

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA**



**ESTUDIO DE LA INFECCION POR *Helicobacter pylori* Y
EVALUACIÓN DE LOS METODOS DE DIAGNOSTICO
LABORATORIAL, EN PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTAS DE
GASTROENTEROLOGIA EN LA CLINICA "CAJA PETROLERA DE
SALUD" Y EL HOSPITAL "ARCO IRIS" DE JUNIO 2005 A ABRIL
2006 EN LA CIUDAD DE LA PAZ-BOLIVIA**

"Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica"

Postulante: Pablo Estanislao Bilbao Ramos
Asesores: Dra. Esther Damiani Moisés
Dr. Christian Trigoso Agudo

**La Paz – Bolivia
2006**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA**



**ESTUDIO DE LA INFECCION POR *Helicobacter pylori* Y
EVALUACIÓN DE LOS METODOS DE DIAGNOSTICO
LABORATORIAL, EN PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTAS DE
GASTROENTEROLOGIA EN LA CLINICA "CAJA PETROLERA DE
SALUD" Y EL HOSPITAL "ARCO IRIS" DE JUNIO 2005 A ABRIL
2006 EN LA CIUDAD DE LA PAZ-BOLIVIA**

"Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica"

Pablo Estanislao Bilbao Ramos

La Paz – Bolivia

2006

Todo el esfuerzo reflejado en el presente estudio lo dedico con mucho
cariño

A Dios

Por darme la oportunidad de vivir.

A mi Papá Juan Bilbao y Mamá Rufina Ramos

A mis hermanos German, Wilson y Virginia

A mis sobrinos Carolina† y Christian

Por todo el cariño y confianza depositada durante toda mi vida, por
impulsar mi superación, a ellos les debo mi vida.

A Maysa

Por su apoyo incondicional y toda su comprensión.

TODO MI AGRADECIMIENTO

A la Dra. Esther Damiani, mi asesora, gracias por enseñarme a investigar en el mundo de la microbiología, además por ser mi guía durante la elaboración del presente trabajo de tesis, por darme fuerzas en momentos de flaqueza.

Al Dr. Christian Trigoso Agudo, mi asesor, quien me ha permitido realizar mi trabajo de tesis en el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA.

Al Dr. Álvaro Cárdenas y Dr. Carlos Ascarrunz, gastroenterólogos de la clínica "Caja Petrolera de Salud" y hospital "Arco Iris", por su paciencia y gran colaboración ya que sin ellos este trabajo no hubiera sido posible.

Al Dr. Milton Lobo, Jefe de la unidad de microbiología del hospital "Arco Iris", por apoyarme en la elaboración del presente estudio.

Al Dr. Antonio Flores, por ser el canalizador de la toma de muestras en la clínica "Caja Petrolera de Salud".

Al Dr. Juan Antonio Avila, por su colaboración en la obtención de sangre de carnero que fue útil en la preparación de mis medios de cultivo.

Al Dr. Marcelo Camacho, Veterinario del INLASA por su tiempo prestado para la recolección de sangre de carnero.

Al Dr. Pablo Irahola, quien desde primer año me enseñó el camino de la investigación.

Al Dr. Tito Estévez, quien me enseñó que la única forma de alcanzar el éxito es trabajar sin cesar ni buscar excusas.

Al Dr. Enrique Udaeta, Quien supo aconsejarme sin ningún interés, y apoyarme en momentos difíciles, por ser más que docente mi amigo.

A la Dra. Rosario Peñaloza, quien me ayudó a superar mis temores.

Al Dr. Fernando Pinto, quien me enseñó herramientas fundamentales de la investigación.

A la Dra. Esther Flores, Gracias por ser mi docente, mi amiga, me enseñó mucho de la vida.

Al Dr. Miguel Estensoro, Me enseñó las bases fundamentales de la microbiología, Gracias Doctor.

A la Dra. Wilma Strauss, Decana de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas por su amistad y sabios consejos.

A la Dra. Teresa Rescala, Ex-decana de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas por su amistad, enseñanza y sabios consejos.

A Orienta Laura, Jorge Bravo, Leslie Camacho, Érika Ruiz, Carmen Revollo, Elizabeth Torrico y Giovanni Garcia, equipo de trabajo del Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA, por la amistad, consejos y colaboración.

A mis amigos Juan, Jorge, Coco, Milton, Dennis, Marcos, David, Ademar, Juan José, Hilda, Orienta, Roció, Javier y Loretta, por acompañarme durante mi vida universitaria.

A todos los docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas por la formación recibida durante mi vida universitaria y académica.

Al Proyecto "ESTRATEGIAS DE VACUNACION CONTRA *Helicobacter pylori* EN AMERICA LATINA" llevado adelante por el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA.

A las Enfermeras del Hospital "Arco Iris" y de la Clínica "Caja Petrolera" quienes apoyaron en la toma de muestra.

Al personal del Zoológico de Mallasa.

RESUMEN

La infección por *Helicobacter pylori* ocurre en toda la población mundial y el riesgo de infección se estima que esta entre el 40% al 60%, existe mas de 15300 trabajos publicados. *Helicobacter pylori* coloniza la mucosa gástrica, y esta asociada a las gastritis ulceras, cáncer gástrico y Linfoma de MALT. Los mecanismos de transmisión de la infección por este microorganismo podrían deberse a las excretas en alimentos de la mosca, de persona a persona y las condiciones sanitarias como fecal oral u oral fecal, no se desestima la transmisión iatrogénica por sondas, endoscopios y la placa dentaria como reservorio del germen. **OBJETIVO:** Describir la infección por *Helicobacter pylori* y evaluar las pruebas diagnosticas utilizadas para su identificación. **METODOS:** Se han obtenido biopsias gástricas de 116 pacientes para el aislamiento de *H. pylori* y la identificación mediante la prueba de la ureasa, además se realizo encuestas a los pacientes que participaron del estudio. **RESULTADOS Y CONCLUSIONES:** Se aislaron 59 (51%) cepas salvajes de *H. pylori* procedentes de antro pilórico y fondo gástrico; se aisló *H. pylori* en el 43% de las muestras procedentes de antro pilórico y en el 38% de fondo gástrico; la prueba de la ureasa presenta 83,% de sensibilidad y 56,14% de especificidad en el diagnostico; en todos los pacientes que habían iniciado tratamiento combinado para la erradicación de *H. pylori* no se aisló *H. pylori* en cultivo; El 51% de los pacientes con gastritis, el 54% de los pacientes con ulceras y el 50% de los pacientes con patologías no relacionadas estaban infectados por *H. pylori*; el 64% de los pacientes con residencia en el área rural y solamente el 47% de los pacientes con residencia en el área urbano estaban infectados con *H. pylori*; el 63% de los pacientes de la tercera edad cursaba la infección; entre los factores socioeconómicos podemos destacar que se evidencia mayor infección en pacientes de procedencia rural y escasas condiciones higiénicas, además los pacientes con familiares con antecedentes de enfermedad gástrica tienen mayor riesgo de infección.



ABSTRACT

Helicobacter pylori infection is world wide distributed with a risk infection of about 40% to 60%. There are more than 15300 issued papers. *Helicobacter pylori* is host of the gastric mucus and it is associated with gastritis, gastric ulcer and MALT Lymphoma. Transmission pathway may be through fly excreted, food, person to person transmission and sanitary conditions fecal-oral or oral-fecal. Also it is considered the iatrogenic transmission by endoscopies and dental plaques as reservoirs for the microorganism. **OBJETIVE:** The aim of the study was a description of *Helicobacter pylori* infection, evaluation of the diagnosis tests used for the identification. **METHODS:** 116 gastric biopsies from patients with several diagnoses were performed. Ureasa test was runned for all patients in the same moment of the biopsy sampling, every patient was asked for additional information filling a form. **RESULTS AND CONCLUSIONS:** 59 (51%) of the cultures from the 116 patients were positive for *H. pylori*. The samples were obtained from pyloric antrus and gastric bottom; there were isolate *H. pylori* in the 43% from pyloric antrus and 38% from gastric bottom; ureasa test analysis was 83,% sensibility and 56,14% of specificity. All the patients with previous treatment (combined treatment) were negative for the tests, culture and ureasa tests. There was isolation of *Helicobacter pylori* from 51% of the patients with gastritis, 54% patients with ulcers and 50% of patients with other pathologies, not related to *H. pylori*. 64% of the patients are from rural areas and 47% of the patients are from urban area from the positives for *H. pylori*. The 63% of the patients are above sixty years old. We found more percentage of positivity for *Helicobacter pylori* in patients coming form rural areas were the sanitary and socio economic conditions are risk factor and in patients with familiar antecedents of gastric pathologies.

Tabla de Contenido

1. INTRODUCCION	1
2. JUSTIFICACIÓN	5
3. OBJETIVOS	8
3.1. OBBJETIVO GENERAL.....	9
3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	9
4. DISEÑO TEORICO	10
4.1. MARCO TEORICO.....	11
4.2. MARCO REFERENCIAL.....	15
4.2.1. HISTORIA DEL HELICOBACTER.....	15
4.2.2. CLASIFICACION TAXONOMICA.....	17
4.2.3. ESPECIES DEL GENERO <i>Helicobacter</i>	18
4.2.4. <i>Helicobacter pylori</i>	21
4.2.4.1. Características Generales.....	21
4.2.4.2. Morfología y Estructura Bacteriana.....	22
4.2.4.3. Genoma.....	24
4.2.4.4. Mecanismos de Patogenicidad.....	28
4.2.4.5. Bioquímica y Vías Metabólicas.....	31
4.2.4.6. Identificación Bioquímica.....	36
4.2.4.7. Técnicas para el Diagnostico de <i>Helicobacter pylori</i>	37
4.2.4.8. Epidemiología.....	42
4.2.4.9. Fisiopatología y Patología asociada a <i>Helicobacter pylori</i>	47
4.2.4.10. Tratamiento.....	56
5. DISEÑO METODOLOGICO	59
5.1. POBLACION.....	60
5.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	60
5.3. METODOS, TECNICAS Y PROCEDIMIENOS DE INVESTIGACION.....	60
5.3.1. TIPO DE INVESTIGACION.....	60
5.3.2. METODOLOGIA GENERAL DE LA INVESTIGACION.....	60

5.3.2.1.Toma de Muestra.....	60
5.3.2.2.Recolección de la Muestra y Transporte.....	61
5.3.2.3.Cultivo.....	61
5.3.2.4.Identificación.....	62
5.3.2.5.Prueba del caldo Urea.....	63
5.3.2.6.Prueba del <i>Pronto Dry</i>	63
5.3.2.7.Conservación.....	64
5.3.2.8.Recolección de datos.....	64
5.4. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION.....	67
5.4.1. RECOLECCIÓN.....	67
5.4.2. ELABORACION.....	67
5.4.3. PRESENTACION.....	67
6. RESULTADOS	68
7. DISCUSIONES	95
8. CONCLUSIONES	105
9. BIBLIOGRAFIA	108

contenido de Figuras

Figura 1. Distribución de pacientes según el nosocomio de asistencia.....	69
Figura 2. Distribución de pacientes según edad y sexo.....	70
Figura 3. Distribución de pacientes según lugar de residencia	71
Figura 4. Distribución de pacientes según nivel de estudio.	72
Figura 5. Distribución de pacientes según el tipo de agua que consume.....	73
Figura 6. Distribución de pacientes según eliminación de excretas.....	74
Figura 7. Distribución de pacientes con antecedentes familiares de enfermedad gástrica.....	75
Figura 8. Distribución de pacientes que recibieron tratamiento antes de la toma de muestra.....	76
Figura 9. Distribución de pacientes Según Diagnostico General.....	77
Figura 10. Distribución de pacientes según diagnostico clínico específico.....	78
Figura 11. Resultados obtenidos mediante la prueba de la urea a partir de biopsias gástricas para la identificación de <i>Helicobacter pylori</i>	79
Figura 12. Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de <i>Helicobacter pylori</i>	80
Figura 13. Comparación de resultados de la prueba de la ureasa entre nosocomios.....	81
Figura 14. Comparación de resultados del cultivo entre nosocomios.....	82
Figura 15. Comparación de resultados entre la prueba de la ureasa y el cultivo de muestras procedentes de la Clínica “Caja Petrolera de Salud”	83
Figura 16 Comparación de resultados entre la prueba de la ureasa y el cultivo de muestras procedentes del hospital “Arco Iris”	84
Figura 17. Aislamiento de <i>Helicobacter pylori</i> de antro pilórico y fondo gástrico.....	86

Figura 18. Relación entre el tratamiento antes de la toma de muestra y el desarrollo de <i>Helicobacter pylori</i> en cultivo.....	87
Figura 19. Relación entre el diagnóstico clínico y el desarrollo de <i>Helicobacter pylori</i> en cultivo.....	88
Figura 20. Relación entre la infección por <i>H. pylori</i> y los antecedentes familiares de enfermedad gástrica.....	89
Figura 21. Relación entre la infección por <i>H. pylori</i> y el género.....	90
Figura 22. Relación entre la infección por <i>H. pylori</i> y la edad	91
Figura 23. Relación entre la infección por <i>H. pylori</i> y el lugar de residencia	92
Figura 24. Relación entre la infección por <i>H. pylori</i> y el consumo de agua.....	93
Figura 25. Relación entre la infección por <i>H. pylori</i> y la eliminación de excretas.....	94

1. INTRODUCCION.



Helicobacter pylori, continua siendo un microorganismo que se encuentra entre los de mayor estudio en el mundo científico microbiológico, hasta la fecha se tiene mas de 15300 trabajos publicados desde su descubrimiento en Australia en el Royal Perth Hospital por el médico Barry Marshall y el patólogo Robin Warren en el año 1982. Este descubrimiento marco un hito histórico en la gastroenterología de las ultimas décadas del siglo XX, debido a que este hallazgo ha supuesto un cambio conceptual, puesto que demostró que *Helicobacter pylori* coloniza la mucosa gástrica, zona que siempre se creía que era estéril por su alto grado de acidez y desde entonces se ha asociado a esta bacteria a diferentes patologías gastrointestinales, fue también la primera vez que se considero a una bacteria como causante de un proceso gástrico que solamente era tratado de forma paliativa y no curativa.

Helicobacter pylori es un microorganismo gram negativo, bacilo espiral, con flagelos unipolares, es microaerofilico, que tiene como hábitat la mucosa gástrica, en medios artificiales su desarrollo se dificulta. Se caracteriza principalmente por poseer el enzima ureasa que desdobra a la urea, esta característica se aprovecha para apoyar el diagnostico médico, también posee los enzimas catalasa y citocromo oxidasa, ambos útiles en la identificación de sus propiedades bioquímicas.

Para el diagnostico de este microorganismo existen métodos invasivos y no invasivos; los métodos no invasivos consisten en la serología de anticuerpos específicos anti-*Helicobacter pylori* y la prueba del aliento; entre los métodos invasivos están la prueba rápida para identificar el enzima ureasa que es la mas utilizada, la histopatología considerada por algunos autores la “regla de oro” y el cultivo que no es una técnica de rutina para el diagnostico de la presencia de *Helicobacter pylori*, sin embargo cada día va posesionándose como la “regla de oro” para la identificación, debido a que constantemente se encuentran cepas resistentes al tratamiento de primera elección por lo que es necesario realizar el antibiograma.



Helicobacter pylori compete con otros microorganismos como los de mayor infección en la población mundial y el riesgo de infección a nivel mundial es aproximadamente del 40% al 60%, en cambio en los países en vías de desarrollo puede alcanzar hasta el 90% o más, en La Paz, Bolivia la infección por *H. pylori* es mayor al 50% [Alvarez et al, 1997].

Entre las enfermedades relacionadas a la infección de este microorganismo están la gastritis, úlcera, linfoma de MALT (Tejido Linfoide Asociado a Mucosa) y posiblemente cáncer gástrico (declarado el año 1995 como carcinogénico tipo I), y las enfermedades extragastrointestinales son la rosácea, gingivitis y otras.

Los mecanismos de infección de *H. pylori* aun no se han establecido de forma precisa, se sabe que su transmisión es oral- oral, fecal-oral.

Se tienen varios esquemas terapéuticos como la doble terapia, triple terapia y tetra terapia; la terapia doble consta de un inhibidor de la bomba de protones y un antibiótico (omeprazol y tetraciclina) poco efectiva; la triple terapia se constituye como la terapia de primera elección, por su elevada eficacia, está compuesta por un inhibidor de la bomba de protones y dos antibióticos (omeprazol, claritromicina y amoxicilina); la tetra terapia consiste en la asociación de un inhibidor de la bomba de protones, un compuesto a base de sales de bismuto y dos antimicrobianos (omeprazol, ranitidina citrato bismuto, tetraciclina y metronidazol). El tiempo de duración de la terapia varía de 7 a 15 días no obstante reportes clínicos demuestran que 10 días de terapia muestran resultados óptimos en la erradicación de esta bacteria no existiendo mucha diferencia si se prolonga el tratamiento.

En este estudio queremos presentar las características de la infección en nuestro medio, identificar los posibles factores de riesgo, la prevalencia e introducir el cultivo bacteriológico y comparar los métodos de diagnóstico.

Se ha incorporado en los estudios que sigue el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA, el proceso de estandarización del cultivo de

Helicobacter pylori, es en este sentido que el presente estudio comprende principalmente el proceso del aislamiento primario de muestras de biopsias gástricas, evaluación de las pruebas diagnósticas que actualmente utilizan los laboratorios de bacteriología para la identificación de *H. pylori* y la descripción de las características socioeconómicas de los pacientes de los que se estudia las muestras en estudio. Este estudio se ha realizado en la unidad de investigación del Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA, gracias a la cooperación de la unidad de gastroenterología y laboratorio de bacteriología del Hospital “Arco Iris” y el departamento de gastroenterología de la Clínica “Caja Petrolera de Salud”.

2. JUSTIFICACION.

Las enfermedades asociadas a la infección por *H. pylori* actualmente son de amplia distribución y elevada frecuencia en el mundo y afectan a diferentes estratos sociales, raza, sexo o grupo etario, aunque evidentemente con distinta frecuencia.

Es muy importante la función del laboratorio de bacteriología en el cultivo de *Helicobacter pylori*, especialmente cuando se presentan problemas de resistencia a las terapias de primera elección, el antibiograma es el indicado. Es por esta razón que se hace menester contar con un método normalizado para nuestro medio, de tal forma que el laboratorista sea capaz de realizar los procedimientos.

Continuamente se vienen realizando muchos estudios sobre los métodos para la detección de *H. pylori* a nivel gástrico, en lo que se refiere a las nuevas estrategias para el aislamiento e identificación, propiedades de resistencia y sensibilidad a los antibióticos, características inmunológicas y características moleculares.

El cultivo es la “regla de oro” en los laboratorios de bacteriología ya que permite el monitoreo y seguimiento de *H. pylori*; cada día se puede encontrar casos de resistencia a antimicrobianos de primera elección.

Para iniciar estudios epidemiológicos la prueba diagnóstica ideal debe cumplir una serie de requisitos: Poseer una alta sensibilidad y especificidad, no ser invasiva, ser fácilmente realizable y de bajo costo.

Es muy importante tener datos que se acerquen a la realidad de la situación de nuestro país en cuanto a la infección por *H. pylori* ya que, nos ayuda a delimitar la prevalencia y la incidencia, los grupos de población que son más susceptibles a contraer la infección, los mecanismos de transmisión y fallas al tratamiento.

Es necesario el aporte de más estudios en nuestro medio, dirigidos a la generación de conocimientos tanto de los métodos como de la epidemiología. De tal manera que



proporcione al investigador, al bioquímico, al médico y al trabajador en salud en general, procedimientos estandarizados y sencillos para el diagnóstico en el laboratorio de *Helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas y de la situación de infección en nuestro país.

En la actualidad los laboratorios de bacteriología clínica que realizan el diagnóstico se limitan a realizar la prueba bioquímica rápida de la ureasa en los casos en que el médico gastroenterólogo solicite la confirmación de la presencia de *H. pylori* como causante de la enfermedad, ya que esta prueba bioquímica no es totalmente específica para *H. pylori* por que pueden existir otros microorganismos que degradan la urea en el tracto gastrointestinal, lo que podría estar generando resultados de laboratorio que sean falsos positivos e incluso falsos negativos. Algunos laboratorios realizan el diagnóstico serológico para determinar el título de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*, esta prueba tampoco es específica, por que puede presentar reacciones cruzadas, al igual que la anterior prueba generar resultados falsos positivos o falsos negativos.

El hecho de contar con un método estandarizado para el aislamiento de *H. pylori* aportaría al conocimiento de vigilancia de la infección, seguimiento de la resistencia a los antimicrobianos utilizados en terapias para su erradicación que producen fallas al tratamiento y prevalencia.

El Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del Instituto Nacional de Laboratorios en Salud “Néstor Morales Villazón” participa en el proyecto internacional “ESTRATEGIAS DE VACUNACION CONTRA *Helicobacter pylori* EN AMERICA LATINA”.

3. OBJETIVOS.

1. OBJETIVO GENERAL.

Describir la infección por *Helicobacter pylori* y evaluar las pruebas diagnósticas utilizadas para su identificación en el Hospital “Arco Iris” y la Clínica “Caja Petrolera” de la ciudad de La Paz Bolivia durante los meses de junio 2005 a mayo 2006.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Estandarizar el procedimiento del **cultivo bacteriológico** para el aislamiento e identificación de *Helicobacter pylori*.
2. Evaluar la sensibilidad y especificidad de la **prueba de la ureasa** utilizada para la identificación de *Helicobacter pylori* en el Hospital “Arco Iris” y la Clínica “Caja Petrolera de Salud” en comparación con el cultivo bacteriológico a partir de muestras de biopsias gástricas procedentes de pacientes que acuden a consultas de gastroenterología.
3. Comparar la **frecuencia de aislamiento** de *Helicobacter pylori*, de biopsias gástricas tomadas de antro pilórico y fondo gástrico.
4. Determinar si el tratamiento con inhibidor de la bomba de protones, antibióticos o combinado, **inhibe el crecimiento** de *Helicobacter pylori* en el cultivo bacteriológico de biopsias gástricas procedentes de pacientes que acuden a consultas de gastroenterología en el Hospital “Arco Iris” y la Clínica “Caja Petrolera”.
5. Determinar la **frecuencia de infección** por *Helicobacter pylori* mediante el cultivo bacteriológico, a partir biopsias gástricas procedentes de pacientes que acuden a consultas de gastroenterología en el Hospital “Arco Iris” y la Clínica “Caja Petrolera”.
6. Determinar si los **factores socioeconómicos**, predisponen la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes que acuden a consultas de gastroenterología en el Hospital “Arco Iris” y la Clínica “Caja Petrolera”.

4. DISEÑO TEORICO.

1. MARCO TEORICO

La infección por *Helicobacter pylori* es elevada en países en vías de desarrollo. Además se ha observado que las personas del sexo femenino aparentemente tienen menor predisponibilidad de infección que las personas del sexo masculino. Estudios epidemiológicos han mostrado que la infección por *Helicobacter pylori* ocurre en la población mundial en general (Cave, 1997). Sin embargo, la incidencia de la infección entre países desarrollados y en vías de desarrollo es significativamente diferente, la incidencia anual de infección se presenta entre el 0.5% y el 1% para menores de 10 años y la infección aumenta hasta en un 50% en adultos, con un promedio de edad de 60 años en países desarrollados y en los países en vías de desarrollo la mayoría de las personas, el 80% aproximadamente se infectan con *Helicobacter pylori* a una edad promedio de 10 años (Pérez-Pérez et al, 1988; Everhart et al, 2000).

Helicobacter pylori es una bacteria de difícil cultivo in vitro y cuyo diagnóstico es de suma importancia, en Chile se ha realizado un estudio para evidenciar la presencia del tipo de cepa de *H. pylori* y la enfermedad gástrica por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa, en el que hallaron la asociación de la enfermedad gástrica y los alelos de los genes CagA y VacA de *H. pylori* (Arraya et al, 2004).

Estudio realizado en Polonia el año 2002 sugiere que la rosácea podría ser una manifestación de la infección por *Helicobacter pylori* ya sea a nivel gástrico o a nivel oral (Zslachcic, 2002).

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

En la Habana Cuba el año 2001 se realizó un estudio para evaluar el diagnóstico y aislamiento de *H. pylori*, para lo que se empleó la prueba de la ureasa rápida, la tinción de gram, y el cultivo en agar cerebro corazón. Se determinó la prevalencia de la infección del 79,2% en la gastritis crónica, un 100% en los pacientes con úlcera duodenal y un 90,4% en relación con la úlcera gástrica. En el 100% de los casos de adenocarcinoma gástrico y en el 60% de los casos de neoplasias de esófago se aisló el microorganismo. El aislamiento de *H. pylori* en el 78,9% de endoscopias realizadas e informadas como normales es una alerta de la prevalencia en pacientes dispépticos (Gutiérrez et al, 2001).

Un estudio seroepidemiológico realizado en la República Mexicana en el año 1997 en 11,605 sueros procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años. Los resultados mostraron que el 20% de los niños de 1 año de edad presentaban anticuerpos contra *Helicobacter pylori* y que la seropositividad aumentó hasta un 50% en los niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección por el microorganismo en México se adquiere a edades tempranas y alcanza hasta un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad. La tasa de incremento de seropositividad fue aproximadamente del 5% anual durante los primeros 10 años de la vida (Torres et al, 1998).

Se estudió en la República Mexicana la evaluación de los métodos de transporte, el medio de cultivo, las técnicas de identificación y conservación de las cepas, en el que lograron establecer que el agar columbia suplementado con sangre defibrinada de caballo es el mejor medio de cultivo, el medio microaerofílico generado con tres alka SELTZER® es similar a los métodos comerciales, utilizaron caldo brucella suplementado con 2% de suero fetal bovino sirve para el transporte de las muestras hasta cuatro horas, y la conservación es apta en caldo brucella con glicerol al 20% y suero fetal bovino al 2% permite conservar las cepas a -70°C durante seis meses (Majalca et al, 2001).

En el Perú el año 2002 se realizó un trabajo en el que se presenta avances en la tipificación de aislamientos de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa

(PCR), el mismo que utilizo como blanco de caracterización a los genes de la toxina de vacuolización (Vac) y la isla de patogenicidad (Cag) (Zamudio et al, 2002).

En nuestro País existen estudios que aportan información sobre la infección por *Helicobacter pylori*. Así tenemos la evaluación de las pruebas de confiabilidad y sensibilidad de las pruebas de diagnóstico, en dicho estudio se observo que 54% de los pacientes presentaron una reacción positiva a la prueba de la ureasa, 33% de los pacientes presentaron una reacción positiva a la tinción gram directo y 0% el cultivo en Agar Skirrow es decir que no observaron el desarrollo de colonias características de *Helicobacter pylori*. (Galarza et al, 1993).

El año 1997 se hizo un estudio para determinar que la prevalencia de infección por *H. pylori* es mayor al 50%, que las técnicas de diagnóstico como son: la prueba de la ureasa demostró ser una excelente prueba predictiva proporcionando una sensibilidad del 93% y que el cultivo bacteriano agar BHI presenta una sensibilidad del 75% y especificidad del 85%, el estudio histológico sirve como instrumento de apoyo cuando no se cuente con el cultivo de *Helicobacter pylori*, El estudio serológico no puede ser considerado como un método de selección para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. También se describió que el nivel socioeconómico, las condiciones de higiene y las condiciones de vida, son factores predisponentes para la infección por *Helicobacter pylori*; Se debe necesariamente medicar a los pacientes con terapias sugeridas para la erradicación de *Helicobacter pylori*, la mas empleada es la combinación de Amoxicilina, Metronidazol y Omeprazol. (Álvarez et al 1997).

Otro estudio destinado para evaluar la sensibilidad de pruebas diagnóstico laboratorial de *Helicobacter pylori*, el mismo que reporta los siguientes resultados, del total de los pacientes analizados, el 60,52% confirmaron una reacción positiva a la prueba de la ureasa, el 52,17% de las muestras desarrollaron en medio de cultivo Campylobacter Agar Skirrow. Además que realizo pruebas de sensibilidad por el método de Bauer Kirby en el que se

reporta los siguientes resultados amoxicilina y metronidazol resistente, eritromicina y tetracilina sensible. (Valdivieso et al, 1998).

Un estudio realizado en el departamento de Santa Cruz fue para determinar la prevalencia del *Helicobacter pylori* por medio de la prueba de la ureasa, este reporto los siguientes resultados, el 73.9% fueron *Helicobacter pylori* positivos y 26.1% fueron *Helicobacter pylori* negativos, y que la prevalencia en el genero masculino fue del 75.8% positivos y el resto negativos, y la prevalencia en el genero femenino 64.6% fueron positivos y el resto negativos; con respecto al diagnostico clínico el 100% de los pacientes con úlcera duodenal eran positivos para *Helicobacter pylori*, 80.0% de los pacientes con úlcera gástrica fueron positivos, el 81.1% de los pacientes con gastritis erosiva eran positivos para *Helicobacter pylori*, el 100% de los pacientes con gastritis hiperplasica, eran positivos para *Helicobacter pylori*, 65.9% de los pacientes con carcinoma avanzado de estómago fue también positivo para *Helicobacter pylori*.(Prado et al, 2001).

Otro estudio realizado en el departamento de Santa Cruz determino la seroconversión y la tasa de incidencia de infección por *H. pylori* en un estudio de cohorte en 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 et al, 2002).

Helicobacter 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 ulceropéptica, gastritis crónica activa y el adenocarcinoma gástrico (Zamudio, 2001).

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 2004).



La infección por *H. pylori* es una de las enfermedades infecciosas crónicas más frecuentes en la actualidad, pudiendo afectar a cualquier estrato social, raza, sexo o grupo etario, aunque evidentemente con distinta frecuencia (Pueyo, 2003).

2. MARCO REFERENCIAL.

1. HISTORIA DE *Helicobacter pylori*.

En 1982, tras las vacaciones de Pascua, se dejó por olvido una jarra de cultivo microaerófilico, y tras un largo periodo de incubación fue abierta en el Departamento de Microbiología del “Royal Perth Hospital” en Australia, el mismo reveló el desarrollo de diminutas colonias translúcidas, que vistas al microscopio teñidas con tinción gram observaron microorganismos espiralados, estas fueron cultivadas a partir de biopsias de pacientes con gastritis crónica. Fue el primer cultivo de *Helicobacter pylori*. Anteriormente solamente pudo ser vista al microscopio en preparaciones histológicas desde finales del siglo XIX, pero jamás cultivada. Este descubrimiento marco un hito en la historia de la microbiología y se debió gracias a los Drs. Robin Warren y Barry Marshall, quienes en ese momento lo denominaron *Campylobacter pyloridis*, por su parecida morfología al género *Campylobacter*, no duro mucho este nombre y muy pronto se separó del género *Campylobacter*, basados en estudios de secuenciación molecular, finalmente adquiriendo la denominación de *Helicobacter pylori* en el año 1989 (Goodwin et al., 1989).

Este aislamiento revolucionó dentro del mundo de la gastroenterología y obligó a los médicos gastroenterólogos a replantear muchos conceptos, no sólo acerca de la patología gastroduodenal, sino también de la fisiopatología gástrica. Los primeros congresos de los grupos de trabajo, resultaron auténticos esfuerzos por parte de los microbiólogos en su intento de convencer a los clínicos, un tanto escépticos, del protagonismo de *Helicobacter pylori* en la patología de la gastritis y la úlcera péptica. No fue sino hasta el año 1992 cuando se evidenció que la triple terapia antibiótica curaba la úlcera péptica, y así fue que se aceptó el carácter infeccioso de éste microorganismo. (Sánchez et al 1999)

Hasta fines del año 1990 se reportó que *Helicobacter pylori* era causante de la gastritis en la mitad de la población mundial, y que es el agente etiológico del 95% de las úlceras duodenales, del 70% a 80 % de las úlceras gástricas y tiene un protagonismo relevante en el 60-70 % de los casos de cáncer gástrico, que representa una de las neoplasias más frecuentes en todo el mundo (Blaser et al, 1987; Parsonnet et al, 1991). La asociación con el linfoma gástrico de la mucosa gástrica tipo MALT, fue posterior (Bayerdörffer et al, 1995).

A partir del año 1995, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer declaró al *Helicobacter pylori* como agente carcinógeno número uno para el adenocarcinoma gástrico, demostrado en varios estudios. También se estableció que existe una muy significativa asociación entre el linfoma MALT y la infección por *Helicobacter pylori*, en otros estudios también se ha descrito la asociación entre *Helicobacter pylori* y el cáncer de colon.

En agosto de 1997 Tomb et al., publicaron la secuencia completa del genoma de *H. pylori* cepa 26695, sólo 15 años después de que fuera cultivada in vitro por primera vez. Era el sexto genoma de procariontes secuenciado. Posteriormente en enero de 1999, se continuó con la secuencia del genoma completo de *H. pylori* cepa J99, permitiendo la comparación entre ambos genomas. El conocimiento del genoma ha permitido a los investigadores estudiar los genes específicos de *H. pylori*, esenciales para la colonización, la patogenicidad o la supervivencia de la bacteria.

En el año 2005 el jurado del Instituto Karolinska de Estocolmo Suecia, encargado de conceder el Premio Nobel de Medicina, 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 (la inflamación del

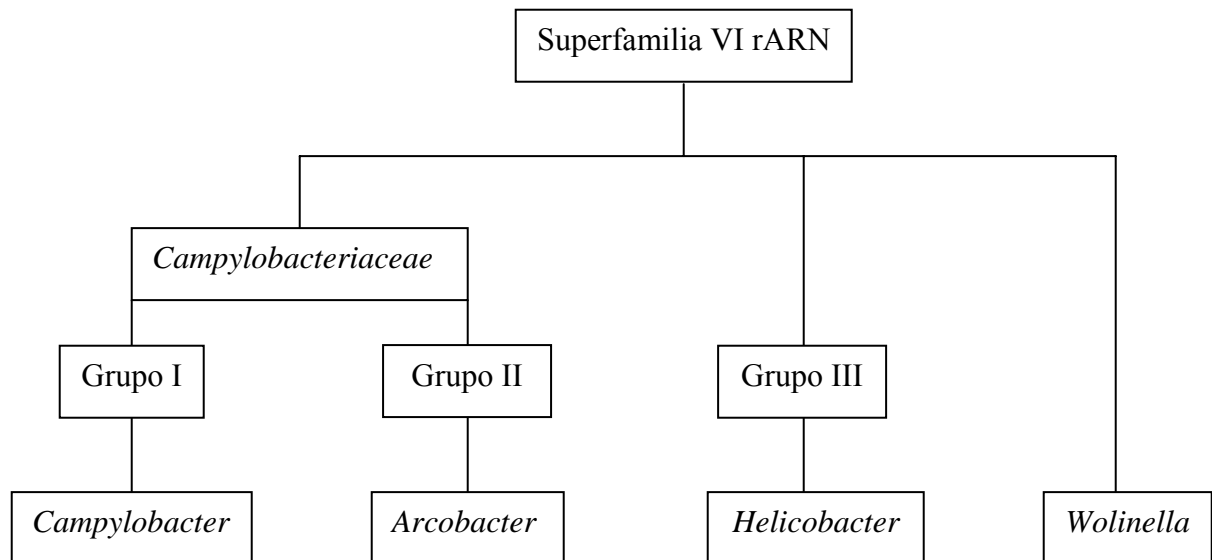


Barry Marshall y Robin Warren. Premio Nobel 2005.

estómago) y la úlcera de estómago o de duodeno (úlcera péptica). Ambos científicos demostraron que “*Helicobacter pylori*” era la causa de ambos trastornos. Estos hallazgos trascendentes en el mundo de la gastroenterología dieron como resultado el “Premio Nóbel de Medicina 2005” a los australianos.

2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.

Helicobacter pertenece al subgrupo más pequeño de las proteobacterias. Dentro de este subgrupo todas las bacterias son bacilos gramnegativos, delgados, y pueden ser rectos, curvados o helicoidales, es decir que son polimórficos. Las proteobacterias tienen una clase, *Campylobacteres*, un orden, *Campylobacterales* y dos familias, *Campylobacteraceae* y *Helicobacteraceae*. Los dos géneros más importantes son *Campylobacter* y *Helicobacter*, se ubican en la Sección 2 de la primera edición del Manual Bergey, dado su condición morfológica de ser bacilos gramnegativos, microaerofílicos, móviles, helicoidales o vibrioides (Prescot et al, 2000).



Componentes de la Superfamilia VI de rARN (Vandamme et al., 1991).

Helicobacter pylori esta clasificado dentro del reino de las bacterias:

Clasificación científica:

Reino: Bacteria

Filo: Proteobacteria

Clase: Epsilon Proteobacteria

Orden: Campylobacterales

Familia: Helicobacteraceae

Género: *Helicobacter*

Especie: *H. pylori*

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

3. ESPECIES DEL GENERO HELICOBACTER.

Hasta el momento se tienen reportes de que existen más de 30 especies pertenecientes al genero *Helicobacter* de distinta localización y de diferentes aislamientos, ya sea mucosa gástrica, heces, hígado, etc. de los seres humanos, los perros, los gatos y otros mamíferos (Koneman *et al.*, 2003).

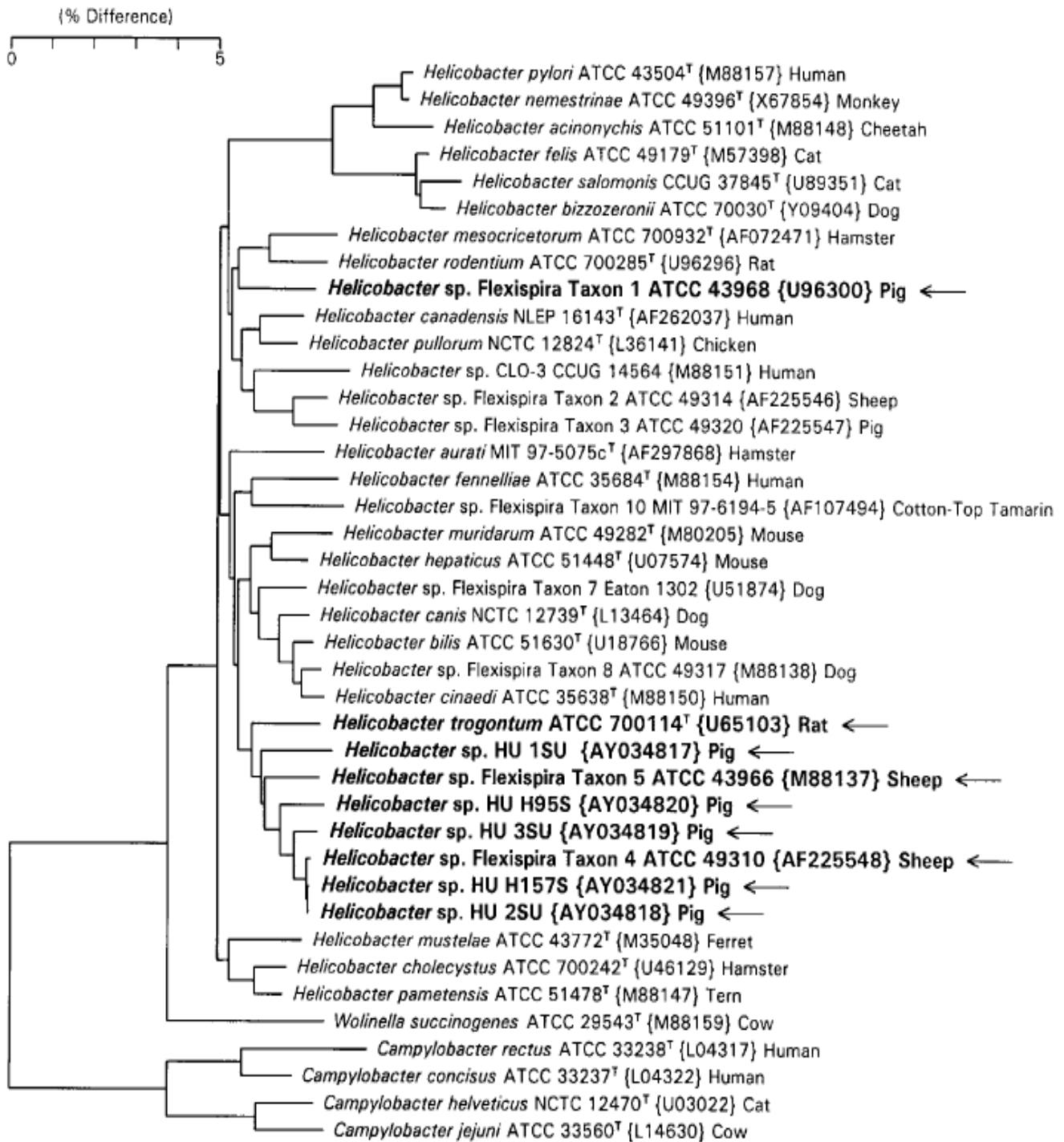
Especies del genero *Helicobacter* y microorganismos relacionados

Especie	Huésped	Localización del aislamiento
<i>H. acinnoxys</i>	Leopardos cheeteh	Mucosa gástrica
<i>H. bilis</i>	Ratones	Bilis, Hígado, intestino
<i>H. bizzozeronii</i>	Perros	Mucosa gástrica
<i>H. canis</i>	Perros, hombres	Heces
<i>H. cinaedi</i>	Hombres, hámster	Sangre, hisopado rectal (hombre),intestino hámster
<i>H. felis</i>	Gatos, perros	Mucosa gástrica
<i>H. fennelliae</i>	Hombre	Sangre, hisopado rectal
<i>H. hepaticus</i>	Ratones	Hígado, intestino

Espécie de <i>Helicobacter</i> cepa Mainz	Hombres	Articulación de la rodilla, sangre
<i>H. muridarum</i>	Ratas, ratones	Intestino
<i>H. mustelae</i>	Hurones	Mucosa gástrica
<i>H. nemestrinae</i>	Monos macacos de cola de cerdo	Mucosa gástrica
<i>H. pametensis</i>	Aves silvestres (golondrinas de mar, gaviotas), cerdos	Heces
<i>H. pullorum</i>	Pollos, hombres	Intestino, hígado (pollos), heces (hombre)
<i>H. pylori</i>	Hombres, monos, gatos	Mucosa gástrica
" <i>Flexispira rappini</i> " (" <i>H. rappini</i> ")	Ovejas, perros, hombres	Hígado (ovejas), estomago (perros), heces (hombre)
" <i>Gastrospirillum</i> <i>hominis</i> " (" <i>H.</i> <i>heilmannii</i> ")	Leopardo cheeteh, hombre	Mucosa gástrica
CLO-3	Hombre	Hisopado rectal

"Elmer Koneman. Diagnostico Microbiológico"

El análisis del DNAr ha demostrado ser un poderoso instrumento en los estudios filogenéticos de las especies de *Helicobacter sp.* y *Campylobacter sp.*, basados en el RNAr 16S (Paster et al, 1988; Vandamme et al, 2000; Dewhirst et al, 2000b; On, 2001). Además de la secuencia completa del RNAr 16S (Paster et al., 1988; Vandamme et al., 2000; Dewhirst et al., 2000b; On, 2001). Se ha utilizado el árbol filogenético basado en la secuencia 16S del DNAr para construir un árbol de 40 cepas que se puede observar en la grafica siguiente:



Cepas que se unen al árbol filogenético de *Helicobacter* sp. La taxa *Flexispira* y especies representativas de *Helicobacter* y *Campylobacter*. Basados en la secuenciación comparativa del RNAr 16S. Se muestran los números de las cepas que asigno el banco de genes, También se puede observar el origen de obtención de la cepa.



1. Especies de *Helicobacter* encontrados en seres vivos no humanos.

Se ha aislado de animales una serie de especies de *Helicobacter*, entre las que se incluyen *H. acinonyx*, *H. bilis*, *H. bizzozeronii*, *H. canis*, *H. felis*, *H. hepaticus*, la especie de *Helicobacter* cepa mainz, *H. muridarum*, *H. mustelae*, *H. nemestrinae*, y *H. pullorum*. Estas bacterias se encuentran por lo general en el estomago o en el tracto gastrointestinal inferior. En el estomago se asocian habitualmente con gastritis en el huésped animal. Algunas de estas cepas también han sido aisladas del hombre.

2. Especies de *Helicobacter* encontrados en humanos.

Se han aislado varias especies de *Helicobacter* en seres humanos, distintos de la especie *Helicobacter pylori*, todas estas otras especies se han asociado a diversas patologías, como *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, Especie de *Helicobacter* cepa mainz, *H. pullorum*, "*Flexispira rappini*" ("*H. rappini*"), "*Gastrospirillum hominis*" ("*H. heilmannii*"), y la especie aun no nominada CLO-3.

4. *Helicobacter pylori*.

1. Características Generales.

H. pylori se encuentra en las células epiteliales gástricas secretoras de moco. Las evidencias demostraron que es el agente etiológico de gastritis crónica, ulcera péptica, cáncer gástrico, linfoma de MALT y recientemente se esta relacionando con otras patologías extragastrointestinales. La gastritis producida por *Helicobacter pylori* tiene amplia distribución en muchos países y puede ser una de las infecciones mas frecuentes en el hombre.

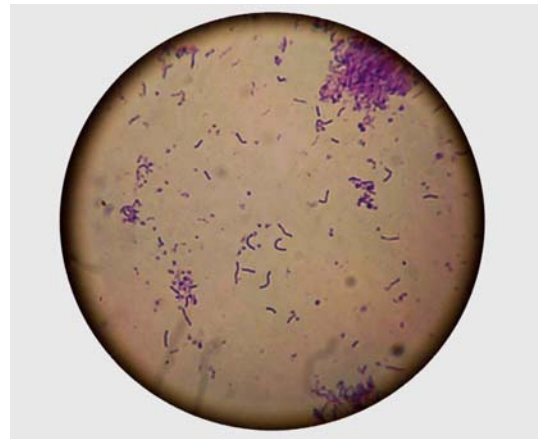
Entre las experiencias de laboratorio se debe considerar que es un microorganismo que requiere condiciones especiales para su desarrollo por ser de crecimiento lento, condiciones de microaerofilia (85% de nitrógeno 10% de dióxido de carbono y 5% de oxígeno) y se desarrolla a temperatura de 37°C. Es catalasa, oxidasa y ureasa positiva. La morfología de sus colonias resulta característica por el pequeño tamaño de las mismas y su aspecto



brillante. El crecimiento en medio líquido se ve favorecido por la agitación. Tras subcultivos prolongados, aparecen las denominadas formas cocoides, metabólicamente activas pero inviables para ser cultivadas de nuevo *in vitro*. Su movimiento se debe a que posee de cuatro a seis flagelos de aproximadamente de 30µm de longitud. A diferencia de las campylobacterias que tienen múltiples flagelos envainados.

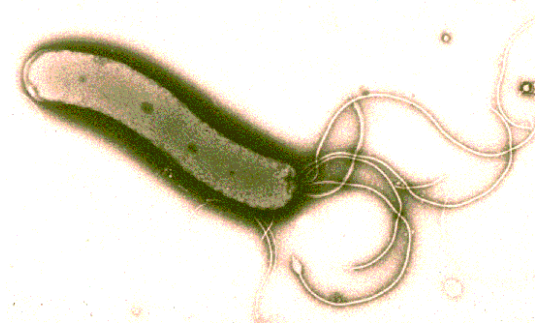
2. Morfología y Estructura Bacteriana.

Helicobacter pylori es un microorganismo gram-negativo, estructura morfológica bacilar-espiral (estado viable para el cultivo), en forma de S, U, alas de gaviota o rara vez largos, su tamaño generalmente es de 2,5µm a 5µm de largo y de 0,5µm a 1µm de ancho, no forman esporas, son móviles por que poseen de 3 a 5 flagelos lofotricos en uno de sus extremos.



Tinción cristal violeta LNRBC-INLASA

Helicobacter pylori es también un microorganismo polimórfico que además posee **estructura cocoide** (denominado estructura de resistencia o latencia) y se puede observar su morfología en cultivos viejos o de larga data (mayor a siete días) (estado no viable para el cultivo). Ambas pueden encontrarse en el estómago y en el duodeno. La forma cocoide



Morfología estructural de *H. pylori*

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 en *H. pylori* cultivando bajo diversas condiciones adversas: aerobiosis, pH alcalino, alta temperatura, incubación prolongada, tratamiento con inhibidor de la bomba de protones o antibiótico, óxido nítrico, etc. Como el modo de transmisión de

H. pylori aún se desconoce, se especula con la posibilidad de que la forma cocoide sea una forma de resistencia, capaz de soportar las condiciones adversas que encuentra *Helicobacter pylori* en el medio ambiente, y reversible a la forma espiral en el momento en que se vuelvan a dar las condiciones óptimas, es decir su hábitat natural. El Proceso de formación de la estructura morfológica cocoide es el siguiente:

- * La forma bacilar es la forma de la mayoría de las bacterias presentes en cultivos microaerófilos frescos.
- * El inicio de la conversión ocurre por la formación de una burbuja en uno de los extremos del bacilo.
- * La burbuja continúa creciendo y se rellena de material denso a los electrones y el bacilo comienza a doblarse.
- * Este proceso continúa hasta llegar a tener forma de U dentro de una estructura membranosa rellena con material denso.
- * Cada vez se acumula más material denso a los electrones hasta llegar a no poderse dilucidar la forma bacilar: ya tenemos la forma cocoide de *H. pylori*.
- * En este momento ya han desaparecido todas las estructuras discretas, incluyendo la membrana que rodeaba la forma bacilar curva.

Algunos trabajos han tomado como referencia el hecho de que tenga o no la membrana intacta para afirmar la viabilidad de la forma cocoide. Teniendo en cuenta el proceso descrito, quizás hubiera que reconsiderar la definición de viabilidad.

1. Pared celular y lipopolisacáridos

Es Gram negativo, presenta una membrana externa y otra interna, presenta numerosas proteínas en la membrana externa como la HspB (heat-shock proteins B) similar a la GroEL de *E. coli*, esta situada a nivel citoplasmática, se observa en la fase logarítmica de crecimiento, esta proteína ha sido implicada en los procesos de autólisis.

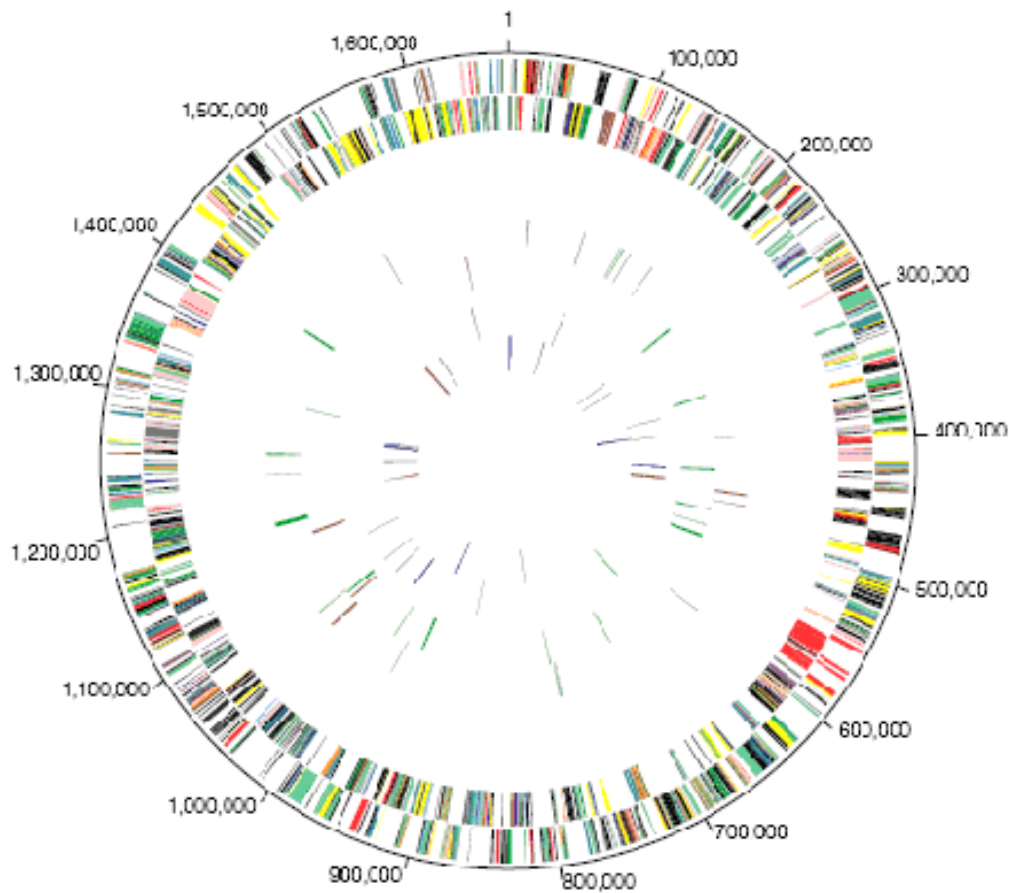
Los lipopolisacaridos de *H. pylori* tienen una actividad inmunogenica débil en comparación con otros gram negativos, por lo que en los procesos inflamatorios que produce se encuentran niveles bajos de citocinas como por ejemplo la IL-8.

Existe una similitud entre la estructura de la cadena O especifica y los antígenos de Lewis de los grupos sanguíneos, esto sugiere que la expresión de estos antígenos propios del huésped sobre la superficie de la bacteria, puede ocultar al microorganismo durante el proceso infeccioso y así lograr su supervivencia, se ha identificado a la adhesina BabA que permite la unión al antígeno de Lewis. A nivel molecular se han identificado a los genes *BabA* y *BabB*, al parecer estos genes codifican proteínas con un péptido señal que podría ser clivado en la secreción.

En general los lipopolisacaridos son eficientes inmunomoduladores y potentes estimuladores de la respuesta inmune; la arquitectura común es la forma de un polisacárido hidrófilo compuesta de una cadena O especifica en un núcleo oligosacarido ligado al lípido A, este lípido es el responsable de la propiedad inmunogenica y endotoxica del lipopolisacrido. El lípido A de *Helicobacter pylori* presenta una fosforilación de un ácido graso que probablemente sea una consecuencia del fenómeno de adaptación en el nicho ecológico de la mucosa gástrica, por este motivo el lipopolisacárido de *Helicobacter pylori* destruye el estrato mucoso gástrico interfiriendo en la interacción entre la mucina y su receptor mucoso.

3. Genoma.

En 1997, Tomb describió la secuencia completa del genoma de *Helicobacter pylori* cepa 26695[Tomb et al, 1997]. La secuencia se obtuvo por métodos de secuenciación randomizada, que previamente se habían utilizado en la obtención del genoma de *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma genitalium* y *Methanococcus jannaschii*.



Representación circular del cromosoma de *Helicobacter pylori* 26695

<http://www.tigr.org/tdb/mdb/hpdb/hpdb.html>

La cepa *Helicobacter pylori* 26695, aislada originalmente de un paciente de Reino Unido con gastritis, se escogió por su capacidad de colonizar cerdos y provocar en ellos una respuesta inmunitaria e inflamatoria.

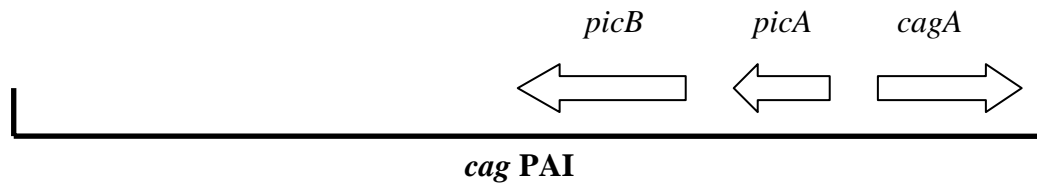
Se trata de una cepa toxigénica (*vacA*⁺), que presenta un genoma circular de 1.667.867 pares de bases y 1.590 genes, con un tamaño medio de 945 pares de bases cada uno, similar al observado en otras células procariontas. Más del 70% de sus proteínas tenían un punto isoelectrico mayor de 7.0, comparado con el 40% de *H. influenzae* y *E. coli*. El promedio de guanina-citosina es del 39%. Los aminoácidos básicos -arginina y lisina- están presentes con una frecuencia doble en *H. pylori* respecto *H. influenzae* y *E. coli*, lo que quizás refleja



su adaptación al medio gástrico ácido. De acuerdo con un nicho ecológico tan restrictivo, *H. pylori* presenta una gran capacidad de biosíntesis y reparación, en un intento por adaptarse al medio. La supervivencia en condiciones tan ácidas depende, en parte, de su habilidad para generar un potencial positivo intracitoplasmático en condiciones de bajo pH. Tomb et al. identificó 1,590 marcos de lectura abierta (ORFs), que representa 91% del cromosoma de *H. pylori* de la cepa 26695, y Alm et al. identificó 1,495 ORFs que representan 90.8% del cromosoma de la cepa J99. Ningún genoma de cadena larga muestra el prejuicio. Las regiones no codificantes de la cepa 26695 (9%) son divididos en tres clases. Las secuencias intergenicas que representan 6% de las regiones no codificantes, mientras los no codificantes se repiten en 2.3%, y ARN estable del 0.7%. Entre los 1,590 ORFs, se encontraron 1,091 que contienen esas partes en otros organismos, mientras se pueda asignar los papeles biológicos a ellos, aunque no todos tienen función ortólogos conocidas. El ORFs 499 no se exhibe en ninguna base de datos puede ser considerado en este momento específico a *H. pylori*. En la reescritura de la corrida de este genoma por Alm et al., el número de ORFs de la cepa 26695 es de 1,552 del que 1,185 regiones ortólogas se han encontrado en otras especies, 367 son específicas para *H. pylori*, y 69 son específicos de la cepa 26695. La proporción de genes huérfanos en *H. pylori* es similar al encontrado en otra bacteria secuenciada a la fecha. Sin embargo, debe tenerse presente que los genes ortólogos de algunos de esos ORFs probablemente llegue a ser identificado cuando los genomas enteros extensos sean completamente secuenciados.

La **isla de patogenicidad** de *H. pylori* se ha considerado en función de su habilidad para producir la citotoxina vacuolizante (VacA) y la proteína asociada a la citotoxina (CagA). El gen *vacA*, de 3,9kb de tamaño, codifica para una proteína de 139 kDa con una secuencia líder de 33 aminoácidos, la propia citotoxina (VacA) y un fragmento C-terminal de aproximadamente 50kDa. La citotoxina induce la formación de vacuolas en las células epiteliales del huésped y se ha asociado su presencia con la capacidad de producir lesión tisular y enfermedad ulcerosa, aunque no se trata del único factor implicado. El gen *cagA* está posicionado en uno de los extremos de la isla de patogenicidad (PAI) de 35 kb, que

contiene unos veinte genes, incluyendo el *picB* (Tomb et al, 1997), requerido para inducir la producción de interleucina-8 por las células del epitelio gástrico (Censini et al, 1996).



Esquema de la isla de patogenicidad (PAI) de *Helicobacter pylori* [Tomb et al, 1997].











Al menos cuarenta proteínas del genoma de *H. pylori* se encuentran implicadas en la regulación, secreción y ensamblaje de la arquitectura flagelar que permiten al *H. pylori* su movimiento, son estructuras complejas y envainadas con bulbo terminal, una flagelina mayor codificada por el gen *flaA* y otra menor codificada por el gen *flaB*.

Aproximadamente el 40% de los aislamientos de *H. pylori* presentan plásmidos, con un tamaño que oscila entre de 1,5 a 23,3 kb, pero no contienen ninguno de los factores de virulencia conocidos (Minnis et al, 1995).

El promedio de G+C que contiene el genoma de la cepa 26695 es del 39%, pero cinco regiones (nueve en la cepa J99) tienen una composición distinta de G+C (3, 280). Región 2 (35% G+C) de la cepa 26695 es la *cagA* zona de patogenicidad asociada con la producción del antígeno CagA y la regulación de la interleucina 8. Las otras cuatro regiones no se han caracterizado todavía experimentalmente. Las regiones 1 y 3 (33% G+C) contiene copias de genes en las secuencias de inserción IS605, 5S del rRNA, y 521-pb se repiten. Además, la región 1 contiene el gen *virB4* que codifica la proteína involucrado en el transferencia del T-ADN en *Agrobacterium tumefaciens* y en la secreción de toxina de la *Bordetella pertussis* (294). La región 4 (43% G+C) contienen genes de *rpoB* y *rpoC* que codifican las subunidades b y b9 de la ARN polimerasa. El gen *fusA* que codifica la elongación y translación del factor EF-G también es asociado con esta región. Finalmente, la región 5 (33% G+C) contiene dos sistemas de modificación/restricción.

4. Mecanismos de Patogenicidad.

H. pylori es capaz de colonizar y además puede permanecer en estado de latencia (forma cocoide) en su nicho biológico, la mucosa gástrica. Los mecanismos de patogenicidad pueden dividirse en dos grupos: Los factores de virulencia y los factores de mantenimiento dentro del huésped.

Factores de virulencia	Factores de mantenimiento
<i>Inducción Inflamación Gástrica</i>	Movilidad
 Interleucina-8	Catalasa y Superóxido dismutasa
 Adherencia neutrófilos	<i>Heat shock proteins</i>
 PAF (Factor Activador de Plaquetas)	ATPasa
 Lipopolisacárido	Sideróforos
 Ureasa	Adhesinas
<i>Alteración Barrera de Moco</i>	Evasión de la Inmunidad
 Fosfolipasa	
 Mucinasa	
 Radicales libres oxígeno	
 Óxido nitroso sintetasa	
 Apoptosis	
<i>Alteración de la Secreción Acida</i>	

Mecanismos de patogenicidad de *Helicobacter pylori*.

1. Factores de Virulencia

Son los responsables de los tres grandes efectos patogénicos imputados a *H. pylori*: inducción de la inflamación gástrica, alteración de la barrera mucosa gástrica y alteración de la fisiología gástrica.



1. Inducción de la inflamación gástrica.

Interleucina-8. Es un péptido que actúa como un potente mediador de la inflamación reclutando y activando neutrófilos (Sharma et al, 1995). Cepas de *H. pylori* VacA⁺/CagA⁺ inducen una mayor producción de IL-8 que cepas VacA⁻/CagA⁻ (Crab tree et al., 1995).

Adherencia de los neutrófilos. La proteína, HP-NAP de 150 kDa, incrementa la expresión en los neutrófilos de la integrina CD11b/CD18 y aumenta su adherencia a las células del endotelio (Evans et al, 1995).

Factor activador de plaquetas (PAF). Es un agente ulcerogénico, estimula la secreción ácida gástrica, vía receptores específicos de las células parietales (Sobhani et al, 1996). *H. pylori* puede metabolizar su precursor inactivo Lyso-PAF en PAF, induciendo lesión gástrica.

Lipopolisacárido. El lipopolisacárido de *H. pylori* actúa a nivel de la mucosa gástrica interfiriendo la interacción entre la mucina y su receptor a nivel de la mucosa. (Moran, 1996).

Ureasa. Estimula la activación de la fagocitosis mononuclear y la producción de citocinas inflamatorias. Producida en grandes cantidades por todos los aislamientos de *Helicobacter spp*, su acción se asocia a su autoprotección frente al medio ácido de su nicho ecológico, el estómago. Se han estudiado cepas mutantes ureasa-negativas que pierden la capacidad de colonizar la mucosa del estomago de cerdos (Eaton et al., 1991; Harris et al., 1996). Esta enzima se ha constituido en el candidato potencial para el diseño de vacuna frente a *H. pylori*.

2. Alteración de la barrera mucosa gástrica.

Fosfolipasa. *H. pylori* expresa las fosfolipasas A y C, que alteran la capa de moco del epitelio gástrico. Su efecto puede ser inhibido por el uso de sales de bismuto (Ottlecz et al., 1993).

Mucinasa. Su actividad no esta clara, pero se cree que su expresión *in vivo*, contribuye probablemente a la alteración de la barrera mucosa gástrica.

Radicales libres de oxígeno. Inducidos por *H. pylori*, se ha relacionado su formación en la mucosa gástrica *in vivo* con la extensión de la lesión gástrica.



Inducción de óxido nítrico sintetasa. Cuando se elevan los niveles de óxido nítrico se activa la respuesta inmunitaria y lesión tisular (Wilson et al., 1996).

Apoptosis. *H. pylori* aparece como un inductor de la muerte celular programada de las células de epitelio gástrico. Del mismo modo inhibe la migración y proliferación de las células epiteliales.

3. Alteración de la fisiología gástrica.

La gastrina estimula la secreción ácida, e inhibe la secreción de somatostatina, péptido inhibidor de la secreción ácida. Este efecto se relaciona con el grado de inflamación gástrica presente, de forma que, cuando la secreción gástrica es inhibida con omeprazol, la presencia de *H. pylori* en el antro se encuentra comprometida y se produce la migración de la bacteria desde esta localización hacia el cuerpo del estómago (Logan et al., 1995).

2. Factores de Mantenimiento

Movilidad. Es un factor de colonización esencial basado en la presencia de flagelos, que en número de cuatro a seis, codificados por los genes *flaA* y *flaB* (Leying et al., 1992), favorecen el mantenimiento de la bacteria en la capa de moco gástrico. Se ha demostrado que cepas carentes de flagelos son incapaces de colonizar modelos animales (Eaton et al., 1996).

La forma espiralada de la bacteria también contribuye a su mantenimiento en la capa de moco (Goodwin et al., 1990).

Catalasa y superóxido dismutasa. Confieren resistencia a la bacteria frente a la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares (Spiegelhalder et al., 1993).

Heat shock proteins (Hsp). (Proteínas de choque térmico) inductoras de la respuesta inmune y moduladoras de la actividad ureasa (Suerbaum et al., 1994).

ATPasa, blanco del efecto bactericida de los inhibidores de la bomba de protones en *H. pylori* (Iwalhi et al., 1991).

Adhesinas. Involucradas en la fijación del microorganismo a las células epiteliales del estómago, resistiendo el peristaltismo (Lingwood, 1993)



Evasión de la inmunidad. *H. pylori* parece tener una cierta actividad supresora de la respuesta inmunitaria celular del huésped, al mostrar resistencia a la fagocitosis, quizá debido a la gran cantidad de amonio que es capaz de producir (Kist et al, 1993).

Antígeno de Lewis. Presente en la superficie de *H. pylori*, puede contribuir al camuflaje de la bacteria. La modificación de la morfología de las bacterias también está implicada, por medio de las formas cocoides, que representa una forma de resistencia en condiciones ambientales hostiles, que pueden ser revertidas a formas bacilares virulentas *in vivo*.

5. Bioquímica y Vías Metabólicas.

Un buen conocimiento de la bioquímica de *H. pylori* es de interés fundamental para conocer la microbiología y también podría ayudar a desarrollar nuevos métodos de identificación y proponer terapias anti-*Helicobacter pylori*. Las principales vías metabólicas de la bacteria han sido reportadas por comparación con datos experimentales con aquéllos derivados de la secuenciación del genoma completo. *Helicobacter pylori* utiliza la vía fermentativa y la vía oxidativa de los carbohidratos, también la vía de las pentosas fosfato, en relación al metabolismo de los aminoácidos lo realiza a través de los aminoácidos.

1. Metabolismo de la Glucosa

Poco después de su descubrimiento el año 1983, *Helicobacter pylori* fue clasificado como una especie de *Campylobacter*, y como otros miembros de este género, fue reportado como un microorganismo incapaz de catabolizar a los hidratos de carbono. Varios estudios de la fisiología de la bacteria ha proporcionado la evidencia que puede metabolizar la glucosa por ambas vías oxidativa y fermentativa, aunque sea microaerofílico obligado. Es más, la glucosa parece ser el único hidrato de carbono utilizado por la bacteria. Más recientemente, el análisis completo del genoma de *H. pylori* ha apoyado estos resultados (Marrais et al, 1999).

Se importa la glucosa a las células por una permeasa que es específico para la D-glucosa y galactosa. Este transportador es sodio dependiente y no es afectado por inhibidores



2-ceto-3-deoxi-gluconato-6-Pconocidos para afectar otras permeasas de glucosa bacteriano. El análisis del genoma estableció la presencia del GluP transportador glucosa/galactosa, y ninguna otra permeasa sacárido se ha identificado. Como sugirió Mendz et al, la fosforilación intracelular de la glucosa es realizado por un glucocinsa en lugar de una hexocinasa, y no hay ninguna evidencia para el sistema de la fosfotransferasa de la glucosa involucrando la forofilación de una enzima E-III. En conformidad con estos datos, el análisis del genoma de *H. pylori* muestra su capacidad de codificar una glucocinasa. La utilización de glucosa muestra características bifásicas, con un período inicial lento seguido por el catabolismo más rápido.

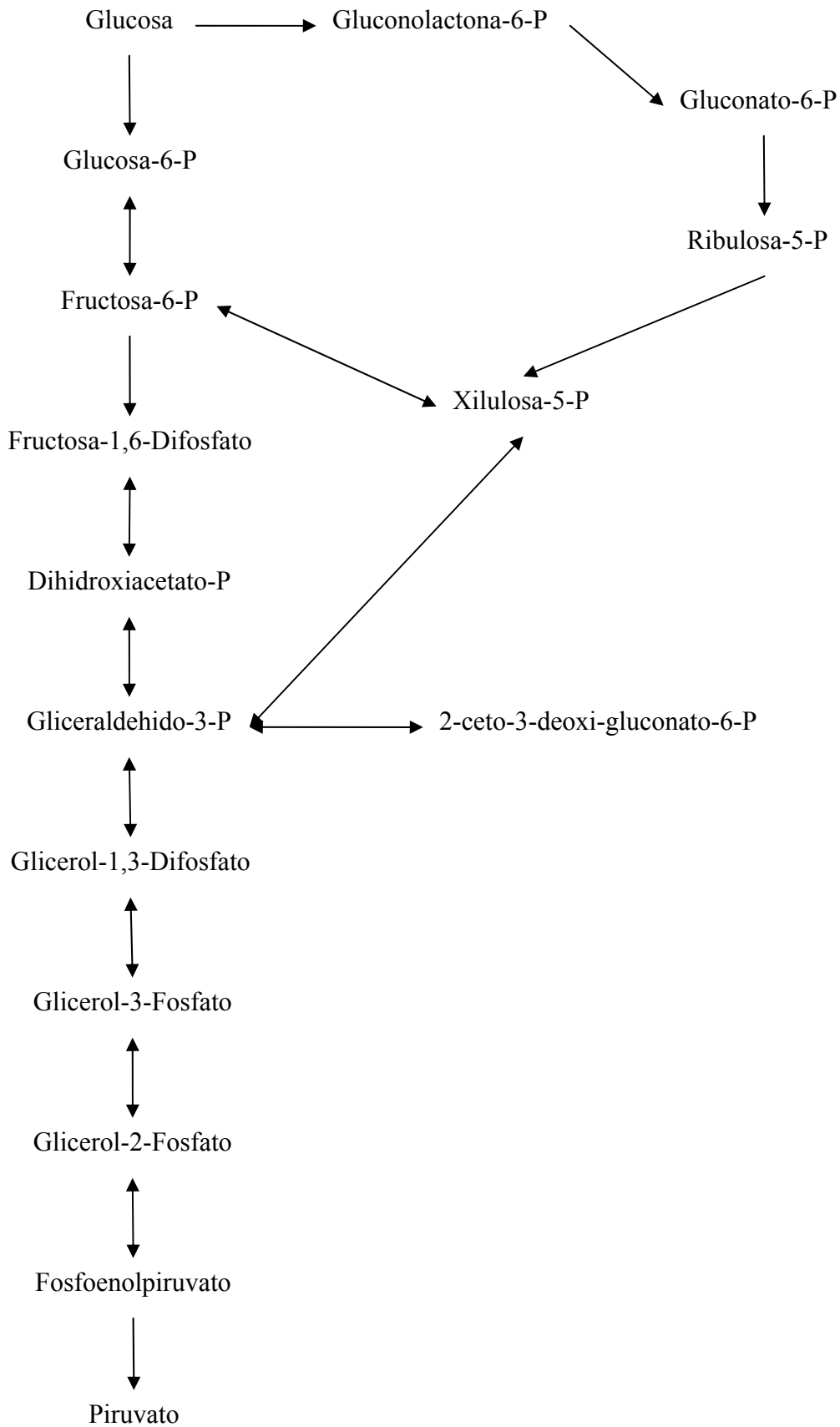
2. Metabolismo del Piruvato

El piruvato es el producto final de las vías glicolítica y Entner Doudoroff. El fin metabólico en *H. pylori* fue investigado por muchos grupos. Estudios demuestran que el piruvato es metabolizado a lactato, etanol y acetato bajo condiciones anaerobias, considerando que el producto mayor del piruvato en condiciones aerobias, en condiciones microaerofilicas el piruvato sintetiza lactato, acetato, formiato, succinato, y alanina (Marrais et al, 1999).

La formación de succinato sugiere que el piruvato ingresa al ciclo de Krebs, y la fuerte presencia de alanina, mostraría que el piruvato juega un papel importante en los procesos de biosíntesis.

La formación de lactato, etanol y acetato sugiere el uso del piruvato en el metabolismo fermentativo.

La caracterización bioquímica de la piruvato-flavodoxina oxidoreductasa y los datos provistos por el análisis del genoma proporciona la visión microaerofilica de la bacteria.

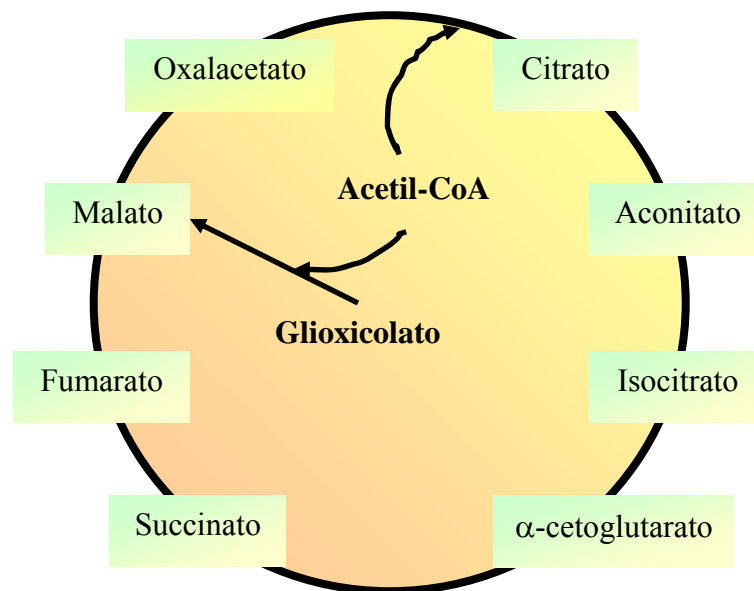


3. El ciclo de Krebs y enzimas relacionadas

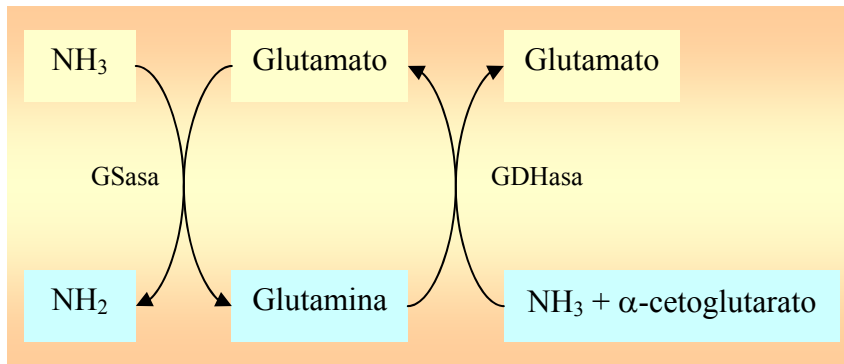
La función del ciclo de los ácidos tricarbóxicos es la oxidación de unidades de acetil para producir CO_2 y la generación de nucleótido reducido útil para la biosíntesis de la reducción o para el almacenamiento de energía en forma de ATP (adenosina trifosfato). Se han identificado en *Helicobacter pylori* precursores necesarios para la biosíntesis, por ejemplo: oxalacetato, succinil-CoA y α -cetoglutarato, elementos del ciclo de Krebs.

Hoffman et al y Pitson et al reportaron la existencia α -cetoglutarato, aceptor de oxidoreductasas (OOR) que cataliza la conversión de α -cetoglutarato a succinato.

H. pylori parece ser que no recorre una ruta cíclica, en el que los ácidos dicarbóxicos son reducidos de oxalacetato a malato y fumarato a succinato y los ácidos tricarbóxicos oxidan al oxalacetato a citrato, isocitrato hasta α -cetoglutarato, el fumarato reductasa puede ser el aceptor final de electrones de la respiración anaerobia según Mendz et al, la presencia de flavodoxina piruvato y α -cetoglutarato, demuestran la existencia del metabolismo anaerobio en *H. pylori*, sin embargo se requiere oxígeno para el crecimiento.



Ciclo de Krebs (Harper,2001)



Ciclo de asimilación de Amoníaco en *H. pylori*

4. Metabolismo de los Lípidos.

Los lípidos se pueden usar como fuente de carbón y energía y los fosfolípidos que son fuente potencial de fosfatos. Existen pocos reportes acerca del metabolismo de los lípidos, pero los análisis de las secuencias del DNA ayudaron a comprender el metabolismo de estos. Se tienen reportes de la actividad del enzima fosfolipasa A1, A2, o C1. La biosíntesis de los lípidos y fosfolípidos de *H. pylori* esta aun en etapa de investigación, aun no están dilucidados y los estudios acerca de estas vías son bastante complicadas (Marrais et al, 1999).

5. Metabolismo de los aminoácidos.

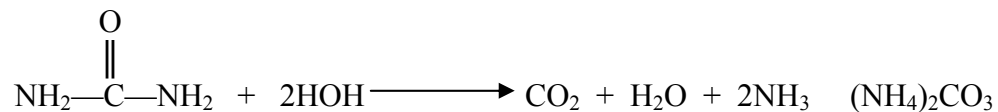
Los aminoácidos son una fuente potencial de carbón, nitrógeno y energía, los requerimientos nutricionales para el crecimiento de *H. pylori* en los medios de cultivo esta determinado por los requerimientos de aminoácidos de la bacteria.

Varios estudios demostraron que varias cepas de *H. pylori* requieren arginina, histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina y valina, algunos además requieren alanina y serina, es decir que no pueden ser sintetizados estos aminoácidos, estos resultados fueron respaldados mediante el análisis molecular del genoma (Marrais et al, 1999).

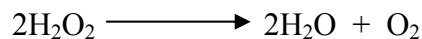
Según Mendz y Hazell describen la conversión de arginina a urea y ornitina es muy relevante ya que sugiere algunas pautas para el comprender el metabolismo del nitrógeno de *H. pylori*, ambos citan la presencia de arginasa necesaria para catalizar la reacción.

6. Identificación bioquímica.

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



Helicobacter pylori posee en su estructura el enzima **catalasa** que descompone el peroxido 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 están en el estado oxidado (Fe^{+3}), en lugar del estado reducido (Fe^{+2}) (Koneman, 2002).



Helicobacter pylori también posee el enzima **Citocromo Oxidasa**. Los citocromos son proteínas que contienen hierro y actúan como ultimo eslabón de la cadena respiratoria aerobia; transfieren electrones (hidrógeno) al oxígeno, con la formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en microorganismos aerobios o microaerofílicos y anaerobios facultativos, de tal forma que la prueba de Oxidasa es importante para identificar microorganismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados.

La prueba de la Citocromo Oxidasa utiliza ciertos colorantes como el que sustituye al oxígeno como aceptante artificial de electrones. En estado reducido el colorante es



incoloro; sin embargo, en presencia de Citocromo Oxidasa y de oxígeno atmosférico la p-fenilendiamina se oxida y forma azul de indofenol.

7. Técnicas para el Diagnóstico de *Helicobacter pylori*.

Los métodos diagnósticos que se utilizan para el diagnóstico de *H. pylori* son múltiples y diferentes y se pueden seleccionar según los fines perseguidos (estudios de investigación y Diagnóstico clínico). Se ha descrito numerosas técnicas, de las cuales unas identifican de manera directa a la bacteria (cultivo, histología y ureasa) y otras lo hacen en forma indirecta al detectar los anticuerpos producidos por el huésped contra el *Helicobacter pylori* (serología y carbono marcado). La existencia de diversos métodos indica que ninguno de ellos es perfecto y que cada uno tiene sus ventajas y desventajas. A todos, empero, se les exige que demuestren suficiente sensibilidad y especificidad. La sensibilidad de un método diagnóstico se define por su capacidad para dar resultado positivo en todos los pacientes infectados por la bacteria, mientras que la especificidad se refiere a su capacidad para dar resultado negativo en los no infectados. De aquí nace la necesidad de un método “patrón de oro” que sirva de referencia.

Para la selección de los métodos de diagnóstico en la práctica clínica, es necesario tener en cuenta las circunstancias siguientes: 1) que sea de la máxima sensibilidad y especificidad; 2) de fácil accesibilidad y disponibilidad para cualquier paciente; 3) que la obtención de resultados sea rápida; 4) que sean cómodos, fáciles de realizar, repetibles y sin riesgo para el paciente; 5) que sean cuantitativos; 6) que permitan el análisis retrospectivo; 7) que detecten la infección por *H. pylori* en la mucosa del estómago de manera global; 8) que permitan la detección del potencial patogénico de la bacteria y 9) que su costo no sea elevado.

La clasificación más aceptada de los métodos diagnósticos para la identificación de *Helicobacter pylori* está dividida de acuerdo a el tipo de técnica utilizada, es así que se divide en técnicas invasivas (método endoscópico: histología, citología, prueba rápida de la

ureasa, cultivo microbiológico y reacción en cadena de la polimerasa) y técnicas no invasivas (serología de sangre total técnica cualitativa y de suero técnica cuantitativa).

Comparación de los Diferentes Métodos Diagnósticos:

Método	Muestra	Sensibilidad [S] Especificidad [E]		Comentario técnico	Costo (diferente de cada país)
INVASIVOS	Ureasa	Mucosa Gástrica	S: 89,6% E: 100%	Fácil	Barato
	Histología	Mucosa Gástrica	S: 93,1% E: 99%	Patólogo experto Fácil interés Para el patólogo	Medio
	Cultivo	Mucosa Gástrica	S: 98,4% E: 100%	Microbiológico experto difícil interés para el microbiológico.	Medio/caro
NO INVASIVOS	Serología	Sangre total	S: 85% E: 78%	Fácil Rápido	Barato
		Cuantitativa	S: 91,3% E: 91,6%	Mayor dificultad	Medio
		Saliva	S: 84% E: 70%	Mayor dificultad	Medio
	¹³ C-Urea	Aliento	S: 90,2% E: 95,8%	Fácil Espectrómetro	Medio
¹⁴ C-Urea	Aliento	S: 97% E: 95%	Láser, infrarrojo Fácil Radiactivo	Medio	

(Ramírez et al, 2002)

1. Método Histológico.

La histología fue considerada el “patrón de oro” (Gold Standard) para definir la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori*.

Es muy útil pero requiere de mucha practica, por que permite realizar el diagnostico de las lesiones de la mucosa gastroduodenal y de la infección por *Helicobacter pylori*. Para la

toma de muestra se debe extraer dos biopsias de antro y dos de cuerpo, estas deberán ser introducidas inmediatamente en solución de formol para la fijación.

La tinción con hematoxilina-eosina es adecuada para identificar a la bacteria, aunque exige una especial atención del patólogo, otras técnicas de tinción son el cristal violeta, Warthin-Starry y Giemsa. La tinción Warthin-Starry emplea reactivos de plata, que permite una nítida coloración de los microorganismos la desventaja es su larga duración y muy delicada de realizar y la tinción se palidece muy rápidamente. La tinción giemsa modificada, por su rapidez y facilidad y nitidez se ha convertido en una técnica de rutina en la mayoría de los centros en los que se realiza la histología.

La sensibilidad varía del 85% al 90%, mientras que la especificidad es casi del 100%, es muy importante resaltar la experiencia del patólogo en este procedimiento.

2. Prueba Rápida de la Ureasa.

En aquellos pacientes en los que se realiza un examen endoscópico diagnóstico la prueba de la ureasa es el de elección por su sensibilidad, rapidez y bajo costo para confirmar la presencia de *Helicobacter pylori*.

Esta técnica es fundamentada en que el *Helicobacter pylori* es un microorganismo productor de la enzima ureasa en grandes cantidades. Existen otros microorganismos que también se pueden hallar en la mucosa gástrica como son *Klebsiella* y *Proteus* estos producen menor cantidad de ureasa. Este tipo de reacción alcalina modifica al indicador rojo fenol por la variación de pH el mismo que cambia de color que va de amarillo a rojo fucsia.

Existen preparados comerciales el CLO-test, el CU-test y actualmente el Pronto-Dry. El CLO-test fue ideado por Marshall y consiste en un gel con solución de urea, indicador rojo fenol y un antibacteriano.



La sensibilidad de la prueba de la ureasa depende del número de bacterias presentes en la biopsia, cuando se tienen 2 biopsias de antro y dos de cuerpo, se estima una sensibilidad del 85% al cabo de una hora y hasta del 95% a las 24 horas.

3. Cultivo.

Es el único método 100% específico para la identificación de *H. pylori* y el de mayor dificultad al realizar. Actualmente es considerado como el “Gold Estándar” por sus beneficios, ya que permite realizar estudios de genética, resistencia a los antibióticos e investigar otras características deseadas sobre las cepas aisladas. Los resultados serán de mayor confianza si se emplean dos biopsias, para el transporte se pueden emplear solución PBS o solución fisiológica, se recomienda sembrar lo más antes posible, el medio de cultivo de elección es el skirrow que consta de (agar base columbia, sangre desfibrinada al 7% y suplementos inhibitorios). El desarrollo de las colonias en el cultivo tarda de 3 a 4 días, en los cultivos negativos se debe esperar hasta los 7 días para su descarte. La identificación se la realiza por medio de las pruebas bioquímicas que identifican la actividad de las enzimas ureasa, catalasa y oxidasa.

Los laboratorios han reportado que la sensibilidad es menor del cultivo en comparación con otras técnicas, que va del 50 al 70%, sin embargo la especificidad es del 100%. Hoy día, el diagnóstico definitivo de la infección por *H. pylori* ha estado basado principalmente en el aislamiento de la bacteria en cultivos microbiológicos o la detección del microorganismo en preparados histológicos, ambos métodos provenientes de muestras de biopsias gástricas obtenidas por procesos invasivos como la endoscopia.

4. Reacción en cadena de la Polimerasa.

Dada la gran especificidad y sensibilidad de la técnica de PCR se ha abierto una nueva etapa de diagnóstico, denominado diagnóstico molecular; de gran utilidad en los microorganismos de difícil cultivo como es el caso del *Helicobacter pylori*, que es un bacilo espiralado gram-negativo, móvil, cuyo cultivo requiere de condiciones microaerofílicas a 37 °C y a pH fisiológico.

Con la aparición de las pruebas moleculares se ha podido detectar *H. pylori* en muestras que no son de biopsias gástricas y que era muy difícil obtener resultados positivos para esta bacteria por metodología convencional; es así como se ha podido determinar su presencia en muestras de placa dental, aftas bucales, saliva, jugos gástricos y heces ofreciendo una mejor alternativa para el diagnóstico clínico y para estudios de investigación relacionados con su modo de transmisión.

El diagnóstico por PCR de *H. pylori* tiene una sensibilidad y especificidad del 95 % y su principal ventaja es que se puede detectar el microorganismo sin importar la viabilidad de la bacteria en las muestras. La especificidad de esta técnica viene dada por el uso de oligonucleótidos sintéticos, específicos para determinado gen y que facilitan la amplificación de una secuencia nucleotídica, que a su vez es específica para el *H. pylori*; es por esta razón que en los últimos años se ha diseñado una variedad de pruebas diagnósticas para esta bacteria por medio de PCR basándose en: Oligonucleótidos provenientes del gen de la ureasa A (*ureA*), genes que codifican el 16s ARN ribosomal (*16s rRNA*), genes codificadores de los antígenos especie específicos (*SSA*, *cagA*), oligonucleótidos provenientes de secuencias al azar (*random sequence*), oligonucleótidos provenientes del gen de la fosfoglucosamin mutasa (*glmM*). Oligonucleótidos que determinan variantes alélicas del gen *vacA*.

5. Serología.

La serología es una técnica no invasiva, de utilidad en aquellos pacientes que no toleran la endoscopia, las técnicas serológicas utilizadas varían de una técnica a otra, una prueba serológica se realiza en sangre capilar o venosa en el que se determinan títulos de IgG anti-*Helicobacter pylori* por el método de detección cualitativa de inmunocromatografía. Esta técnica puede resultar un poco confuso ya que los títulos de inmunoglobulinas tardan de 6 a 12 meses en descender un 50 % y ello se considera signo de erradicación, sin embargo a títulos bajos de inmunoglobulinas puede seguir existiendo *Helicobacter pylori*. Esta técnica se utiliza principalmente en estudios de epidemiológicos de diagnóstico y seguimiento.



6. Prueba del aliento con urea marcada con isótopos.

La prueba del aliento marcado con C^{13} marcado, se realiza mediante la ingestión de una solución de urea marca con C^{13} o C^{14} , el *Helicobacter pylori* produce secreción de gran cantidad de la enzima ureasa, el mismo que degrada la urea, y después de 30 minutos a 45 minutos el paciente debe espirar el aire en unas bolsas contenedores que se llevan a analizar a un contador de centelleo para examinar el C^{13} o C^{14} de las muestras espiralazas.



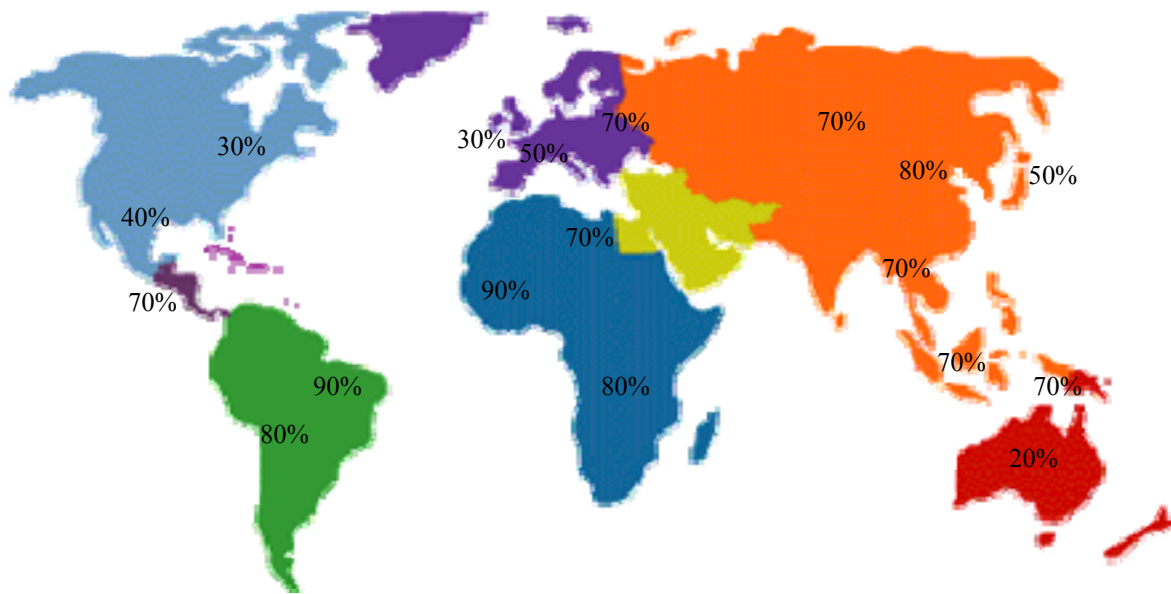
Espiración del aliento

Es una técnica segura, cómoda, sensible y específica y actualmente utilizan algunos laboratorios par el diagnostico en niños en los que las técnicas invasivas les resulta difícil de realizar. Algunos centros hospitalarios utilizan esta prueba para confirmar la erradicación de *Helicobacter pylori* después del tratamiento.

8. Epidemiología

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

La infección por *Helicobacter pylori* ocurre en toda la población mundial y el riesgo de infección a lo largo de toda la vida en las personas que viven en países desarrollados es de aproximadamente del 20% al 60%, y la incidencia de infección en menores de 10 años varia del 5% al 10% aproximadamente, en cambio en los países en vías de desarrollo puede llegar hasta el 90% o mas, y alcanza el 50% de infección en menores de 10 años de edad.



www.helico.com

Los factores de riesgo mas importantes para la infección de *Helicobacter pylori* son en primer lugar la edad y las carencias socio-económicas principalmente. Existen muchos estudios en el que se incluyen diversos factores como el hacinamiento, viviendas precarias insalubres, promiscuidad y el parentesco familiar, estos se relacionan indirectamente con precarias condiciones socio-económicas. Otro factor de riesgo en la incidencia de infección es la residencia en comunidades cerradas, es decir, hospitales, albergues, asilos, internados, etc. En estas personas la posibilidad de contacto entre individuos es más cercana que el normal y en algunos casos las normas de higiene pueden ser menores. Muchos investigadores han hecho énfasis insistente en que la infección por *Helicobacter pylori* es un buen indicador de las carencias anteriormente citadas.

En los Estados Unidos la incidencia anual de infección en menores de 10 años de edad se presenta entre el 0.5% y el 1% y aumenta en la edad adulta hasta un 50%. Por otro lado, en grupos afro americanos, hispanos y nativos de ese país, la infección por el microorganismo se observa desde edades tempranas y la transmisión intrafamiliar es alta.

En Costa Rica y Brasil se reporta una incidencia anual de 45 enfermos de cáncer gástrico asociado a *Helicobacter pylori* por cada 100 000 habitantes.

En México se han observado regiones de mayor riesgo, como las zonas altas del estado de Chiapas donde existen grupos indígenas que presentan una alta incidencia de cáncer gástrico asociado al microorganismo. Un estudio seroepidemiológico realizado en 1997, determino que el 20% de los niños menores de 1 año de edad presentaban anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* y que la seropositividad aumentó hasta un 50% en los niños de 10 años de edad, este trabajo se realizo con un banco de sueros representativo de la población de todos los estados de la República Mexicana (11,605 sueros) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años; lo que indicaba que la infección por *Helicobacter pylori* en la republica de México se adquiere a edades tempranas y llega a alcanzar el 80% en la edad adulta y jóvenes entre los 18 y 20 años de edad.

En Perú Se evaluó la prevalencia de *H. pylori*, mediante esofagogastroduodenoscopia entre Enero de 1985 y Agosto del 2002 a pacientes de nivel socioeconómico medio y alto, residentes en Lima, Perú, hasta el año 2002 se pudo ver que la prevalencia es del 45.5% por otro lado, existe evidencia de que en los últimos años se observa en el Perú una diferente prevalencia de la infección del estómago por el *Helicobacter pylori* entre los estados socioeconómicos bajo y alto: acaba de finalizar un estudio en población peruana de nivel socioeconómico bajo (pueblo joven de Pampas de San Juan, Lima), donde se encontró una prevalencia de más del 80%, en comparación al 58.3% de la presente serie (periodo 2000-2002), procedente de nivel medio y alto. Basados en estas evidencias, podemos afirmar que la prevalencia de la infección está disminuyendo en los estratos socioeconómicos medio y alto, permaneciendo estable en poblaciones de nivel socioeconómico bajo. Es importante mencionar que en los ochenta no encontramos diferencias de la prevalencia global entre poblaciones procedentes de niveles socioeconómicos alto y bajo.

En Chile después del censo realizado el año 2003, un grupo de investigadores de la Universidad Católica ha estudiado la prevalencia de *H.pylori* en esta población mediante la



determinación del título de anticuerpos de la clase IgG anti-*H. pylori* (AU/ml) y establecer una prevalencia de la infección en población chilena adulta de 72,9% (IC 95%: 70,0-75,9%). La infección por *H. pylori* es una causa importante de morbi-mortalidad, provocando patologías de consideración en 20% de los infectados. La mayoría de los infectados desarrolla una gastritis superficial crónica asintomática (80%). Por razones no bien comprendidas, aproximadamente 15% de los infectados desarrollará úlcera gastroduodenal. Un número menor de ellos desarrollará una enfermedad linfo-proliferativa asociada al tejido linfoide de las mucosas (MALT) y otro grupo de infectados desarrollará una gastritis crónica atrófica, lesión preneoplásica capaz de desencadenar un adenocarcinoma gástrico (0,1%).

En Bolivia un estudio realizado el año 1997, determino que la prevalencia de *H. pylori* era mayor al 50%. Otro estudio realizado el año 2002 en la ciudad de Santa Cruz determino la prevalencia de infección por *H. pylori* mediante serología en niños bolivianos de 2 a 3 años de la población rural y la incidencia varia entre el 8% y el 26% respectivamente, y en niños de 7 años de edad la seropositividad alcanza el 55% y la principal causa de riesgo de infección es el contagio de familiares o personas que viven en la misma casa.

Se han reportado datos experimentales de la infección por *Helicobacter pylori* en primates, los que desarrollaron gastritis y úlceras muy parecidas a las del hombre. Pero actualmente no se conoce un reservorio no humano de *Helicobacter pylori*. Se han descrito varios mecanismos de transmisión de la bacteria,

Los mecanismos específicos de transmisión se han descrito principalmente en personas con precarias condiciones de vida y a nivel intrafamiliar se debe a las excretas en alimentos de la mosca de las casa, otra vía es de persona a persona y las condiciones sanitarias como fecal oral u oral fecal, no desestimándose la transmisión iatrogénica por sondas, endoscopios, últimamente ha llamado la atención el potencial de transmisión de la placa dentaria como reservorio del germen de la bacteria siguen sin determinarse, pero por el hecho de ser tan común de la infección y su amplia distribución, se postula que ocurre de



persona-persona, por las vías oral-oral y oral-fecal. La familia del enfermo en la transmisión vertical es probablemente un factor de riesgo importante para perpetuar la infección. Dentro de las consideraciones epidemiológicas se debería de considerar el diagnóstico y tratamiento de los miembros de la familia ya que frecuentemente el tratamiento es personal y se omite investigar si hay otros miembros de la familia que presenten síntomas similares. Esta omisión repercute en la eficacia del tratamiento y hace difícil de valorar si la infección en un individuo que ha recibido tratamiento se debe a la reinfección por el tipo de cepa que predomina en el grupo familiar (donde puede transmitirse la infección) ó por una cepa externa, o bien, 2) si se trata de recrudescencia de la enfermedad por cepas resistentes al tratamiento antimicrobiano elegido.

H. pylori es el agente etiológico en un 70% a un 80% de la forma más común de inflamación gástrica crónica denominada gastritis atrófica crónica tipo B. La enfermedad involucra el antro y el fondo del estómago, con una imagen histológica que incluye con frecuencia infiltrado de linfocitos, células plasmáticas y algunos eosinófilos; este proceso inflamatorio al parecer es más importante en el antro que en el cuerpo. *H. pylori* coloniza la mucosa gástrica permaneciendo por años e incluso por décadas en la mayoría de los casos, con mínima sintomatología para el paciente. Sin embargo en algunos casos se han descrito cambios morfológicos importantes en mucosa gástrica que van desde un proceso inflamatorio leve, hasta el desarrollo de una gastritis que evoluciona a una úlcera, con lesiones atróficas que pueden terminar en metaplasia, displasia y finalmente en un adenocarcinoma.

La distribución de *H pylori* en el estómago es al parecer muy importante, pues podría determinar el resultado patológico de la gastritis. Los sujetos con gastritis predominantemente antral tienden a presentar una secreción normal o elevada de ácido gástrico y al parecer se incrementa el riesgo de desarrollar una úlcera duodenal. Los pacientes en los que se coloniza predominantemente el cuerpo del estómago tienden a desarrollar inflamación que puede derivar en gastritis atrófica, que a su vez tiende a desarrollar úlcera gástrica o cáncer.



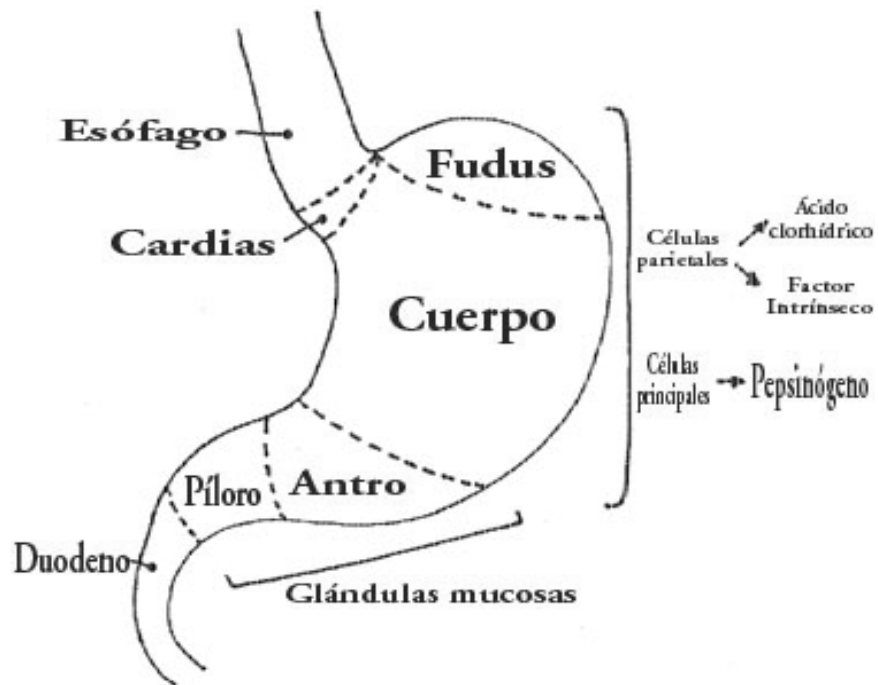
H. pylori puede colonizar únicamente el epitelio de tipo gástrico y no se encuentra en el duodeno normal. Es un microorganismo excelentemente adaptado a su nicho ecológico, descansando en la superficie de las células epiteliales gástricas bajo la capa de moco adherente. La forma espiral y la motilidad conferida por sus múltiples flagelos le ayudan a distribuirse a través de la capa de moco para alcanzar la mucosa gástrica. La metaplasia gástrica (el reemplazo de las células columnares que normalmente cubren el vello duodenal por epitelio de tipo gástrico rico en mucina neutral) se presenta en más del 90% de los pacientes con úlcera duodenal y permite al *H. pylori* colonizar el bulbo duodenal. La colonización de la mucosa duodenal produce inflamación (duodenitis crónica), que vuelve a la mucosa duodenal vulnerable al ataque por ácido, pepsina o bilis, con la ulceración subsiguiente. El grado de metaplasia gástrica en duodeno está directamente relacionado con el nivel de secreción de ácido gástrico.

9. Fisiopatología y Patología asociada a *Helicobacter pylori*.

1. Anatomía y fisiología del estómago.

El estómago se localiza en la parte alta del abdomen (epigastrio). El cardias (extremo por donde penetra el esófago) se localiza a nivel de la vértebra T11, mientras que el píloro lo hace a nivel de L1. Sin embargo, hay considerable variación de unos individuos a otros.

La forma aplanada del estómago en reposo determina la presencia de una cara anterior, visible en el sitio del abdomen, y una cara posterior que mira a la transcavidad de los epiplones (cavidad omental), situada detrás. Asimismo, determina la presencia de un borde inferior (curvatura mayor) que mira abajo y a la izquierda, y un borde superior (curvatura menor) que mira hacia arriba y a la derecha. Como consecuencia de los giros del estómago en período embrionario, por la curvatura mayor se continúa el estómago con el omento (epiplón) mayor, y la menor con el omento (epiplón) menor.



<http://es.wikipedia.org/wiki/imagen:estomago2.jpg>

La pared gástrica consta de una serosa que recubre a tres capas musculares (longitudinal, circular y oblicua, citadas desde la superficie hacia la profundidad). La capa submucosa da anclaje a la mucosa propiamente dicha, que consta de células que producen moco, ácido clorhídrico y enzimas digestivos.

La parte pilórica queda unida a la cara inferior del hígado por el ligamento gastrohepático, parte del tumulto menor. Estos sistemas de fijación determinan sus relaciones con otros órganos abdominales. Sin embargo, y debido no sólo a los giros del estómago, sino también al desarrollo embrionario del hígado, las relaciones del estómago se establecen a través de un espacio que queda por detrás, la cavidad omental o transcavidad de los epiplones.

El estómago está controlado por el sistema nervioso autónomo, siendo el nervio vago el principal componente del sistema nervioso parasimpático. La acidez del estómago está controlada por tres moléculas que son la acetilcolina, la histamina y la gástrina.



2. Fisiopatología de la infección por *Helicobacter pylori*.

La infección producida por *Helicobacter pylori* establece su potencial ulcerogénico en base al incremento de la secreción ácida y la producción de metabolitos inflamatorios en la mucosa gástrica (Rautelin et al., 1993; El-Omar et al., 1993).

Helicobacter pylori ve favorecida su acción por interacción entre diferentes mecanismos como son los factores de virulencia, la respuesta por parte del huésped (susceptibilidad genética, deficiencia inmunológica, metaplasia gástrica en el duodeno, respuesta en la secreción de ácido, neuromodulación) y factores ambientales (dieta, edad de adquisición de la infección, stress, tabaquismo) han sido clasificados como conductores hasta el proceso final de la úlcera (Kreiss et al., 1995).

La colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori* desencadena una respuesta inflamatoria inespecífica activando a las células epiteliales superficiales productoras de IL-1, IL-6, IL-8, interferón y TNF- α , estas citocinas propician el reclutamiento de neutrófilos y posteriormente de linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y macrófagos, además modulan a los mediadores de la inflamación. La IL-8 producida por las células epiteliales en respuesta a la infección parece tener un papel primordial en la activación de los neutrófilos. La producción de IL-8 vendría determinada por las señales intracelulares propiciadas por el factor de transcripción NF-kB. La infección desencadena una respuesta humoral a partir de linfocitos B presentes en el infiltrado inflamatorio y folículos linfoides formados en respuesta a la infección, con la producción de anticuerpos del tipo IgA e IgG.

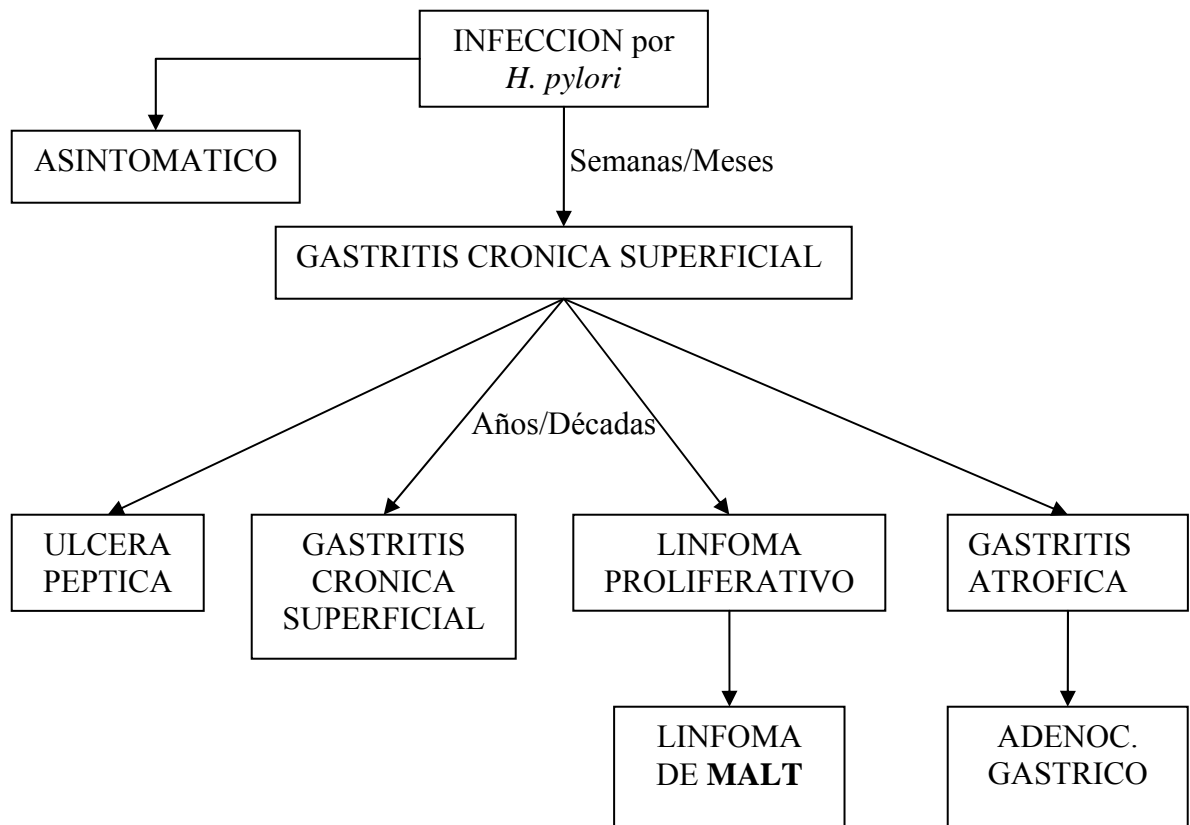
Los fenómenos inflamatorios desencadenados por la colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori* no está descrito con exactitud, hecho que ha dificultado el estudio de las posibles interacciones entre la infección por *H. pylori* y otros agentes gastrolesivos, desconociéndose si *H. pylori* incrementa la susceptibilidad al daño inducido por antiinflamatorios no esteroideos o etanol, o si comporta un cambio de flujo sanguíneo de la mucosa gástrica y si éstos juegan un papel en el desarrollo de lesiones ulcerosas.

Algunos de los mediadores de la inflamación liberados por las células epiteliales e inmunogenos celulares (macrófagos, mastocitos, neutrófilos) afectan directamente la integridad de la mucosa a través de alteraciones en la permeabilidad epitelial y vascular o la regulación del flujo sanguíneo, ignorándose el papel que juegan las diferentes moléculas de adhesión leucocitarias y endoteliales.

H. pylori estimula a nivel gástrico al sistema de HLA aumentando la expresión de ciertas moléculas en las células epiteliales. Supuestamente, la expresión de ciertos alelos de los antígenos HLA-DQ y HLA-DR en el huésped determinarían una mayor progresión de la gastritis o un mayor riesgo de desarrollar úlcera gastroduodenal.

Los pacientes con úlcera péptica presentan de forma constante dos hechos: una alta prevalencia de infección por *H. pylori* y su asociación a gastritis. Los estudios realizados en pacientes ulcerosos se han centrado fundamentalmente en el efecto que la erradicación de *H. pylori* tenía sobre la recidiva ulcerosa, descuidando el estudio del efecto sobre las lesiones inflamatorias [Correa, 1988]. Tras la erradicación de la infección el infiltrado por neutrófilos de la mucosa gástrica desaparece completamente de forma rápida. El número de linfocitos, células plasmáticas y folículos linfoides también disminuye, pero en este caso la regresión es lenta y puede no haberse normalizado por completo en 1 o 2 años. Por lo que respecta a la atrofia gástrica y la metaplasia intestinal, no existen datos que avalen que la erradicación induzca su regresión [Sáinz et al., 2000]. Ambas lesiones son precursoras para el desarrollo de cáncer gástrico, cifrándose su incidencia en el 0,2-1 % de estos pacientes.

Existen una diversidad de patologías que son consecuencia de la infección por *H. pylori*, el lugar blanco es conocido como su hábitat natural en el estomago principalmente el antro pilórico. Adelante se puede observar un las patologías asociadas con mayor frecuencia a este microorganismo



Cambios clínico patológicos inducidos por la infección de *Helicobacter pylori*.

La mucosa gastrointestinal es considerada una zona estéril por muchos médicos, patólogos y profesionales en salud, esta teoría es sustentada en base a que está protegida por distintos mecanismos: 1) La producción por la mucosa de moco y HCO_3 origina un gradiente de bajo de pH entre la luz del estómago y la mucosa que mantiene el pH neutro. El moco se comporta como una barrera para la difusión de ácido y pepsina. 2) Las células epiteliales eliminan el exceso de iones hidrógeno por medio de sistemas de transporte en la membrana y tienen uniones oclusivas, las cuales impiden la retrodifusión de los iones hidrogeno. 3) El flujo sanguíneo de la mucosa elimina el exceso de ácido que ha difundido a través de la capa epitelial. Las células epiteliales son también un órgano muy noble ya que participa en la reparación constante de la mucosa y el mantenimiento de su integridad, para esté cometido se han implicado varios factores de crecimiento y varias prostaglandinas.

3. Patología de la infección por *Helicobacter pylori*.

1. Gastritis

La gastritis se puede definir como una inflamación de la mucosa gástrica y se puede clasificar de acuerdo a la patología que presenta, puede ser erosiva y no erosiva, en función de la gravedad de la lesión de la mucosa puede clasificarse según el lugar de afectación en el interior del estómago (es decir, cardias, cuerpo, antro y fondo). También se puede clasificar a la gastritis de acuerdo a la inducción de células inflamatorias en aguda o crónica. Hasta la fecha ningún esquema de clasificación esta completamente acordado por los congresos de profesionales, y no concuerdan perfectamente con la fisiopatología; en la mayoría se puede observar solapamientos entre si. En el congreso de mundial de gastroenterología de Sydney el año 1989 se formulo una clasificación con dos vertientes: una histológica y otra endoscópica, desafortunadamente no existe correlación entre ambas. Para el diagnostico endoscópico se ha supuesto una gran contribución al llamado “Sistema Sydney”. He aquí la clasificación endoscópica de los siete tipos de gastritis según Sydney:

Patología	Definición
Gastritis Eritematosa exudativa.	Es el tipo de mayor frecuencia, y se caracteriza por el parchado, eritemas pequeños, combinado por una fina nodularidad y exudado fibrinoso. Puede presentar en ocasiones fragilidad de la mucosa.
Gastritis Erosiva Plana.	Se puede observar erosiones no sobreelevadas, generalmente con fondo fibrinoso. Puede ser solitaria o múltiple. Se localiza en antro o todo el estómago. Ocasionalmente se puede ver exudado. Las erosiones planas son también frecuentes en pliegues prepilóricos edematosos.
Gastritis Erosiva Nodular.	Antiguamente llamada gastritis varioliforme o erosiones maduras. Los nódulos o pápulas son el dato más significativo, puede encontrarse erosionadas en su cúspide. A veces se las puede observar alineadas sobre los pliegues del cuerpo gástrico.
Gastritis Atrófica.	Se diagnostica según el patrón vascular de la pared del estómago. Existe también un color blanquecino perlado en la mucosa. Puede haber



	disminución de los pliegues gástricos. Las áreas de metaplasia intestinal que suelen acontecer en este tipo de gastritis suelen verse como zonas parcheado blanco-grisácea con una ligera apariencia opalescente o aspecto vellosos.
Gastritis Hemorrágica.	Existe eritema con punteado equimótico. Algunas de estas petequias rompe la mucosa y se puede observar el sangrado generalmente digerido dando aspecto de color café adheridos a la mucosa.
Gastritis de Pliegues Gástricos Aumentados de Tamaño.	Es muy difícil de diagnosticar los grados leve y moderado. Presenta erosiones planas en los vértices de los pliegues. Presente en el gastrónoma y enfermedad de Menetrier. En la gastritis hipersecretora se puede observar los pliegues deslustrados y pueden tener exudados en la superficie.
Gastritis por Reflujo Biliar	Se observa habitualmente en las gastroduodenostomias y gastroyeyunostomias. En las cirugías antireflujo biliar, se encuentra disminución de este tipo de gastritis. La bilis refuye libremente al medio gástrico, produciendo un intenso eritema con o sin exudado.

Clasificación de Sydney

La **gastritis aguda** se caracteriza por una infiltración de células polimorfonucleares en la mucosa del antro y del cuerpo. La **gastritis crónica** se caracteriza por presentar niveles de atrofia (con pérdida de capacidad funcional de la mucosa) o de metaplasia. Afecta predominantemente al antro con pérdida subsiguiente de células G y disminución de la secreción de gastrina y al cuerpo con pérdida de glándulas oxínticas, lo que conduce a reducción de ácido, pepsina y factor intrínseco.

H. pylori es la causa principal de la gastritis no erosiva. Este microorganismo gram negativo es la causa de casi todos los casos de gastritis no erosiva y sus complicaciones resultantes. La infección conduce invariablemente a inflamación de la mucosa gástrica, la cual a su vez altera la fisiología secretora gástrica, haciendo que la mucosa sea más susceptible a las lesiones por el ácido. Se ha encontrado que las máximas concentraciones

de *H. pylori* se detectan en el antro pilórico, donde la infección puede aumentar considerablemente hasta producir riesgo de ulceración prepilórica y duodenal. En algunos pacientes la infección afecta a la totalidad del estómago y se asocia al desarrollo subsiguiente de úlceras gástricas y de adenocarcinoma gástrico.

2. Úlcera

Las úlceras pueden oscilar en tamaño desde varios milímetros a varios centímetros. Las úlceras se diferencian de las erosiones por la profundidad de la penetración; las erosiones son más superficiales y no afectan a la capa muscular de la mucosa.

La ureasa producida por el microorganismo cataliza la transformación de urea en amoníaco. El amoníaco, al mismo tiempo que permite al microorganismo sobrevivir en el entorno ácido del estómago, puede erosionar la barrera mucosa y producir una lesión epitelial. Las citotoxinas producidas por *H. pylori* se han implicado también en la lesión epitelial del huésped. Las enzimas mucolíticas (proteasas, lipasas bacterianas) parecen estar involucradas en la degradación de la capa mucosa, haciendo al epitelio más susceptible al daño ácido. Por último, las citocinas producidas en respuesta a la inflamación pueden representar un papel en el daño de la mucosa y la ulcerogénesis subsiguiente.

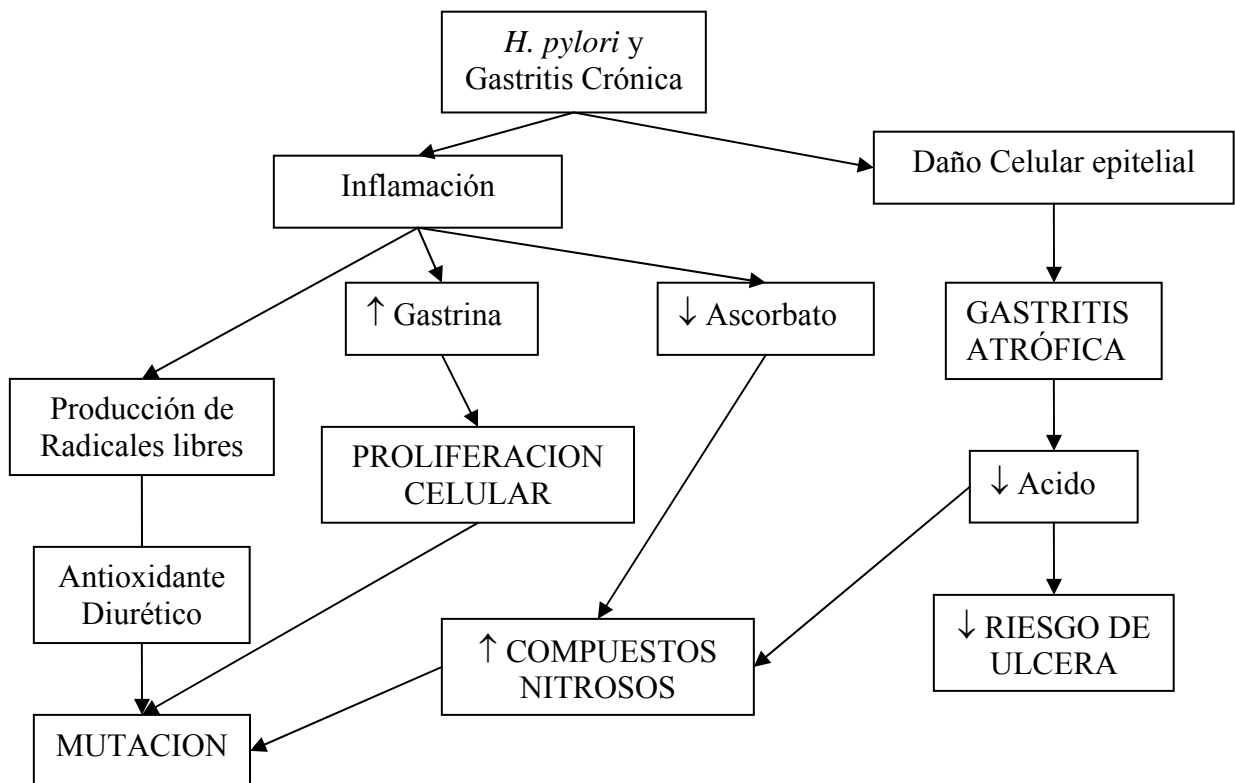
Los síntomas de **úlceras gástricas** no suelen seguir un patrón uniforme (el comer ansiosamente exacerba el dolor en lugar de aliviarlo). Esto se cumple especialmente en las úlceras del canal pilórico, las cuales suelen asociarse con síntomas de obstrucción (sensación de plenitud, náuseas, vómitos) causados por el edema y la cicatrización.

En la **úlceras duodenal**, el dolor tiende a ser más uniforme. El dolor está ausente cuando el paciente despierta, pero aparece a media mañana; se alivia con el alimento, pero recurre dos a tres horas después de la comida. El dolor que despierta al paciente de noche es frecuente y sumamente sugestivo de úlcera duodenal.

3. Cáncer.

H. pylori está asociado con el adenocarcinoma del cuerpo y el antro gástrico de tipo intestinal, pero no con el cáncer del cardias gástrico. Las personas infectadas tienen una probabilidad de tres a seis veces mayor de desarrollar un cáncer de estómago. Los linfomas gástricos y los linfomas del tejido linfoide asociado con la mucosa (MALT) también se han vinculado con esta infección. Se han descrito varios mecanismos por los cuales *H. pylori* es capaz de producir cambios en la mucosa gástrica que conducen al desarrollo de adenocarcinoma gástrico.

Los **linfomas MALT** son poblaciones linfoides de células B malignas restringidas monoclonalmente causadas por *H. pylori*. Este trastorno se asocia con frecuencia a una úlcera gástrica superficial y se descubrió de pasada en biopsias del borde ulcerado y de la mucosa que lo rodea.. Existen estudios que indican que la erradicación de *H. pylori* evita la progresión de la gastritis a cáncer o linfomas del estómago más frecuentes.





10. Tratamiento.

Es complicado el tratamiento de la infección por *H. pylori*, ya que la luz del interior gástrico es un lugar inhóspito, donde no llegan las células inmunocompetentes para ejercer su acción protectora, también es una zona de difícil acción de los antimicrobianos, es por estas razones que se ha visto la necesidad de asociar múltiples fármacos antiulcerosos y antimicrobianos para erradicar la infección. Se ha sugerido múltiples terapias para erradicar la infección por *H. pylori* en base a estudios realizados acerca de su eficacia, es así que tenemos varias combinaciones de tratamientos.

Actualmente se recomienda la asociación de tres fármacos, un fármaco que disminuye la secreción ácida del estómago y dos antibióticos, en caso de no presentar eficacia de estos se han propuesto terapias con cuatro fármacos.

Uno de las primeras terapias propuestas fue la combinación de sales de bismuto, metronidazol y tetraciclina, fue el primero y el mas ampliamente estudiado, generalmente se recomienda que el fármaco antisecretor se administre simultáneamente y durante cuatro semanas para asegurar la cicatrización de la úlcera o inflamación gástrica. Los efectos secundarios, son menores, puede presentarse hasta en un 30% de los pacientes, y la complejidad de este régimen de 16 comprimidos/día puede limitar el cumplimiento. Otro régimen mas actual y de mayor aceptación e igualmente eficaz es la combinación de ranitidina bismuto citrato más claritromicina administrados durante dos semanas.

Los inhibidores de la bomba de protones suprimen *H. pylori* e inducen una cicatrización rápida de la úlcera. El aumento del pH gástrico que acompaña a su uso puede potenciar la concentración en el tejido y la eficacia de los antimicrobianos, creando un entorno hostil para *H. pylori*. El tratamiento doble con omeprazol y claritromicina durante dos semanas puede lograr tasas de erradicación alrededor del 75%.

Los resultados indican que los regímenes con tres fármacos que combinan omeprazol o lansoprazol y con dos antibióticos son sumamente eficaces cuando se administran durante

siete a catorce días, omeprazol o lansoprazol con claritromicina y metronidazol o amoxicilina durante una semana pueden curar la infección en alrededor del 90% de los casos, entre sus principales beneficios son la duración más corta del tratamiento, la dosificación dos veces al día, la excelente tolerabilidad y las tasas de erradicación muy elevadas.

Podemos ver que el tratamiento erradicador de *H. pylori*, es diverso y múltiple, es así que se puede sugerir las siguientes alternativas consensuadas por varios gastroenterólogos.

Esquema	ATB (dosis/día)	Duración	Eficacia*	Ventaja	Desventaja
Triple terapia con bismuto** (clásica)	Metronidazol 1g + tetraciclina 200mg	1 o 2 semanas	Erradicación 90%	Combinación más estudiada	No sirve en cepas R a metronidazol
Triple terapia Con IBP***	Amoxicilina 1g + Claritromicina 1g Metronidazol 1g + Claritromicina 500mg	1 semana	Erradicación 98%	Buena tolerancia	No se estudio in vitro
Cuádruple terapia (IBP + bismuto)	Metronidazol 1g + tetraciclina 200mg	1 semana	Erradicación 95%	Igual eficacia Con cepas resistentes a metronidazol	No se usa en pediatría
Terapia RCB (ranitidina + citrato bismuto)	Claritromicina 1g	2 semanas	Erradicación 82 a 96%	Tolerancia	Monoterapia novedoso

* La eficacia de la erradicación está medida por protocolo y no por intención de tratar.

** Las sales de bismuto tienen efecto antimicrobiano.

*** Inhibidor de la bomba de protones (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, etc.).

En noviembre del año 2004 se organizó la segunda conferencia española de consenso sobre la infección por *H. pylori*, en la que se vio como un tema de análisis la evaluación del tratamiento más efectivo para la erradicación, como conclusión propusieron las siguientes terapias.

La triple terapia es de primera elección en España, y se recomienda utilizar un inhibidor de la bomba de protones (omeprazol 20mg/12 horas) dos antibióticos (amoxicilina 1g/12 horas y claritromicina 500mg/12 horas) o en su defecto ranitidina citrato bismuto (RCB 400mg/12 horas) asociada a los dos antibióticos anteriormente citados. En pacientes alérgicos a las penicilinas se deberá sustituir a la amoxicilina por metronidazol en cuyo caso probablemente sea necesario sustituir al inhibidor de la bomba de protones por ranitidina citrato bismuto.

5. DISEÑO METODOLOGICO.

1. POBLACION.

Para la selección de los pacientes considerados para el presente estudio se tomaran en cuenta los siguientes criterios:

- Criterios de Inclusión:
 1. Pacientes que asistan a consultas de gastroenterología al Hospital “Arco Iris” y la Clínica “Caja Petrolera” de la ciudad de La Paz Bolivia.
- Criterios de Exclusión:
 1. Pacientes menores de 10 años de edad.
 2. Pacientes que presenten signos de problemas neurológicos a la endoscopia.
 3. Pacientes que presenten problemas respiratorios.
 4. Pacientes internados en los nosocomios en estudio.

2. TAMAÑO DE MUESTRA.

Se estudio en 116 pacientes de los cuales 50 procedían de la Clínica “Caja Petrolera” y 66 del Hospital “Arco Iris”.

3. METODOS, TECNICAS Y PROCEDIMIENOS DE INVESTIGACION.

1. TIPO DE INVESTIGACION.

Es de tipo descriptivo por que cumple con las condiciones de persona tiempo y lugar.

Es de Pruebas Diagnostico por que compara las pruebas de los laboratorios con un “patrón de oro”.

2. METODOLOGIA GENERAL DE LA INVESTIGACION

1. Toma de muestra.

La toma de muestra fue realizada gracias a la colaboración de los médicos profesionales con especialidad en gastroenterología y endoscopia del Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”, quienes con el empleo del endoscopio y con la ayuda de los fórceps o



pinzas obtuvieron seis biopsias (tres de antro, tres de fondo gástrico).

2. Recolección de la Muestra y Transporte.

Una vez obtenida las biopsias por el médico, estas inmediatamente fueron recolectadas en tubos vacutainer conteniendo tres mililitros de solución PBS estéril, se mantuvieron a temperatura ambiente para el transporte hacia el laboratorio de microbiología para su inmediato procesamiento.

3. Cultivo.

1. Preparación de la Muestra.

Para proceder a cultivar la muestra, se introdujo un hisopo estéril dentro del tubo vacutainer donde se encontraba la muestra de biopsia, se procedió a presionar la cabeza del hisopo que contiene la torula de algodón sobre la biopsia sobre las paredes de vidrio del tubo vacutainer, inmediatamente fueron sembrados en el medio de cultivo. Este procedimiento se realizó para facilitar la liberación del microorganismo de los tejidos.

2. Siembra.

Se procedió a la siembra por la técnica de inundación del medio de cultivo con el hisopo empapado anteriormente utilizado en la preparación de la muestra.



3. Medio de Cultivo.

El medio de cultivo utilizado fue agar base columbia (Oxoid código CM0331B) con sangre desfibrinada al 7% (sangre de carnero) con suplemento inhibitorio DENT (Suplemento selectivo *Helicobacter pylori*, Oxoid SR147E) (ver anexo 1).

4. Incubación.



El periodo de incubación fue de tres días, en los casos negativos se dejó hasta los siete días de incubación, en microaerofilia (Campy Gen CN25 Oxoid, que genera 5% O₂, 10% de CO₂ y 85% de N₂), en estufa a temperatura de 35°C a 37°C (ver anexo 2).

4. Identificación.

Para la identificación de *Helicobacter pylori* se realizó el siguiente procedimiento.

1. Observación Macroscópica.

H. pylori presenta colonias muy pequeñas de 0,5 mm de diámetro, son transparentes y brillantes que asemejan a gotas de rocío de agua, en ocasiones se puede observar como una película que tapiza el medio de cultivo (ver anexo 3).

2. Observación Microscópica.

Se observó bacilos curvados gram negativos de 3 mm a 5 mm de largo y 0.5 mm de ancho aproximadamente, en algunas ocasiones pueden ser un poco más grandes (ver anexo 4).



3. Prueba Rápida de la Ureasa.

Utilizando Agar Urea de Christensen en tubo, sembrar colonias sospechosas de *Helicobacter pylori* con aguja por pinchado del agar y finalmente realizar estrías. En el caso del Pronto Dry, inocular la biopsia directamente sobre la superficie del reactivo (ver anexo 5).

4. Prueba de la Catalasa.

Utilizando una gota de peróxido de hidrógeno sobre una placa de vidrio y sobre este inocular con el ansa colonias sospechosas de *Helicobacter pylori* (ver anexo 7).



Catalasa positivo

5. Prueba de la Citocromo Oxidasa.

Utilizando papel filtro empapado con tetrametil-p-fenilendiamina dihidroclorhidro al 1% sobre una placa de vidrio inocular con una aplicador de plástico colonias sospechosas de *Helicobacter pylori* (ver anexo 8).



Citocromo Oxidasa positivo

5. Prueba del caldo Urea.

El laboratorio de bacteriología del Hospital “Arco Iris” utiliza para la identificación de *Helicobacter pylori* caldo urea, al cual se le introduce dos biopsias de antro y de cuerpo o fondo, se deja en incubación por un periodo de 24 horas para observar los resultados. La degradación de la urea por la enzima ureasa de *H. pylori* genera un cambio de color en el medio del caldo urea (ver anexo 6).

6. Prueba del Pronto Dry.

La Clínica “Caja Petrolera” en la unidad de gastroenterología, cuenta con la prueba comercial “Pronto Dry” (“Medical Instruments Corporation”) para la identificación de *H. pylori*, necesita 2 o mas biopsias de los pacientes. Esta prueba está basada en la identificación de la



enzima ureasa presente en *H. pylori*, esta enzima degrada la urea generando un medio básico que al mismo tiempo cambia de color al medio gel de la prueba (ver anexo 9).

Prueba positiva

7. Conservación



Para la conservación de las cepas es necesario cultivo de 48 horas, debe ser gran cantidad de colonias aisladas de *Helicobacter pylori*, el medio de conservación utilizado fue caldo BHI y el caldo TSB ambos suplementados con 20% de Glicerol, suplementados con 10% de suero fetal bovino (SFB) a temperatura de -70°C .

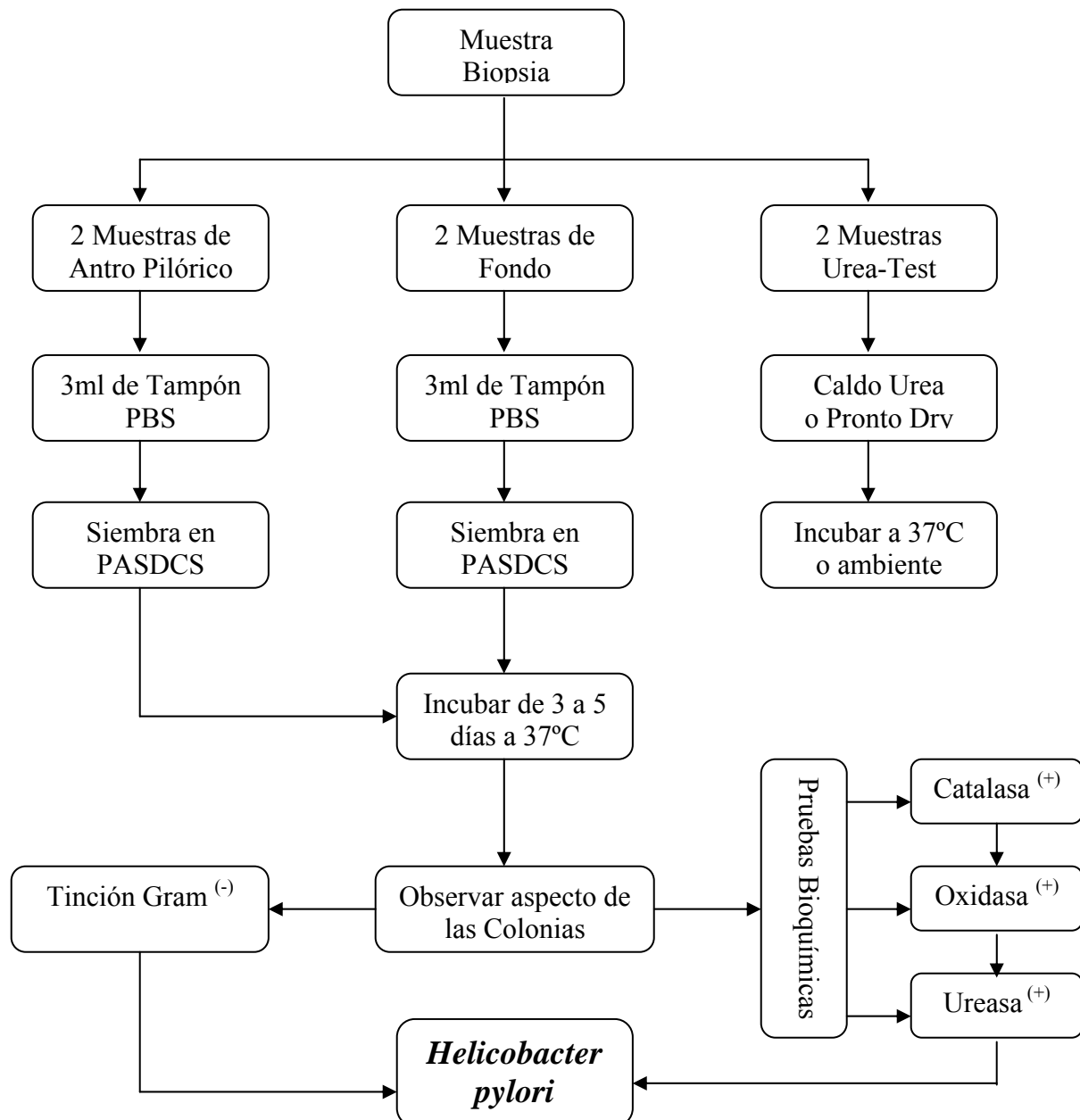
Caldo BHI glicerol 20%

8. Recolección de datos.

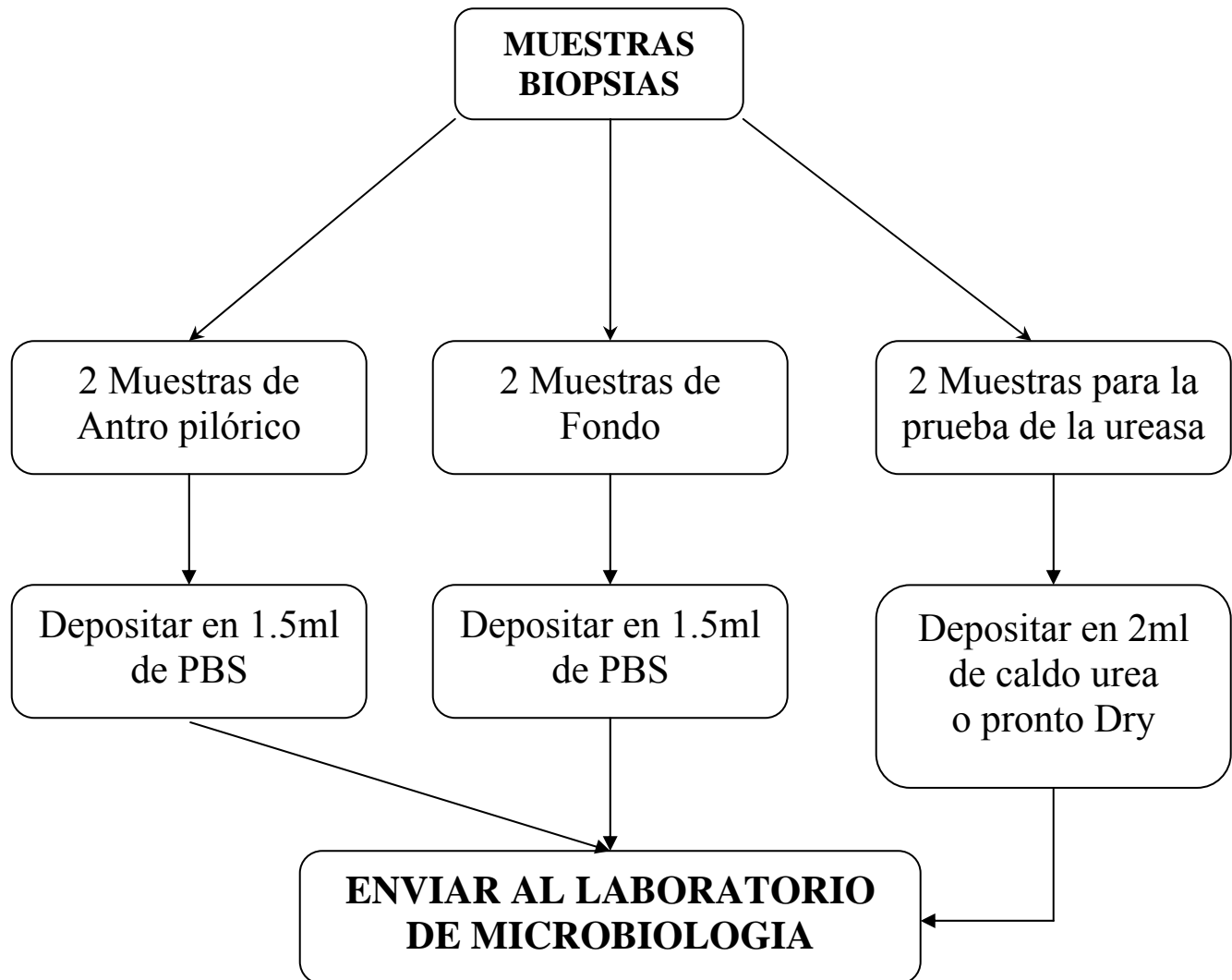
Los Datos descriptivos de cada paciente fueron recolectados en encuestas (ver anexo 10).

Los Datos de Laboratorio fueron recolectados en ficha de resultados (ver anexo 11).

PROTOCOLO DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HELICOBACTER PYLORI



PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRA



4. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION.

El procesamiento de la información se realizara en una base de datos la hoja electrónica Excel y Epi Info 2005 Versión 3.3.2.

1. RECOLECCIÓN.

La recolección de la información se realizara en encuestas (ver anexo 10) que serán llenadas en base a preguntas directas a cada paciente.

Los datos de laboratorio serán reportados en una ficha de resultados que se adjunta en los anexos (ver anexo 11).

2. ELABORACION

Durante la elaboración se procedió al proceso de revisión de las encuestas y hojas de resultados, solamente se tomo en cuenta aquellas encuestas que cuenten con la información completa de los pacientes, las encuestas o resultados incompletos fueron excluidos del estudio.

Se clasifíco en la base de datos (hoja electrónica Excel 2003) de acuerdo al orden tiempo versus diagnostico, se registro utilizando códigos para cada muestra proporcionada por el medico.

3. PRESENTACION.

Para la presentación del presente estudio se utilizo el programa de computación Microsoft Word 2003, el mismo fue realizado siguiendo los reglamentos establecidos por la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas vigente.

6. RESULTADOS.

1. RESULTADOS GENERALES.

Tabla 1.

Distribución de pacientes según nosocomio de asistencia

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Nosocomio	Numero	Porcentaje
Clínica “Caja Petrolera”	50	43,1%
Hospital “Arco Iris”	66	56,9%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 1.

Distribución de pacientes según nosocomio de asistencia

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

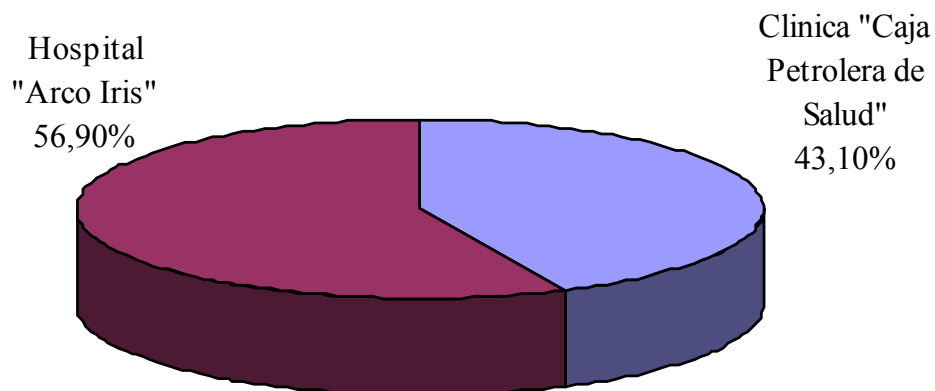


Tabla 2.

Distribución de pacientes según edad y sexo
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

SEXO	EDAD					TOTAL
	[14-27]	[28-41]	[42-55]	[56-69]	[70-84]	
Masculino	6 5,17%	15 12,93%	10 8,62%	7 6,03%	0 0%	38 32,75%
Femenino	16 13,79%	27 23,28%	13 11,21%	14 12,07%	8 6,90%	78 67,25%
TOTAL	22 18,96%	42 36,21%	23 19,83%	21 18,10%	8 6,90%	116 100,00%

Fuente: datos LNRBC

Figura 2.

Distribución de pacientes según edad y sexo
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

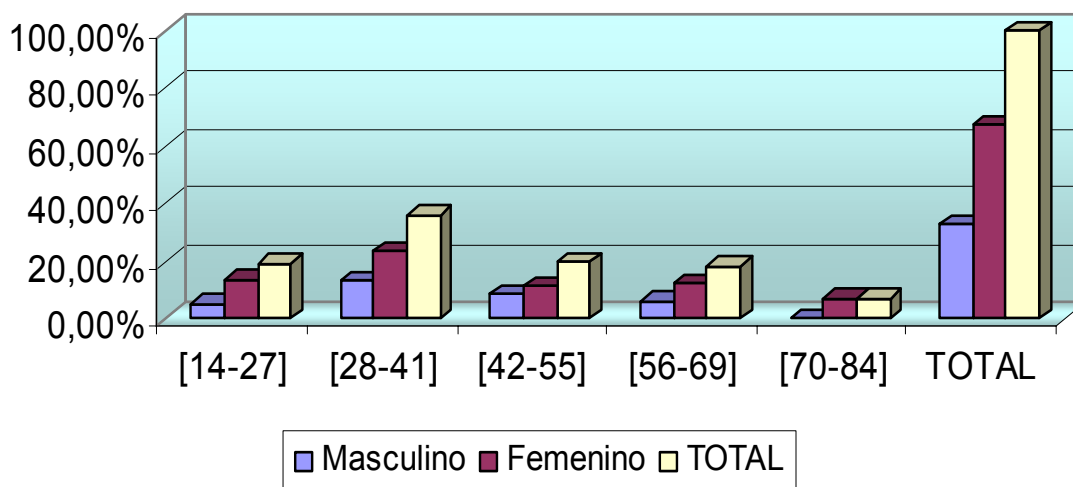


Tabla 3.

Distribución de pacientes según lugar de residencia

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Residencia	Numero	Porcentaje
Urbana	91	78,4%
Rural	25	21,6%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 3.

Distribución de pacientes según lugar de residencia

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

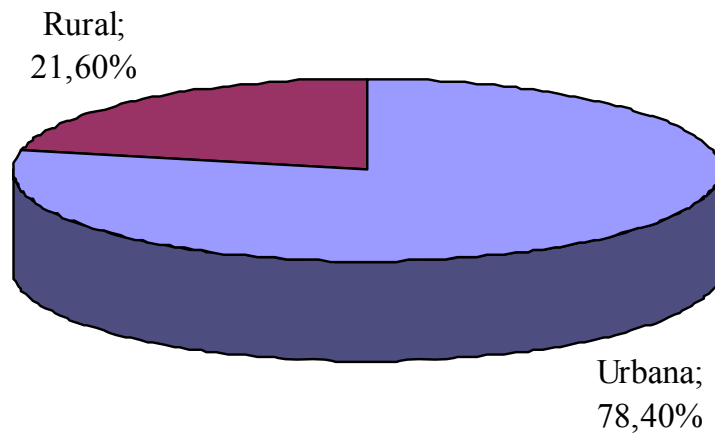


Tabla 4.

Distribución de pacientes según nivel de estudio

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Nivel de Estudio	Numero	Porcentaje
Sin estudio	6	5,2%
Estudios básicos	18	15,5%
Estudios Medio	41	35,3%
Estudio Superior	51	44,0%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 4.

Distribución de pacientes según nivel de estudio

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

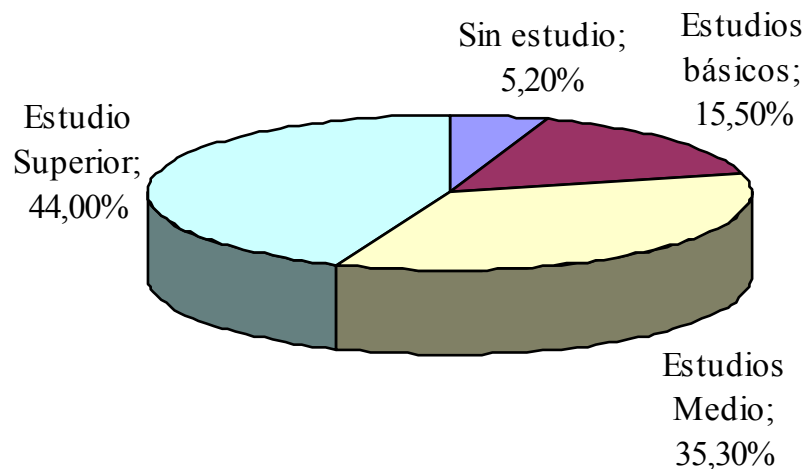


Tabla 5.

Distribución de pacientes según el tipo de agua que consumen

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Consumo de Agua	Numero	Porcentaje
Agua Potable	101	87,1%
Agua de Pozo	12	10,3%
Agua Superficial	3	2,6%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 5.

Distribución de pacientes según el tipo de agua que consumen

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

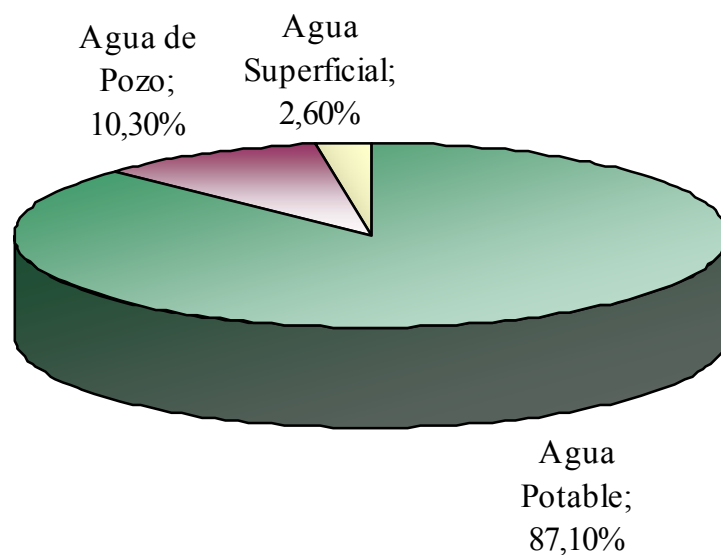


Tabla 6.

Distribución de pacientes según eliminación de excretas

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Eliminación de excretas	Numero	Porcentaje
Alcantarillado	106	91,4%
Campo abierto	5	4,3%
Fosa séptica	2	1,7%
Letrina	3	2,6%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 6.

Distribución de pacientes según eliminación de excretas

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

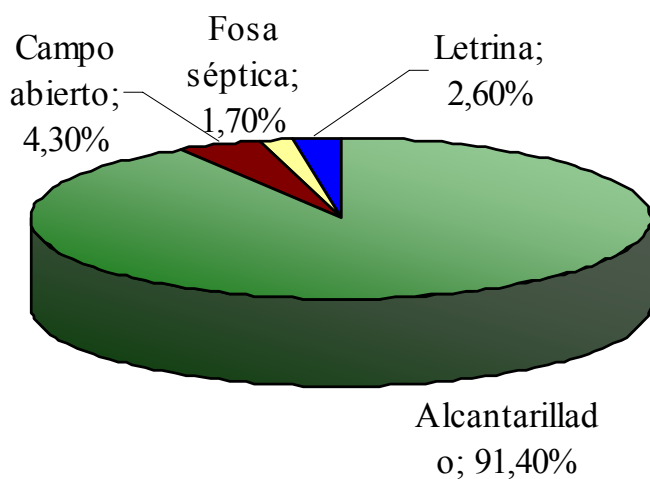


Tabla 7.

Distribución de pacientes con antecedentes familiares de enfermedad gástrica
Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Antecedentes Familiares	Numero	Porcentaje
Ninguna	65	56,0%
Gastritis	18	15,5%
Ulcera	33	28,4%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 7.

Distribución de pacientes con antecedentes familiares de enfermedad gástrica
Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

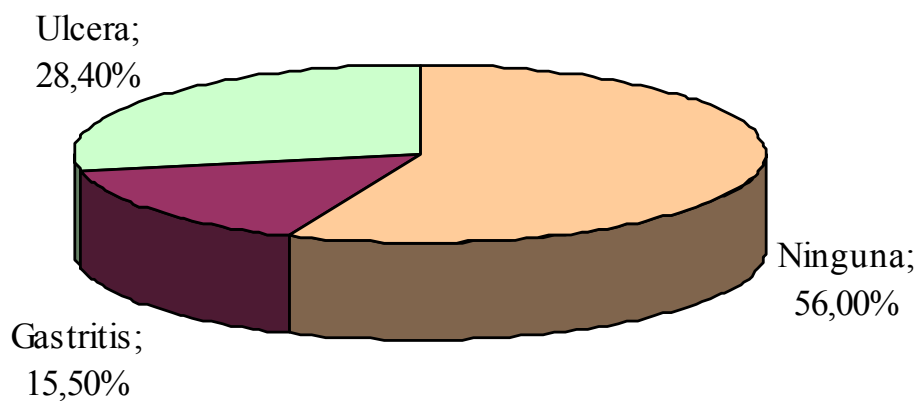


Tabla 8.

Distribución de pacientes que recibieron tratamiento antes de la toma de muestra
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Tratamiento	Numero	Porcentaje
Ninguna	90	77,6%
Inhibidor de la bomba de protones	16	13,8%
Antibióticos	6	5,2%
Terapia combinada	4	3,4%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 8.

Distribución de pacientes que recibieron tratamiento antes de la toma de muestra
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

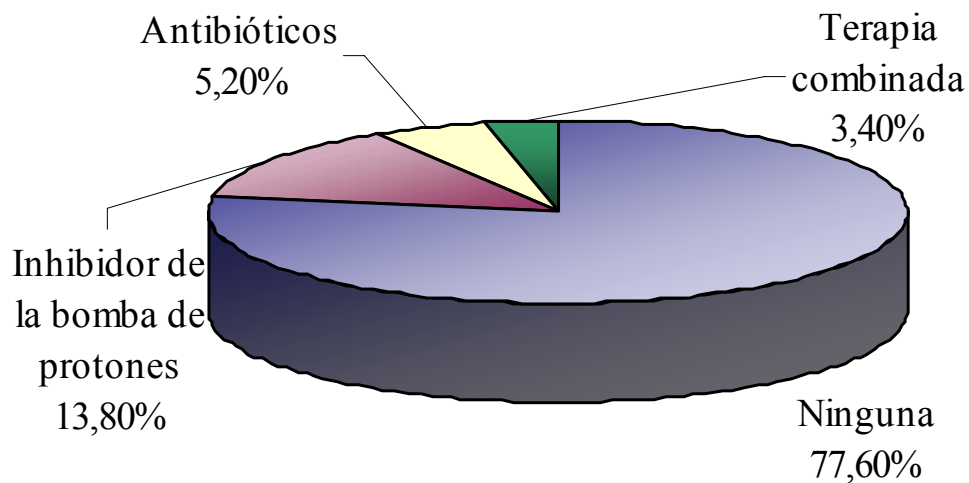


Tabla 9.

Distribución de pacientes según diagnostico clínico general

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Diagnostico	Numero	Porcentaje
Gastritis	86	74,1%
Ulcera	13	11,2%
Cáncer	1	0,9%
Otros	16	13,8%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 9.

Distribución de pacientes según diagnostico clínico general

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

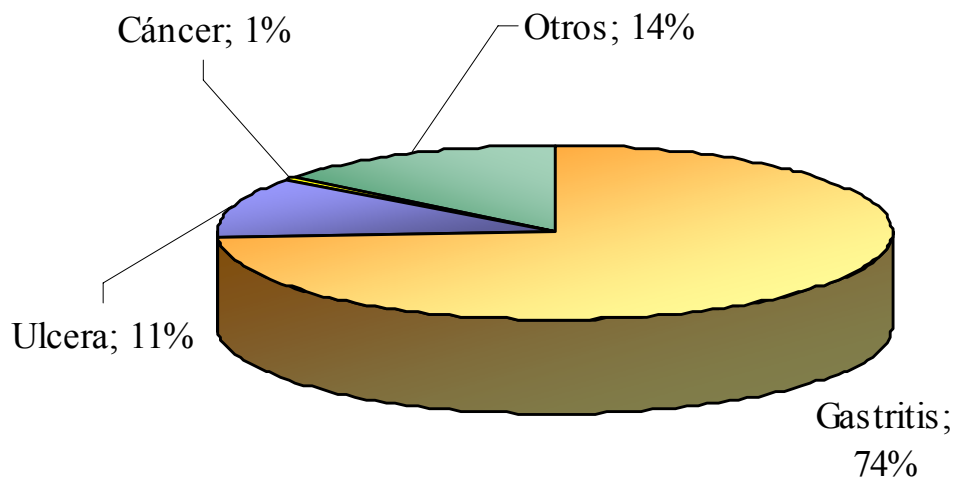


Tabla 10.

Distribución de pacientes según diagnóstico clínico específico

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Diagnostico específico	Numero	Porcentaje
Gastritis Crónica Sup.	38	32,8%
Gastritis Nodular	20	17,2%
Gastritis Atrófica	11	9,5%
Gastritis Erosiva	5	4,3%
Gastritis Verrucosa	8	6,9%
Gastritis Fundica	2	1,7%
Gastritis Eritematosa	2	1,7%
Ulcera Sangrante	1	0,9%
Ulcera Nodular	1	0,9%
Ulcera Duodenal	11	9,5%
Metaplasia Intestinal	1	0,9%
Otras patologías	16	13,8%
Total	116	100,0%

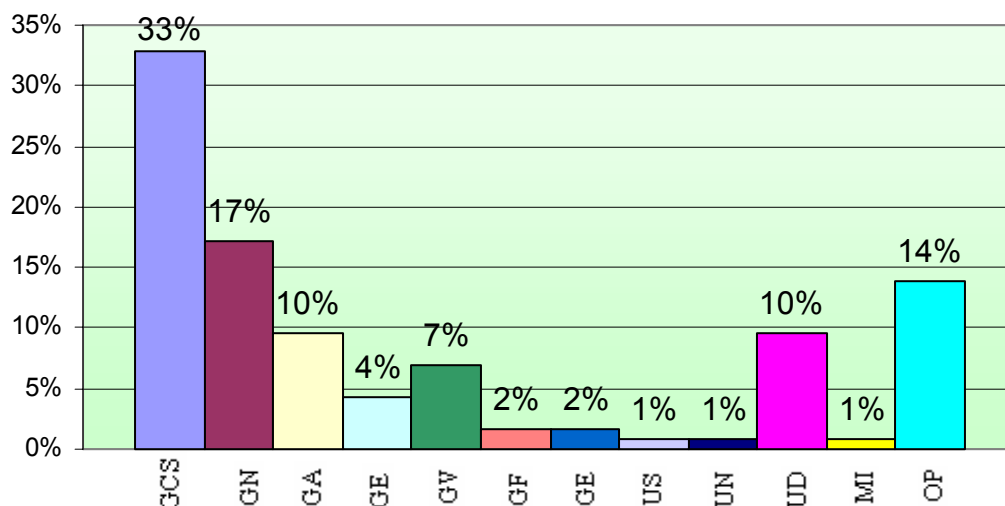
Fuente: datos LNRBC

Figura 10.

Distribución de pacientes según diagnóstico clínico específico

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.



2. RESULTADOS ESPECIFICOS.

1. Pruebas Diagnostico.

Tabla 11.

Resultados obtenidos mediante la prueba de la ureasa a partir de biopsias gástricas para la identificación de *Helicobacter pylori*
Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Prueba ureasa	Muestras	Porcentaje
Positivo	74	63,8%
Negativo	42	36,2%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 11.

Resultados obtenidos mediante la prueba de la ureasa a partir de biopsias gástricas para la identificación de *Helicobacter pylori*
Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

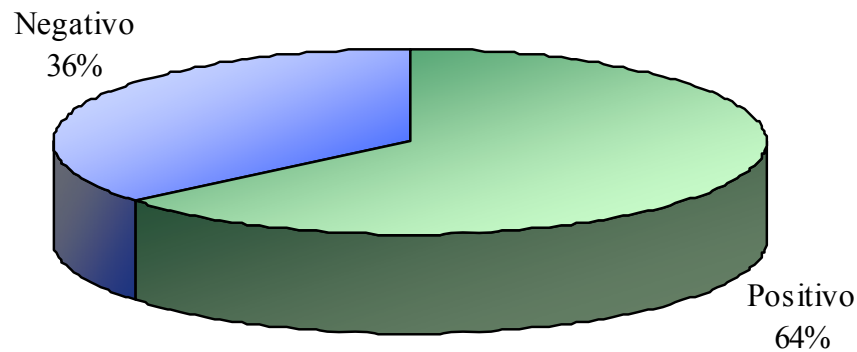


Tabla 12.

Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori*

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Cultivo	Muestras	Porcentaje
Positivo	59	50,9%
Negativo	57	49,1%
Total	116	100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 12.

Cultivo de biopsias gástricas para el aislamiento de *Helicobacter pylori*

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

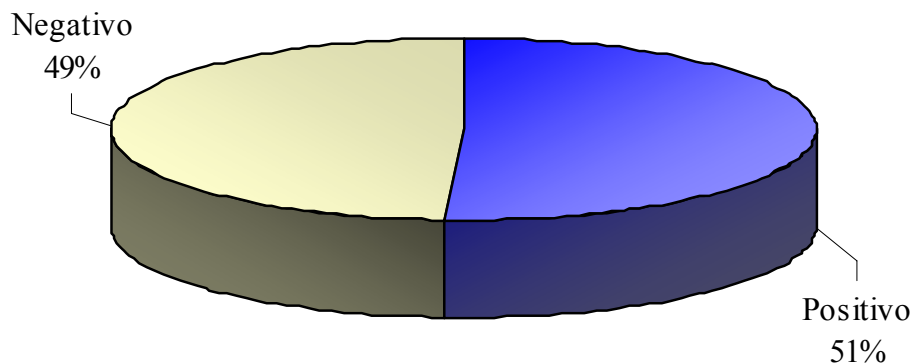


Tabla 13.

Comparación de resultados de la prueba de la ureasa entre nosocomios
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Prueba de la Ureasa	“Caja Petrolera”	“Arco Iris”	TOTAL
Positivo	32 64,0%	42 63,6%	74 63,8%
Negativo	18 36,0%	24 36,4%	42 36,2%
TOTAL	50 100,0%	66 100,0%	116 100,0%

Fuente: datos LNRBC

Figura 13.

Comparación de resultados de la prueba de la ureasa entre nosocomios
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

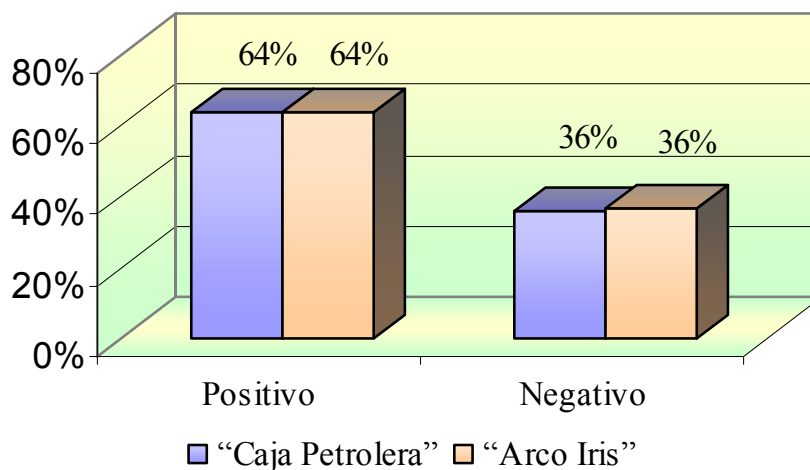


Tabla 14.

Comparación de resultados del cultivo entre nosocomios

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

Cultivo Bacteriológico	“Caja Petrolera”	“Arco Iris”	TOTAL
Positivo	24 48,0%	35 53,0%	59 50,9%
Negativo	26 52,0%	31 47,0%	57 49,1%
TOTAL	50 100,0%	66 100,0%	116 100,0

Fuente: datos LNRBC

Figura 14.

Comparación de resultados del cultivo entre nosocomios

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

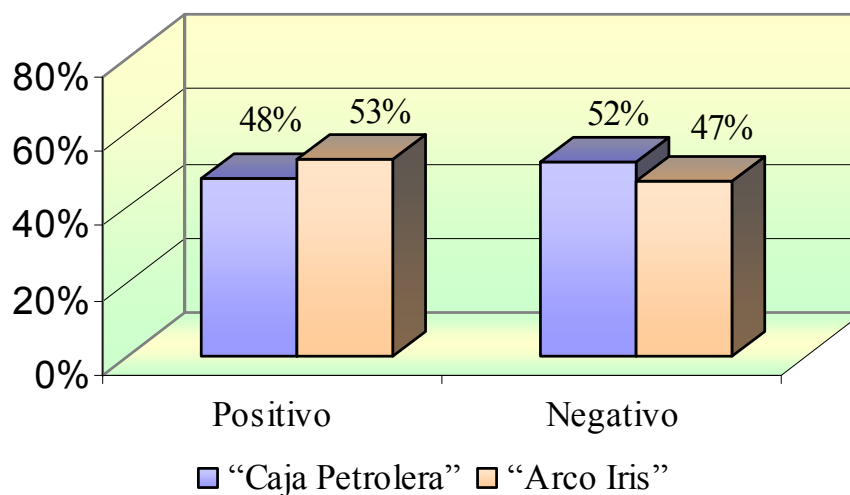


Tabla 15.

Comparación de resultados entre la prueba de la ureasa y el cultivo de muestras procedentes de la Clínica “Caja Petrolera de Salud”

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

"Caja Petrolera"	Prueba de la ureasa	Cultivo
Positivo	32 64,00%	24 48,00%
Negativo	18 36,00%	26 52,00%
TOTAL	50 100,00%	50 100,00%

Fuente: datos LNRBC

Figura 15.

Comparación de resultados entre la prueba de la ureasa y el cultivo de muestras procedentes de la Clínica “Caja Petrolera de Salud”

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

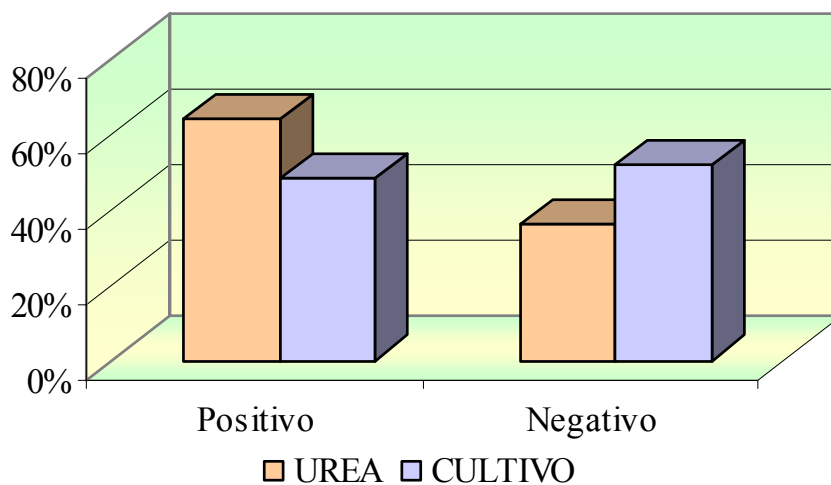


Tabla 16.

Comparación de resultados entre la prueba de la ureasa y el cultivo de muestras procedentes del Hospital “Arco Iris”

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

“Arco Iris”	Prueba de la ureasa	Cultivo
Positivo	42 63,60%	35 53,00%
Negativo	24 36,40%	31 47,00%
TOTAL	66 100,00%	66 100,00%

Figura 16.

Comparación de resultados entre la prueba de la ureasa y el cultivo de muestras procedentes del Hospital “Arco Iris”

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

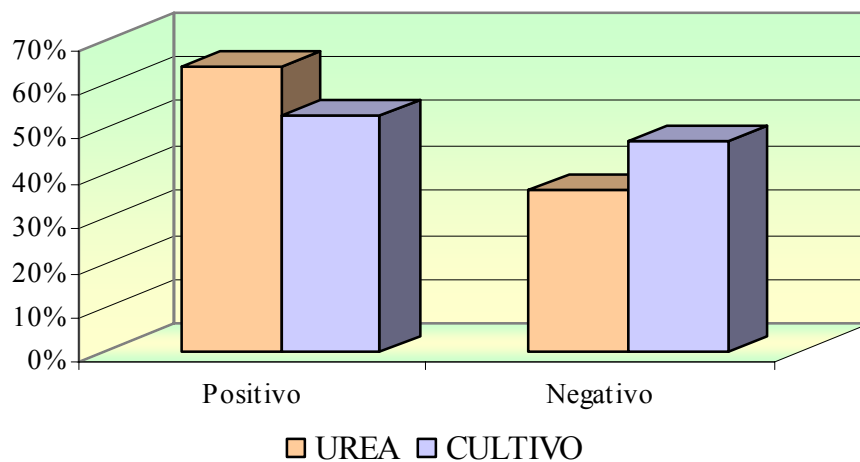


Tabla 17.

Evaluación de la Sensibilidad y Especificidad de la prueba de la ureasa con el cultivo

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

CULTIVO			
UREASA	Positivo	Negativo	TOTAL
Positivo	49	25	74
Negativo	10	32	42
TOTAL	59	57	116

Fuente: datos LNRBC

Valores de los indicadores de Sensibilidad y Especificidad de la Ureasa

Índice	Intervalo Confianza 95%		
Sensibilidad	83,05%	73,48%	92,62%
Especificidad	56,14%	43,26%	69,02%
Valor Predictivo Positivo	66,22%	55,44%	76,99%
Valor Predictivo Negativo	76,19%	63,31%	89,07%
Cociente de Probabilidad Positivo	1,89	[1]	no aplicable
		[2]	1,38 2,60
Cociente de Probabilidad Negativo	0,30	[1]	no aplicable
		[2]	0,16 0,56

Tabla 18.

Aislamiento de *Helicobacter pylori* de ANTRO PILORICO y FONDO GASTRICO

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

	Cultivo de <i>Helicobacter pylori</i>	
	Antro pilórico	Fondo gástrico
Positivo	50 43,10%	44 37,90%
Negativo	66 56,90%	72 62,10%
Total	116 100,00%	116 100,00%

Figura 17.

Aislamiento de *Helicobacter pylori* de ANTRO PILORICO y FONDO GASTRICO

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

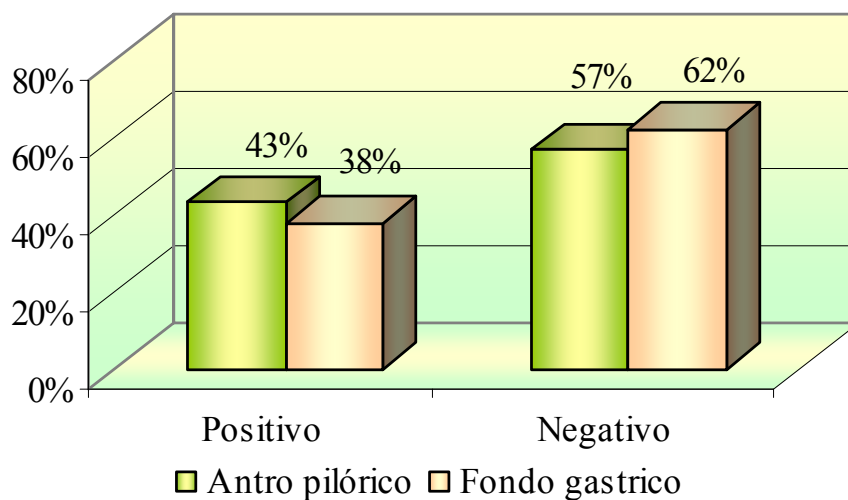


Tabla 19.

**Relación entre el tratamiento antes de la toma de muestra
y el desarrollo de *H. pylori* en cultivo**

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

CULTIVO			
Tratamiento	Positivo	Negativo	TOTAL
Ninguna	49	41	90
	54%	46%	100%
IBP*	6	10	16
	38%	63%	100%
Antibióticos	4	2	6
	67%	33%	100%
Triple terapia	0	4	4
	0%	100%	100%
TOTAL	59	57	116
	51%	49%	100%

*IBP=Inhibido de la bomba de protones

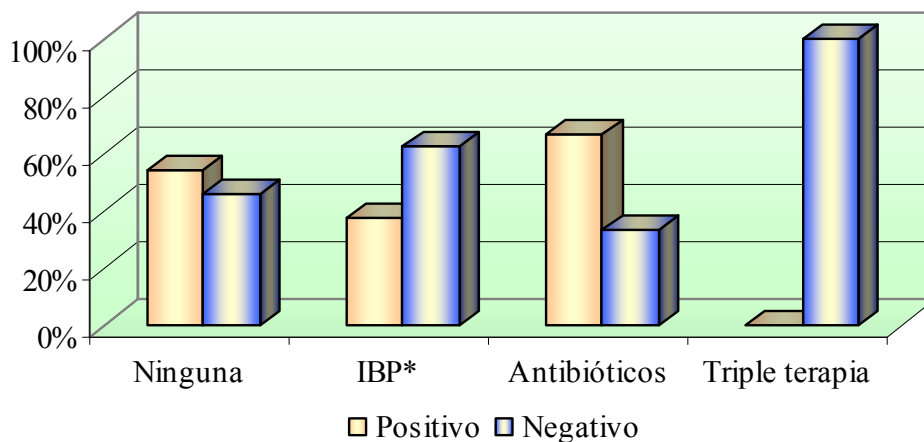
Fuente: datos LNRBC

Figura 18.

**Relación entre el tratamiento antes de la toma de muestra
y el desarrollo de *H. pylori* en cultivo**

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.



2. **Correlación Clínico-Laboratorial.**

Tabla 20.

Relación entre el diagnóstico clínico y el desarrollo de *H. pylori* en cultivo

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

DIAGNOSTICO GENERAL					
CULTIVO	Gastritis	Ulcera	Cáncer	Otros	TOTAL
Positivo	44	7	0	8	59
	51%	54%	0%	50%	51%
Negativo	42	6	1	8	57
	49%	46%	100%	50%	49%
TOTAL	86	13	1	16	116
	100%	100%	100%	100%	100%

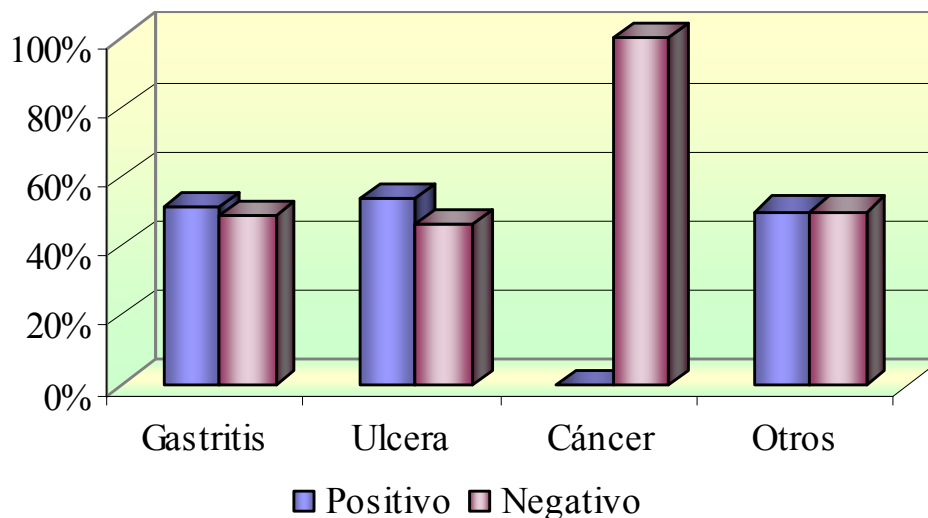
Fuente: datos LNRBC

Figura 19.

Relación entre el diagnóstico clínico y el desarrollo de *H. pylori* en cultivo

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.



3. Factores socioeconómicos en la infección por *Helicobacter pylori*.

Tabla 21.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y los antecedentes familiares de enfermedad gástrica

Hospital "Arco Iris" y Clínica "Caja Petrolera"

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

ANTECEDENTES FAMILIARES				
<i>H. pylori</i>	Ninguna	Gastritis	Úlcera	TOTAL
Infección	31 48%	11 61%	17 52%	59 51%
Sin Infección	34 52%	7 39%	16 48%	57 49%
TOTAL	65 100%	18 100%	33 100%	116 100%

Fuente: datos LNRBC

Figura 20.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y los antecedentes familiares de enfermedad gástrica

Hospital "Arco Iris" y Clínica "Caja Petrolera"

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

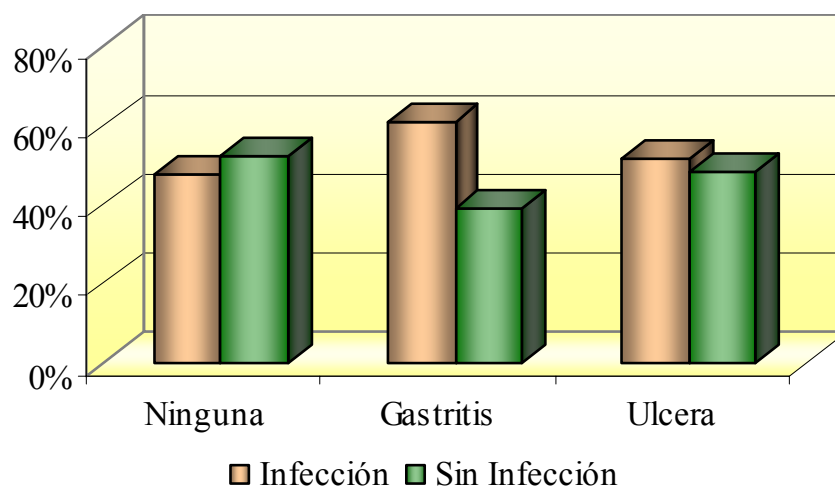


Tabla 22.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y el genero

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

GENERO			
<i>H. pylori</i>	Masculino	Femenino	TOTAL
Infección	17 45%	42 54%	59 51%
Sin Infección	21 55%	36 46%	57 49%
TOTAL	38 100%	78 100%	116 100%

Fuente: datos LNRBC

Figura 21.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y el genero

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”

La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

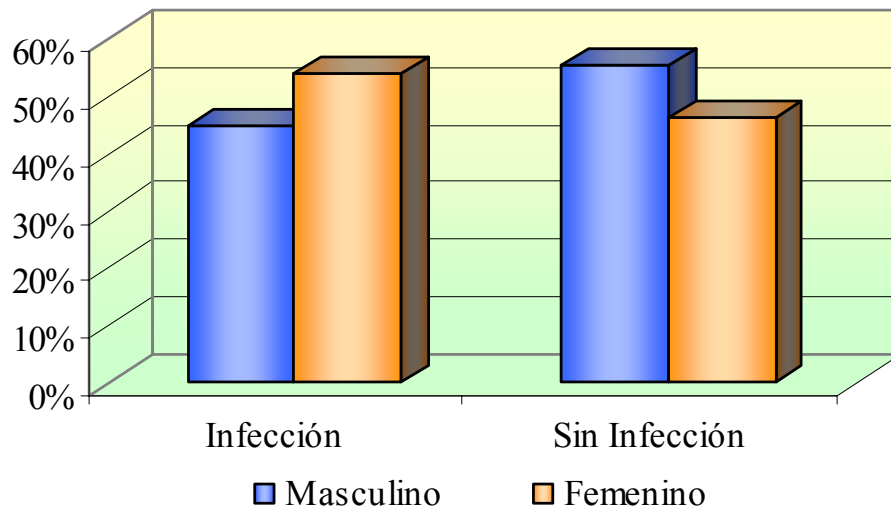


Tabla 23.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y la edad
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

EDAD						
<i>H. pylori</i>	[14-27]	[48-41]	[42-55]	[56-69]	[70-84]	TOTAL
Infección	11	25	9	9	5	59
	50%	60%	39%	43%	63%	51%
Sin Infección	11	17	14	12	3	57
	50%	40%	61%	57%	38%	49%
TOTAL	22	42	23	21	8	116
	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Fuente: datos LNRBC

Figura 22.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y la edad
 Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
 La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

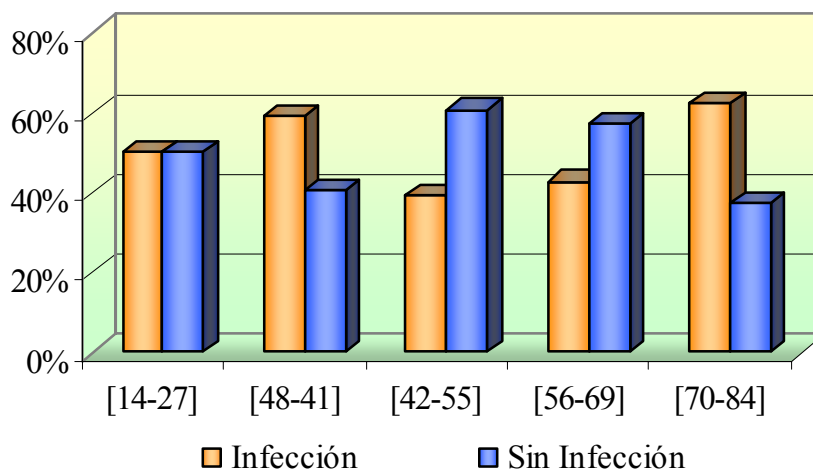


Tabla 24.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y el lugar de residencia

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

LUGAR DE RESIDENCIA			
<i>H. pylori</i>	Urbano	Rural	TOTAL
Infección	43 47%	16 64%	59 51%
Sin Infección	48 53%	9 36%	57 49%
TOTAL	91 100%	25 100%	116 100%

Figura 23.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y el lugar de residencia

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

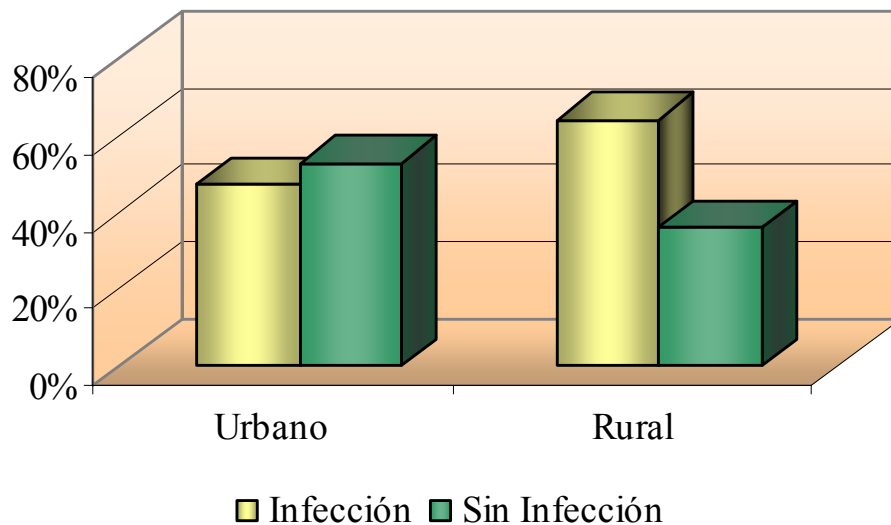


Tabla 25.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y el consumo de agua

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

CONSUMO DE AGUA				
<i>H. pylori</i>	Potable	Pozo	Superficial	TOTAL
Infección	50	7	2	59
	50%	58%	67%	51%
Sin Infección	51	5	1	57
	50%	42%	33%	49%
TOTAL	101	12	3	116
	100%	100%	100%	100%

Fuente: datos LNRBC

Figura 24.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y el consumo de agua

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

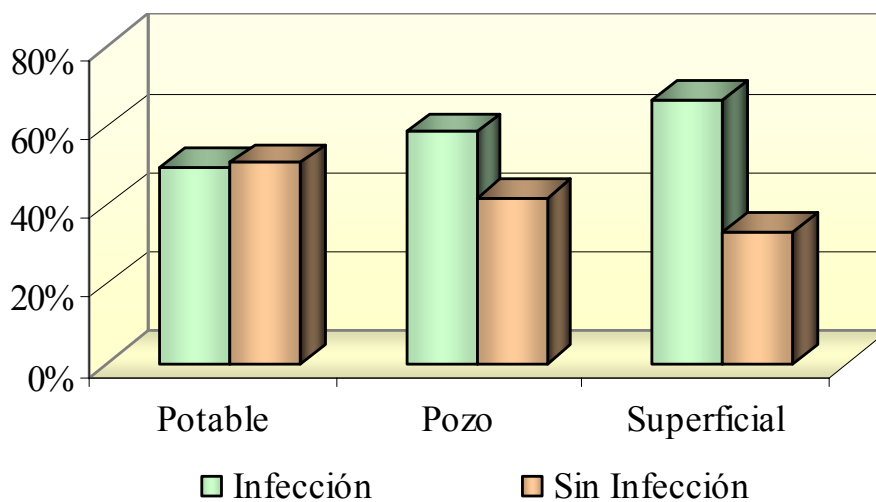


Tabla 26.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y la eliminación de excretas

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.

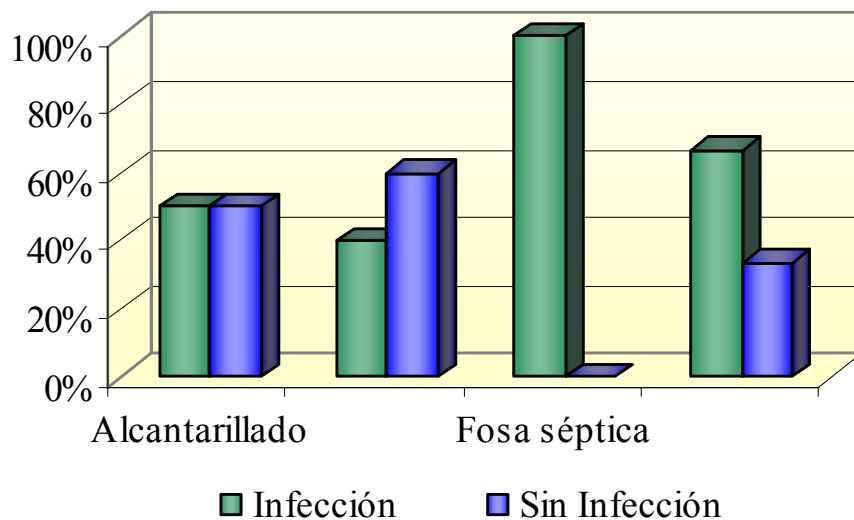
ELIMINACION DE EXCRETAS					
<i>H. pylori</i>	Alcantarillado	Campo abierto	Fosa séptica	Letrina	TOTAL
Infección	53	2	2	2	59
	50%	40%	100%	67%	51%
Sin Infección	53	3	0	1	57
	50%	60%	0%	33%	49%
TOTAL	106	5	2	3	116
	100%	100%	100%	100%	100%

Fuente: datos LNRBC

Figura 25.

Relación entre la infección por *H. pylori* (determinada mediante el cultivo) y la eliminación de excretas

Hospital “Arco Iris” y Clínica “Caja Petrolera”
La Paz – Bolivia, junio de 2005 a mayo de 2006.



7. DISCUSIONES.

El Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica, a la fecha cuenta con el primer manual de procedimientos estandarizados para el aislamiento e identificación de *H. pylori*, ese manual fue el resultado de pruebas repetidas de protocolos provistos por la Universidad Austral de Chile y otros encontrados en la bibliografía (Jawetz, et al 1998; Koneman, 2001; Fernández, 2003); un estudio realizado el año 1993 en el Instituto Gastroenterológico Boliviano Japonés por Galarza, reporta la imposibilidad de aislar *H. pylori* en medio Skirrow, otro estudio realizado el año 1998 en el mismo Instituto reporta la dificultad del aislamiento en medio Campylobacter Agar Skirrow (Baldivieso, 1998), en este estudio se ha utilizado el medio de Skirrow modificado (Agar Base Columbia con sangre desfibrinada de carnero al 7% y suplemento antibiótico DENT) como podremos observar mas adelante, a partir de este medio pudimos obtener una técnica de fácil aplicación y reducido costo para la implementación en la rutina de los laboratorios de bacteriología de los distintos nosocomios. Es importante resaltar que el cultivo de *Helicobacter pylori* es considerado actualmente el “patrón de oro” para su diagnóstico e identificación, su importancia también radica cuando se quiere establecer pautas para la terapia erradicadora de *H. pylori*, especialmente cuando existen problemas de resistencia antimicrobiana.

Hemos ensayado variaciones de los medios de cultivo; es así que cambiamos la cantidad de sangre desfibrinada de carnero, adición de suero fetal bovino y adición de isovitalex (combinados en diferentes concentraciones y también por separados), también probamos el agar chocolate. Vimos por conveniente trabajar con agar base columbia con suplemento del 7% de sangre desfibrinada de carnero y suplemento antibiótico DENT (vancomicina, trimetoprim, cefsulodina y anfotericina B) para el aislamiento y sin suplemento DENT para las resiembras posteriores. También pudimos constatar que *H. pylori* desarrolla mejor cuando se adiciona suero fetal bovino al 3%, y no presenta variación evidente cuando se añade isovitalex al 1%. El agar chocolate es un buen medio para la recuperación de cepas, su dificultad radica en que disminuye el desarrollo de *H. pylori* cuando se vuelve a resembrar en agar base columbia con sangre desfibrinada de carnero al 7%. Además el agar base columbia con sangre desfibrinada de carnero al 7% se recomienda en el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).



H. pylori al igual que otros microorganismos microaerófilos y anaerobios es difícil de ser cultivado debido a que es altamente sensible a las condiciones ambientales de trabajo en laboratorio, es labil a la presencia de oxígeno lo que dificulta su aislamiento, el medio de cultivo es bastante enriquecido por lo que su contaminación por otros microorganismos es elevada, posiblemente estas sean las razones por las que aun no se puede estandarizar los procedimientos de sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos en el mundo y nuestro país.

Al medio de cultivo hicimos variaciones en la generación de atmósfera microaerófila; la atmósfera microaerófila estándar utilizada en el estudio fue generada por sobre comerciales Campy Gen CN25 (Oxoid) que proporciona 85% de N₂, 10% de CO₂ y 5% de O₂. Hicimos pruebas con el método de la vela el cual no generó desarrollo óptimo, si muy tenue, casi inservible para resiembras posteriores, también hicimos prueba con el método del alka SELTZER® con el que se obtuvo muy buen desarrollo, similar al comercial Campy Gen CN25 de Oxoid, por eso es que recomendamos su utilización en estudio posteriores debido a que reduce los costos del cultivo de manera significativa. La temperatura óptima para el desarrollo de *H. pylori* es de 35°C, cuando la temperatura se eleva a más de 37°C se inhibe el desarrollo de colonias y posterior pérdida de las cepas de trabajo, es por eso que creemos muy importante hacer notar esta característica. Bajo estas condiciones hemos llevado adelante el presente estudio.

La prueba de la ureasa presenta una **sensibilidad** de diagnóstico para la identificación del enzima ureasa del 83%. La prueba de la ureasa es confiable exactamente en un 83% para la identificación del enzima ureasa característica bioquímica principal de *Helicobacter pylori*.

La prueba de la ureasa presenta una **especificidad** en el diagnóstico para la identificación del enzima ureasa del 56% para la identificación del enzima ureasa característica bioquímica principal de *Helicobacter pylori*.



La **probabilidad** de que el **resultado positivo** para la prueba de la ureasa sea realmente verdadera el del 66% cuando se realiza la prueba de la ureasa para la identificación del enzima ureasa característica bioquímica principal de *Helicobacter pylori*.

La prueba de la ureasa tiene una **probabilidad** del 76% de que el **resultado negativo** obtenido sea realmente negativo para la identificación del enzima ureasa característica bioquímica principal de *Helicobacter pylori*.

En el 51% de las muestras de biopsias gástricas desarrollaron colonias de *H. pylori* en cultivo, en cambio en el 64% de las muestras de biopsias gástricas dieron resultado positivo para la identificación de la prueba de la ureasa (ver tabla 17). Se puede evidenciar una diferencia del 13% que se constituiría en un problema en el diagnóstico de laboratorio, sin embargo la **especificidad** de la prueba de la ureasa es del 56%, es decir que podríamos estar confundiendo con falsos positivos, el resultado podría deberse a otros factores tales como pH del medio, mala preparación del medio, tamaño de muestras de biopsias, muestras procedentes de sitios en los que no se encuentran las colonias de *H. pylori*. Hemos elegido al cultivo como “patrón de oro” debido a que su especificidad es del 100%. También pudimos observar que aproximadamente el 9% de los resultados mediante la prueba de la ureasa fueron ureasa negativos, es decir verdaderos negativos, así explicamos que la **sensibilidad** de la prueba es del 83%, estos resultados podrían deberse también a los factores anteriormente citados.

Estudios realizados por Álvarez et al, el año 1997, han descrito que la **sensibilidad** de la prueba de la urea es del 80% en comparación con un “patrón de oro” compuesto por el cultivo, serología, histología y CLO-test (marca comercial).

Hemos aprovechado para nuestro estudio la técnica de identificación que emplean los laboratorios de los nosocomios, para evaluar su comportamiento en el diagnóstico de *H. pylori* frente al cultivo. El Hospital “Arco Iris” utiliza el Caldo Urea de Stuart (preparado en el laboratorio del mismo hospital) y La Clínica “Caja Petrolera” utiliza la técnica comercial “*Pronto Dry*”.



En la evaluación de la prueba de la ureasa utilizada para la identificación de *H. pylori* por los laboratorios de los nosocomios que nos apoyaron en este estudio, se observó que ambas pruebas tanto el Caldo Urea de Stuart (Hospital “Arco Iris”) y el “*Pronto Dry*” (Clínica “Caja Petrolera de Salud”) resultaron positivos en un 64% y negativos en un 36% (ver tabla 13 y figura 13).

En la prueba del cultivo observamos diferencias de respuesta al desarrollo de colonias de *Helicobacter pylori* entre nosocomios, es así que la prueba realizada en el Hospital “Arco Iris” dio como resultado positivo al 53% de las muestras procesadas y la Clínica “Caja Petrolera de Salud” dio como resultado positivo, como se puede observar existe una diferencia del 5% entre resultados del cultivo en ambos nosocomios (ver tabla 14 y figura 14), esta disminución de resultados de la Clínica “Caja Petrolera de Salud” se podría deber al tiempo de transporte de las muestras, ya que el cultivo se realizó en el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA, en cambio para las muestras procedentes del Hospital “Arco Iris” pudimos utilizar ambientes de la unidad de Bacteriología de dicho Hospital.

Se ha observado que el antro pilórico es la zona de mayor colonización de *Helicobacter pylori*, es así que aislamos *H. pylori* del 43% de las muestras procedentes de antro pilórico y 38% de fondo gástrico, combinando las muestras de ambos sitios alcanzamos aislar hasta el 51% del total de las muestras, este dato es muy valioso ya que con seguridad podemos decir que mientras más diversa la muestra mayor posibilidad de descartar verdaderos negativos (ver tabla 18 y figura 17). Múltiples estudios han demostrado que *H. pylori* coloniza principalmente el antro pilórico, y en menor frecuencia las otras zonas (cuerpo y fondo gástrico), sin embargo en algunos casos *H. pylori* se localiza en una zona específica ya sea antro o puede migrar a cuerpo o fondo.

Del total de muestras de pacientes que fueron parte de este estudio, se aislaron solamente el 51%, de este total, el 54% no habían recibido ni estaban con ningún tratamiento, el 38% tomaba inhibidor de la bomba de protones (omeprazol), el 67% tomaban antibióticos y

ninguna recibía la terapia combinada; del 49% de los resultados negativos, el 46% no recibían tratamiento alguno, el 63% tomaban inhibidor de la bomba de protones (omeprazol), el 33% tomaban algún antibiótico y el 100% ya estaban tomando la terapia combinada contra *H. pylori* (ver tabla 19 y figura 18). Como se puede observar en pacientes que no tomaron ningún tratamiento, existe mayor probabilidad de aislar a *Helicobacter pylori*, en cambio en los pacientes que tomaron inhibidor de la bomba de protones, se puede observar que disminuye el desarrollo en relación a los pacientes que no tomaron ningún tratamiento, en los pacientes que tomaban solamente antibióticos antes de la toma de muestra se observa desarrollo en cultivo de *Helicobacter pylori*, esto se puede deber a que los antibióticos en el medio ácido del estómago no pueden ejercer su acción local por sí solos, los pacientes que iniciaron la terapia combinada (omeprazol y dos antibióticos, amoxicilina y claritromicina) antes de la toma de muestra no se evidencia desarrollo alguno en cultivo.

Si bien en nuestro estudio no determinamos la prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori*, podemos afirmar que la frecuencia de infección en pacientes que acuden a consultas de gastroenterología en los nosocomios en los que se realizó el estudio es mayor al 51% (ver tabla 12), se tienen estudios en nuestro medio sobre la prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori*, el primero fue realizado en la ciudad de La Paz en el que se reporta que la prevalencia es mayor al 50% (Álvarez et al, 1997), y otro realizado en la ciudad de Santa Cruz en el que reportan que el 73% de esa población presenta infección por *H. pylori* y se distribuye según género 75,8% en sexo masculino y 69,6% en el sexo femenino (Prado Robles et al, 2001), ambos estudios se utilizaron como prueba diagnóstica el caldo urea, además debemos resaltar que asimismo el primero realizó técnicas de diagnóstico compuestas para determinar la prevalencia de la infección. Múltiples estudios afirman que la prevalencia en países subdesarrollados como el nuestro es mayor al 80%.

Del total de pacientes en estudio, el 43% asistió a consultas en la Clínica “Caja Petrolera de Salud”, el 57% asistió al Hospital “Arco Iris” (ver tabla 1 y figura 1); el 19% de los pacientes estaban comprendidos entre la edad de 14 a 27 años, el 36% estaban comprendidos entre la edad de 28 a 41 años, el 20% estaban comprendidos entre la edad de



42 a 55 años, el 18% estaban comprendidos entre la edad de 56 a 69 años y el 7% estaban comprendidos entre la edad de 70 a 84 años (ver tabla 2 y figura 2); el 33% de los pacientes eran del genero masculino, el 67% del genero femenino (ver tabla 2 y figura 2); el 78% de los pacientes residen en el área urbano, el 22% residen en el área rural (ver tabla 3 y figura 3); el 5% de los pacientes no tenían ningún estudio realizado, el 16% solamente recibió estudios básicos, el 35% de los pacientes habían cumplido el bachillerato y el 44% de los pacientes realizaron estudios universitario o superiores (ver tabla 4 y figura 4); El 87% de los pacientes tenían agua potable, el 10% recibían agua de pozo y el 3% recibían de aguas superficiales (ver tabla 5 y figura 5); el 91% de los pacientes contaba con alcantarillado, el 4% hacia sus necesidades higiénicas en campo abierto, el 2% contaba con fosa séptica y el 3% tenían letrina (ver tabla 6 y figura 6); el 56% de los pacientes no tenían familiares con antecedentes de enfermedad gástrica, el 16% declaro haber tenido familiares con gastritis y el 28% declaro tener familiares con úlceras gástricas (ver tabla 7 y figura 7); el 78% de los pacientes no habían tomado ningún medicamento con anterioridad al estudio, el 14% tomo inhibidor de la bomba de protones (omeprazol), el 5% tenia medicación de antibióticos, el 3% ya habían iniciado la terapia combinada (omeprazol, claritromicina y amoxicilina) (ver tabla 8 y figura 8); el 74% de los pacientes fue diagnosticado con gastritis, el 11% fue diagnosticado con úlceras, el 1% con cáncer gástrico y el 14% con otras patologías no asociadas (ver tabla 9 y figura 9).

Se ha visto que en los pacientes que no tenían familiares con antecedentes de enfermedad gástrica, solamente el 48% de los encuestados cursaban infección por *H. pylori*; de los pacientes que respondieron tener familiares con gastritis, el 61% presentaba infección por *H. pylori*, de los pacientes que respondieron tener familiares con enfermedad ulcerosa a nivel gástrico, el 52% cursaba infección por *H. pylori* (ver tabla 21 y figura 20). Se puede evidenciar que en los pacientes que tenían familiares con gastritis, existe mayor frecuencia de infección por *H. pylori* que en aquellos pacientes que no tiene familiares con antecedentes de enfermedad a nivel gástrico, sin embargo, las diferencias en relación a los pacientes que tenían familiares con enfermedad ulcerosa a nivel gástrico y aquellos pacientes que no tenían familiares con antecedentes no es muy significativa, por lo que se

recomienda realizar un estudio estratificado, para determinar si la infección por *H. pylori* tiene relación causa y efecto con los antecedentes familiares.

Del total de pacientes que asistieron a consultas de gastroenterología en los nosocomios considerados para este estudio, el 32% eran del género masculino, de este total, el 45% cursaba la infección por *H. pylori*; el 68% de los pacientes eran del género femenino, de este total, el 54% cursaba la infección por *H. pylori* (ver tabla 22 y figura 21). Un estudio realizado por Alvarez et al el año 1997, en la ciudad de La Paz-Bolivia muestra que el 52% de los pacientes infectados con *H. pylori* eran del género masculino y 48% del género femenino. Otro estudio realizado por Prado et al el año 2001, en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra-Bolivia muestra que la infección por *H. pylori* en pacientes del género masculino es del 76% y en el género femenino es del 65%. Aunque, López-Brea el año 1995 indicó que la infección por *H. pylori* es independiente del género, según un estudio realizado en México, de igual manera Pueyo et al, el año 2003 en España ratificó esta afirmación. Como se puede observar Alvarez y Prado coinciden en que en el género masculino existe mayor frecuencia de infección, si bien los resultados del presente estudio contradicen a los estudios citados, se puede ratificar el postulado de Lopez y Pueyo que coinciden en que la infección por *H. pylori* es independiente del género.

Los pacientes de acuerdo a su edad han sido clasificados en cinco grupos (ver tabla 23 y figura 22), y la infección por *H. pylori* se presentó de la siguiente manera: de [14-27] años, 50%; de [28-41] años 60%; de [42-55] años, 39%, de [56-69] años, 43% y de [70-84] años la infección era del 63%.

Alvarez et al el año 1997 y López-Brea el año 1995, reportaron que la infección por *H. pylori* no depende de la edad de los pacientes, por lo que esta infección estaría ampliamente distribuida entre individuos de diversas edades, Sin embargo estudios realizados por Glynn et al el año 2002, indica que la incidencia aumenta en personas mayores de 10 años y que la prevalencia es mucho mayor en la tercera edad. En este estudio se observó que los grupos comprendidos entre [28-41] y [70-84] presentan infección por *H. pylori*, si bien la distribución de la infección es aleatoria, claramente podemos corroborar los estudios realizados por Glynn et al que indica que la infección es mayor en la tercera edad.

El 78% de los pacientes en estudio eran del área urbano, de los cuales el 47% presento infección por *H. pylori*; el 22% de los pacientes encuestados restantes eran procedentes del área rural, de los cuales el 64% presentaba infección por *H. pylori* (ver tabla 24 y figura 23). La diferencia existente entre pacientes infectados entre el área rural y urbana puede atribuirse a que los pacientes del área rural no cuentan con acceso a condiciones higiénicas adecuadas, la falta de recursos económicos para asistir a centros de salud y elevados índices de contagio durante la infancia. Glynn et al 2002 reporta que la infección en el área rural es mayor que en el área urbana. Alvarez et al el año 1997 reporta también que la infección por *H. pylori* es mayor en el área rural e indica que podría deberse principalmente a las condiciones higiénicas y sanitarias.

El 87% de los pacientes en estudio consumen agua potable, de los cuales el 50% presentaron infección por *H. pylori*; el 10% de los pacientes encuestados consumen agua de pozo, de los cuales el 58% presentaba infección por *H. pylori*; el 3% de los pacientes en estudio consumen aguas superficiales, de los cuales el 67% mostraron infección por *H. pylori* (ver tabla 25 y figura 24); Un estudio seroepidemiológico realizado en la ciudad de Santa Cruz demostró que la infección de niños se debía a que consumían agua de pozo y superficiales (Glynn et al, 2002), si bien la muestra del número de pacientes que consumen agua no potable es pequeña se correlaciona con los hallazgos del mencionado estudio.

El 91% de los pacientes contaba con alcantarillado, de los cuales el 50% presento infección por *H. pylori*, siendo este el grupo de mayor representación; sin embargo en los pacientes que no tenían alcantarillado se observa que aproximadamente el 69% presento infección por *H. pylori*. Diversos estudios reportan que la principal causa de infección es la falta de condiciones mínimas sanitarias.

La correlación entre el diagnostico clínico y el cultivo bacteriológico, muestra que ha excepción del cáncer gástrico existe una frecuencia de infección del 50% en todas las patologías gástricas (gastritis ulcera y otras patologías a nivel gástrico) (tabla 20 y figura 19). Prado et al el año 2001, reporta que en las gastritis el 90% se debió a la infección por

H. pylori, en las úlceras el 81% se debió a *H. pylori*, además se identificó la infección por *H. pylori* en el 65% de los paciente con cáncer gástrico. Sin embargo es fundamental el apoyo del diagnóstico de laboratorio para determinar la infección por *H. pylori*, ya que como se puede observar, en el 50% de los pacientes que presentaron otras patologías diferentes a las que habitualmente se atribuye a *H. pylori*, existía la infección por este microorganismo, sin el apoyo de laboratorio estos pacientes no hubieran recibido el tratamiento adecuado.

8. CONCLUSIONES.

En nuestro estudio describimos la infección por *H. pylori* en nuestro medio y después del análisis de los resultados obtenidos podemos concluir que:

1. A la conclusión del presente estudio podemos indicar que, actualmente el Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA cuenta con un manual de procedimientos estandarizado para el aislamiento e identificación de *H. pylori* a partir de biopsias gástricas.
2. El análisis estadístico para la determinación de la sensibilidad de la prueba de la urea que actualmente utilizan los nosocomios considerados para este estudio reporta que es del 83% con un intervalo de confianza entre el 73% y 93%; la especificidad de la prueba de la urea según es del 76,19% con un intervalo de confianza entre 43% y 69%, ambos en relación al cultivo bacteriológico
3. La frecuencia de aislamiento de *H. pylori* de antro pilórico fue del 43% y de fondo gástrico fue del 38%, el aislamiento de antro pilórico y de fondo gástrico fue del 51%, para eliminar verdaderos negativos se debe tomar muestras de ambas zonas.
4. La terapia combinada inhibe el desarrollo de *H. pylori* en el 100% de las muestras de los pacientes que habían iniciado el tratamiento antes de la toma de muestra, en el 37% de las muestras de los pacientes que tomaron inhibidor de la bomba de protones antes del diagnóstico se pudo aislar *H. pylori*, en el 60% de las muestras de los pacientes que tomaron antibióticos se observó desarrollaron colonias de *H. pylori*.
5. La frecuencia de infección por *H. pylori* en los pacientes que acudieron a consultas de gastroenterología en los nosocomios en estudio es del 51%, medida mediante el cultivo bacteriológico.
6. La edad, sexo, procedencia, consumo de agua, eliminación de excretas y antecedentes familiares son factores que se involucran indirectamente en la infección por *H. pylori*, en la tercera edad se presenta mayor frecuencia de infección; se presenta con mayor

frecuencia en el sexo femenino; se identificó mayor infección en pacientes que procedían de poblaciones rurales; los pacientes que consumían agua no potable eran las que tenían mayor infección por *H. pylori*; existe mayor probabilidad de infección por *H. pylori* en aquellas personas que tienen familiares con antecedentes de enfermedad gástrica.

9. BIBLIOGRAFIA.

ÁLVAREZ, Teresa. Estudio multicentrico sobre la incidencia de la infección por *Helicobacter pylori* en La Paz-Bolivia. correlación de los diagnosticos endoscopico, bacterilógico, histológico y serológico. *Tesis de Grado*, 1997.

ANSORG, G.; VON, Recklinghausen; POMARIUS, R. y SCHMID, E. N. Evaluation of Techniques for Isolation, Subcultivation, and Preservation of *Helicobacter pylori* *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 1991, p. 51-53.

BALDIVIESO, Sonia. *Helicobacter pylori*; Cultivo y pruebas de Sensibilidad de Cepas Aisladas en el Instituto Gastroenterologico Boliviano Japones. *Tesina de Grado*, 1998.

BAYERDÖRFFER, E. Neubauer A, Rudolph B, Thiede C, Lehn N, Eidt S et al. Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of *Helicobacter pylori* infection. *Lancet*, 1995.

BLASER MJ. Gastric *Campylobacter*-like organisms, gastritis and peptic ulcer. *Gastroenterology*, 1987.

BRIBIESCA, Luis. Las estrategias del *Helicobacter pylori*. *Rev. Acta Médica grupo Angeles*. 2004, p. 49-50.

CAVE, DR. Epidemiology and Transmission of *Helicobacter pylori* Infection. How Is *Helicobacter pylori* Transmitted?. *Gastroenterology*, 1997, vol. 113, p. 9 - 14.

CENSINI, S.; LANGE, C.; XIANG, ZY.; CRABTREE, JE.; GHIARA, P.; BORODOVSKY, M. et al. Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci* 1996.

CORREA, P. Chronic gastritis: a clinico-pathological classification. *Am J Gastroenterol* 1988.

COYLE, Marie B. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiano. Departments of Laboratory Medicine and Microbiology, *University of Washington Seattle, Washington 98195*. (CDC) en Atlanta, Georgia, U.S.A. ed 2002.

CRABTREE JE, COVACCI A, FARMERY SM, XIANG Z, Tompkins DS, Perry S et al. *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expresion in gastric epithelial cells is associated with *cagA* positive phenotype. *J Clin Pathol*, 1995.

EATON, KA.; SUERBAUM, S.; JOSENHANS, C. y KRAKOWKA, S. Colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori* deficient in two flagellin genes. *Infect Immun*, 1996.

EL-OMAR, E.; PENMAN, I.; DORRIAN, CA.; ARDILL, JES. y McCOLL, KEL. Erradicating *Helicobacter pylori* infection lowers gastrin mediated acid secretion by two-thirds in patients with duodenal ulcer. *Gut*, 1993.

EVERHART, JE.; KRUSZON-MORAN, D.; PEREZ-PEREZ, GI.; TRALKA, TS. McQUILLAN, G. Seroprevalence and Ethnic Differences in *Helicobacter pylori* Infection among Adults in the Unites States. *J Infect Dis*. 2000. vol. 181, p. 1359-1363.

GALARZA, Lourdes. Estudio del *Helicobacter pylori* en biopsias gastricas. *Tesis de Grado*, 1992.

GLYNN, Kathleen; FRIEDMAN, Cindy; GOLD, Benjamin; KHANNA, Bhawna; HUTWAGNER, Lori; IIHOSHI, Naomi ; REVOLLO, Carmen y QUICK, Robert. Seroincidence of *Helicobacter pylori* Infection in a Cohort of Rural Bolivian Children: Acquisition and Analysis of Possible Risk Factors. Division of HIV/AIDS Prevention, National Center for HIV, STD, and TB Prevention; *National Center for Tropical Diseases, Santa Cruz, and Community and Child Health Project*, La Paz-Bolivia. 2002.



GONZÁLEZ, José; LEAL, Lucía; GUZMÁN, Santos; GUZMÁN, Guillermo y GONZÁLEZ, Norma. *Helicobacter pylori* y enfermedad. .*Revista Alergia México*, 2004.

GOODWIN, CS.; ARMSTRONG, JA.; CHILVERS, T.; PETERS, M.; COLLIND, MD.; SLY, L. et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nova. As *Helicobacter pylori* comb. nova. and *Helicobacter mustelae* comb. nova., respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989.

GOODWIN, CS.; ARMSTRONG, JA.; CHILVERS, T. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. And *Helicobacter mustelae* comb. nov. respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989.

GUTIÉRREZ, Beatriz; VIDAL1, Teresita; VALMAÑA, Carlos; SANTIESTEBAN, Nancy; GONZÁLEZ, Nery; LEONARD, Ibrahim; RUIZ, Julián; DÍAZ, Osvaldo; MARTÍNEZ, Rolando; ESCOBAR, María del Pilar; GRÁ, Bienvenido; GALBÁN, Enrique; GONZÁLEZ, Miguel ; Sierra, Gustavo. Primer informe sobre el aislamiento de *Helicobacter pylori* asociado a enfermedades digestivas en Ciudad de La Habana. *VacciMonitor*, Enero-marzo 2001, vol. 10, no. 1.

HARRIS, PR; MOBLEY, HL.; PÉREZ, GI.; BLASER, MJ. y SMITH, PD. *Helicobacter pylori* urease is a potent stimulus of mononuclear phagocyte activation and inflammatory cytokine production. *Gastroenterology*, 1996.

HERNANDEZ, Manuel. *Helicobacter pylori*. La bacteria que mas infecta al ser humano. *Rev. Cubana Nut Aliment*, 2001, vol. 15, no. 1, p. 42-54.

IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to humans, Vol. 61. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. *International Agency for Research on Cancer*, Lyon 1994.



IWAHI, T. ; SATOH, H. ; NAKAO, M. ; IWASAKI, T. ; YAMAZAKI, T. ; KUBO, K. et al. Lansoprazole, a novel benzimidazole proton pump inhibitor, and its related compounds have selective activity against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1991.

KIST, M.; SPIEGELHALDER, C.; MORIKI, T. y SCHAEFER, HE. Interaction of *Helicobacter pylori* (strain 151) and *Campylobacter coli* with human peripheral polymorphonuclear granulocytes. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis*, 1993

KONEMAN, Elmer. Diagnostico Microbiológico. ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.

LEYING, H.; SUERBAUM, S.; GEIS, G. y HAAS, R. Cloning and genetic characterization of a *Helicobacter pylori* flagellin gene. *Mol Microbiol* 1992.

LINGWOOD, CA. *Helicobacter pylori*: receptors and adhesins. En: Goodwin CS, Worsley BW. *Helicobacter pylori* : biology and clinical practice. CRC Press. Boca Raton, Fla, 1993.

LOGAN, RP.; WALKER, MM.; MISIEWICZ, JJ.; GUMMETT, PA.; KARIM, QN. y BARON, JH. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole, *Gut*, 1996.

MAJALCA, Cristina. TRANSPORTE, AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y CONSERVACION DE CEPAS DE *Helicobacter pylori*. *BIOQUIMIA*. 2001, Vol. 4 , p. 104-108.

MINNIS, JA; TAYLOR, TE.; KNESEK, JE.; PETERSON, WL. y McINTIRE, SA. Characterization of a 3.5-kbp plasmid from *Helicobacter pylori*. *Plasmid* 1995.

MORAN, A. The role of lipopolysaccharide in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* , 1996.

OTTLECHZ, A.; ROMERO, JJ.; HAZELL, SL.; GRAHAM, DY. y LICHTENBERGER, LM. Phospholipase activity of *Helicobacter pylori* and its inhibition by bismuth salts. *Dis Sci*, 1993.

PEREZ, G.; DWORKIN, B. y BLAZER, M. *Campylobacter pylori* Antibodies in Humans. *Ann Intern Med.*, 1988, vol. 109, p. 11-17.

PUEYO, A.M.; HUARTE, M.P. y JIMÉNEZ, C. Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*. *Suplemento 2 Navarra España*, 2003, vol. 21.

RAMÍREZ, Alberto; CHINGA, Erick; MENDOZA, Daniel; LEEY, Julio; SEGOVIA, María Cristina y OTOYA César. Variación de la prevalencia del *Helicobacter pylori* en el Perú Período (1985-2002), en una población de nivel socioeconómico medio y alto. *Revista Gastroenterológica de Perú*, 2003, vol. 23, p. 92-98.

RAUTELIN, H.; BLOMBERG, B.; FREDLUND, H.; JÄRNEROT, G. y DANIELSON D. Incidence of *Helicobacter pylori* strains activating neutrophils in patients with peptic ulcer disease. *Gut* 1993.

SÁINZ, R.; MEARÍN, F.; PIQUÉ, JM.; SAPERAS, E.; LANAS, A. y BORDA, F. Enfermedades del estómago y del duodeno. En: Farreras P, Rozman C. *Medicina Interna. Harcourt. Madrid*, 2000.

SANCHEZ, F.; GONZÁLEZ, R. Integrinas y otras moléculas de adhesión. En: Farreras P, Rozman. *Consenso de Medicina Interna. Harcourt. Madrid* 2000.

SHARMA, SA. ; TUMMURU, MK. ; MILLER, GG. y BLASER MJ. Interleukin-8 reponse of gastric epithelial cell lines to *Helicobacter pylori* stimulation *in vitro*. *Infect Immun*, 1995.

SOBHANI, I. ; BADO, A. ; CHERIFI, Y. ; MOIZO, L. ; LAIGNEAU, JP. ; POSPAI, D. et al. *Helicobacter pylori* stimulates gastric acid secretion via platelet activating factor. *J Physiol Pharmacol*, 1996.

SPIEGELHALDER, C.; GERSTENECKER, A.; KERSTEN, E.; SCHILTZ, E. y KIST, M. Purification of *Helicobacter pylori* superoxide dismutase and cloning and sequencing of the gene. *Infect Immun*, 1993.

SUERBAUM, S.; THILBERGE, J.; KANSAU, I.; FERRERO, R. y LABIGNE, A. *Helicobacter pylori hspA* heat-shock gene cluster: nucleotide sequence, expression, putative function and immunogenicity. *Mol Microbiol*, 1994.

TOMB, JF.; WHITE, O.; KERLAVAGE, AR.; CLAYTON, RA.; SUTTON, GG.; FLEISCHMANN, RD. et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 1997.

TORRES, J.; LEAL, Y.; PEREZ, G.; GOMEZ, A.; CAMORLINGA, M.; CEDILLO, R.; TAPIA, R. y MUÑOZ, O. A Community-Based Seroepidemiologic Study of *Helicobacter pylori* Infection in Mexico. *J Infect Dis*. 1998, vol. 178, p. 1089-1094.

VALLEJOS, Cristian. Resistencia Antimicrobiana en *Helicobacter pylori*: Aspectos Clínicos y Moleculares. *Rev Méd Chile*, 2003, vol. 131, p. 1313-1320.

VANDAMME, P.; FALSÉN, E.; ROSSAU, R.; HOSTE, B.; SEGERS, P.; TYTGAT, R. et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bact* 1991.

VEGA, Alba; CORTINAS, Teresa; MATTANA, Claudia; SILVA, Humberto y PUIG, Olga. Growth of *Helicobacter pylori* in Medium Supplemented with Cyanobacterial Extract. *Journal of Clinical Microbiology*, Dec. 2003.



WILSON, KT.; RAMANUJAM, KS.; MOBLEY, HLT.; MUSSELMAN, RF.; JAMES, SP. y MELTZER, SJ. *Helicobacter pylori* stimulates inducible nitric oxide synthase expression and activity in a murine macrophage cell line. *Gastroenterology* 1996.

ZAMUDIO, María; HUGUET, José; SUÁREZ, Víctor ; MORÓN, Cecilia; VARGAS, G; SORIANO, Cesar; FRISANCHO, Oscar y BUSSALLEU, Alejandro. Estandarización de la reacción en cadena de la polimerasa para la tipificación de *Helicobacter pylori*. *Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. Hospital Arzobispo Loayza – MINSA, Lima, Perú. Hospital Nacional E. Rebagliati, 2002.*

Anexo 1.

AGAR BASE COLUMBIA CON SANGRE DESFIBRINADA DE CARNERO Y SUPLEMENTO

Medio de propósito general para el cultivo de una gran variedad de microorganismos, incluyendo los exigentes. Al añadir sangre se puede observar las reacciones hemolíticas.

Formula	g/litro
Peptona especial	23.0
Extracto nutritivo	1.0
Cloruro de Sódio	5.0
Agar	10.0
pH 7.3 ± 0.2	

Preparación.

Suspender 39 gramos de agar base columbia en 1 litro de agua destilada estéril, hervir tres veces hasta la disolución completa, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Enfriar hasta 50°C, añadir 7% de sangre desfibrinada estéril de carnero a temperatura ambiente, mezclar y añadir el suplemento DENT.

Suplemento selectivo (DENT)

Cada vial (para 500 ml de medio de cultivo)*	por vial	por litro
Vancomicina	5.0 mg	10.0 mg
Trimetoprim	2.5 mg	5.0 mg
Cefsulodin	2.5 mg	5.0 mg
Anfotericina B	2.5 mg	5.0 mg

*Disolver con 5 ml de Agua destilada estéril

Descripción.

Helicobacter pylori esta asociada a con las enfermedades gástricas, así las mas conocidas son la gastritis no erosiva y la ulcera péptica.

El suplemento selectivo DENT de *Helicobacter pylori* es utilizado para el aislamiento de *Helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas. Es un medio modificado de Skirrow, el mismo que contenía polimixina B en este es remplazado por cefsulodina y anfotericina B para inhibir el desarrollo de especies de candida.

Las cajas petrie inoculadas con las muestras se incuban de 3 a 7 días, a temperatura de 35°C a 37°C en condiciones microaerofílicas (5% O₂, 10% de CO₂ y 85% de N₂).

Almacenamiento del Medio.

El medio deshidratado puede almacenarse de 10-30°C hasta antes de la fecha de vencimiento.

El medio preparado debe almacenarse de 2-8°C, máximo durante tres semanas.

Control de Calidad.

Control positivo	Resultados esperados
<i>Helicobacter pylori</i> ATCC® 43526	Excelente desarrollo, colonias translúcidas, brillantes y pequeñas.
Control negativo	Resultados esperados
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	Inhibe su desarrollo

Referencias.

1. Buck G. E. (1988) *Laboratory Management*, 26, No.9.
2. Dent J. C. and McNulty C. A. M. (1988) *Eur. J. Clin. Microbiol. Infec. Dis.* 7.

Anexo 2.

INCUBACION



Se incubo en la ESTUFA codificada EST-SR3 de la Unidad de Investigación del Laboratorio Nacional de Referencia en Bacteriología Clínica del INLASA.

Los sobres generadores de la microaerofilia fueron de la marca Oxoid (Campy Gen CN25, que genera 5% O₂, 10% de CO₂ y 85% de N₂).

Anexo 3.

OBSERVACION MACROSCOPICA DE LAS COLONIAS DE *Helicobacter pylori*



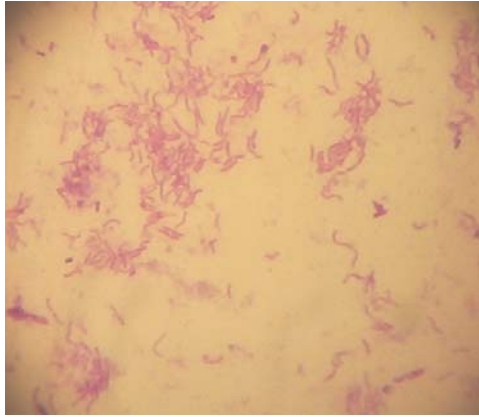
Colonias de un cultivo puro de *Helicobacter pylori*

Características.

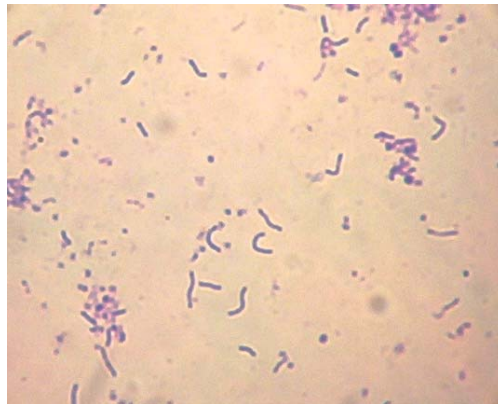
Las colonias son pequeñas, translúcidas, brillantes y convexas desarrollan en tres días después del aislamiento primario.

Anexo 4.

OBSERVACION MICROSCOPICA DE *Helicobacter pylori*



Tinción gram de *Helicobacter pylori*



Tinción cristal violeta de *Helicobacter pylori*

Características.

Son bacterias gram negativas de morfología espirilar, en forma de U, S, helicoidal y también se puede observar formas cocoides que es su estado de resistencia o inviable *in vitro*.

ANEXO 5.

**INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIO DE SALUD
LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA EN BACTRIOLOGIA CLINICA**

IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*

Nombre: Prueba de la Ureasa	Numero: Hojas # 2
Elaborado:	Código:
Firma:	Fecha de Elaboración:
Revisado:	Fecha de Revisión y Aprobación:

FUNDAMENTO:

La enzima ureasa es producida por *H. pylori*. La ureasa desdobla el carbón y el nitrógeno unido a una diamida para formar dióxido de carbono y amonio. Cuando la urea es desdoblada, el amonio se libera y el pH se detecta por el rojo fenol como indicador de la variación del pH, esta variación se observa en el cambio del color que a partir de amarillo por la actividad de la ureasa sobre la urea se torna de color fucsia, que significa la degradación enzimática de la urea del medio.

MATERIAL:

1. Agar urea de christensen
2. Ansa de platino
3. Estufa de 35°C

CONTROL DE CALIDAD:

Con cada Nuevo lote de medio se deben correrse microorganismos de reacción positiva y negativa. Se sugiere los siguientes microorganismos:



- A. Control Positivo: Especies de *Proteus*
- B. Control Positivo débil: Especies de *Klebsiella*
- C. Control Negativo: *Escherichia coli*

PROCEDIMIENTO:

En medio de agar urea en pico de flauta se siembra con una aguja de cultivo puro del microorganismo en estudio, sobre la superficie realizando estrías y por picado del agar, posteriormente incubar a 35° de temperatura.

RESULTADOS:

A. Interpretación.

Los microorganismos que hidrolizan la urea, producen rápidamente reacciones positivas dentro de 1 a dos horas de incubación, las especies menos activas pueden requerir 3 días o más. Las reacciones son las siguientes:

1. Degradados de rápidos de la urea: (especies de *Proteus* y *Helicobacter*)
Color Rojo en todo el medio.
2. Degradadores lentos de la urea: (especies de *Klebsiella*) Inicialmente rojo solamente en el pico de flauta, que gradualmente se extiende a todo el tubo.
3. Ausencia de hidrólisis de la urea: El medio permanece con el color amarillo original.

BIBLIOGRAFIA:

Koneman, Elmer. "Diagnostico Microbiológico" ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.

Anexo 6.

INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIO DE SALUD LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA EN BACTRIOLOGIA CLINICA

IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*

Nombre: Caldo urea de stuart	Numero: Hojas # 2
Elaborado:	Código:
Firma:	Fecha de Elaboración:
Revisado:	Fecha de Revisión y Aprobación:

FUNDAMENTO:

La enzima ureasa es producida por *H. pylori*. La ureasa desdobla el carbón y el nitrógeno unido a una diamida para formar dióxido de carbono y amonio. Cuando la urea es desdoblada, el amonio se libera y el pH se detecta por el rojo fenol como indicador de la variación del pH, esta variación se observa en el cambio del color que a partir de amarillo por la actividad de la ureasa sobre la urea se torna de color fucsia, que significa la degradación enzimática de la urea del medio.

MATERIAL:

4. Caldo Urea de STUART
5. Biopsia clínica
6. Estufa de 35°C

CONTROL DE CALIDAD:

Con cada nuevo lote de medio deben correrse microorganismos de reacción positiva y negativa. Se sugiere los siguientes microorganismos:



- D. Control Positivo: Especies de *Proteus*
- E. Control Positivo débil: Especies de *Klebsiella*
- F. Control Negativo: *Escherichia coli*

PROCEDIMIENTO:

En medio de agar urea en pico de flauta se siembra con una aguja de cultivo puro del microorganismo en estudio, sobre la superficie realizando estrías y por picado del agar, posteriormente incubar a 35° de temperatura.

RESULTADOS:

B. Interpretación.

Los microorganismos que hidrolizan la urea, producen rápidamente reacciones positivas dentro de 1 a dos horas de incubación, las especies menos activas pueden requerir 3 días o más. Las reacciones son las siguientes:

1. Degradados de rápidos de la urea: (especies de *Proteus* y *Helicobacter*)
Color Rojo en todo el medio.
2. Degradadores lentos de la urea: (especies de *Klebsiella*) Inicialmente rojo solamente en el pico de flauta, que gradualmente se extiende a todo el tubo.
3. Ausencia de hidrólisis de la urea: El medio permanece con el color amarillo original.

BIBLIOGRAFIA:

Koneman, Elmer. "Diagnostico Microbiológico" ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.

ANEXO 7.

**INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIO DE SALUD
LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA EN BACTRIOLOGIA CLINICA**

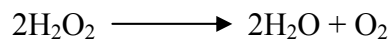
IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*

Nombre: Prueba de la Catalasa	Numero: Hojas # 2
Elaborado:	Código:
Firma:	Fecha de Elaboración:
Revisado:	Fecha de Revisión y Aprobación:

FUNDAMENTO:

La catalasa es un enzima producida por *H. pylori*. desdobra el peroxido de hidrogeno (H₂O₂) en agua y oxigeno (H₂O y O₂). Es una hemoproteína de estructura similar a la hemoglobina, excepto por que los cuatro átomos de hierro de su molécula están en estado oxidado (Fe⁺³), en lugar del estado reducido (Fe⁺²). Excepto los estreptococos la mayor parte de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen actividad catalasa.

El peroxido de hidrogeno se forma como uno de los productos finales de oxidación del metabolismo aerobio de los hidratos de carbono. Si se permite que se acumule, resulta letal para las células bacterianas. La catalasa convierte el peroxido de hidrogeno en agua y oxigeno según la siguiente reacción:



MATERIAL:

1. Peroxido de hidrogeno al 3% almacenado en botella color ámbar
2. Cultivo reciente de *Helicobacter pylori* a probar.

CONTROL DE CALIDAD:

El reactivo de peróxido de hidrógeno se debe probar con microorganismos control negativo y positivo, todos los días o inmediatamente antes de probar las colonias sospechosas desconocidas.

- A. Control Positivo: *Staphylococcus aureus*
- B. Control Negativo: especies de *Streptococcus*

PROCEDIMIENTO:

Con una aguja o ansa de platino, transferir colonias de cultivo puro del microorganismo en estudio sobre la superficie de un portaobjetos limpio y estéril. Agregar una gota de peróxido de hidrógeno.

RESULTADOS:

- A. Interpretación.
 - 4. La aparición rápida y sostenida de burbujas o efervescencia constituye una reacción positiva, debido a que algunas bacterias poseen enzimas distintas e la catalasa que pueden descomponer el peróxido de hidrógeno, la formación de pequeñas burbujas después de 20 a 30 segundos no se considera un resultado positivo. Se debe tener mucho cuidado cuando se trabaja con medios de cultivo que posean sangre.

BIBLIOGRAFIA:

Koneman, Elmer. "Diagnostico Microbiológico" ED Panamericana, 5ed, Madrid España. 2001.

ANEXO 8.

**INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIO DE SALUD
LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA EN BACTRIOLOGIA CLINICA**

IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori*

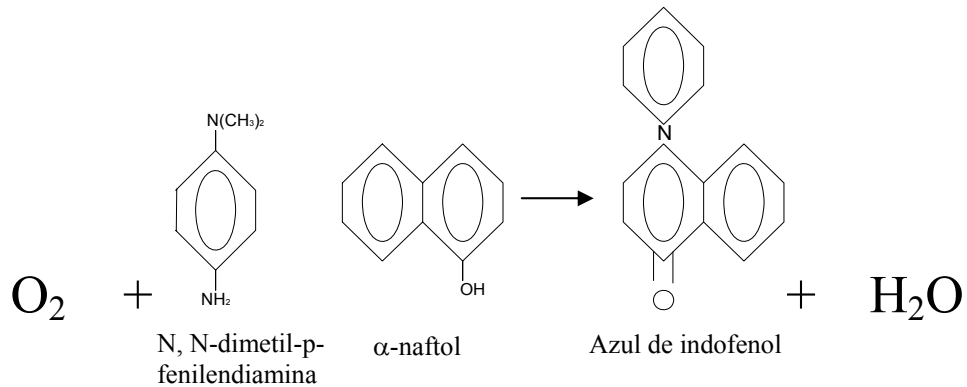
Nombre: Prueba de la Citocromo Oxidasa	Numero: Hojas # 3
Elaborado:	Código:
Firma:	Fecha de Elaboración:
Revisado:	Fecha de Revisión y Aprobación:

FUNDAMENTO:

Los citocromos son hemoproteínas que contienen hierro y actúan como último eslabón de la cadena respiratoria aerobia; transfieren electrones (hidrógeno) al oxígeno, con la formación de agua. El sistema citocromo se encuentra en microorganismo aerobios o microaerofílicos y anaerobios facultativos, de tal forma que la prueba de la oxidasa es importante para identificar microorganismos que carecen de la enzima o son anaerobios estrictos. La prueba tiene su utilidad para diferenciar colonias sospechosas de pertenecer a alguna de las *Enterobacteriaceae* (todas negativas) y para identificar las colonias sospechosas de pertenecer a otros géneros como *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Campylobacter*, *Helicobacter* y *Pasteurella* (positivas)

La prueba de citocromo oxidasa utiliza ciertos colorantes como el que sustituye al oxígeno como aceptor artificial de electrones. En estado reducido el colorante es incoloro; sin embargo, en presencia de citocromo oxidasa y oxígeno atmosférico la p-fenildiamina se oxida y forma azul de indofenol.

MECANISMO DE REACCIÓN DE CITOCROMO OXIDASA



MATERIAL:

1. Disco de Oxidasa (Difco laboratories).
2. Colonias bacterianas en estudio.
3. Aplicador de madera o plástico.

CONTROL DE CALIDAD:

Deben probarse microorganismos de reacción positiva y negativa. Se sugiere los siguientes microorganismos:

- A. Control Positivo: *Pseudomona aeruginosa* B. Control Negativo: *Escherichia coli*

PROCEDIMIENTO:

Sobre la superficie de un portaobjetos colocar el disco de oxidasa, sobre este añadir colonias del cultivo fresco en estudio y finalmente añadir agua cantidad suficiente que no inunde el disco solamente que se empape.

RESULTADOS:

- A. Interpretación.

Las colonias bacterianas que poseen actividad de citocromo oxidasa desarrollan un color azul oscuro en el sitio de inoculación en el término de 10 segundos, cualquier microorganismo que produzca color azul después de este tiempo, debe ser evaluado nuevamente.

BIBLIOGRAFIA:

Koneman, Elmer. “Diagnostico Microbiológico” ED Panamericana, 5ed, Madrid España.
2001.

Anexo 9.

PRUEBA DEL *Pronto Dry*



Es un producto de Medical Instruments Corporation

Las ventajas del *Pronto Dry*.

Es una técnica que reacciona en 5 minutos.

El color que se torna va desde amarillo hasta rojo.

No necesita refrigeración.

La prueba es estable a 0°C

No se tiene problemas con la temperatura de transporte

Instrucciones de Uso

Despegue el adhesivo que esta en la parte trasera

Introduzca 2 muestras de biopsias gástricas sobre el disco.

Cubra con el adhesivo anteriormente despegado.

Espera 5 minutos, para la reacción, en caso de no evidenciar respuesta positiva, espera hasta una hora para reportar negativo.

Anexo 10.

**ENCUESTA
FICHA CLINICA**

Nº de la muestra:

Fecha de recolección de la muestra:.....

Nombre completo:.....

Diagnostico clinico:.....

Edad:..... **Sexo:**.....

Escolaridad: sin básica media universitaria

Procedencia: rural urbana

Saneamiento:

Consumo de agua: potable pozo o noria superficial

Eliminación de excretas: fosa séptica alcantarillado campo abierto
letrina

Antecedentes del paciente:

¿Recibe algún tratamiento para su enfermedad?

SI NO Cual.....

Antecedentes familiares: a alguien del grupo que compone su hogar, se le ha diagnosticado en los últimos 6 meses ulcera péptica o cáncer gástrico:

Ulceras: SI NO Gastritis: SI NO

Cáncer gástrico: SI NO

