estudio para evidenciar el tipo de cepa de *H. pylori* y la enfermedad gástrica por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa. (Arraya et al, 2004).

El 2006 se llevó a cabo el Estudio de la Infección por *Helicobacter pylori* y evaluación de los métodos de diagnóstico laboratorial, en pacientes que acuden a consultas de gastroenterología en la Clínica “Caja Petrolera de Salud” y el Hospital “Arco Iris”. (Bilbao P. 2006).

En ese mismo año se lleva a cabo otro estudio en el cual se evaluó la actividad anti – *Helicobacter pylori* de varios extractos de plantas medicinales por el método de difusión de discos cuyos resultados revelan que los extractos diclometánico, hidroalcohólico y acuoso de *Clinopodium bolivianum*, *Caléndula officinalis* y *Piper angostifolium* presentan actividad anti-*Helicobacter pylori*. (Claros M. 2006)



3.2. Marco Referencial.

3.2.1. Historia del *Helicobacter pylori*.

Las primeras observaciones de bacterias espirales en el estómago no son recientes. Ya en el año 1881, Rappin las observó en el estómago de los perros y a comienzos del siglo XX, Krienitz las describió en el estómago de pacientes con cáncer gástrico. A pesar de que algunos autores sugirieron su implicación en la inflamación gástrica como hizo Steer en 1975, el hecho de que no lograran cultivarla implicaba que no podía pasar más que de una hipótesis no demostrable.

Ahí es donde radica la gran importancia del descubrimiento de Warren y Marshall. No sólo el describirlas en biopsias gástricas de pacientes con gastritis y úlcera péptica relacionándolas con estas patologías, sino que siguiendo la metodología que Skirrow utilizó para el aislamiento de *Campylobacter*, lograron cultivar la bacteria a partir de biopsias de antro gástrico. No contentos con eso y ante la incredulidad con la que la comunidad científica acogió la noticia, decidieron demostrar los postulados de Koch, para lo cual Barry Marshall ingirió una solución con el microorganismo y padeció una gastritis aguda demostrada con datos histológicos.



Por el aspecto curvo de la bacteria, sus requerimientos en el cultivo y su localización anatómica fue llamado en un principio *Campylobacter pyloridis*, nombre después corregido para adoptarlo a la forma científica correcta *Campylobacter pylori*.

Sin embargo la presencia de flagelos en uno de los polos de este microorganismo no correspondía al resto de las especies del género *Campylobacter* así como otras diferencias en sus componentes estructurales y en su composición en ácidos grasos lo cual hizo que se cuestionara pronto como un microorganismo perteneciente al género *Campylobacter*, por lo que se pretendió incluir en el género *Spirillum* y más tarde, en el de *Wolinella* pero las diferencias son tan importantes que no ha sido posible esta inclusión.

Goodwin, en la revista “International Journal of Systematic Bacteriology” de Octubre de 1989, propone la creación de un nuevo género, *Helicobacter*, en el que *Campylobacter pylori* sea la especie tipo con el nombre de *Helicobacter pylori*. El nombre del género refleja dos aspectos de la morfología de este microorganismo, helicoidal “in vivo” pero a menudo como un bacilo “in vitro”.

El año 1995 la agencia internacional de la investigación del cáncer declaró a *Helicobacter pylori* como agente cancerígeno número uno para el adenocarcinoma gástrico.



En 1997 Tomb y colaboradores publicaron la secuencia completa del genoma de *Helicobacter pylori* (cepa 26695), sólo 15 años después de que fuera cultivada in Vitro por vez primera. Posteriormente en enero de 1999, se continuo con la secuencia del genoma completo de *H. pylori* (cepa J99), la cual permitio la comparación de cepas.

El 2005 el jurado del instituto Karolinska de Estocolmo Suecia encargado de conceder el Premio Nóbel de Medicina el cual resalta la tenacidad de los científicos Australianos Barry J. Marshall y J Robin Warren a la hora de cuestionar los dogmas establecidos en torno a la gastritis y a la úlcera de estómago o de duodeno. Ambos científicos demostraron que *Helicobacter pylori* era el causante de ambos trastornos. Estos hallazgos trascienden en el mundo de gastroenterología que dieron como resultado el “Premio Nóbel de Medicina 2005”.

3.2.2. Clasificación Taxonómica

Helicobacter pylori pertenece al sub – grupo de las proteobacterias dentro la cual todas las bacterias son bacilos gram negativos, delgados, curvados o helicoidales, en algunas ocasiones pueden llegar a ser rectos es decir que son polimórficos.



Las proteobacterias tienen una clase, *Campylobacteres*, un orden *Campylobacterales* y dos familias, *Campylobacteraceae* y *Helicobacteraceae*, cuyos géneros más importantes son *Campylobacter* y *Helicobacter*, las cuales se ubican en la sección 2 de la primera edición del Manual Bergey, dada su condición morfológica de ser bacilos gram negativos, microaerofílicos, móviles, helicoidales (Prescott 2000)

Clasificación científica:

Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Epsilon Proteobacteria
Orden:	<i>Campylobacterales</i>
Familia:	<i>Helicobacteraceae</i>
Género:	Helicobacter
Especies:	H. pylori

(Marshall et al. 1985; Goodwin et al. 1989)

3.2.3. Especies del Género *Helicobacter pylori*.

Desde la descripción del género el número de especies incluidas en él ha aumentado espectacularmente. En la actualidad al menos 24 especies de *Helicobacter* han sido descritas de una forma válida y 35 o más *Helicobacter* nuevos esperan ser formalmente nombrados (Solnick et al 2001).



Una manera útil y práctica de agrupar las especies de *Helicobacter* es hacerlo teniendo en cuenta el nicho que ocupa. Así tradicionalmente se han distinguido especies de *Helicobacter* gástricas o enterohepáticas.

En la Tabla 1 se muestran las características de algunas especies del género

Helicobacter	Ureasa	NIT	Flagelos	Flagelos envainados	Nicho	Hospedador
<i>H. acinonychis</i>	+	-	BP, 2-5	+	G	Guepardo
<i>H. mustelae</i>	+	+	Peri, 4-8	+	G	Hurón
<i>H. pylori</i>	+	-	BP, 4-8	+	G	Hombre
<i>H. bizzozeronii</i>	+	+	BP, 10-20	+	G	Perro/hombre
<i>H. felis</i>	+	+	BP, 14-20	+	G	Gato/perro
" <i>H. heilmannii</i> "	+		BP, 6-10	+	G	Perro/hombre/cerdo
<i>H. cinaedi</i>	-	+	BP, 1-2	+	E	Hombre/gato/cánidos/hamster
<i>H. fermelliae</i>	-	-	BP 2	+	E	Hombre
<i>H. canadensis</i>	-	V	BP, 1-2	-	E	Hombre
<i>H. pullorum</i>	-	+	UP, 1	-	E	Aves/hombre
<i>H. bilis</i>	+	+	BP, 2-14	+	E	Ratón/perro
<i>H. canis</i>	-	-	BP, 2	+	E	Perro/hombre
<i>H. cholecystus</i>	-	+	UP, 1-3	+	E	Hamster
<i>H. hepaticus</i>	+	+	BP, 2	+	E	Ratón
<i>H. muridarum</i>	+	-	BP, 10-14	+	E	Roedores
<i>H. pametensis</i>	-	+	BP, 2	+	E	Pájaros
" <i>H. sp flexispira</i> "	+/-	-	BP, 10-20		E	Hombre/roedor/cánidos

Helicobacter. (García – Campos et al 2003)



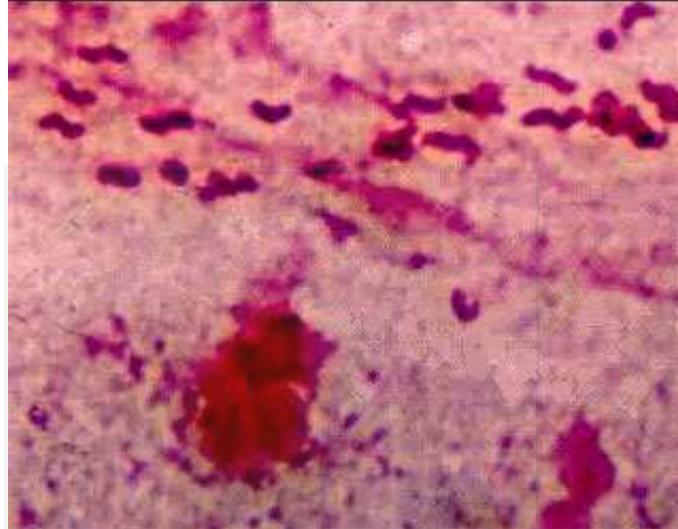
El análisis de DNAr ha demostrado ser poderoso instrumento en los estudios filogenéticos en las especie de *Helicobacter sp.* y *Campylobacter sp.*, basados en el RNAr 16s (Paster et al 1998; Bañadme et al 2000).

3.2.4. *Helicobacter pylori*.

3.2.4.1. Características Generales.

H. pylori es un bacilo Gram negativo de morfología espiral (Figura 1). Esta morfología espiral se la puede observar mejor cuando la bacteria se encuentra en las propias biopsias. Cuando se observan tras cultivo su morfología es más recta y llegan a desaparecer las formas helicoidales. Además se pueden observar formas cocoides, redondeadas, de la bacteria ⁽⁴⁾. Se ha postulado que son formas de resistencia que podrían estar implicadas en la transmisión pero diversos autores las han descrito como formas de muerte de *H. pylori*. Como bacilo Gram negativo que es, presenta las características estructurales de éstos, es decir consta de membrana externa aparte de la membrana plasmática. Tiene flagelos polares en número que varía de 4 a 8. Estos flagelos son los elementos fundamentales para su movilidad.

Curiosamente son flagelos envainados. Esta vaina tiene una estructura lipídica, exactamente igual a la de la membrana externa, y parece que su misión es la de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido.



Tinción de Gram de *Helicobacter pylori*

3.2.4.2. Morfología y Estructura Bacteriana.

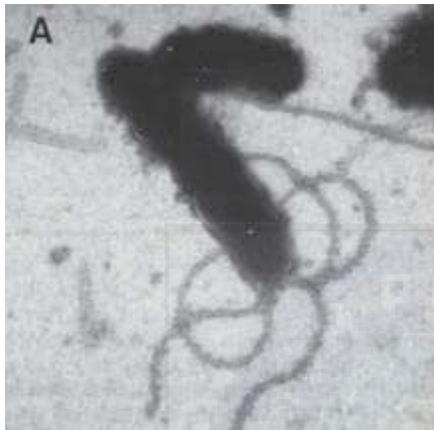
H. pylori es un bacilo Gram negativo de morfología espiral (Figura 1). Esta morfología espiral se observa mucho mejor en las propias nuestras de biopsias. Cuando se observan tras cultivo su morfología es más recta y llegan a desaparecer las formas helicoidales. Además se pueden observar formas cocoides, redondeadas, de la bacteria.⁽⁴⁾ Se ha postulado que son formas de resistencia que podrían estar implicadas en la transmisión pero diversos autores las han descrito como formas de muerte de *H. pylori*. Como bacilo Gram negativo que es, presenta las características estructurales de éstos, es decir consta de membrana externa aparte de la membrana plasmática.



Tiene flagelos polares en número que varía de 4 a 8. Estos flagelos son los elementos fundamentales para su movilidad. Curiosamente son flagelos envainados. Esta vaina tiene una estructura lipídica, exactamente igual a la de la membrana externa, y parece que su misión es la de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido.

Helicobacter pylori es un microorganismo polimorfito que además posee estructura cocoide cuya morfología se puede observar en cultivos viejos o de larga data. La forma cocoide prácticamente no se adhiere a las células epiteliales y además tampoco es capaz de inducir la producción de interleucina 8. La conversión morfológica de la forma espiral a la forma cocoide se ha descrito cultivando a *H pylori* bajo condiciones adversas anaerobiosis, pH alcalino, alta temperatura, incubación prolongada.

Helicobacter pylori en biopsia de mucosa gastroduodenal, posee una forma de espiral o en “S” que le hace fácilmente reconocible en el tejido. Se puede observar en las muestras clínicas empleando gran variedad de tinciones como Gram (The Gastrointestinal Physiology Working Groups, 1986), naranja de acridina (Walters et al 1986), hematoxilina—eoxina (La Mouliatte, 1987, Warthin-Starry (Warren y Marshall, 1983), Giemsa (Gray et al, 1986, bromuro de etidio (López-Brea et al, 1.988) y técnicas inmunológicas con anticuerpos monoclonales (Engstrand, 1986)



Estudios realizados por microscopía electrónica demuestran que *H. pylori* se presenta como bacilos espirilares de 0,5 —1 micras de ancho y aproximadamente 3 micras o más de largo. La pared celular externa es lisa, en contraste con la superficie rugosa de *Campylobacter jejuni*, posee

flagelos múltiples en uno de los polos que terminan en un engrosamiento en forma de bulbo. En algunas bacterias, sin embargo, y sobre todo en fases de división celular, se pueden observar la presencia de flagelos en ambos extremos de la bacteria (Goodwin et al 1.985 b; Jones et al 1985).

3.2.4.3. Mecanismos de Patogenicidad.

En cuanto a los conocimientos actuales hablar de la patogenia y fisiopatología de la infección por *Helicobacter pylori* es lo mismo que el de una gastritis crónica, que acompaña y condiciona la evolución de la enfermedad ulcerosa péptica (EUP); que puede evolucionar, en presencia de ciertos carcinógenos, hacia lo que es el cáncer gástrico que tras un infiltrado inflamatorio de predominio linfocitario, se asocia probablemente a alteraciones genéticas en el huésped lo cual llega a evolucionar a un MALT.



Se sabe que la actividad de la ureasa del *H. pylori*, en moco de estómagos infectados, tiene una concentración de amoníaco cuatro veces mayor a la del moco no infectado, por lo que se puede considerar a este un lesionado directo, pero también es el causante de un aumento del pH, lo que puede alterar la interacción entre las fracciones lipídica y proteica del moco, responsable de la estabilización de la estructura micelar del mismo. Como consecuencia, se produce una alteración de la viscosidad que puede contribuir a una disminución de la capacidad para retrasar la difusión de protones.

Después de 12 horas de incubación, la permeabilidad del moco a los hidrogeniones aumenta en un 10 % y en un 32 % al cabo de 48 horas. Se ha discutido si la infección por *Helicobacter pylori* se acompaña de una actividad mucolítica apreciable, por lo que se ha sugerido que dicha actividad podría afectar tanto a la porción carbohidratada como proteica de la cadena de mucina. Ello tendría como consecuencia la aceleración del recambio normal del moco gástrico.

Se han detectado anticuerpos circulantes a la hemaglutinina del *H. pylori*, sin relación con las estructuras flagelares de la bacteria. La hemaglutinina del *H. pylori*, se une preferentemente a un componente (N-acetil-neuraminil-lactosa), ampliamente representado entre las sialoproteínas, tanto de las células epiteliales, como sanguíneas.



Se han señalado cambios cualitativos y cuantitativos en el moco intracelular, en relación con la adherencia del *H. pylori*: depleción de gránulos o vacuolas de moco; descenso de carbohidratos neutros e incremento de glicoproteínas ricas en ácido siálico, en la región apical del citoplasma de las células mucosas. En general, la adhesión es ventajosa, para la supervivencia del patógeno y para favorecer la liberación de las toxinas de los gérmenes directamente sobre las células epiteliales.

3.2.4.4. Factores de Virulencia

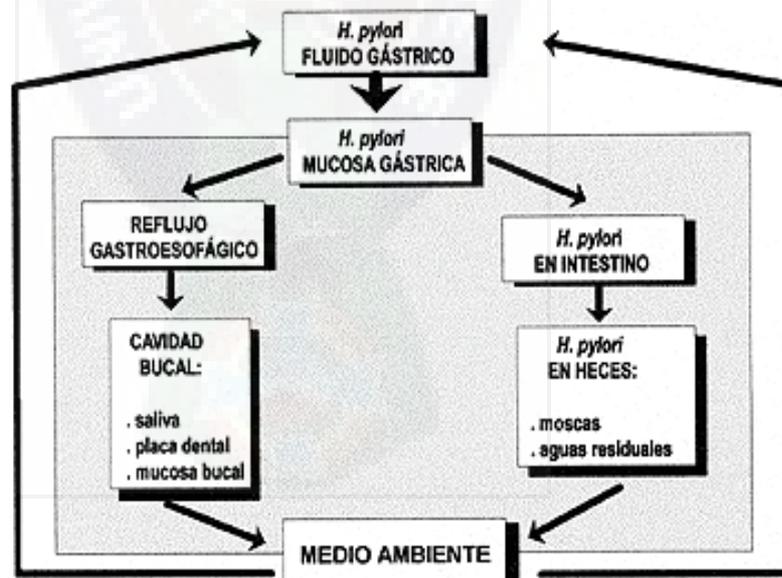
No existe una clara evidencia acerca de cual es la ruta predominante de transmisión del *H. pylori* aunque se conocen argumentos a favor de cada una de ellas y parece que la predominancia de una u otra depende de factores locales.

El hecho que es ampliamente aceptado, es que la bacteria debe llegar al estómago humano por la boca como vía de entrada, ya que se trata de un patógeno no invasivo y su ruta hacia la mucosa gástrica no puede ser otra⁵. Otra clara evidencia es el hecho de que la infancia es el periodo de máxima incidencia de infección, y que durante este periodo de la vida se produce el máximo potencial de adquisición y de pérdida de la misma, en especial durante los dos primeros años.



Las espectaculares diferencias entre la prevalencia de infección entre niños de países desarrollados y de países en vías de desarrollo, sugiere la existencia de un reservorio ambiental al cual están expuestos los niños del segundo caso, mientras que en zonas desarrolladas este reservorio o se ha aclarado o bien, los niños no sufren exposición al mismo. El hecho contrastado de que adultos mayores de 50 años de países desarrollados presenten una elevada prevalencia apunta hacia la hipótesis de un efecto cohorte y a que los cambios socioeconómicos que apoyan la mejora de las condiciones higiénicas y de calidad de vida (empleo de aguas depuradas para el consumo, refrigeración de los alimentos, no hacinamiento en las viviendas) haya contribuido a la disminución de la adquisición de la infección en esos mismos países.

Figura 1. Mecanismo de transmisión de la infección por *H. pylori*.

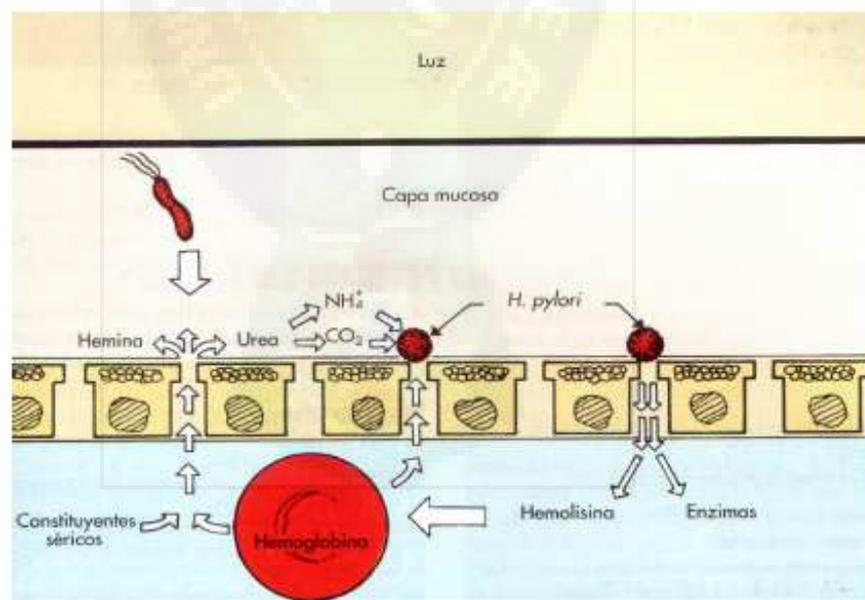




La capacidad de *Helicobacter pylori* de sobrevivir en un ambiente tan hostil como el gástrico, puede ser atribuida al desarrollo de características especializadas que permiten su adaptación.

Para que este microorganismo pueda manifestar su acción patógena en las mucosas debe ser capaz de:

- 1) Llegar a la superficie del huésped y colonizar el epitelio, mediante mecanismos de adherencia.
- 2) Atravesar la barrera mucosa para alcanzar los tejidos subepiteliales y por lo tanto tener capacidad de penetración, multiplicación e invasión.
- 3) Producir alteraciones y lesiones en las células y en los tejidos del huésped, que serán responsables del cuadro patológico propiamente dicho.



Representación esquemática de la colonización de la mucosa gástrica por *H pylori*



Los factores de virulencia claramente identificados son:

- a) Factores invasivos, morfología helicoidal y flagelos que le permiten penetrar a través del mucus.
- b) Factores de adherencia, de vital importancia en la colonización inicial de la mucosa gástrica del huésped y por lo tanto de la patogénesis.
- c) Factores tóxicos, este microorganismo posee diferentes enzimas y proteínas que actúan como factores tóxicos para la mucosa gástrica.

Estos múltiples factores contribuyen a la inflamación gástrica, alteración de la producción de ácido gástrico y a la destrucción tisular características en pacientes infectados. La colonización inicial se ve facilitada por: Bloqueo de la producción de ácido por una proteína bacteriana inhibidora de ácidos. Y por otro lado la neutralización de los ácidos gástricos por el amonio producido y por la actividad de la ureasa bacteriana.

La actividad de la ureasa bacteriana está aumentada por una proteína de shock por calor (HspB) que se co-expresa con la ureasa en la superficie de la bacteria. *H. pylori* se mueve activamente por tanto, puede pasar a través del moco gástrico y adherirse a las células epiteliales por lo que el daño tisular es mediado por residuos de ureasa, mucina, fosfolipasa, y la actividad de citotoxinas que forman vacuolas, que induce el daño de las células epiteliales y que junto con la ureasa y el lipopolisacárido bacteriano, estimula la respuesta



inflamatoria. *H. pylori* está protegido de la fagocitosis y de la muerte intracelular por la producción de superóxido dismutasa y de catalasa.

H. pylori produce también factores que estimulan a la:

- a) Secreción de interleucina 8 (IL-8).
- b) Producción del factor activador de plaquetas que produce una hiper- secreción de ácido gástrico.
- c) la muerte programada de las células epiteliales gástricas.

Entre los factores de virulencia del *H. pylori* se cuentan las proteínas superficiales, algunas de las cuales están implicadas en los fenómenos de adhesión, y en la alteración de la arquitectura del epitelio mucoso gastroduodenal, relacionándose con la actividad endotóxica del germen. Se ha sugerido que dicha toxicidad estaría ligada a un lipopolisacárido (LPS) de la superficie del *H. pylori*. La caracterización de las proteínas del *H. pylori* ha permitido detectar el carácter antigénico de los LPS del core y de las cadenas laterales de las proteínas del germen.

Algunas, particularmente las de 56 y 62 kDa, presentan reactividad antigénica cruzada con ciertas especies de *Enterobacteriaceae* como *Campylobacter*. En lesiones digestivas mediadas por LPS bacterianos, han sido implicados fosfolípidos de bajo peso molecular, como el factor activador plaquetario (PAF), cuya actividad se ha detectado en cultivos de *H. pylori*, con las mismas propiedades biológicas y fisicoquímicas que el PAF liberado por diversas células eucariotas.



3.2.4.5. Identificación bioquímica.

Helicobacter pylori es una bacteria que tiene la capacidad de dedoblar a la urea en una diamina del ácido carbónico por poseer la enzima **ureasa**, el amoniáco reacciona en solución para formar carbonato de amonio, lo que produce alcalinización y aumento del pH en el medio.



También pose en su estructura la enzima **catalasa** que descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno, es una hemoproteína de estructura similar a la hemoglobina, excepto por que los cuatro átomos de hierro de su molécula estan en el estado oxidado (Fe^3), en lugar del estado reducido (Fe^2).

Helicobacter pylori también posee la enzima citocromo oxidasa que son proteínas que contienen hierro y actúan como eslabón de la cadena respiratoria aerobia; transfiriendo electrones al oxígeno, con la formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en microorganismos aerobios o microaerofílicos y anaerobios facultativos de tal forma de la prueba de la oxidasa es importante para identificar microorganismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados.



3.2.4.6. Fisiopatología del *Helicobacter pylori*.

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

Inicialmente puede existir una gastritis antral difusa y los linfocitos emigran a territorio gástrico, hasta los capilares de la lámina propia. Posteriormente puede aparecer una colonización de los folículos con rara infiltración medular. En caso extremo se desarrollará el linfoma tipo MALT gástrico.

4.1.3.6.1 Colonización Gástrica

Helicobacter pylori, posee diversos mecanismos (ej. capacidad para tolerar el pH y la motilidad gástrica) para eludir la acidez y el peristaltismo, que normalmente inhiben la colonización bacteriana. Si bien se desconoce el mecanismo mediante el cual la infección crónica aumenta la producción de ácido, se indica que la inflamación induce un incremento en la producción de gastrina. Además, la bacteria produce grandes cantidades de ureasa, generando amonio que le permite sobrevivir en el medio ácido gástrico. Esta propiedad, se conserva en todas las especies de *H. pylori*, con escasas variaciones entre las diferentes cepas. Las cepas flageladas poseen



mayor facilidad para la inducción y el mantenimiento de la colonización gástrica.

Numerosos estudios confirman que existe una hipergastrinemia inapropiada en pacientes que son *H. pylori* - positivos, especialmente significativa ante un estímulo alimentario. Se ha evidenciado que la gastrinemia basal aumenta, aproximadamente, en un 50 % y la postprandial en un 100 %. Además, se ha demostrado la reducción de los niveles de gastrina tras los tratamientos de erradicación. La hipergastrinemia, asociada a la infección por *H. pylori* en úlcera duodenal, representa una situación paradójica desde el punto de vista fisiopatológico.

De algún modo, *H. pylori* altera los mecanismos reguladores antrales, propiciando la producción inapropiada de gastrina. Se han sugerido diversas hipótesis, para explicar este efecto. Una de ellas supone que la hipergastrinemia es el resultado de la actividad ureasa de la bacteria que llevaría al aumento de la concentración de iones amonio y, como consecuencia, del pH produciendo una señal continua sobre los sensores de pH.

Sin embargo al añadir urea al medio gástrico produce un aumento de la concentración de iones amonio, pero no un aumento paralelo de la gastrinemia. Además, añadir ácido acetohidroxámico, inhibidor de la ureasa, no provoca disminución de la gastrinemia. Otra hipótesis sugiere que la hipergastrinemia observada en pacientes con infección antral por *H. pylori* obedecería a una alteración de la liberación



de gastrina, inducida por los mecanismos lesionales de la gastritis antral.

La alteración estructural, que el *H. pylori* provoca en la mucosa gástrica, puede potenciar los mecanismos ulcerogénicos, como la inhibición de la somatostatina. Una disminución de células D, asociada a la infección por *H. pylori*, sería causa de desregulación en la producción de gastrina observada en la Enfermedad Ulcero Péptica (EUP).

3.2.4.7. Patologías asociadas a *Helicobacter pylori*.

El rol patogénico de *H. pylori* es ejercido a través de sus factores de virulencia y su interacción con el huésped. Existe gran diversidad de cepas de *H. pylori* y un mismo huésped puede portar varias cepas, que a lo largo del tiempo pueden cambiar su genoma. Se ha logrado identificar los genes *cagA* (cytotoxin associated gene A), *vacA* (vacuolating cytotoxin A), *babA* (blood group antigen-binding adhesin), *sabA* (sialic acid-binding adhesin) y *iceA* (induced by contact with epithelium) como factores de riesgo para enfermedades gastroduodenales.



La adhesina BabA favorece la colonización por *H. pylori* al unirse al antígeno del grupo sanguíneo de Lewisb de las células epiteliales gástricas. La adhesina SabA se une al antígeno de Lewisx-sialilado, que es un antígeno tumoral y un marcador de displasia gástrica. Las cepas con el genotipo s1/m1, y en menor grado s1/m2, del gen *vacA* se asocian a una mayor toxicidad y producen una citotoxina vacuolizante. VacA es una citotoxina multifuncional que produce: vacuolización del epitelio, disrupción de la barrera epitelial, apoptosis, acción inmunosupresora local y neoangiogénesis a través de la sobreexpresión de VEGF (vascular endothelial growth factor).

La citotoxina CagA es translocada a las células epiteliales produciendo alteraciones morfológicas celulares, de polaridad y adhesión. La potencia de esta acción depende en parte de la fosforilación de CagA y la capacidad de unión a la fosfatasa SHP-2 a nivel epitelial. Además, CagA estimula la proliferación celular a través de la activación de la vía MAPK (mitogen-activated protein kinase). Los genes de *cag* PAI (pathogenicity island) inducen la producción de interleukina IL-8 en el epitelio gástrico mediante el reconocimiento intracelular del peptidoglicano por la molécula citosólica NOD1 (nucleotide-binding oligomerization domain) y la consecuente activación de los factores de transcripción NF- κ B (nuclear factor κ B) y AP-1 (activator protein-1).

La IL-8, siendo un factor quimiotáctico de polimorfonucleares, juega un papel clave en el inicio de la inflamación local y sus niveles en la mucosa se correlacionan con la severidad de la gastritis. Las cepas



de *H. pylori* que poseen los genes *cagA*, *vacAs1m1* y *babA2* se asocian a un alto riesgo de cáncer gástrico.

3.2.4.7.1. Gastritis.

La gastritis se la puede definir como una inflamación de la mucosa gástrica la cual se la puede clasificar de acuerdo a la patología que presenta puede ser erosiva que va en función a la gravedad de la lesión de la mucosa, según el lugar de afectación ya sea cardias, cuerpo, antro o fondo. También se la puede clasificar de acuerdo a la inducción de células inflamatorias en aguda o crónica.

La gastritis aguda se caracteriza por una infiltración de células polimorfonucleares en la mucosa del antro y del cuerpo mientras que la gastritis crónica se caracteriza por presentar niveles de atrofia o de metaplasma que afecta predominantemente al antro que afecta predominantemente al antro con la pérdida de células de G y disminución de la secreción de gastrina y al cuerpo con la pérdida de glándulas oxínticas, lo que conduce a la reducción de ácido, pepsina y factor entrínseco.

La asociación de *H. pylori* con gastritis crónica es en la actualidad aceptada como la causa más importante de ésta (gastritis B). La gastritis crónica activa que se detecta en el microscopio no puede ser predicha por una apariencia endoscópica en la mayoría de los



casos y no siempre es responsable de los síntomas que el paciente aqueja.

Las implicaciones de esta gastritis tipo B, y su relación con gastritis tipo A, son todavía inciertas especialmente en los pacientes de edad y con respuestas autoinmunes aberrantes. Existe en reflujo gastroesofágico crónico o con la presencia de un esófago de Barret donde se ha producido una metaplasia de la mucosa normal del órgano.

3.2.4.7.2. Úlcera Gástrica

La úlcera producida por este microorganismo cataliza la transformación de la urea en amoníaco, este al mismo tiempo permite al microorganismo sobrevivir en el entorno ácido del estómago, por lo cual se daña la barrera de mucosa y se produce una lesión epitelial.

Las citotoxinas producidas por *H. pylori* se han implicado también en la lesión epitelial del huésped.

La presentación de *H. pylori* ha sido asociada con úlcera gástrica, pero esta no es tan constante como su presencia en gastritis o úlcera del duodeno, el hecho de que en un buen porcentaje de úlceras de estómago se compruebe la presencia de gastritis en forma simultánea, hace que las cifras sean más inciertas, pero se considera que el 80% de los ulcerosos gástricos sean *H pylori* positivos.



El uso de AINE negativiza los resultados positivos de *H pylori* lo que explicaría los resultados tan variables a nivel mundial en cuanto a la presencia de la bacteria en la úlcera duodenal.

Si bien dentro de los factores agresivos, la acidez gástrica es el más importante y alrededor del 90% de las úlceras duodenales curan con agentes antisecretores, existe un porcentaje de recurrencia de la enfermedad que en cifras conservadoras se sitúa en un 50%. La presencia del *Helicobacter pilory* en úlcera duodenal recurrente ha sido objeto de estudios a plazo intermedio y largo siendo el más reciente el de Graham y colaboradores quienes en estudios de recurrencia a dos años con endoscopia periódica demostraron que la reaparición de úlcera duodenal fue mucho menor en los pacientes tomando ranitidina, metronidazol, tetraciclina contra los que tomaron ranitidina 300 mg. únicamente.

El concepto prevaleciente en la actualidad es que el *Helicobacter pylori* forma parte de los factores exógenos que constituyen las fuerzas agresoras que disminuyen algunos de los mecanismos defensivos de la mucosa duodenal, la prevalencia de *H. pylori* oscila según los diferentes estudios entre el 85% y 100%, desde el punto de vista histopatológico se ha encontrado una metaplasia gástrica en el borde de las úlceras duodenales y en las duodenitis, condición que favorece al hipersecreción de ácido y una cronicidad de la enfermedad péptica duodenal.



Un hallazgo interesante en los últimos años es que los portadores de *Helicobacter pylori* asintomáticos presentan un perfil gástrico y de secreción acida análoga a los paciente] ulcerosos duodenales, así mismo ulcerosos duodenales con *H. pylori* hacen curvas postprandiales y basales de ácido más altas que los que no tienen *Helicobacter pylori* en antro, lo cual pudiera ser explicado por la producción local de amonio que eleva el pH de la capa mucosa del antro intralumina. El aumento de la liberación de gastrina produce aumento de la secreción acida que a su vez produce úlcera duodenal por bajo pH duodenal.

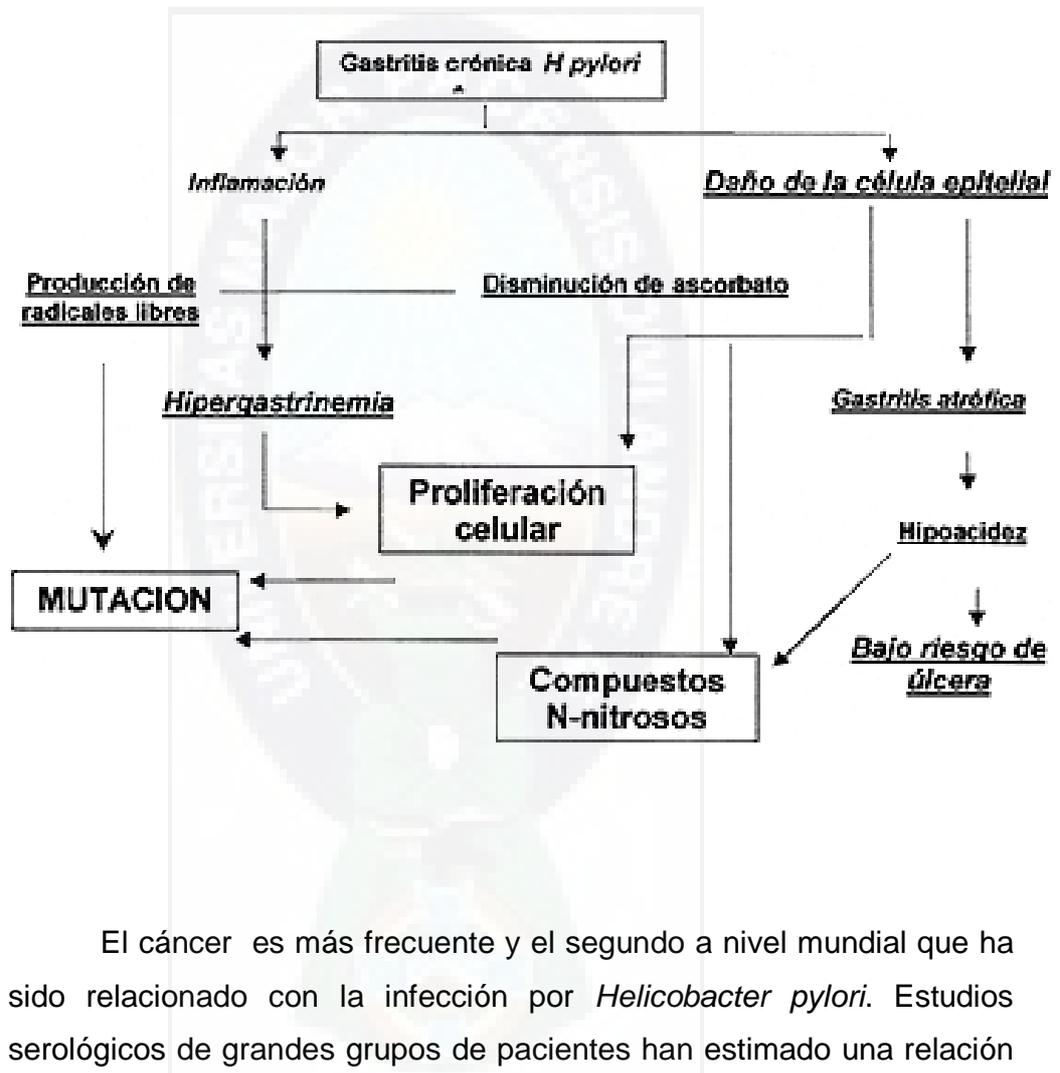
Más recientemente, con estudios seroepidemiológico Aska y colaboradores demostraron una correlación franca entre los niveles de pepsinógenos I y II en suero y antipeptica y las gastritis crónicas cuyo puente de enlace sería la infección crónica.

3.2.4.7.3. Cáncer Gástrico.

Estudios recientes han demostrado que *H pylori* induce autoanticuerpos contra la mucosa gástrica que pueden desempeñar un papel crucial en la patogénesis de la atrofia gástrica. Este fenómeno de autoinmunidad puede desempeñar un papel importante en la carcinogénesis gástrica asociada a la infección por *H pylori*. En cualquier caso, la totalidad de los mecanismos carcinogénicos estaría estrechamente interrelacionada y, posiblemente, su efectividad sería interdependiente.



Figura 2. Probables mecanismos de carcinogénesis en relación con la infección por *H. pylori*. Interrelación e interdependencia.

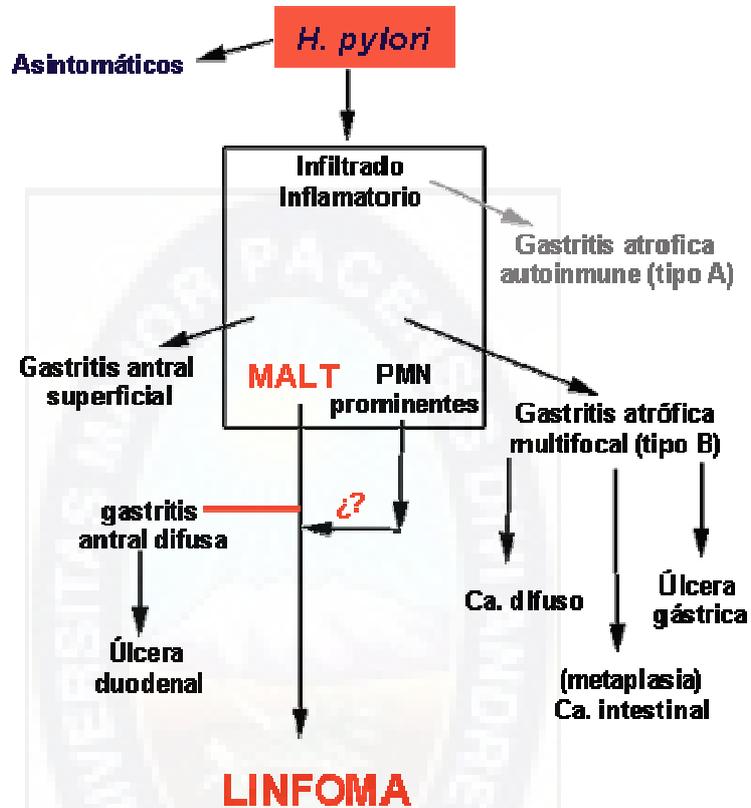


El cáncer es más frecuente y el segundo a nivel mundial que ha sido relacionado con la infección por *Helicobacter pylori*. Estudios serológicos de grandes grupos de pacientes han estimado una relación con cáncer que estadísticamente triplica el riesgo de cáncer, especialmente en población de bajo nivel socioeconómico,



El mecanismo por el cual una infección por *Helicobacter pylori* puede llegar eventualmente pasando por una gastritis crónica de décadas de duración a producir cambios metaplásicos y malignos está esquematizado en el diagrama de Blaser y asociados.

De acuerdo a este modelo el *Helicobacter pylori* que reside en el gel mucoso libera una serie de productos que dan por resultado una inflamación crónica, esta a su vez afecta a largo plazo la secreción gástrica y la función parietal en si, aunque mecanismos supresores inmunológicos pueden interferir e incluso abortar esta cascada, el paso final sin embargo es la producción de una gastritis crónica activa, úlcera duodenal recurrente, úlcera gástrica y atrofia gástrica que eventualmente en un número de casos contribuye o puede ser causal de cambios malignos durante este proceso final de atrofia gástrica que se inicia en el antro, pero que se moviliza rápidamente al cuerpo y fondo, se produce tal grado de atrofia gástrica que no es habitable para la bacteria y lo único detectable a este punto desde el punto de vista diagnóstico son las secuelas inmunológicas en las que se han basado casi todos los estudios que apuntan al *Helicobacter pylori* como agente co-causal del cáncer gástrico.



3.2.4.8. Técnicas Diagnósticas para *Helicobacter pylori*.

Las técnicas de diagnóstico para la identificación de *Helicobacter pylori* pueden dividirse en directas e indirectas. La identificación del microorganismo en la mucosa gástrica por medio de técnicas microbiológicas, como cultivo, reacción en cadena de la polimerasa y estudio histológico, aporta pruebas directas de su presencia. Las pruebas indirectas se basan en las propiedades bioquímicas de la bacteria y, en particular, su



capacidad de hidrolizar urea (como sería las pruebas de urea en el aliento o de ureasa).

Los primeros informes sobre el hallazgo de *H. pylori* se realizaron analizando biopsias gástricas, lo que llevó a definir una serie de métodos diagnósticos basados en el análisis de tejidos, o sea cuyo pre requisito era la gastroscopía y por ende la biopsia, de ahí que esos métodos fueron denominados invasivos; en contra posición con aquellos otros desarrollados más tarde, que no requieren biopsia y que se denominan “no invasivos”

3.2.4.8.1. Métodos Invasivos.

Los métodos invasivos requieren el análisis de biopsias gástricas, ya sea para la búsqueda microscópica de la bacteria, para cortes histológicos, o bien el cultivo y diagnóstico mediante la urea.

3.2.4.8.1.1. Cultivo.

El aislamiento mediante el cultivo de *H. pylori* es sin duda el método más específico en el diagnóstico del microorganismo. No obstante su sensibilidad varía notablemente en relación con diferentes variables como la recogida, transporte y almacenamiento de la muestra, los medios de cultivo utilizados y las condiciones de incubación (porcentaje de CO₂ y humedad, principalmente).



Se puede considerar como un método tedioso e incluso de difícil realización, pero debe efectuarse de rutina si se realiza la endoscopia ya que aporta un gran número de ventajas en el estudio de la bacteria. Entre ellas destaca el conocimiento de la sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, la caracterización de factores de virulencia y la posibilidad del tipificado de cepas con fines epidemiológicos.

La muestra más habitual para el cultivo de *H. pylori* es la biopsia a partir de mucosa gástrica. El microorganismo se encuentra predominantemente en la parte antral del estómago, excepto en individuos tratados con antihistamínicos anti-H₂, en los que se encuentran densidades más grandes en el cuerpo. Se encuentra, igualmente en mayor proporción en el antro gástrico en comparación con duodeno incluso en pacientes con duodenitis.

Algunos estudios mencionan que se deben obtener resultados óptimos por lo que se requieren cuatro biopsias, si bien se acepta de una manera general y de acuerdo con la clasificación modificada de Sydney que para asegurar un diagnóstico suficiente se deben procesar para cultivo al menos una muestra de antro y si es posible dos de cuerpo.

Se han utilizado otras muestras gástricas como jugo gástrico, obtenida mediante la prueba del hilo ("string test") y el aislamiento a partir de vómitos, aportando diferentes resultados. *H. pylori* se ha cultivado puntualmente también de muestras extragástricas como placa dental, esófago, recto y vejiga urinaria.



H. pylori es un microorganismo capaz de crecer en distintos medios de cultivo si bien requiere diferentes factores de crecimiento. Es difícil de cultivar en medio líquido aunque se logra con menor dificultad a partir de caldo de *Brucella*, cerebro-corazón, Mueller-Hinton y tripticasa soja, todos ellos suplementados con nutrientes, siendo el más común el suero bovino fetal.

Los medios de cultivo sólidos base más frecuentes son agar Mueller-Hinton y agar Columbia y los suplementos más comúnmente empleados son la sangre o derivados de ella. Otros suplementos son el suero de caballo, lisado de eritrocitos y hemina, extracto de levadura, peptona, e Isovitalex, si bien los resultados no son mejores que los obtenidos con suero bovino fetal o sangre. Recientemente se ha mostrado prometedor en el cultivo del microorganismo un extracto obtenido de cianobacterias.

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

Con el objeto de evitar el sobrecrecimiento de contaminantes que pueden acompañar a *H. pylori* en la biopsia es necesaria la utilización de inhibidores que no afecten su viabilidad. *H. pylori* es resistente *in vitro* a la vancomicina, sulfametoxazol, trimetoprim, cefsulodina y



polimixina B, los cuales pueden utilizarse en los medios selectivos para su aislamiento.

3.2.4.8.1.2. Criterios de Incubación.

H. pylori es un microorganismo microaerófilico que requiere para su crecimiento una atmósfera con las siguientes características: 5-10% de O₂, 5-10% de CO₂ y 80-90% de N₂ a 35-37°C, una humedad del 95% y una incubación de hasta 10 días antes de considerar negativo el cultivo. Estas condiciones se obtienen bien utilizando cabinas de microaerofilia o con sobres comerciales que proporcionen las características anteriores. Estos últimos proporcionan resultados muy buenos pero tienen como inconveniente la necesidad de reemplazar los sobres una vez abiertas las jarras.

3.2.4.8.1.3. Detección Microscópica.

La forma curvada característica de *Helicobacter* hace que su observación en un frotis pueda utilizarse como diagnóstico presuntivo. Esta observación puede realizarse en tinciones directas de la biopsia o en cortes histológicos, en ambos casos con tinciones como Gram, hematoxilina-eosina, impregnaciones argénticas y recientemente se ha utilizado con mucho éxito la coloración con azul de toluidina.



Este último colorante permite una fácil identificación de la bacteria ya que ésta se colorea intensamente, metodología ideada por A. Delgado en el Laboratorio del Dr. P. Correa. La observación microscópica de la bacteria, aun en muestras teñidas con hematoxilina eosina, guarda una buena correlación con su aislamiento.

3.2.4.8.2. Métodos No Invasivos.

Los métodos en los cuales no se requiere biopsia han sido denominados no invasivos los dos más utilizados son la serología y la prueba del carbono marcado en el aliento del paciente. Sin embargo, recientemente se ha diseñado una prueba para la detección de antígenos de *Helicobacter* en las heces del paciente, cuya correlación es excelente con respecto al hallazgo de la bacteria en la biopsia.

Los métodos serológicos desarrollados permiten la evaluación del nivel de anticuerpos en sangre total, en saliva y en orina. Estos métodos permiten realizar encuestas serológicas a bajo costo, pero no permiten dar seguimiento post tratamiento al paciente, ya que los anticuerpos suelen permanecer elevados entre 24 y 48 meses después del tratamiento; aunque manteniendo un suero control pre-tratamiento es posible un seguimiento mediante un ELISA cuantitativo.



La detección de carbono marcado con un isótopo, se basa en suministrar al paciente una dosis de urea marcada con un isótopo, C13 o C14. Este último no es radioactivo, por lo que se centran las esperanzas en él como prueba general, aunque es una prueba cara para países en desarrollo. Si el paciente está infectado la bacteria hidroliza la urea en el estómago liberando CO2 con el isótopo que es detectado en el aliento del paciente.

Por otro lado, las pruebas de PCR han permitido la identificación del genoma de la bacteria en saliva, placa dental y heces, aparte de los tejidos gástricos, por lo que estas pruebas bien podrían considerarse tanto como métodos diagnósticos no invasivos o invasivos, según la muestra empleada.

Finalmente, la prueba que parece ideal tanto para evaluar la evolución postratamiento, como para investigaciones epidemiológicas y que vendría a aclarar la vía de diseminación de este agente, es la identificación de antígenos de *Helicobacter* en heces del paciente, lo cual se ha realizado mediante pruebas inmunoenzimáticas.

3.2.4.9. Tratamiento para *Helicobacter pylori*.

En los últimos años se han realizado diferentes reuniones de consenso sobre la infección por *H. pylori*. Entre ellas destacan la del Instituto Nacional de Salud de EE.UU. por ser el primero que



recomendó el tratamiento erradicador en pacientes infectados por *H. pylori* y úlcera duodenal, pero también las que se realizaron en Canadá en 1997 y 1999, el Consenso Asiático (Asia Pacific Consensus Conference, 1999), el Consenso Latino-americano (2000), el Consenso Europeo (Europeo: Maastrich Consensus, 1997 y 2000), y el Consenso Español (1999).

El Consenso de Maastrich del año 2000 considera que existe una indicación clara de tratamiento en el caso de:

- a. enfermedad ulcerosa péptica: duodenal activa o cicatrizada, gástrica o complicada.
- b. linfoma MALT de bajo grado,
- c. gastritis atrófica,
- d. resección después de cáncer gástrico.

El Consenso Español realizado en 1999 recomienda también tratamiento en la duodenitis erosiva y el de Maastrich considera una indicación clara para diagnosticar y tratar:

- a. los familiares en primer grado de pacientes con cáncer gástrico,
- b. por deseo del paciente.

Sería una indicación posible de tratamiento los pacientes con dispepsia funcional, con enfermedad por reflujo gastroesofágico o los pacientes que toman AINEs aunque estos temas son más discutibles.



3.2.4.9.1. Pautas del Tratamiento.

Las pautas de tratamiento para erradicar *H. pylori* combinan 2 o 3 antimicrobianos junto con un compuesto anti-ulceroso, que permite modificar el pH para que actúe el antibiótico. Numerosos antimicrobianos han demostrado actividad *in vitro* frente a *H. pylori*. Sin embargo, cuando se han aplicado en pautas de tratamiento han demostrado escasa actividad. Entre los antimicrobianos que han mostrado buena utilidad clínica se encuentran: amoxicilina, tetraciclina, metronidazol y claritromicina. La furazolidona, rifabutina o las fluoroquinolonas son otras opciones terapéuticas.

Entre los compuestos anti-ulcerosos se han utilizado con preferencia inhibidores de la bomba de protones (IBP) (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol), seguido de compuestos de bismuto (citrato de bismuto, salicilato de bismuto, RBC: ranitidina citrato de bismuto) y en mucha menor frecuencia los antagonistas de los receptores H₂ (ranitidina, cimetidina, famotidina, etc).

La duración de la terapia habitual ha sido de 7 a 10 días, aunque algunos autores han probado pautas cortas, de 3 a 5 días que incluyen 3 antibióticos y otros recomiendan pautas largas, de más de 10 días.



Antes de iniciar un tratamiento se debe considerar el porcentaje de resistencia a los antimicrobianos en esa población o área geográfica. Se recomienda un tratamiento triple con un IBP y dos antimicrobianos como primera opción. Si este tratamiento falla, se debe evitar repetir dos veces la misma pauta y se recomienda realizar estudios microbiológicos antes de iniciar una nueva pauta.

La primera pauta eficaz utilizada fue la "triple clásica" que asocia un imidazol (metronidazol o tinidazol) con tetraciclina y amoxicilina durante dos semanas. Ésta fue sustituida por otras que combinan un IBP (normalmente omeprazol) con dos antibióticos (fundamentalmente amoxicilina, claritromicina y metronidazol). Son más fáciles y cómodas para el paciente, logrando tasas de erradicación superiores al 90%.

La asociación de un IBP (generalmente omeprazol) con claritromicina y amoxicilina (conocida como la OCA) es la pauta más utilizada. También se puede utilizar una triple terapia con un IBP, amoxicilina y metronidazol.

Es preferible reservar la pauta que incluye IBP con metronidazol y claritromicina como de segunda línea para evitar que se pueda desarrollar resistencia a los dos antimicrobianos.

La combinación de un IBP y dos antibióticos con las sales de bismuto se conoce como "terapia cuádruple", alcanza altas tasas de erradicación pero debe reservarse también para cuando fallen otras terapias. Recientemente se han propuesto pautas que asocian un IBP con fármacos como rifabutina o levofloxacino y amoxicilina, aunque con ellas se tiene todavía poca experiencia.



3.2.4.9.2. Causas del Fracaso del tratamiento.

En el fracaso del tratamiento pueden intervenir factores relacionados con el mismo tratamiento, factores del paciente y factores de las cepas. Entre los primeros podemos citar las dosis inadecuadas, una duración incorrecta del tratamiento y el tipo y la dosis del inhibidor de la bomba de protones utilizado. Entre los factores del paciente destaca el cumplimiento del tratamiento (por el elevado número de dosis, por los efectos secundarios, etc) y el país donde se realizó el ensayo. Entre los factores del microorganismo es muy importante la resistencia a los antibióticos y quizá las características particulares de la cepa.

El desarrollo de resistencia a amoxicilina y tetraciclina es poco frecuente. Sin embargo, la resistencia al metronidazol es muy elevada en algunas poblaciones y a la claritromicina está aumentando en diferentes poblaciones, siendo un problema cada vez mayor.

La infección por cepas resistentes a claritromicina o a metronidazol supone una importante contrariedad porque se relaciona con fallo del tratamiento.

3.2.4.10. Pruebas de Sensibilidad a Antimicrobianos.

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



Actualmente existe una recomendación del *Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) que aconseja el método de dilución en agar y establece puntos de corte para claritromicina. Sin embargo, la *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) recomienda difusión con E-test. Por último, la difusión con disco también se ha utilizado por diferentes autores.

3.2.4.10.1. Dilución en Agar.

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

1. Medio: Mueller-Hinton agar suplementado con 5% de sangre de carnero (de más de 2 semanas).
2. Inóculo: Preparar un 2 de MacFarland (1×10^7 a 1×10^8 ufc/mL) en solución salina a partir de un subcultivo de 72 horas de *H. pylori* en agar sangre.
3. Incubación: 3 días en atmósfera microaerófila producida con sobre generador de gas válido para *Campylobacter*.
4. Se debe utilizar la cepa control *H. pylori* ATCC 43504 para la que existen límites aceptables de valor de CMI de: amoxicilina (0,016-0,12 mg/L), claritromicina (0,016-0,12 mg/L), metronidazol (64-256 mg/L), telitromicina (0,06-0,5 mg/L) y tetraciclina (0,12-1,0 mg/L).



5. El punto de corte de resistencia a claritromicina es considerando que el antibiótico se utiliza en una de las pautas aprobadas por la FDA junto con un inhibidor de la bomba de protones o ranitidina-citrato de bismuto.

3.2.4.10.2. Difusión con E – TEST.

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

1. Medio de cultivo: Mueller-Hinton o Wilkins-Chalgren suplementado con 5-10% de sangre de caballo.
2. Inóculo: resuspender colonias de un cultivo de 2 a 3 días de incubación en agua destilada estéril y ajustar a un 3 de McFarland, e inocular la superficie de una placa con una torunda empapada en esta suspensión. Aplicar la tira de E-test después de dejar que se seque el inóculo aplicado.
3. Incubación: a 35°C en microaerofilia durante 3 a 5 días y leer la CMI como el punto en el que existe una inhibición completa del microorganismo.



4. Los puntos de corte de resistencia se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 1. Puntos de corte recomendados por la NCCLS o por la BSAC.

Método	NCCLS			BSAC	
	Dilución en agar			E-test	
	Punto corte (mg/L)			Punto corte (mg/L)	
	S	I	R	S	R
Amoxicilina				≤ 1	≥ 2
Clarithromicina	≤ 0.25	0.5	≥ 1	≤ 1	≥ 2
Tetraciclina				≤ 2	≥ 4
Metronidazol				≤ 4	≥ 8

3.2.4.10.3. Difusión por Discos.

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



2002 realizó una revisión de los estudios en los que se había utilizado difusión con disco, recomendando:

1. Medio de cultivo: Mueller-Hinton o Columbia suplementado con 5 a 10% de sangre (de caballo o carnero).
2. Inóculo: preparar un inóculo de un 4 de McFarland (10^8 ufc/mL) a partir de un cultivo de menos de 4 días de incubación.
3. Concentración de discos y puntos de corte: para metronidazol recomienda utilizar un disco de 5 μ g y considera resistente si el halo es <16 mm, intermedio si 16-21 mm y sensible si >21 mm. En las cepas con sensibilidad intermedia se recomienda la realización de un método de determinación de CMI. Para claritromicina es preferible la utilización de un disco de 2 μ g considerando resistente cuando no existe halo de inhibición. También se puede utilizar un disco de 15 μ g de claritromicina y considerar resistente si el halo es de <18 mm.



3.2.4.11. Características de las Plantas en Estudio.

La cultura tradicional esta conformada por curanderos itinerantes, considerados como *especialistas médicos de gran renombre* (Araucaria 2004), por poseer un vasto conocimiento en especies herbáceas y sustancias relacionadas con la farmacopea tradicional (Girault 1987).

Este oficio ambulante permitió un despliegue extenso de la práctica de la medicina tradicional, así lo menciona Girault (1987), pues cierta fama de curanderos que curan *lo incurable* trascendió tanto fronteras cercanas hasta ciudades como Tokio, París, Berlín y Roma. Su relevante trayectoria ha llevado al reconocimiento de la cosmovisión andina a través de la declaración por la UNESCO, como patrimonio oral e intangible de la humanidad (Loza 2005).

Actualmente, la práctica médica tradicional utiliza un gran número de especies herbáceas y una farmacopea natural entremezcladas con elementos mágicos empleados en rituales, que representan a la simbología andina (Fernández 1999).

En el Ecosistema Andino de Bolivia, Perú, Chile y principalmente en la Región Inka, se desarrolla un importante germoplasma vegetal de vida silvestre y con propiedades curativas reportadas por la Medicina Tradicional y la Etnobotánica. Entre muchas de ellas se menciona a la "Cjuñuca", "Cjuñu muña" u "Orégano de los Incas" sinónimos populares atribuidas a una de las especies de la Familia Lamiaceae, *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y la del Condorcillo mejor conocido como Matico (*Piper elongatum*).



3.2.4.11.1. *Clinopodium bolivianum*.

Planta subarborescente, perenne, cuya altura promedio fluctúa entre los 60-80 cm. de longitud. Hojas pequeñas muy aromáticas. Florea abundantemente después de la estación lluviosa.

Se ha realizado el estudio Botánico, Etnobotánico y Físico Químico de la *Clinopodium bolivianum* (Satureja boliviana) que validan científicamente sus propiedades farmacológicas: antisépticas, antiespasmódicas, analgésicas, antiescabióticas, etc.

3.2.4.11.1.1. Nombres populares.

Khoa, Martin muña, pampa muña, muña, té de los incas, té de indio, poleo (Girault.1987, Oblitas 1992 Corre et al 1994)

3.2.4.11.1.2. Situación taxonómica.

La ubicación taxonómica de la especie, según el Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist, (1981) es la siguiente:



REYNO: Vegetal

DIVISION: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

Sub-CLASE: Asteridae

ORDEN: Lamiales

FAMILIA: Lamiaceae

GENERO: Satureja

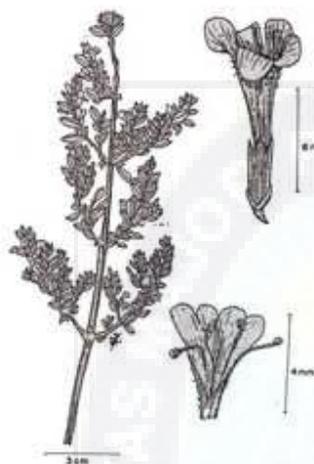
ESPECIE: Satureja boliviana

3.2.4.11.1.3. Origen y Distribución.

Esta planta es originaria de las zonas montañosas del altiplano boliviano como también del peruano.



3.2.4.11.1.4. Descripción botánica.



Arbusto que alcanza una altitud de hasta 1.5 metros, el cual presenta un tallo racemoso, hojas pecioladas, lanceoladas, cuyas flores son solitarias axilares.

3.2.4.11.1.5. Composición química.

En cuanto a su composición química no existen estudios anteriores por lo que la información que se tiene en la actualidad es muy poca.

3.2.4.11.1.6. Usos tradicionales.

Esta planta ha sido empleada milenariamente por nuestros antepasados dándole múltiples usos, inclusive ha sido confundida en la actualidad con otras especie de la misma familia, la "Muña" *Minthostachys spicata* que en términos cualitativos, cuantitativos y de rendimiento del aceite esencial *Satureja boliviana* le supera.



Ha sido posible rescatar del conocimiento tradicional de los pobladores de la zona lo siguiente:

- Recomendable contra los dolores de estómago, cólicos y empachos, tomar la infusión o el cocimiento de la hierba. Tomar la infusión de la hierba con un poco de licor en el tratamiento de las indigestiones que causan dolores de estómago.
- Para contrarrestar los dolores de cabeza y los mareos, tomar la infusión de la planta.
- Para provocar la expulsión de las lombrices intestinales, tomar la infusión.
- Se emplea como condimento.
- Planta de efecto carminativo.
- Preserva los tubérculos andinos del ataque de gusanos y de hongos.



3.2.4.11.2. *Piper elongatum*.

El matico es una planta nacional de grandes virtudes medicinales.

Sin embargo, su fama ha trascendido poco fuera de nuestras fronteras y, por esta razón, la información química y farmacológica existe muy poco.



Sin duda, la principal propiedad medicinal de esta planta es la de ayudar en la cicatrización de todo tipo de heridas, ya sea externas o internas. De aquí deriva su utilidad en el tratamiento de la úlcera digestiva. Externamente, su efecto benéfico sobre heridas de lenta cicatrización es muy sorprendente, lo que ha contribuido en mayor medida a su gran reputación. El Padre Zinn (1929) le reconoce, además, bondades hemostáticas y un efecto benéfico en algunos trastornos de las vías urinarias. Sin embargo, la principal -y que parece útil mantener en primer lugar- es su propiedad vulneraria, vale decir, cicatrizante de heridas.

El matico es una planta nacional de grandes virtudes medicinales. Sin embargo, su fama ha trascendido poco fuera de nuestras fronteras y, por esta razón, la información química y farmacológica existe casi exclusivamente en Chile.



El componente más importante, desde el punto de vista cuantitativo, y al que se atribuye en parte sus virtudes cicatrizantes, es el tanino (Gautier, 1956; Zinn, 1929; Montes y Wilkomirsky, 1985). Esta sustancia se encuentra en una concentración de 5,7%.

Otros constituyentes importantes son varios tipos de alcaloides, a los que se les atribuye un efecto relajador de la musculatura lisa (Montes y Wilkomirsky, 1985). Por último, se señala la presencia de numerosos glucósidos, especialmente de tipo flavonoides.

3.2.4.11.2.1. Nombres populares.

Matico, Mocco mocco,
Condorcillo





3.2.4.11.2.2. Origen y Distribución.

Abunda de manera especial en el Perú, Ecuador, Bolivia, Paraguay, Brasil y norte de Argentina, prefiere los lugares húmedos en las orillas de los riachuelos, en los fangos, etc. Se adapta fácilmente a cualquier clima.

En el Santuario Nacional de Ampay, se ha encontrado hasta los 3500 m. de altitud, también en el valle del Mariño que se encuentra a unos 2000 m. de altitud.

3.2.4.11.2.3. Descripción botánica.

Esta planta alcanza una altura entre 1 a 3 metros, es dicotiledónea, presenta un tallo cilíndrico ramificado, sus hojas son opuestas de color verde brillante de apariencia muy rugosa y con nervaduras sobresalientes presenta una espiga simple con flores pequeñas, su fruto es una drupa.

Su tallo es leñoso, nodoso, ramificado y verde o gris pálido; hojas alternas, pecioladas, simples, coriáceas, ásperas, con 5 nervaduras. Inflorescencia axilar o terminal en espigas de hasta 15 cm; flores pequeñas sésiles e imperceptibles a la vista y con un olor característico, por lo que se le utiliza en la jardinería como planta ornamental.



3.2.4.11.2.4. Composición química.

El componente más importante, desde el punto de vista cuantitativo, y al que se atribuye en parte sus virtudes cicatrizantes, es el tanino (Gautier, 1956; Zinn, 1929; Montes y Wilkomirsky, 1985). Esta sustancia se encuentra en una concentración de 5,7%.

Otros constituyentes importantes son varios tipos de alcaloides, a los que se les atribuye un efecto relajador de la musculatura lisa (Montes y Wilkomirsky, 1985).

Por último, se señala la presencia de numerosos glucósidos, especialmente de tipo flavonoides.

Entre sus componentes químicos tenemos a:

- Triterpenos
- Sustancias volátiles.
- Flavonoides

3.2.4.11.2.5. Usos tradicionales.

Desde tiempos muy remotos se ha usado como un excelente atenuante de dolores reumáticos, artríticos, desinflamante de hematomas superficiales, enfermedades broncopulmonares, etc haciéndose baños de vapor con el Matico.



Destacamos entre ellas la cicatrización de heridas, tanto internas como externas, que es la función principal que presenta; de ahí su demandado empleo para el alivio de las úlceras digestivas.

Los trastornos gástricos o infecciones hepáticas también pueden verse mejoradas gracias a los beneficiosos efectos que produce.

En pomada: primero se macera la planta, consiste en dejar en alcohol las hojas durante aproximadamente seis días. Después se añade vaselina elaborada al baño maría y la pasta resultante es lo que se aplica sobre la herida.

Cocida: la planta se deja hervir durante un cuarto de hora en abundante agua y al enfriarse podemos emplearla para desinfectar las heridas. Lo mismo ocurre con compresas o vendajes, los empapamos con el agua y colocamos en la zona a tratar.

Infusión: a una hoja picada se le agrega agua hirviendo. Debemos beberla tras las comidas y será muy eficaz frente a los trastornos digestivos.



4. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo General.

Aislamiento y evaluación de la actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y *Piper elongatum* (Matico) utilizando el método Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) por dilución en agar en el Hospital Arco Iris de la ciudad de La Paz durante los meses de Agosto 2008 a Enero de 2009.

4.2. Objetivos Específicos.

1. Aislar é Identificar a *Helicobacter pylori* de muestras de biopsias gástricas obtenidas por el servicio de Gastroenterología del Hospital Arco Iris de la ciudad de La Paz.
2. Determinar la frecuencia de aislamiento de *Helicobacter pylori* mediante el cultivo bacteriológico, a partir de biopsias gástricas de pacientes que acuden al servicio de Gastroenterología del Hospital Arco Iris de agosto de 2008 a enero de 2009.
3. Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria para la Claritromicina y Tetraciclina de cepas aisladas de *Helicobacter pylori*, en el laboratorio de microbiología del Hospital Arco Iris.
4. Evaluar la actividad anti-*Helicobacter pylori* del extracto diclorometánico de *Clinopodium bolivianum* (Khoa). de cepas aisladas, en el laboratorio de microbiología del Hospital Arco Iris.
5. Evaluar la actividad anti-*Helicobacter pylori* del extracto hidroalcohólico de *Piper elongatum* (Matico), de cepas aisladas en el laboratorio de microbiología del Hospital Arco Iris.



5. HIPÓTESIS.

- Se puede determinar la Concentración Mínima Inhibitoria para la Claritromicina y Tetraciclina de cepas aisladas de *Helicobacter pylori*, en el laboratorio de microbiología del Hospital Arco Iris.
- El extracto diclometánico de *Clinopodium bolivianum* (*Khoa*) tiene actividad anti – *Helicobacter pylori*.
- El extracto hidroalcohólico de *Piper elongatum* (*Matico*) tiene actividad anti – *Helicobacter pylori*.



6. DISEÑO METODOLOGICO.

6.1. Población.

Para la selección de pacientes se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

6.1.1. Criterios de inclusión.

- Se considero a todos los pacientes que acudieron al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris en los meses de Agosto de 2008 a Enero de 2009

6.1.2. Criterios de Exclusión.

- Pacientes menores de 10 años
- Pacientes que presentan problemas neurológicos a la endoscopia.
- Pacientes que presentan problemas respiratorios



6.2. Tamaño de la Muestra.

Para la realización del presente trabajo se estudio a 75 pacientes.

6.3. Métodos, Técnicas y Procedimientos.

6.3.1. Tipo de Investigación.

La investigación realizada es de cohorte transversal.

6.3.2. Metodología de Investigación.

6.3.2.1. Toma de Muestra.

La toma de muestra fue realizada por un profesional medico con especialidad en endoscopia y gastroenterología, quien con el empleo del endoscopio y con la ayuda de los fórceps o pinzas obtuvo biopsias gástricas de antro pilórico de pacientes en ayunas que estén sin previa medicación antimicrobiana. (Anexo 1)

6.3.2.2. Recolección de la Muestra.

La muestra se depositada en Caldo Urea ó Agar Urea de Cristensen, la cual es llevada inmediatamente al laboratorio de Microbiología del Hospital Arco Iris. (Anexo 2)



6.3.2.3. Cultivo.

6.3.2.3.1. Preparación de la muestra.

Una vez que se recepcionaron las muestras de biopsia en el laboratorio, con la ayuda de un hisopo estéril se procedió a estrujar la muestra de biopsia presionándola contra las paredes del tubo, la cual es inmediatamente sembrada en el medio de cultivo. (Anexo3)

6.3.2.3.2. Medio de cultivo.

El medio de cultivo empleado es el Agar Base Columbia suplementada con el 5% de sangre de carnero, isovitalex al 1%, más *Helicobacter pylori* Selective Supplement (Dent).

6.3.2.3.3. Siembra de la Muestra.

La siembra se la realizó por estría de agotamiento en pentágono para la obtención de colonias aisladas. (Anexo 4)

6.3.2.3.4. Incubación.

Las placas se incubaron en jarras de microanaerobiosis por 5 días a 37°C, la atmósfera microaerofílica puede generarse con sobres generadores de CO₂ y N₂ como el CampyPak o con el sobre empleado



para anaerobiosis, la atmósfera también se puede generar con una vela encendida y una tableta efervescente de antiácido, tipo Alka-Seltzer®, la cual se coloca en 5 ml de agua en un frasco y se cierra la jarra. (Anexo 5)

6.3.2.4. Identificación.

6.3.2.4.1. Observación Macroscópica.

A los cinco días de incubación de una muestra positiva al Clo-Tets se observó si había o no desarrollo en las placas. Si no había desarrollo se esperó 5 días más antes de desechar la placa.

6.3.2.4.2. Observación Microscópica.

La tinción de Gram ayudó a la identificación de la bacteria, pues como indicábamos previamente se trata de un bacilo curvo, Gram negativo.

6.3.2.4.3. Prueba de la Catalasa.

Para la realización de esta prueba se tomó colonias sospechosas de *Helicobacter pylori* en un porta objetos sobre ellas se coloca una gota de peróxido de hidrógeno y se observa el burbujeo.



6.3.2.4.4. Prueba de la Oxidasa.

La prueba de la oxidasa se la puede realizar de dos maneras si se cuenta con discos de oxidasa se realiza una suspensión en solución fisiológica de la bacteria y se coloca un disco de oxidasa y se espera el cambio de color del disco.

También se puede realizar utilizando papel filtro empapado con tetrametil – p – fenilendiamina dihidroclorhidrico al 1% sobre una placa de vidrio con un aplicador se coloca colonias de *H. pylori*

6.3.2.4.5. Prueba de la Urea.

En agar urea en pico de flauta se sembró colonias de sospechosas de *Helicobacter pylori* se dejo en la estufa a 37 C por 24 horas y se observó el cambio de color.

6.3.2.5. Determinación del Porcentaje de DMSO.

En el Test de DMSO (Dimetil Sulfoxi) se realizo el porcentaje a la concentración a la cual la bacteria soportaba dicho solvente, esto para la utilización de los extractos en estudio.



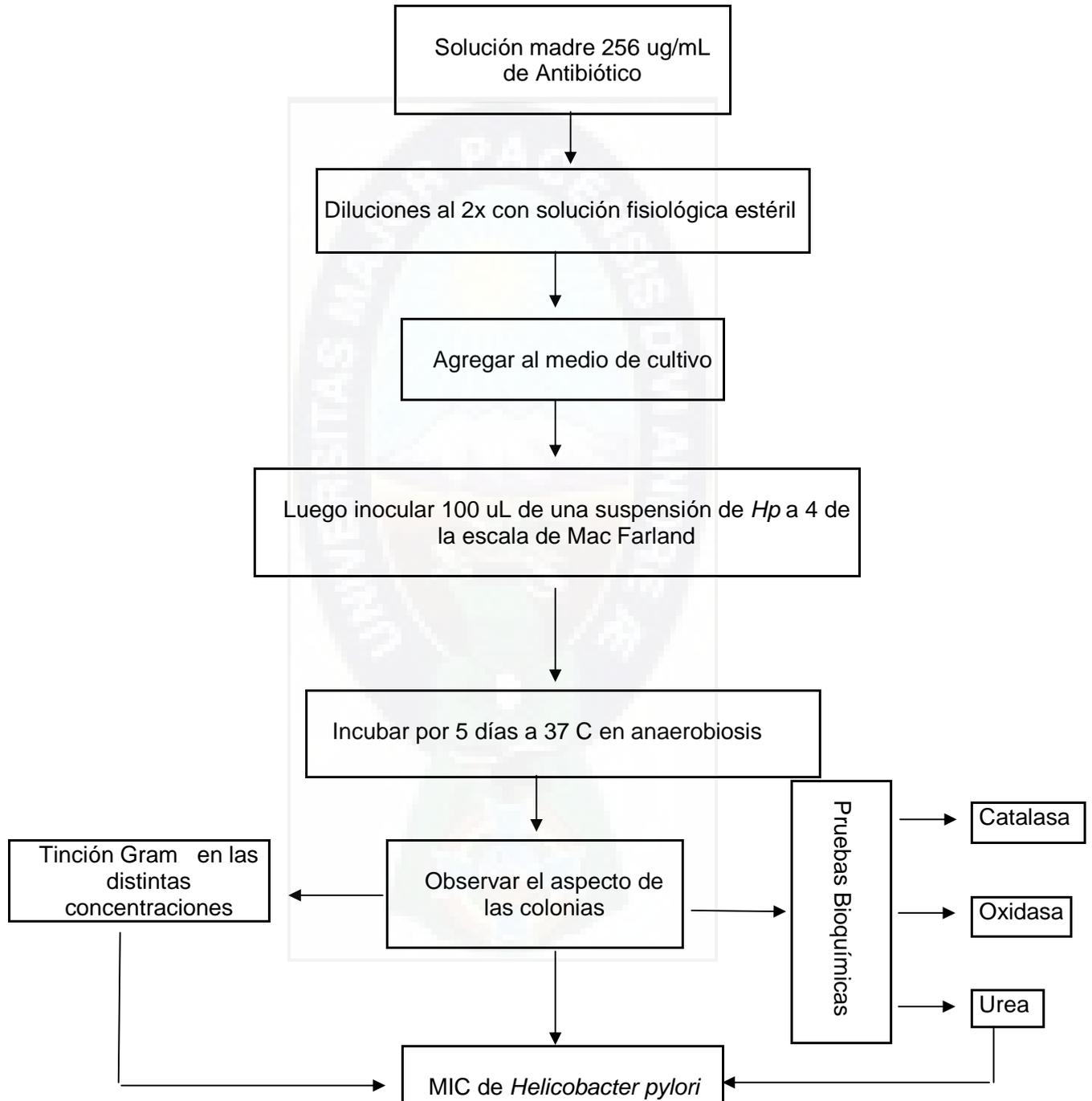
6.3.2.6. Concentración Mínima Inhibitoria.

Para la realización del MIC por dilución en agar se realizó lo siguiente:

- Primeramente se preparó el medio de cultivo Agar Muller Hinton el cual es llevado al autoclave por 15 minutos a 121°C, una vez que salió del autoclave se atemperó a 50°C y se añadió sangre de carnero al 5% desfibrinada.
- Inmediatamente se preparó la solución madre del antibiótico químicamente puro empleado o el extracto ya disuelto en DMSO en diluciones al 2x en viales.
- Una vez que se tuvo las disoluciones preparadas se le añadió 4900 uL del medio Muller Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada é inmediatamente se vació a las cajas petri de 6 cm.
- Una vez que el medio se encontraba gelificado se procedió a inocular 100 uL de una suspensión de *Helicobacter pylori* comparando la turbidez con el tubo 4 de la escala de Mac Farland.
- Una vez realizado el procedimiento se llevo a anaerobiosis por 5 días.
- Pasado el tiempo se observó los resultados.

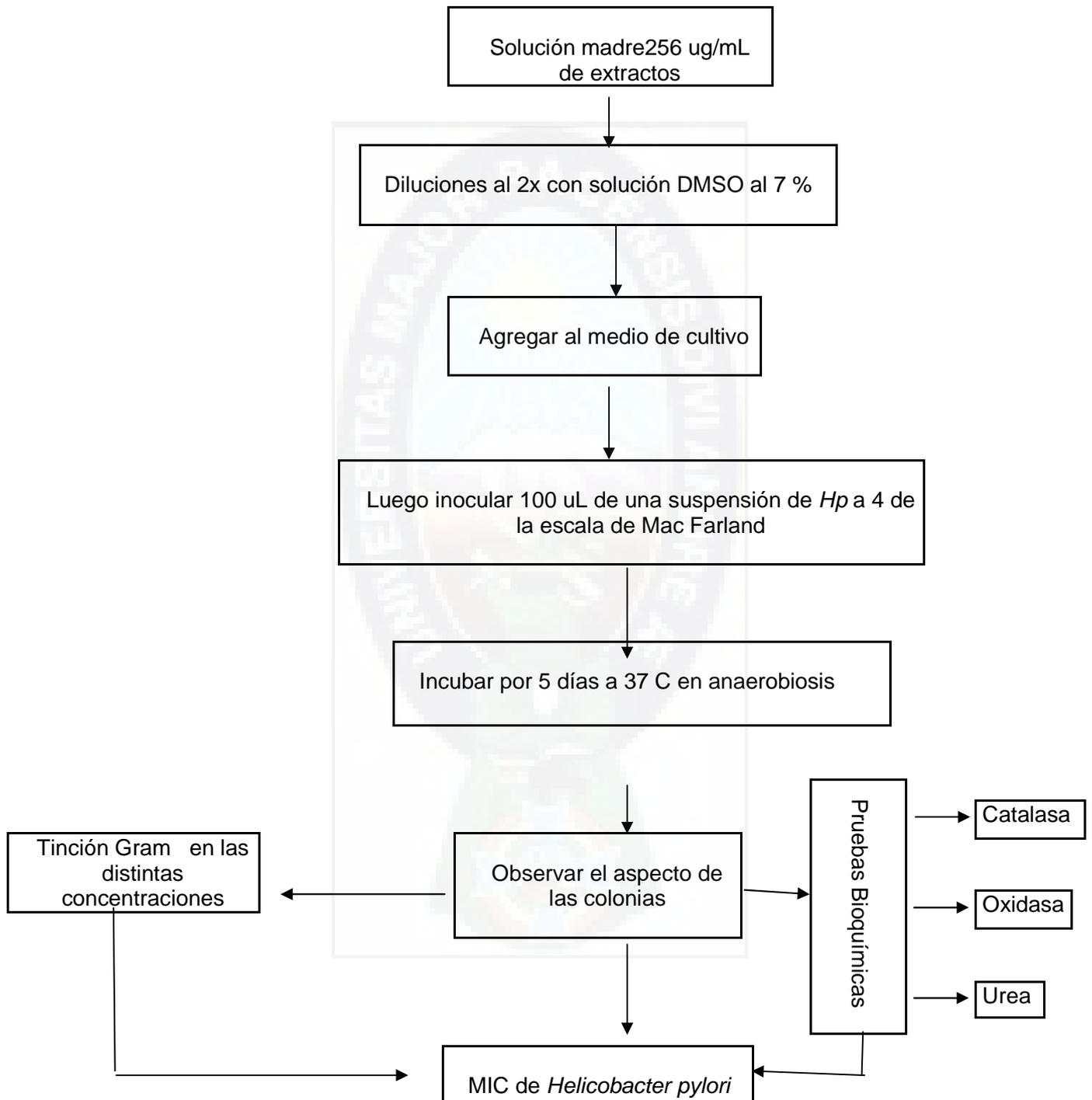


Concentración Mínima Inhibitoria con Antibióticos.





Concentración Mínima Inhibitoria con los Extractos.





7. RESULTADOS.

Tabla 1.

**Frecuencia de pacientes según edad y sexo que acuden al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris.
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009**

Sexo	EDAD					TOTAL
	18-28	28-38	38-48	48-58	58-68	
Masculino	5	8	7	2	4	26
	6.66%	10.66%	9.33%	2.66%	5.33%	34.64%
Femenino	15	14	6	9	5	49
	20.00%	18.66%	8.00%	12.00%	6.66%	65.36%
TOTAL	20	22	13	11	9	75
	26.66%	29.33%	17.33%	14.66%	12.00%	100%

Gráfica 1.

**Frecuencia de pacientes según edad y sexo que acuden al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris.
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009**

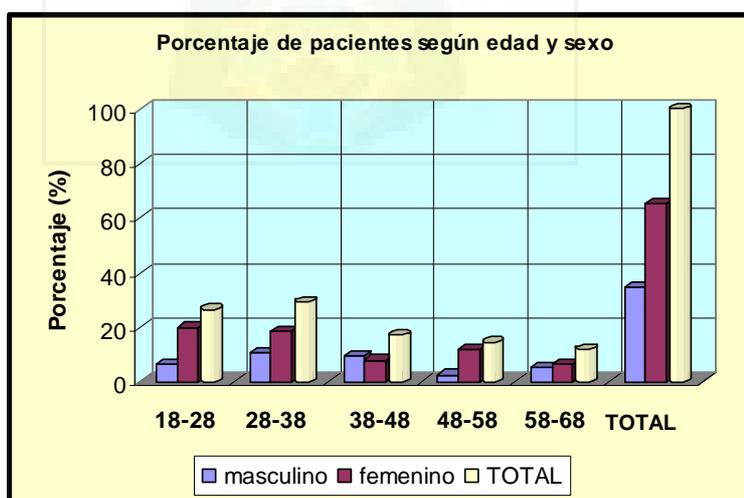




Tabla 2.

**Frecuencia de pacientes que acuden al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris según diagnóstico clínico
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009**

Diagnóstico	Relativo	Absoluto
Gastritis	36	48%
Úlcera	8	11%
Reflujo biliar	6	8%
Otros	25	33%
TOTAL	75	100%

Gráfica 2

**Frecuencia de pacientes que acuden al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris según diagnóstico clínico
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009**

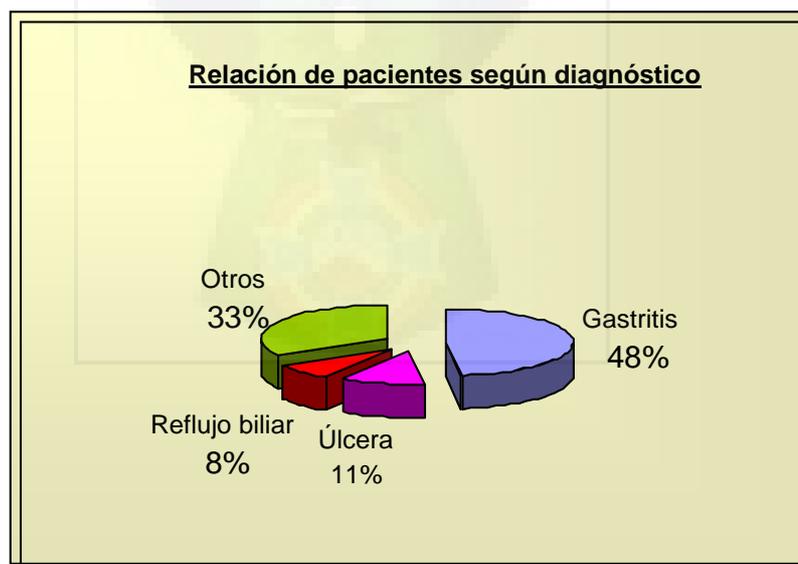




Tabla 3.

Frecuencia de pacientes que acuden al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris según diagnóstico clínico específico.

La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

Diagnóstico Específico	Relativo	Absoluto
Gastropatía Atrófica	10	13%
Gastropatía Nodular	3	4%
Gastropatía Verrucosa	3	4%
Gastropatía Erosiva	5	7%
Gastropatía Petequial	10	13%
Gastropatía Eritematosa	3	4%
Gastropatía Superficial	2	3%
Úlceras Duodenales	3	4%
Úlceras Gástricas	5	7%
Reflujo Biliar	6	8%
Otros	25	33%
TOTAL	75	100%

Gráfica 3

Frecuencia de pacientes que acuden al servicio de gastroenterología del Hospital Arco Iris según diagnóstico clínico específico.

La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009





Tabla 4.

Análisis Test de Ureasa a partir de biopsias gástricas para la identificación de *Helicobacter pylori*.

La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

Test de Ureasa	Relativo	Absoluto
Positivo	39	52%
Negativo	36	48%
TOTAL	75	100%

Gráfica 4.

Análisis del Test de Ureasa a partir de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori*.

La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

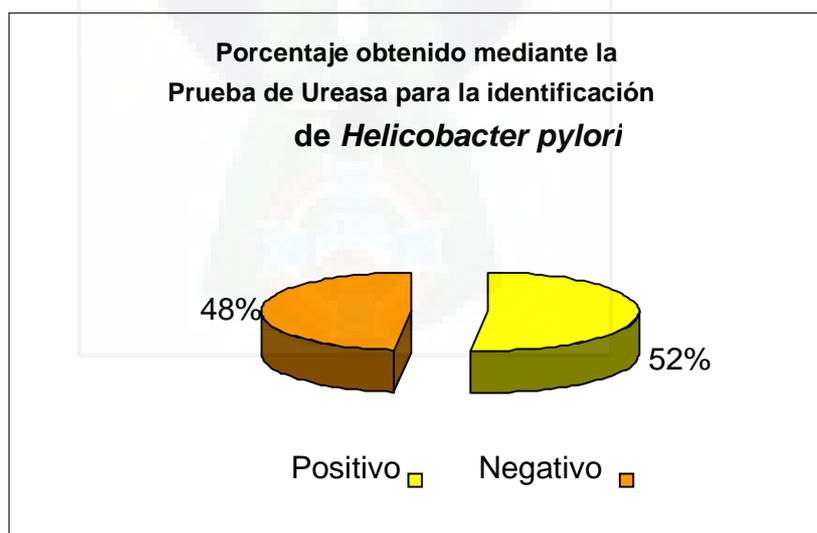




Tabla 5.

Análisis del Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori* La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

Cultivo	Muestra	Porcentaje
Positivo	33	44%
Negativo	42	56%
TOTAL	75	100%

Gráfica 5.

Análisis del Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori*. La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

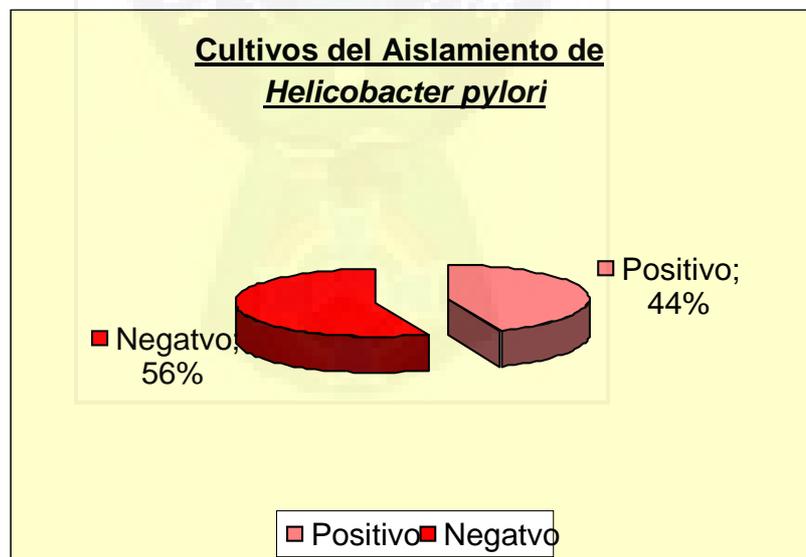




Tabla 6.

Comparación del análisis entre el Test de Ureasa y el Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori*
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

	Urea	Cultivo
Positivo	39 52%	33 44%
Negativo	36 48%	42 56%
TOTAL	75 100%	75 100%

Gráfica 6.

Comparación del análisis entre el Test de Ureasa y el Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori*
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

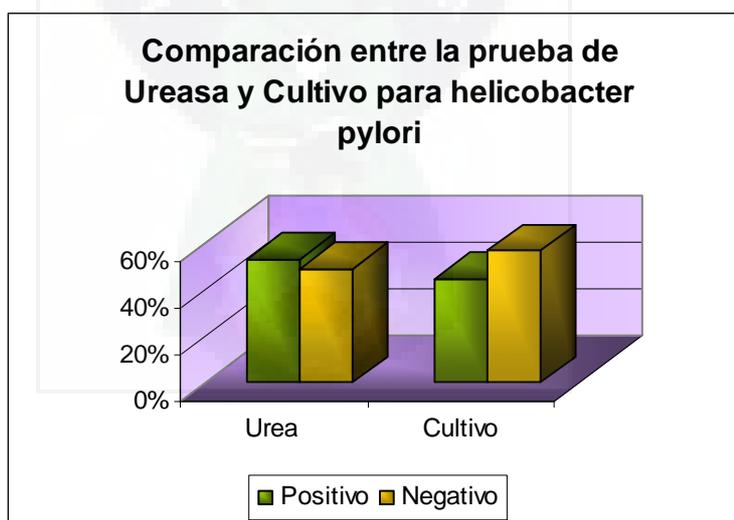




Tabla 7.

Frecuencia entre el diagnóstico clínico y el aislamiento de *Helicobacter pylori* en el cultivo
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

C	Gastritis	Ulcera	Reflujo Biliar	Otros	TOTAL
Positivo	16	5	1	6	29
	44%	63%	17%	24%	39%
Negativo	20	3	5	19	46
	56%	37%	63%	76%	61%
TOTAL	36	8	6	25	75
	100%	100%	100%	100%	100%

Gráfica 7.

Frecuencia entre el diagnóstico clínico y el aislamiento de *Helicobacter pylori* en el cultivo
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

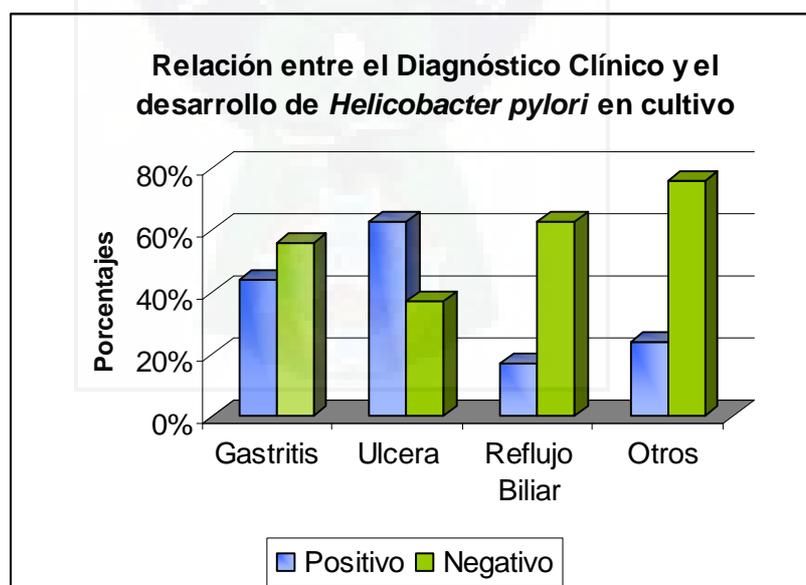




Tabla 8.

Frecuencia del aislamiento de *Helicobacter pylori* mediante cultivo y el sexo de los pacientes

La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

<i>H. pylori</i>	Género		TOTAL
	Femenino	Masculino	
Infección	22	11	33
	29%	15%	44%
Sin Infección	26	16	42
	35%	21%	56%
TOTAL	48	27	75
	64%	36%	100%

Gráfica 8.

Frecuencia del aislamiento de *Helicobacter pylori* mediante cultivo y el sexo de los pacientes

La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009

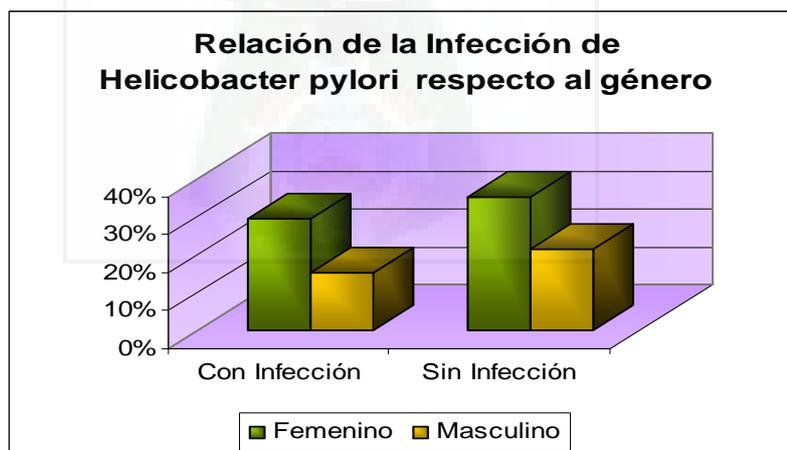




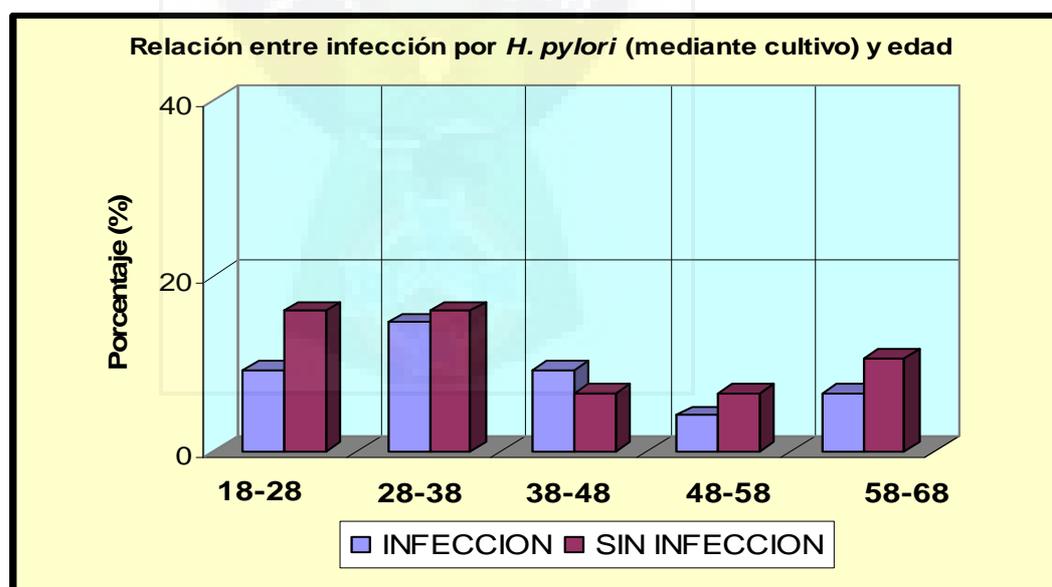
Tabla 9.

**Frecuencia del aislamiento de *Helicobacter pylori* mediante cultivo y la edad de los pacientes
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009**

<i>H. pylori</i>	EDAD					TOTAL
	18-28	28-38	38-48	48-58	58-68	
Infeción	7	11	7	3	5	33
	9.33%	14.66%	9.33%	4.04%	6.66%	44.02%
Sin Infeción	12	12	5	5	8	42
	16.00%	16.00%	6.66%	6.66%	10.66%	55.98%
TOTAL	19	23	12	8	13	75
	25.33%	30.66%	15.99%	10.70%	17.32%	100%

Gráfica 9

**Frecuencia del aislamiento de *Helicobacter pylori* mediante cultivo y la edad de los pacientes
La Paz – Bolivia, Agosto 2008 a Enero 2009**



**Tabla 10.**

Susceptibilidad in Vitro a la Claritromicina y Tetraciclina de 33 cepas de *Helicobacter pylori* mediante la técnica del MIC por dilución en agar.

Antibióticos	N ^a de cwpas	Rango	MIC ₉₀ (ug/ml)	Resistente Breakpoint (ug/ml)	N ^o de cepas sensibles	No de aislamientos resistentes (%)
<i>Claritromicina</i>	33	2-16	16	> 8	30	3 (9,1)
<i>Tetraciclina</i>	33	0,5 - 8	8	> 4	31	2 (6,06)

Cuadro 11.

Susceptibilidad in Vitro a la Khoa y Matico de 33 cepas de *Helicobacter pylori* mediante la técnica del MIC por dilución en agar.

Extractos	N ^a de cepas	Rango	MIC ₉₀	Resistente Breakpoint (ug/ml)	N ^o de cepas sensibles	No de aislamientos resistentes (%)
<i>Khoa</i>	33	0.0625 – 64	64	>32	21	2 (6.06)
<i>Matico.</i>	33	0.0625 – 64	16	>8	19	14 (42%)



8. DISCUSIONES.

Debido a la revisión bibliográfica las cuales nos sugieren diferentes técnicas y procedimientos para el aislamiento de *Helicobacter pylori*, adecuamos un medio de cultivo el cual nos permitió tener un rendimiento adecuado y en el menor tiempo de incubación.

Nuestro medio de cultivo fue elaborado con agar base Columbia con sangre de carnero desfibrinada al 5% e Isovitalex al 1%, suplementado con DENT (vancomicina que inhibe de cocos gram positivos: trimetoprim, cefsulodina y anfotericina B).

El tiempo de incubación fue de 5 días en condiciones microaerófilas obtenida con el método de alka SELTZER, comprobando un desarrollo excelente. La temperatura de incubación fue de 37°C, que a diferencia de otros trabajos de investigación señalaban una temperatura exacta de 35°C para la incubación de los cultivos de *Helicobacter pylori*, nosotros pudimos obtener desarrollo concluyente de colonias sin contaminaciones.

La frecuencia de pacientes con patologías gástricas marca una diferencia considerable en cuanto al sexo y edad ya que la mayoría son de sexo femenino (65,6%) en relación con el sexo masculino (34,6%), en relación a la edad se tiene que entre los 28-48 años en varones y 18-38 en mujeres; esto en contra posición al estudio realizado por (Pueyo A. M et al 2003) donde la frecuencia de acuerdo al sexo no es significativa.



La mayoría de los pacientes en estudio fueron diagnosticados clínicamente con diversas gastropatías (48%), seguida de procesos ulcerativos (11%), reflujo biliar (8%) y otras patologías (33%). Notándose que las dos primeras patologías se encuentran íntimamente relacionadas con la infección por *Helicobacter pylori*, por la actividad de la enzima ureasa en mucosa de estómagos infectados, que producen una concentración de amoníaco cuatro veces mayor a la de la mucosa no infectado, por lo que se puede considerar a este un agente causante de lesión directa, ocasionando aumento de pH y posterior ulceración de la mucosa gástrica.

Considerando los resultados de *Test de Ureasa* obtenidos en el presente trabajo; positivos (52%), negativos (48%) podemos observar que no existe discrepancia con los resultados reportados en el trabajo de Garlaza L. que menciona una positividad del 54%. (Galarza, L 1993)

El porcentaje de cultivos positivos del aislamiento de *Helicobacter pylori* fue de 44%; marcando un 8% de falsos positivos con relación al Test de Ureasa (54%) sin dejar de lado los cultivos falsos negativos que también se observó en el desarrollo del trabajo, teniendo en cuenta que el Test de Ureasa es considerada como prueba de tamizaje en comparación con el cultivo que es el gold Standard para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.



De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 7 podemos afirmar que las diversas gastropatías y procesos ulcerosos son producto de la infección por *Helicobacter pylori* con porcentajes altos de aislamiento en cultivo de 44% y 63% respectivamente.

Por otra parte los mayores porcentajes de negatividad de aislamiento de *Helicobacter pylori* corresponden a patologías no relacionadas como ser reflujo biliar (63%) y otras gastropatías (76%).

El mayor porcentaje de infección por *Helicobacter pylori* se obtuvo en pacientes de sexo femenino (29%) en relación a los varones (15%) lo que se correlaciona plenamente con la frecuencia de patologías según género.

El 52% de las muestras de biopsias gástricas dieron resultado positivo en el CLO-test, mientras que solo en el 44% de las mismas se evidenció desarrollo de *Helicobacter pylori* en el cultivo; existiendo una diferencia de 8% de falsos positivos en el Test de Ureasa, ello debido a la contaminación de las pinzas del endoscopio por bacterias saprófitas del tracto gastrointestinal.

Debido a lo mencionado anteriormente podemos afirmar que el CLO-test posee una especificidad menor a la del cultivo llegando a tener una especificidad de 80 – 90%. Resultando este último con una especificidad del 100%.



En nuestro estudio se realizó las pruebas de sensibilidad del *Helicobacter pylori* a los diferentes antibióticos y extractos de plantas medicinales mediante el método de dilución en agar, debido a que es considerado como el gold estándar para este fin. Este método no puede ser practicado rutinariamente en los laboratorios de microbiología. Otros métodos como: microdilución en caldo, no son efectivos debido al pobre desarrollo evidenciado en medios líquidos. El método de difusión de discos no presenta correlación con las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de los diferentes antibióticos y el E-test presenta discrepancias en el momento de definir sensibilidad o resistencia en el caso del metronizadol y claritromicina.

La eficacia en el tratamiento de las infecciones gástricas por *Helicobacter pylori* esta en función de la resistencia primaria o adquirida de la bacteria a las diversas drogas.

Realizar el test de sensibilidad es muy importante para lograr la erradicación del microorganismo y reducir el riesgo de resistencia por *Helicobacter pylori*.

En la presente investigación se realizó el test de sensibilidad y resistencia a *H. pylori* aislados de pacientes con patologías gástricas que acudieron al Hospital Arco Iris, con dos antibióticos claritromicina y tetraciclina.



La Claritromicina es un antibiótico de la familia de los macrólidos que puede ser utilizado en combinación con un inhibidor de la bomba de protones. A nivel mundial la resistencia a la claritromicina oscila entre 0 a 44,7%. En tres estudios separados realizados en Irán; los resultados de resistencia de *H. pylori* se encontraban entre 14,5 a 23%. (Kohanteb, et al 2007; Mendonca et al 2000)

En nuestro estudio solo se reporta un 9,1% de resistencia del *Helicobacter pylori* a la claritromicina. Debido al elevado costo de la claritromicina en nuestro país, ello limita su uso como droga de elección en la terapia del *Helicobacter pylori*. La diferencia en los porcentajes de resistencia se debe fundamentalmente a la utilización o no de la claritromicina en las terapias instauradas para la erradicación del *Helicobacter pylori*.

Por su parte, la tetraciclina es comúnmente utilizada en el tratamiento de la infección por *H. pylori* en una terapia cuádruple. Se ha observado que el porcentaje de resistencia total a la tetraciclina disminuyó aproximadamente en un 2%. La prevalencia de aislamientos de *Helicobacter pylori* resistentes a la tetraciclina en EEUU alcanza el 20%, en nuestro estudio se pudo constatar una resistencia del 6,06%. (Graham et al 2000).



En cuanto a los extractos obtenidos de *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y *Piper elongatum* (Matico) podemos argumentar que el primero muestra un porcentaje de resistencia de 6,06%, en todas las cepas aisladas (muy similar de lo que ocurre con la tetraciclina).

En contraposición al *Piper elongatum* (Matico) que presento un porcentaje mayor con 42%.

Pese a las dificultad de no contar con parámetros internacionales estandarizados para estos extractos y al ser este un estudio de investigación nuevo en nuestro medio, nosotros podemos afirmar que la Khoa tiene actividad anti- *Helicobacter pylori* elevada en contraposición con lo que sucede con el Matico. La comprobación de la actividad in vivo la delegamos a investigaciones realizadas posteriormente.

Por lo mencionado anteriormente se recomienda seguir la línea de investigación, buscando el principio activo de *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y *Piper elongatum* (Matico) realizando experimentos que nos permitan evaluar la actividad farmacológica que presenta dichas plantas, de eso modo poder brindar mejores tratamientos a la población a menos costo.



9. CONCLUSIONES.

Luego de realizado el trabajo se concluye en lo siguiente:

1. Se pudo determinar la actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Clinopodium bolivianum* (Khoa) y de *Piper elungatm* (Matico) (6,06 y 42% de cepas resistentes respectivamente).
2. Se logro aislar e identificar 33 cepas de *Helicobacter pylori* de muestras de biopsias gástricas obtenidas por el servicio de Gastroenterología del Hospital arco Iris de la ciudad de La Paz.
3. La concentración mínima inhibitoria (MIC) para la claritromicina fue de 16ug/mL realiza; determinando solamente un 9,1% de cepas resistentes, y para la Tetraciclina se obtuvo un MIC de 8ug/mL con un porcentaje de cepas resistentes de 6,06%.
4. Se pudo constatar que el extracto de *Clinopodium bolivianum* (khoa) tiene una actividad anti-*Helicobacter pylori* bien definida con un MIC de 64ug/mL presentando solamente 6,06% de cepas resistentes.
5. Se determinó que el extracto de *Piper angostifolium* (Matico) tiene actividad disminuida anti-*Helicobacter pylori* presentando un MIC de 16ug/mL un 42% de cepas resistentes.



10. REFERENCIAS.

1. ADENIYI. B.A, Oluwole F and Anyiam F. Antimicrobial and Antiulcer Activities of Methanol Extract of *Allium sativum* on *Helicobacter pylori*. Journal of Biological Sciences 6 (3): 521 – 526, 2006
2. ALVAREZ, Teresa. Estudio multicentrico sobre la incidencia de la infección por *Helicobacter pylori* en La Paz – Bolivia correlación con los estudios endoscópicos, bacteriológicos, histológicos y sexológico.
3. BALDIVIESO, G; VON, Recklinghausen; POMARIUS, R. y SCHMID, E. Evaluation of Techniques for Isolation, Subcultivation, and Preservation of *Helicobacter pylori* Journal of Clinical Microbiology, Jan 1991, p 51 – 53.
4. BLASER, M.: *Helicobacter pylori* y microorganismos relacionados. En: Mandell, G.; Bennett, J.; y Dolin, R. Eds. Enfermedades Infecciosas: Principios y Práctica. Tomo II. 4a Ed. Editorial Médica Panamericana. Argentina, 1997.
5. BLASER, M.; Pérez, G.; Lindenbaum, J.; Schneidman, D.; Van Deventer, G.; Marin, M.; Weinstein, W.: Association of infection due to *Helicobacter pylori* with specific upper gastrointestinal pathology. Rev. Infect. Dis., 13 (Suppl 8): S704-S708, 1991.
6. BLECKER U, Lanciers S, Hauser B, Vandenplas Y. 1993. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adults, and children by using the Malakit *Helicobacter pylori*, a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 31: 1770-1773.



7. BUJANOVER Y, Reif S, Yahav J. 1996. *Helicobacter pylori* y enfermedad péptica en el paciente pediátrico. Clin Ped of Nort. Gastroenterology.
8. CAVE DR. How is *Helicobacter pylori* transmitted?. Gastroenterol 1997; 113: S9-S14.
9. COVER, T.; Blaser, M.: *Helicobacter pylori*: A bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer. ASM News, 61: 21-26, 1995
10. CAVE DR, Go M, Cutler A, Goldstein J, Dunn B, Mobley H et al. Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. Am J Med 1996; 100 (5A): 12-18.
11. FRESNADILLO Martínez MJ, Rodríguez Rincón M, Blázquez de Castro AM, García Sánchez E, García Sánchez JE, Trujillano Martín I, Cordero Sánchez M, Alvarez Alvarez P, Paz Bouza J, García-Rodríguez JA. Comparative evaluation of selective and nonselective media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. Helicobacter 1997; 2:36-39.
12. GARCIA C. JM, Alarcón T, Lopez M “La Infección por *Helicobacter pylori*” BioPress.net N 8, dic2003.
13. GRAHAM DY, Adam E, Reddy GT, Agarwal JP, Evans DJ Jr, Malaty HM et al. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India. Comparison of developing and developed countries. Dig Dis Sci 1991; 36: 1084-1088.
14. GRAHAM DY, Qureshi WA. Antibiotic resistance *Helicobacter pylori* infection and its treatment. *Curr Pharm Des* 2000;6:1537 – 44.



15. GOSCINIAK G, Klakockar J, Przondo-Mordarska A, Mauff G. *Helicobacter pylori* antibodies in sera of children suffering from chronic abdominal pain. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis*, 1993, 280: 214-220.
16. GLUPEZYNSKI Y, Goossens H, Burette A, Deprez C, van Borre C, Butzler JP. Serology in *Helicobacter pylori* infection. *Int. L. Med. Microbiol. Virol Parasitol Infect Dis*, 1993, 280: 150-154.
17. HAECKEL R. *Helicobacter pylori* infection. Part 1: Epidemiology, pathobiochemistry, diagnosis and therapy. *Lab Med* 1996; 20: 78-84.
18. HOLCOMBE C, Omotara BA, Eldridge J, Jones DM. *Helicobacter pylori*, the most common bacteria infection in Africa: A random serological study. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 28-30.
19. HIRSCHOWITZ, B.; Mohnen, J.; Shaws, S.: High recurrence rate of duodenal ulcer despite H. pylori eradication in a clinical subset - rapidly recurring peptic ulcer. *Gastroenterology*, 106,4 (Suppl 2): 94, 1994; León, V.; Moreno, B.; Parra, C.; Molina, E.; Lizarzabal, M.; Sánchez, N.: Claritromicina más lansoprazol vs. triple terapia en el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gen*, 51: 219-225, 1997.
20. KOHANTED, A: Bazargani, M: Saberi-Firoozi: Mobasser, A: Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* to selected agents by agar dilution method in shiraz-Iran. *Indian Journal of Medical Microbiology*, (2007) 25(4):374-7.
21. LEE A. 1994. The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Scan J Gastroenterol* 29 Suppl 201: 2-6.
22. LÓPEZ B, Correa P. "*Helicobacter pylori*". *Retos para el siglo XX*, sep 2004. <http://www.helicobacterspain.com/index800.htm>.



23. MAHBOOBEH N, Feridoun M. Mehragiz K, Mohammad R. “In Vitro Anti- *Helicobacter pylori* effects of Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) and Purple Basil (*Ocimum basilicum* var *puppurascens*)”. Pakistan Journal of Biological Sciences 9 (15):2887 – 2891, 2006.
24. MARSHALL BJ. Estado actual de la infección por *Helicobacter pylori*. En: López-Brea, editor. *Helicobacter pylori*. Microbiología, clínica y tratamiento. Madrid: Mosby / Doyma, 1995: 11-22.
25. MARSHALL BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch’s postulates for 03-3. Med J Aust 1985; 142: 436-439.
26. Martínez T Alejandra, González C Carlos, Kawaguchi P Fernando, Montoya Rolando, Corvalán Alejandro, Madariaga B Jaime et al. *Helicobacter pylori*: análisis de *cagA* y genotipificación de *vacA* en Chile. Detección de una cepa s2/m1. Rev. méd. Chile [revista en la Internet]. 2001 Oct [citado 2009 Nov 29]; 129(10):1147-1153.
27. MATYSIAK-Budnik T, Megraud F. *Helicobacter pylori* in Eastern European countries: what is the current status? Gut, 1994, 35: 1683-1686.
28. MEGRAUD F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbouri A, Hoa DQ. Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. J Clin Microbiol 1989; 27: 1870-1873.
29. MENDONCA S, Ecclissato C, Sartori MS, Godoy AP, Guerzoni RA Degger M, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, tetracycline and furazolidone in Brazil. *Helicobacter* 2000;5:59-83.



30. MC CALLION WA, Murray LJ, Baille AG, Dalzell AM, O'Reilly DPJ, Bamford KB. *Helicobacter pylori* Infection in children: relation with current household living conditions. *Gut*, 1996, 39: 18-21.
31. MITCHELL, H.; LI, Y.; HU, P. y col.: Epidemiology of *Helicobacter pylori* in southern China: identification of early childhood as the critical period for acquisition. *J. Infect. Dis.*, 166: 149-153, 1992.
32. National Institutes of Health Consensus Development. Panel on *Helicobacter Pylori* in Peptic Ulcer Disease. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*, 272: 65-69, 1994.
33. NDIP RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiologic methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36:616-622.
34. PARSONNET, J.; Friedman, G.; Vandersteen, D.; Chang, Y.; Volgelman, J.; Orentreich, N.; Sibley, R.: *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 325: 1127-1131, 1991.
35. PINTO DAVALOS, Jenny y BUSTAMANTE GARCIA, Zulema. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*). *BIOFARBO*, dic. 2008, vol.16, no.1, p.36-41. ISSN 1813-5363.
36. PUEYO A.M. Huarte, C. Jiménez “Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*”. *Anales de medicina* vol. 21 suplemento 2.
37. SALOMON H. Ueber das spirillum des saugtiermagens und sein verhalten zu den belegzellen. *Zentrbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 1896; 19: 433-442.



38. SARKER, S.; Mahalanabis, D.; Hildebrand, P. y col.: *Helicobacter pylori*: Prevalence, transmission, and serum pepsinogen II concentrations in children of a poor periurban community in Bangladesh. *Clin. Infect. Dis.*, 25: 990-995, 1997.
39. III Simposio Internacional de Patología Gastroduodenal “*Helicobacter pylori*” Primer Consenso Argentino para su diagnóstico y tratamiento Neuquén. Abril de 200. http://www.caded.org/helicobacter_pylori.htm.
40. SOLNICK JV, Shauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbio Rev* 2001;14:59-97.
41. SUERBAUM S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; 347:1175 – 86.
42. TAYLOR DE, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiol Rev* 1991; 13: 42-59.
43. THOMAS JE. Epidemiología de las infecciones por *Helicobacter pylori*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1994; 12 (Supl. 1): 6-13
44. VANDENPLAS Y, Blecker U, Devrecker T, Keppens E, Nijs J, Cadranet S et al. Contribution of the C13-urea breath test to the detection of *Helicobacter pylori* gastritis in children. *Pediatrics* 1992; 90: 608-611.
45. VIDAURRE de la Riva Botánica Económica de los Andes Centrales Editores: M. Moraes R., B. Øllgaard, L. P. Kvist, F. Borchsenius & H. Balslev Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, 2006: 268-284.
46. WARREN JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275.
47. World Health Organization Agency for Research on Cancer (WHO/IARC) Meeting Lyon, France, June 7-14, 1994.



Links

- [Helicobacter Pylori and other Gastric Helicobacter-Like Organisms](#) enlace directo a la sección específica.
- [Helicobacter pylori and peptic ulcer](#). *Centers for Disease Control and Prevention*. Consultado el 2004-12-21.
- Logan, Robert P H; Walker, Marjorie M (20 octubre 2001). "[Clinical review: ABC of the upper gastrointestinal tract. Epidemiology and diagnosis of Helicobacter pylori infection](#)". *BMJ* **323**: 920–922. [PMID 11668141](#).
- [The prevalence of the duodenal ulcer promoting gene \(dupA \) in Helicobacter pylori isolates varies by ethnic group and is not universally associated with disease development: a case-control study.\(Research\)\(Report\)](#)
- [Molecular typing of Nigerian Helicobacter pylori isolates by glmM restriction fragment length polymorphism](#).
- [Antimicrobial resistance found among Helicobacter pylori isolates](#)

