

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**COMPARACIÓN DE DOS INMUNOENSAYOS PARA
LA DETECCIÓN DE *Helicobacter pylori*
EN SUERO Y EN HECES**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR:

JAVIER RICARDO DEL VALLE VILLAGRAN

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICO BIÓLOGO**

GUATEMALA, ABRIL DEL 2002

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
T(601)

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANA LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA

SECRETARIO LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA

VOCAL I DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO

VOCAL II DR. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA

VOCAL III DR. FEDERICO ADOLFO RICHTER MARTINEZ

VOCAL IV BR. JORGE JOSE GARCIA POLO

VOCAL V BR. LISA LEONOR CARRANZA JUI

ACTO QUE DEDICO

A Dios

A Mis Padres

Horacio del Valle
Silvia Villagrán

A Mis Hermanas

Sofía y Vianey

A Mis Abuelos

Lizardo del Valle (QEPD)
Adela León
Mery Celada (QEPD)
Gustavo Villagrán (QEPD)

A Mi Familia

A Mis Amigos

A Personal Docente y Administrativo
Facultad Ciencias Químicas y Farmacia
En Especial

Licda. Heidi Logemann
Sheny

A Mi Esposa, Con Todo Mi Amor

Kathy

INDICE

	Página
1. Resumen	01
2. Introducción	02
3. Antecedentes	
3.1 Historia	05
3.2 Generalidades	05
3.3 Factores de Virulencia	05
3.4 Epidemiología	07
3.5 <i>Helicobacter pylori</i> y Enfermedades Asociadas	08
3.5.1 Gastritis Crónica	09
3.5.2 Úlcera Gástrica	10
3.5.3 Úlcera Duodenal	10
3.5.4 Cáncer Gástrico	10
3.6 Diagnóstico de <i>Helicobacter pylori</i>	12
3.6.1 Técnicas Directas o Invasivas	12
3.6.2 Técnicas Indirectas o No Invasivas	15
3.7 Tratamiento	16
4. Justificación	18
5. Objetivos	19
6. Hipótesis	20
7. Materiales y Métodos	21
8. Resultados	25
9. Discusión de Resultados	26
10. Conclusiones	27
11. Recomendaciones	28
12. Bibliografía	29
13. Anexos	40

1. RESUMEN

La infección por *Helicobacter pylori* está presente en el 50 % de la población mundial y en su fase crónica, puede ser causa de estados graves de salud e incluso de muerte a causa del desarrollo de cáncer gástrico, el cual en nuestro país ocupa uno de los primeros lugares en la lista de cánceres más comunes. Es por estas razones que el diagnóstico certero y a tiempo de esta infección, es de suma importancia para el tratamiento de la misma, así como de las enfermedades asociadas a ella.

Los métodos de diagnóstico de infección por *H. pylori* se pueden dividir en dos grupos según la forma de obtención de la muestra: invasivos y no invasivos. Los métodos invasivos son aquellos en los cuales se debe obtener una muestra de tejido gástrico por medio de cirugía endoscópica; dentro de este grupo se encuentran la prueba rápida de la ureasa, distintos tipos de tinciones de frotos y tejido, cultivo y la amplificación de ADN de la bacteria por medio de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa. Los métodos no invasivos son aquellos que utilizan muestras que pueden ser obtenidas sin necesidad de recurrir a un procedimiento quirúrgico; entre este grupo de métodos se incluyen las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*H. pylori*, la prueba de exhalación de urea marcada (PEU) y recientemente el inmunoensayo para detección de antígeno de *H. pylori* en muestras de heces. Esta última es una herramienta ideal, ya que a diferencia de la PEU no necesita de equipo especial para su realización y su costo es mucho menor, además de contar con sensibilidad y especificidad comparables a los métodos invasivos.

En Guatemala, se ha generalizado el uso de inmunoensayos para la detección de anticuerpos IgG en muestras de suero para el diagnóstico de infección activa por *H. pylori*. Por esa razón se realizó este estudio, en donde se compararon los resultados obtenidos con la prueba serológica con los resultados obtenidos con la prueba para detección de antígeno de *H. pylori* en heces, que fue utilizada en este caso como estándar de oro, con el fin de establecer el valor predictivo positivo de infección activa de los tests serológicos.

El estudio se llevó a cabo durante los meses de junio a septiembre, se recolectaron 80 muestras de suero y de heces de pacientes que asistieron a un laboratorio privado y cada una de estas muestras fue analizada con ambos métodos y los resultados fueron analizados por medio de una tabla de dos por dos. De este análisis estadístico se obtuvo un valor predictivo positivo de 52.3 %, en base al cual se concluyó

que la prueba serológica para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* no es de utilidad en el diagnóstico de infección activa por *H. pylori*.

2. INTRODUCCION

Helicobacter pylori es un bacilo gram negativo, microaerofílico, de forma espiral y de gran movilidad, que infecta la mucosa gástrica en más del 50% de la población mundial. La infección por esta bacteria es adquirida durante la infancia y si no es tratada persiste crónicamente causando gastritis, úlcera péptica e incluso cáncer gástrico (1).

Actualmente hay disponibles varios métodos para la detección de *H. pylori*, entre los cuales encontramos aquellos que necesitan de endoscopia (ureasa, cultivo, etc.) y los que no son invasivos como la prueba de exhalación de urea marcada con carbono 13 (PEU) y los diferentes tipos de inmunoensayos para la detección de esta bacteria en muestras de suero y heces (2). La prueba de exhalación de urea marcada con carbono 13 es la más utilizada para el diagnóstico de infección activa y seguimiento de pacientes después del tratamiento; sin embargo es costosa y requiere de equipo especializado (3). Los inmunoensayos serológicos para la detección de anticuerpos IgG han sido ampliamente utilizados para el tamizaje de pacientes infectados con *H. pylori*, tienen buena sensibilidad, son rápidos y de bajo costo; sin embargo no se recomienda su uso en pacientes después de tratamiento ya que los anticuerpos siguen presentes aunque éste haya sido exitoso, además de que una prueba positiva por sí sola no puede establecer un diagnóstico de infección activa (4-6). El inmunoensayo para la detección de antígeno de *H. pylori* en heces es una opción reciente que no es tan costosa como la PEU, no necesita de intervención quirúrgica y a diferencia de los ensayos serológicos, sí puede utilizarse para el diagnóstico de infección activa y seguimiento de pacientes en tratamiento (7,8).

A pesar de que en Guatemala se encuentra disponible la mayoría de estos métodos, se ha generalizado el uso de test serológicos, por lo que es necesario establecer su valor predictivo positivo de infección activa y su utilidad diagnóstica real.

En este estudio se recolectaron 80 muestras de heces y de suero de pacientes que asistieron a un laboratorio privado, presentando alguna sintomatología característica de la infección por *H. pylori* y sin ningún tratamiento antibiótico. Las muestras de heces fueron analizadas de inmediato con un ensayo ELISA para la detección de antígeno de *H. pylori*. Las muestras de suero fueron congeladas a -20°C hasta que se analizaron con un ensayo ELISA para la detección de anticuerpos IgG

anti *H. pylori*. Los resultados obtenidos fueron analizados con una tabla de dos por dos para obtener el valor predictivo positivo del ensayo serológico en la infección activa por *H. pylori*.

3. ANTECEDENTES

3.1 Historia:

Desde principios del siglo pasado se sabe del hallazgo de bacterias espirales en biopsias de pacientes con cáncer gástrico y úlceras duodenales, así como también en pacientes con gastritis antral, sin embargo, la idea de que estas patologías pudieran ser causadas por un agente infeccioso no fue aceptada. En 1,975 se hizo un estudio en el que se observó que una bacteria Gram negativo se encontraba en el 80 % de pacientes con úlcera gástrica, sin embargo, no se logró la identificación de la misma, por lo que asumieron que eran contaminantes endoscópicos (9).

En 1,982 los australianos Barry Marshall y Robin Warren notaron la similitud de estos microorganismos con el género *Campylobacter* (10). A partir de 1,983 se reportó por diferentes autores la frecuente asociación entre gastritis antral y la presencia de estas bacterias. En 1,985 dichas bacterias fueron nombradas *Campylobacter pylori*, hasta que en 1,989, después de establecer una serie de diferencias bioquímicas y ultraestructurales, se concluyó que *C. pylori* debía ser clasificado como un género nuevo, por lo que a partir de ese año con base en esas diferencias se acordó internacionalmente la creación del género *Helicobacter*, en el cual se incluían las especies *Helicobacter pylori*, *H. mustelae* y *H. felis* (11-13).

3.2 Generalidades:

H. pylori es un bacilo gram negativo, microaerofílico de forma espiral que mide de 2.5 a 3.5 um. de largo y 0.5 a 1.0 um. de diámetro. Su superficie es lisa sus extremos redondeados, en uno de estos extremos posee de 1 a 6 flagelos, los cuales le brindan una gran movilidad, gracias a la cual puede ubicarse dentro de la capa de moco que recubre las células epiteliales de las mucosas gástrica y duodenal y migrar hacia el interior de la mucosa y colonizar al hospedero, situándose entre las uniones intercelulares (1,14).

3.3 Factores de Virulencia:

El éxito de la infección en la mucosa gástrica y la persistencia de *H. pylori* dentro del sistema gastrointestinal del hombre, implica que esta bacteria posee propiedades que le permiten sobrevivir dentro del estómago, multiplicarse y colonizar la mucosa gástrica (15). Dos de estas propiedades son: su gran movilidad y la síntesis en su superficie de la enzima ureasa (16).

La ureasa que produce hidroliza la urea presente y libera amoníaco, manteniendo así, un pH casi neutro a su alrededor, para evadir las propiedades bactericidas del ácido clorhídrico. Su importancia como factor de virulencia es tal que las bacterias manipuladas genéticamente para que no produzcan dicha enzima, pierden por completo la capacidad de colonizar la mucosa gástrica; dicha enzima, además, tiene un efecto citotóxico directo sobre la mucosa. Las altas concentraciones de amonio sobre la mucosa gástrica tienen, a su vez, dos efectos nocivos de gran importancia. En primer lugar, la acumulación de este compuesto favorece la retrodifusión de iones hidrógeno hacia el epitelio y, por otra parte, lesiona la integridad de la capa de moco (16,17).

H. pylori es una bacteria que coloniza el estómago y es capaz de dañarlo, ya sea a través de la producción de sustancias como enzimas y citotoxinas, evitando la fagocitosis, o bien, desencadenando una serie de eventos inmunológicos, los cuales tienen como finalidad destruir a la bacteria; sin embargo, este objetivo no se logra realmente y lo único que ocasiona esta respuesta inmune es incrementar el daño tisular provocado por el microorganismo (16).

H. pylori produce dos enzimas que se presume le confieren resistencia a la fagocitosis, una de ellas es una catalasa presente en todas las cepas de esta bacteria, sintetizada en grandes cantidades y que se encuentra en el espacio extracelular. La superóxido dismutasa, es la segunda enzima que podría ayudar a la supervivencia permanente de la bacteria en el estómago; presumiblemente ambas enzimas protegen a *H. pylori* de los metabolitos de oxígeno liberados por neutrófilos gástricos (16).

Otras enzimas propias de la bacteria, tales como mucinasa, lipasa y fosfolipasa A, contribuyen a destruir la capa mucosa, en tanto que los tetrapéptidos bacterianos ejercen un importante efecto quimiotáctico sobre eosinófilos y neutrófilos. La posterior activación de estas células, con el subsiguiente incremento en las concentraciones locales de citocinas, contribuye al desarrollo de una excesiva y persistente respuesta inflamatoria que lesiona aún más la mucosa. Luego de entrar en contacto con lipopolisacáridos bacterianos, los neutrófilos liberan sus gránulos citoplasmáticos, que contienen grandes cantidades de mediadores inflamatorios tales como metabolitos del ácido araquidónico, proteasas, radicales libres de oxígeno, fosfolipasas y activadores de plaquetas. Más aún, tanto el microorganismo como sus productos metabólicos inducen la expresión de receptores para diversos mediadores inflamatorios en la membrana celular de los monocitos y estos, al ser estimulados,

liberan grandes cantidades de interleucina 1, factores de crecimiento celular y radicales libres oxidantes. Al mismo tiempo, por la activación de los eosinófilos aparecen otras sustancias mediadoras de la inflamación tales como proteína básica mayor, que también es un agente nocivo para la mucosa gástrica (18-20). Una respuesta humoral generalizada acompaña todo este proceso, la cual se mide por medio del título de anticuerpos séricos. Estos anticuerpos pertenecen a los tipos IgG, IgM o IgA y están dirigidos contra los antígenos más grandes de la bacteria (10,21).

Por otra parte, la bacteria exhibe una gran diversidad genética, de modo que algunas cepas tienen mayor virulencia y capacidad ulcerogénica que otras. Actualmente se ha comprobado que algunas regiones genéticas están directamente implicadas en el desarrollo de las patologías ocasionadas por *H. pylori*. Dichas regiones genéticas se describen a continuación:

- Vac A (Citotoxina de Vacuolización A): induce la vacuolización de las células epiteliales, favoreciendo la formación de úlceras. La combinación de sus alelos S1/M1 está más asociada con toxigenicidad y virulencia (22,23).
- Región Cag A (Gen Asociado a Citotoxina A): Produce altos niveles de infiltración de neutrófilos e inflamación. Asociada generalmente a pacientes con úlcera duodenal y cáncer gástrico (24,25).

3.4 Epidemiología:

Los datos recopilados hasta la fecha, indican que *Helicobacter pylori* tiene una amplia distribución mundial ya que se calcula que el 50 % de la población humana está infectada con esta bacteria (16). Actualmente se sabe que la infección es adquirida durante la infancia y persistirá a lo largo de la vida, contribuyendo al desarrollo de enfermedad ulcero péptica y cáncer, en ciertos individuos susceptibles (26). La tasa de infección aumenta con la edad, de manera que mientras alrededor de 10% de los individuos menores de 30 años están infectados, tal cifra asciende a 60%, entre los mayores de 60 años. Según los estimativos más recientes, 90-95% de los pacientes con úlcera duodenal y 60-70% de aquellos con úlcera gástrica están colonizados por la bacteria. (27-29).

La frecuencia creciente de infecciones que ocurren dentro de familias, junto con la edad y el hacinamiento, indica que *H. pylori* es transmitido por contacto directo. Hay

información comprobada que indica que ciertos grupos étnicos tienen mayor riesgo de infección que otros. Por ejemplo, habitantes de Africa e Hispanoamérica tienen una mayor tasa de infección de los norteamericanos caucásicos (30). En los países en vías de desarrollo, las incidencias de infección tienden a ser mayores en las poblaciones indígenas. Según estudios recientes realizados en una comunidad de San Juan La Laguna, Guatemala, esto se atribuye al hecho comprobado de que las condiciones socioeconómicas bajas aumentan el riesgo de infección (31,32).

La relación demostrada en una población peruana entre el riesgo de infección y la fuente de origen del agua para beber, el aislamiento de la bacteria en heces, la aglomeración intrafamiliar y el consumo de alimentos crudos, es evidencia que sugiere fuertemente la transmisión feco-oral (33,34). Adicionalmente se ha encontrado existencia de *H. pylori* en las uñas de las manos y en la mucosa oral, lo cual fortalece la teoría de esta vía de transmisión y sugiere la transmisión oro-oral. El hecho de que la boca sea un reservorio natural y permanente del *H. pylori* puede jugar un papel determinante en la tasa de reinfección gástrica en los pacientes con recaídas, aunque se sabe que la principal causa de recurrencia es el abandono prematuro del tratamiento (32,35-37).

Existen reportes que afirman que *H. pylori* puede encontrarse en reservorios no humanos, lo cual determina un tipo de transmisión zoonótica. Se han reportado anticuerpos anti *H. pylori* en suero de perros y gatos, pero estos trabajos han sido muy criticados debido a que se discute que si los animales hubiesen tenido contacto previo con personas infectadas y éstas pudieron haberlos infectado (38). Osato en 1,998 demostró que las moscas caseras pueden ser vectores que favorecen la transmisión de la infección por *H. pylori* (39)

3.5 *Helicobacter pylori* y enfermedades asociadas:

La infección por *H. pylori* se manifiesta de muy diversas maneras y los síntomas característicos de la gastritis son dolor abdominal tipo ardoroso en la parte media superior del abdomen, náusea, vómito o agruras. Cuando predominan el vómito y las agruras, entonces la entidad se denomina enfermedad por reflujo gastroesofágico. No obstante, en pacientes pediátricos no siempre es tan obvia esta enfermedad, pues los niños muy pequeños no pueden expresar sus molestias y si no tienen síntomas evidentes como son vómito o regurgitación, no es posible precisar lo que les sucede. Si el paciente es muy pequeño, probablemente lo único que manifieste sean síntomas

inespecíficos como llanto constante, rechazo al alimento, con consecuente falta de incremento de peso y talla, lo que ocasiona frecuentemente confusión tanto en los padres como en el médico (40-42).

H. pylori es capaz de colonizar células epiteliales, cardias, antro y cuerpo del estómago, siendo estas dos últimas secciones las que más alta tasa de infección poseen. Además puede invadir las células del epitelio del fondo del duodeno cuando la metaplasia está presente (43). A continuación se describirán brevemente las enfermedades con las cuales *H. pylori* esta directamente relacionado.

3.5.1 Gastritis Crónica:

Es el resultado de la inflamación crónica de la mucosa gástrica con la aparición de la respuesta humoral contra la bacteria. En la mayoría de las personas progresa lentamente o permanece virtualmente inactiva (44,45). Dependiendo de la región del estómago infectada, la gastritis crónica puede clasificarse en:

3.5.1.1 Gastritis Crónica Tipo A: en la cual la infección está localizada en el cuerpo del estómago, la cual se encuentra presente en el 90% de los pacientes con anemia perniciosa (46). La mucosa del cuerpo y el fondo gástrico presentan una marcada atrofia glandular y epitelial, la secreción de ácido clorhídrico, pepsinógeno y factor intrínseco están marcadamente disminuidas o ausentes y los niveles de gastrina en suero están elevados. En estos pacientes se encuentran anticuerpos anti-mucosa gástrica, lo cual revela el carácter autoinmune de la enfermedad. *H. pylori* no es hallado comúnmente en este tipo de gastritis (47,48).

3.5.1.2 Gastritis Crónica Tipo B: en la cual la infección está localizada en el antro del estómago, encontrándose reducidas las células G y los niveles de gastrina están dentro del rango normal. Los anticuerpos anti-mucosa gástrica están ausentes en el suero de estos pacientes (49). El principal factor de inicio de la gastritis tipo B es la infección por *H. pylori* y la progresión de ésta se debe a la persistencia de la bacteria (50).

En la mayoría de casos, la gastritis es asintomática y probablemente sin consecuencias visibles a largo plazo. El desarrollo de úlceras duodenales está muy relacionado con este tipo de gastritis (50).

3.5.1.3 Gastritis Crónica Tipo AB: en la cual la infección está localizada en ambas regiones y los pacientes que la padecen presentan un mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico (50).

La prevalencia de gastritis crónica en la población general está directamente relacionada con la edad ya que se ha establecido que aumenta en las personas adultas y tiende a ser más baja en las poblaciones infantiles (48).

3.5.2 Úlcera Gástrica:

Es el resultado de la ruptura de la barrera de la mucosa gástrica, como resultado de la actividad de la ureasa producida por la bacteria, dando inicio al proceso ulceroso (49,51). Actualmente se sabe que existen dos grupos de pacientes con úlcera gástrica: los que padecen gastritis crónica asociada a *H. pylori* y los que no están infectados por esta bacteria, pero que toman drogas antiinflamatorias no esteroideas, las cuales también son capaces de romper la mucosa por diferentes mecanismos (52).

3.5.3 Úlcera Duodenal:

Esta afección está asociada en más del 90% con la presencia de *H. pylori*, siendo en este grupo de pacientes donde se observa una mayor frecuencia de recaídas después del tratamiento. En ausencia de la bacteria se deben investigar otras posibles causas como la Enfermedad de Crohn y el Síndrome de Zollinger-Ellison. En este grupo de pacientes, el porcentaje de recaídas es menor del 5% (53,54).

Debido a la evidencia obtenida de varios estudios, se afirma que la presencia de *H. pylori* induce el desarrollo de esta enfermedad, sin embargo aún no se ha dilucidado cual es el mecanismo por medio del cual la ocasiona. Se han postulado dos teorías para explicar este mecanismo de acción:

- La duodenitis crónica causada por la colonización microbiana, se asocia a la persistencia de la úlcera, siendo la persistencia de la bacteria responsable de debilitar la mucosa, lo cual favorece la formación de la úlcera por la acción del ácido.
- La producción de una hipergastremia e hiperpepsinogenemia tipo I inducida por *H. pylori* que favorecerían la hipersecreción de ácido y la aparición de la úlcera (55).

3.5.4 Cáncer Gástrico:

H. pylori fue declarado como un Carcinógeno de clase I por la Organización Mundial de la Salud en 1,994. Dos tipos diferentes de cáncer han sido asociados con la infección por *H. pylori*: Linfoma gástrico y Adenocarcinoma (20). Se considera que

ésta bacteria produce una progresión cronológica "preneoplásica", que inicia con gastritis superficial, continúa con gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia y finalmente cáncer (56-58). Sin embargo, el 50 % de la población adulta infectada no desarrolla ningún tipo de cáncer gástrico, razón por la cual se deduce que otros factores deben intervenir para aumentar el riesgo de cáncer en caso de infección por *H. pylori*, y que la infección crónica por esta bacteria constituye la primera etapa del proceso (59).

En Guatemala el cáncer gástrico es uno de los que muestra niveles más alarmantes, ocupando entre 1,975 y 1,992 el segundo lugar entre hombres y mujeres, mientras que entre 1,993 y 1,994 ocupó el primer lugar en el sexo masculino y el cuarto lugar en el sexo femenino (15).

La evidencia del papel que *H. pylori* desempeña en el desarrollo de cáncer gástrico se ha obtenido de tres diferentes tipos de estudios realizados: estudios paralelos de las características epidemiológicas de la infección por *H. pylori* y el cáncer gástrico, estudios de la infección con *H. pylori* en pacientes con cáncer gástrico y estudios prospectivos de las infecciones por *H. pylori* (60-64). También se ha obtenido evidencia de la asociación de *H. pylori* con cáncer gástrico de estudios de corto plazo que han demostrado el revertimiento de las condiciones "preneoplásicas" cuando se administra un tratamiento exitoso para erradicar al *H. pylori* (65).

3.5.4.1 Linfoma Gástrico: los linfomas de células B o maltomas son complicaciones relacionadas a la infección por *H. pylori*. Estudios recientes han demostrado que el desarrollo de este tipo de linfomas pueden ser inicialmente inducidos por la acción de citocinas liberadas por linfocitos T presentes en la respuesta inmunológica del organismo humano contra la bacteria (66,67).

3.5.4.2 Adenocarcinoma: aún no se ha establecido el mecanismo por medio del cual *H. pylori* contribuye con el desarrollo de este tipo de cáncer, sin embargo la asociación entre la presencia de esta bacteria y el desarrollo de éste cáncer ha sido establecida en base a los datos obtenidos de los estudios citados previamente. El adenocarcinoma gástrico ocupa el lugar número 40 entre los cánceres más comunes y se espera que llegue a ser la octava conforme la población mundial envejece (68). El adenocarcinoma gástrico es más común en naciones en vías de desarrollo y entre las poblaciones con menos posibilidades económicas en los países industrializados (69). En muchos países de Latinoamérica y Asia, el cáncer gástrico permanece como el tipo de malignidad más común entre hombres y la segunda entre mujeres. En países de bajo

riesgo, hay grupos étnicos con un riesgo aumentado de padecer esta enfermedad, por ejemplo en Estados Unidos, la prevalencia de adenocarcinoma gástrico entre negros, asiáticos e hispanos es casi el doble de la prevalencia entre caucásicos (70).

3.6 Diagnóstico de *Helicobacter pylori*:

Se han desarrollado diferentes técnicas para el diagnóstico de infección por esta bacteria, las cuales se pueden dividir en dos clases según la forma de obtención de la muestra para su análisis: técnicas directas o invasivas, para las cuales se debe obtener una muestra de tejido gástrico por medio de una cirugía endoscópica y las técnicas indirectas o no invasivas, para las cuales se necesitan muestras de suero, aliento o heces, mismas que pueden ser obtenidas sin necesidad de ningún procedimiento quirúrgico (71).

3.6.1 Técnicas Directas o Invasivas:

Las muestras de tejido deben tomarse obligatoriamente del antro y de la región cercana al píloro. Debe tomarse una muestra de tejido de la misma región para cada uno de los métodos que se vaya a realizar. La muestra destinada al examen anatomopatológico se debe depositar en formol; si se va a realizar un examen inmunohistológico, debe congelarse a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, para el examen bacteriológico es mejor usar un medio de transporte como el de Cary Blair (72).

3.6.1.1 Prueba Rápida de la Ureasa: constituye el método más rápido y práctico para detectar la presencia de *H. pylori* en pacientes sometidos a endoscopia. La ureasa producida por esta bacteria convierte la urea a amonio, que alcaliniza el pH del medio y produce un cambio de color, lo cual se toma como una reacción positiva. Esta prueba puede realizarse directamente en la sala de endoscopia, depositando un fragmento de la muestra en el medio y esperar el cambio de color, el cual ocurre durante los primeros 20 minutos en el 80 % de los casos, aunque a veces puede retrasarse hasta el día siguiente (50,73).

La desventaja de este método es su baja sensibilidad, ya que necesita de la presencia de más de 10^5 bacterias por milímetro cúbico de tejido para producir el cambio de color en el medio. Debido a esta situación, esta prueba no debe utilizarse en pacientes que finalizaron tratamiento, ya que podría dar un falso negativo en pacientes con baja tasa de infección (73).

Raramente puede encontrarse a *Gastrospirillum hominis*, una bacteria gram negativo, no cultivable y de forma espiral que productora de ureasa y que también puede desarrollar gastritis, los pacientes infectados por esta bacteria responden al tratamiento utilizado para erradicar a *H. pylori* (74).

3.6.1.2 Coloración de Frotos y Tejidos: los frotos se preparan por impronta de tejido o del moco en láminas portaobjetos y se tiñen con la coloración de Gram modificada (se sustituye la safranina por carbolfucsina). En esta preparación se espera observar bacilos gram negativo curvos o ligeramente espirales aunque también se pueden observar algunas formas cocoides de *H. pylori*. *G. hominis* aparece como un bacilo gram negativo con espirales de mayor amplitud (74).

Las muestras de tejidos pueden colorearse con la coloración Hematoxilina-Eosina (HE), la cual permite observar a *H. pylori* y así como algunos de los cambios histológicos provocados por la presencia de la bacteria. Esta tinción puede ser poco confiable cuando no existen muchas bacterias. En estos casos se pueden utilizar otras tinciones especiales como la de Warthin Starry, Giemsa modificada y la tinción de plata de Steiner (75,76)

El hallazgo histológico más frecuentemente asociado con gastritis ocasionada por *H. pylori* es el infiltrado de neutrófilos y la inflamación mononuclear en el epitelio gástrico (10).

También se observan cambios degenerativos de la superficie epitelial de las células, incluyendo disminución de la mucina, vacuolización citoplásmica, desorganización glandular y aumento del tamaño nuclear (77).

3.6.1.3 Cultivo: la muestra debe ser triturada para dispersar las bacterias. La muestra debe cultivarse en al menos dos medios selectivos y uno no selectivo. Los medios de cultivo selectivos más utilizados son el de Skirrow, el de Butzler o el Campy-Bap, mientras que como medio no selectivo se puede utilizar el agar chocolate (78,79).

Las colonias son translúcidas, no pigmentadas que miden de 1 a 2 mm. de diámetro, algunas cepas pueden presentar una ligera hemólisis beta. Su crecimiento óptimo se alcanza en aproximadamente 5 días en una atmósfera microaerofílica y a 37 °C. Si el cultivo es para aislamiento primario, se debe adicionar un suplemento antibiótico que contenga polimixina, anfotericina, vancomicina y trimetoprim sulfametoxazol (80).

Para la identificación positiva de *H. pylori* deben considerarse los siguientes aspectos:

- Verificación de la morfología colonial y bacteriana.
- Verificación de características bioquímicas específicas como: catalasa, oxidasa y ureasa positivas, indol, hidrólisis del hipurato y fermentación de la glucosa negativos (78).

Hay en el mercado un conjunto de pruebas propuestas por una casa comercial que analiza la actividad de la ureasa, fosfatasa alcalina, gamma-glutamyltransferasa y nitrato reductasa, las cuales han demostrado que pueden obtener una identificación certera (78).

La importancia de realizar el cultivo es que permite establecer la susceptibilidad antibiótica, en especial a los nitroimidazoles, macrólidos y fluoroquinonas que son los medicamentos más utilizados actualmente en los esquemas terapéuticos (81).

3.6.1.4 Amplificación de ADN bacteriano por la Técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR siglas en inglés): actualmente esta técnica ha sido de mucha utilidad para la identificación, caracterización y ubicación de microorganismos de difícil cultivo. En muchos casos la sensibilidad y especificidad de los tests serológicos no son suficientes para diferenciar entre bacterias de características similares, y es en estos casos donde se aplica el uso de esta técnica cuyo poder de discriminación entre especies es bastante alto (82).

En el caso particular de *H. pylori*, a pesar de la alta especificidad y sensibilidad de esta prueba, debido a la ubicuidad de la bacteria se pueden generar resultados falsos positivos. La técnica de PCR proporciona información valiosa al determinar si la bacteria está o no presente en la muestra; sin embargo, no dice nada acerca de la viabilidad de la misma, porque la detecta viva o muerta. Debido a esto, no puede reemplazar al cultivo ya que éste demuestra claramente la viabilidad de la bacteria (83).

Esta técnica ha sido utilizada para el estudio de diversos tipos de muestras, incluyendo tejido fijado en parafina, lo cual ha permitido hacer grandes avances en el entendimiento de esta bacteria por medio de estudios retrospectivos y prospectivos (84,85).

3.6.2 Técnicas Indirectas o No Invasivas:

Entre este grupo de técnicas se incluyen las pruebas serológicas para la detección de anticuerpos anti-*H. pylori*, la prueba de exhalación de urea marcada (PEU) y recientemente el inmunoensayo para detección de antígeno de *H. pylori* en muestras de heces (2,5)

3.6.2.1 Pruebas Serológicas: durante los primeros años después del descubrimiento de *H. pylori*, la serología se utilizó con éxito para el diagnóstico de infecciones por dicha bacteria. Estas pruebas se basan en la detección de anticuerpos IgG y a veces IgA circulantes en el suero del paciente como resultado de la respuesta inmune humoral (86).

Esta prueba es útil en pacientes no tratados e infectados, ya que los niveles de anticuerpos se encuentran elevados de forma estable, y su detección es sinónimo de infección. Sin embargo, en pacientes que han sido sometidos a tratamiento antibiótico, los anticuerpos IgG e IgA no empiezan a disminuir sus títulos hasta 12 meses después, por lo cual no son de gran utilidad para el seguimiento de pacientes después del tratamiento (6,7).

Los métodos más utilizados para la detección de anticuerpos son: la aglutinación, la fijación del complemento y los inmunoensayos (EIA's siglas en inglés), siendo los últimos los más ampliamente utilizados (87). Los antígenos que se han utilizado para el desarrollo de estos tests incluyen bacterias completas, fracciones de bacteria, proteínas de superficie y enzimas como la ureasa. La sensibilidad y especificidad de este tipo de pruebas superan el 90 %, sin embargo no representan una herramienta ideal para el diagnóstico de infección activa o para el seguimiento de pacientes después del tratamiento (88,89).

3.6.2.2 Prueba de Exhalación de Urea Marcada (PEU): esta prueba se basa en la hidrólisis de la urea hacia amonio y dióxido de carbono, que realiza la enzima ureasa producida por *H. pylori*. Se administra urea marcada con un isótopo de carbono, la cual al ser hidrolizada producirá dióxido de carbono marcado, que será absorbido por la sangre y llevado hasta el pulmón para ser eliminado a través del aire exhalado, el cual es recuperado en una bolsa laminada. La muestra de aire es analizada luego por un espectrofotómetro de masas o en un contador de centelleo, según sea el isótopo de carbono utilizado, para dar un resultado. Los isótopos utilizados pueden ser C^{13} o C^{14} , siendo el último el más económico, pero por ser un isótopo más estable y por consiguiente más difícil de eliminar, no puede ser administrado a pacientes embarazadas

y a pacientes pediátricos. El C^{13} es un isótopo menos estable, por lo cual puede ser administrado a mujeres embarazadas y niños, pero el equipo de detección es más caro que el utilizado para la lectura de muestras marcadas con C^{14} (88,90,91).

Este método es sensible y específico, pero tiene las desventajas de su alto costo y necesita equipo especializado para su realización.

3.6.2.3 Pruebas para la Detección de Antígeno de *Helicobacter pylori* en muestras de heces: en los últimos años ha habido un creciente interés en el desarrollo de pruebas no invasivas para el diagnóstico de infección por *H. pylori* y para la evaluación y seguimiento de pacientes después de tratamiento antibiótico. Los métodos actuales, han demostrado ser confiables y se han obtenido buenos resultados con ellos; sin embargo, presentan ciertas desventajas como la necesidad de endoscopia para la obtención de la muestra, alto costo y baja especificidad. A partir de 1,999 varios investigadores han evaluado la posibilidad de que una prueba ELISA para detectar antígeno de *H. pylori* en heces pueda vencer estos inconvenientes y convertirse en una herramienta útil en el manejo de pacientes con infección por esta bacteria (7,8,92).

En estos estudios se logró determinar que esta prueba sí cumple con los requisitos de sensibilidad y especificidad necesarios para el diagnóstico de infección activa y también comprobaron su utilidad para el seguimiento de pacientes bajo tratamiento, ya que se estableció que una prueba de detección de antígeno en heces negativa es signo de erradicación de la bacteria. Esta negatividad puede observarse a los dos meses después de finalizado el tratamiento, a diferencia de los 12 meses requeridos como mínimo en las pruebas serológicas (7,8,92-94).

3.7 Tratamiento:

H. pylori es una bacteria difícil de erradicar, generalmente se requiere del uso de dos o más antibióticos a la vez, por períodos de 7 a 14 días además de medicamentos que tienen como objetivo bloquear el ácido gástrico contribuyendo así a la mejoría de la inflamación generada y del movimiento esófago-gastroduodenal. La combinación más usada en este esquema de tratamiento es la de amoxicilina, metronidazol y omeprazol, con la cual se han obtenido tasas de efectividad de 85% (6).

Recientemente Del Giudice y colaboradores han estado trabajando en el desarrollo de una vacuna contra *H. pylori*; sin embargo todavía hay muchas preguntas sin respuesta respecto al mecanismo exacto de la respuesta inmune del organismo contra

esta bacteria, pero a pesar de esto, no se descarta la creación de una vacuna que ayude a proteger al organismo contra *H. pylori* (95).

4.JUSTIFICACIONES

La mayoría de laboratorios en Guatemala utiliza ensayos serológicos para detección de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* para el diagnóstico de infección por esta bacteria debido a que son fáciles de realizar y de bajo costo. Sin embargo, un resultado positivo con este tipo de pruebas no necesariamente indica infección activa o reciente. Actualmente se encuentra disponible un ensayo inmunoenzimático para detección del antígeno de *H. pylori* en muestras de heces, el cual ha demostrado en estudios recientes que es de gran utilidad para el diagnóstico de infección aguda e incluso para el seguimiento de pacientes en tratamiento antibiótico para la erradicación de esta bacteria. A diferencia de otros métodos confirmatorios como la biopsia o la prueba de exhalación de urea marcada con carbono 13 (PEU) esta prueba es de un costo menor y el paciente no debe ser sometido a procedimientos quirúrgicos o expuesto a radiación. Por lo tanto es importante determinar el valor predictivo positivo de un ensayo serológico para detección de anticuerpos IgG tomando como estándar de oro la prueba ELISA para detección de antígeno de *Helicobacter pylori* en muestras de heces, y establecer así la verdadera utilidad diagnóstica del ensayo serológico.

5.OBJETIVOS

- Establecer el valor predictivo positivo de infección aguda del inmunoensayo para la detección de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en suero.
- Determinar la concordancia entre la prueba para la detección de anticuerpos en suero y la prueba para detección de antígeno en heces.

6. HIPÓTESIS

El valor predictivo positivo de infección aguda del inmunoensayo para detección de anticuerpos anti *Helicobacter pylori* en suero es mayor del 85%.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de Trabajo:

Pacientes de diferentes edades con síntomas gastrointestinales sin tratamiento antibiótico, que acudieron a hacerse exámenes a un laboratorio en un centro privado.

7.1.1 Muestra:

80 muestras de Sueros y 80 muestras de Heces de pacientes de diferentes edades que presentaban síntomas gastrointestinales y que no estaban en tratamiento antibiótico que acudieron a hacerse exámenes a un laboratorio clínico privado.

7.2 Materiales:

7.2.1 Equipo:

- 1 Centrífuga
- 1 Refrigeradora
- 1 Lector de Pruebas ELISA

7.2.2 Materiales:

- 100 Guantes
- 100 Jeringas
- 1 Paquete de Algodón
- 1 Galón de Alcohol
- 100 curitas
- 100 Tubos de Hemólisis
- 1 Gradillas
- 100 Palillos de Madera
- 100 Recipientes plásticos
- 100 Tubos eppendorf de 1.5 ml.

7.2.3 Reactivos:

- 2 Juegos de reactivos comerciales para detección de Antígeno de *Helicobacter pylori* en heces.
- 2 Juegos de reactivos comerciales para detección de Anticuerpos IgG anti-*Helicobacter pylori* en suero.

7.3 Métodos:

7.3.1 Criterios de Inclusión:

A los pacientes se les interrogó acerca síntomas compatibles con infección por *Helicobacter pylori* y si se encuentran en algún tratamiento antibiótico. A los que presentaron por lo menos 2 síntomas y no estaban en tratamiento, se les explicó sobre el trabajo de investigación y se les pidió aceptaran ser incluidos voluntariamente firmando el formulario (ver Anexos) como consentimiento. De cada paciente se extrajeron 5cc de sangre sin anticoagulante y se les solicitó una muestra de heces, además de tomar sus datos personales.

La muestra de sangre se centrifugó a 3,000 rpm por 5 minutos y se separó el suero el cual fue guardado en tubos eppendorf y congeló a -20° C hasta que se completaron los 80 sueros. Las muestras de Heces se trabajaron conforme se recibían.

7.3.2 Método para el análisis de Antígeno de *Helicobacter pylori* en heces:

7.3.2.1 Preparación de la Muestra:

- a. Se dispensaron 200 µl de diluyente de muestra un tubo de ensayo (12x75mm.).
- b. Se tomó con el asa de siembra una porción de muestra (en el ojal del asa) si las heces eran pastosas. Si eran líquidas se tomaban 100 µl con una pipeta Pasteur desechable. Si eran sólidas, tan solo 5-6 mm.
- c. Se dejó la muestra, en el diluyente de la muestra y se mezcló en un vortex por 15 segundos cada uno de los tubos.

7.3.2.2 Proceso:

- a. Se separó el número de micro pocillos necesarios, uno por muestra más uno para el control positivo y otro para el negativo.
- a. Se añadieron 50 µl del sobrenadante de la mezcla diluída de cada muestra en su respectivo pocillo.
- c. Se dispensó una gota del control positivo (tapón amarillo) y del negativo (tapón azul) en sus respectivos micro pocillos.
- d. Se añadió una gota del Enzima conjugado (tapón rojo) a cada pocillo y se agitó 30 segundos. Se tapó con el film adhesivo y se dejó incubar durante una hora a temperatura ambiente (22-24°C).

- e. Se hicieron 5 lavados con tampón de lavado.
- f. Se añadieron dos gotas de sustrato (tapón azul) a cada pocillo y se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente.
- g. Se añadió una gota de solución de parada y se realizó una lectura con lector a 450 nm sin necesidad de blanco, los resultados positivos fueron los que tenían absorbancia mayor de 0.130 y los negativos tenían absorbancia menor de 0,130 nm.

7.3.3 Método para el análisis de Anticuerpos de *Helicobacter pylori* en suero:

7.3.3.1 Preparación de la Muestra:

- a. Las muestras de suero se descongelaron y se agitaron, si presentaban turbidez se centrifugaban..

7.3.3.2 Proceso:

- a. Se prepararon los micropozos necesarios para el análisis.
- b. Las muestras clínicas, un recalibrador y un control se diluyeron con diluyente de muestras (1:20) y se agregaron 100 ul de cada uno a los micropozos.
 - a. Se incubaron a 37° C por 30 minutos
 - b. Se hicieron 7 lavados con solución de lavado.
 - c. Se añadieron 50 ul de conjugado y se incubó a 37° C por 20 minutos.
 - d. Se añadieron 50 ul de solución de sustrato y se incubó a 37° C por 20 minutos.
 - e. Se añadieron 50 ul de solución de parada y se leyeron los micropozos en el lector de Elisa a 450 nm.

7.4 Diseño de la Investigación:

7.4.1 Tipo de Estudio:

Estudio comparativo para determinación del valor predictivo positivo para infección activa del test para detección de anticuerpos IgG anti-*Helicobacter pylori* en suero.

7.4.2 Muestreo:

Se recolectaron 80 muestras de suero y 80 muestras de heces (tamaño mínimo calculado) por cuota de pacientes de diferentes edades que presentaban al menos 2 síntomas compatibles (ver p.6) con la infección por *Helicobacter pylori* y no estaban en tratamiento antibiótico.

7.4.3 Análisis de Resultados:

Los resultados obtenidos se analizaron por medio de una tabla de dos por dos, para determinar el valor predictivo positivo para infección activa del método ELISA para detección de anticuerpos IgG anti-*Helicobacter pylori* en suero, se utilizó como estándar de oro la prueba ELISA para detección de antígeno de *Helicobacter pylori* en heces por conveniencia. Por medio de esta tabla, también se determinarán otros índices de la prueba en estudio como sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo.

La prueba de Kappa establecerá la concordancia de los resultados obtenidos con la prueba serológica con los resultados de la prueba en heces.

8. RESULTADOS

El estudio fue realizado en el transcurso de los meses de junio a septiembre, período en el cual se analizaron las muestras de suero y heces de 80 pacientes comprendidos entre las edades de 3 a 80 años, que asistieron a un laboratorio clínico privado.

Se obtuvo un total de 9 resultados positivos con la prueba de detección de antígeno en heces, de los cuales el 66.67% corresponde a pacientes mayores de 30 años.

Del total de pacientes analizados, se encontraron 3 pacientes en los que los resultados de los análisis realizados a ambas muestras fueron positivos, los cuales fueron clasificados como pacientes enfermos y hubo 49 pacientes que mostraron resultados negativos para los análisis de ambas muestras, siendo éstos considerados como sanos. Hubo 6 pacientes cuyo resultado de la prueba para detección de antígeno en heces fue positivo, mientras que el resultado de la prueba para detección de anticuerpos IgG en suero fue negativo; estos pacientes también fueron clasificados como enfermos. Por último, en 22 pacientes se obtuvo resultados negativos del análisis de las muestras de heces y resultados positivos del análisis de las muestras de suero quienes fueron considerados sanos.

Estos datos fueron ubicados en una tabla de dos por dos (ver anexo 2), en la que se clasifican como sanos los pacientes con resultado negativo para la prueba de detección de antígeno de *H. pylori* en heces y enfermos aquellos que presentaron un resultado positivo para dicha prueba. Del análisis estadístico de esta tabla se desprenden los siguientes resultados que se aplican al ensayo ELISA para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* en muestras de suero en comparación con el inmunoensayo para detección de antígeno de *H. pylori* en heces:

Valor Predictivo Positivo	52.3%
Valor Predictivo Negativo	89%
Sensibilidad	33%
Especificidad	69%
Concordancia (Prueba de Kappa)	01%

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del estudio demuestran que el inmunoensayo para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* en suero no es la prueba de elección para el diagnóstico de infección activa por esta bacteria, debido a que el valor predictivo positivo de esta prueba es de 52.3 %, lo cual indica el porcentaje de resultados positivos de la prueba en estudio que concuerdan con los resultados positivos obtenidos con la prueba utilizada como estándar de oro. Sin embargo, mostró tener un valor predictivo negativo de 89 %, lo cual indica que los resultados negativos obtenidos con este tipo de ensayos, tienen un alto grado de confiabilidad y pueden ser de utilidad para descartar a *H. pylori* como causante de infección.

Los valores de sensibilidad (33 %) y especificidad (69 %) encontrados para esta prueba, en comparación con el ensayo para detección de antígeno, demuestran su bajo valor en el diagnóstico de infección activa y como apoyo en la toma de decisiones médicas.

El resultado de que el 66.67% de los casos positivos obtenidos con la prueba de detección de antígeno en heces corresponda a pacientes que son mayores de 30 años, concuerda con los reportes de otros estudios realizados a nivel mundial (27).

Otro parámetro utilizado para la evaluación de la prueba para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* en suero, fue el grado de concordancia de los resultados obtenidos con dicha prueba, con los resultados que se obtuvieron con el ensayo para detección de antígeno en heces (Prueba de Kappa). El valor resultante de este análisis fue de 1 %, lo cual de acuerdo a los criterios de interpretación de Landis y Koch (50) se califica como una concordancia deficiente, lo cual respalda el hecho de que la prueba en estudio no es útil para el diagnóstico de infección activa por *H. pylori*.

La prueba de detección de antígeno de *H. pylori* en heces fue tomada como estándar de oro para los fines de este estudio en particular. Esto se tomó de esta forma debido a que esta prueba es la alternativa de más fácil acceso para los laboratorios de diagnóstico en Guatemala. Sin embargo requiere como mínimo de un lector manual de pruebas ELISA para su correcta interpretación, siendo este hecho una limitante para el montaje de esta prueba en la mayoría de laboratorios.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 La prueba para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* no es de utilidad en el diagnóstico de infección aguda, ya que su valor predictivo positivo es de 52.3%.

- 10.2 La prueba para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* puede ser utilizada para tamizaje de pacientes, ya que un resultado negativo obtenido con esta prueba descarta la posibilidad de que el paciente haya estado en contacto con la bacteria.

- 10.3 No hay concordancia entre los resultados obtenidos con la prueba para detección de anticuerpos IgG anti-*H. pylori* y los resultados obtenidos con la prueba que detecta antígeno en heces.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Debe realizarse otro estudio a mayor escala, con el fin de obtener datos más representativos.
- 11.2 Si la finalidad de la evaluación es establecer una infección activa, todo resultado positivo obtenido con las pruebas serológicas, debe ser confirmado por una prueba confirmatoria como la detección de antígeno en heces o la exhalación de urea marcada con isótopos de carbono,
- 11.3 El ensayo para detección de antígeno en heces, debe considerarse como prueba de elección para el diagnóstico de infección activa y seguimiento de pacientes en tratamiento.

10. Marshall B, Warren J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 272: 65-69
11. Murray P, *et al* Manual of clinical microbiology 6ed. Washington DC American Society for Microbiology 1995; 492-498.
12. Romaniuk PH, *et al* *Campylobacter pylori* the spiral bacterium associated with human gastritis, is no a true *campylobacter* spp. *Journal of Bacteriology* 1987; 169: 2137-2141.
13. Goodwin C, *et al* Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1989; 39: 397-405.
14. Correa P. *Helicobacter pylori* and the cell cycle. *Journal of the National Cancer Institute* 1997; 89: 836-837
15. García C. Epidemiología de *Helicobacter pylori* de un grupo de pacientes del seguro social de Guatemala: comparación de cepas por técnicas moleculares. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1999.81p.
16. Ernst P, Gold B. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*. The Immunopathogenesis of Gastroduodenal Ulcer and Gastric cancer. *Annual Reviews Microbiology* 2000; 54: 615-640
17. Cline M, Drumm B. The urease enzyme of *Helicobacter pylori* does not function as an adhesion. *Infection and Immunity* 1996; 64: 2817-2820.

18. Bodger K, Crabtree JE. *H. pylori* and gastric inflammation. *British medical bulletin* 1998; 54 : 2111-2115.
19. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of National Academy of Science*. 1993; 90: 7915-7922.
20. Covacci A, *et al* *H. pylori* virulence and genetic geography. *Science* 1999; 284: 1328-1333.
21. Fauchere J, Rosenau A. *Campylobacter* et *Helicobacter* en pathologie digestive humaine. *Medecine/Sciences* 1991 ; 7 : 138-152.
22. Cover TL, Blaser M. Purification and Characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori* . *Journal of Biological Chemistry* 1992; 267: 10570-10575.
23. Atherton JC, *et al* Clinical Pathological importance of heterogeneity in Vac A, The vacuolating cytotoxin gene. *Journal of Clinical Pathology* 1994; 8: 41-45
24. Blaser M. *et al* Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing Cag A is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer reviews* 1995; 55: 2111-2115.
25. Tumuru M, Cover TL, Blaser MJ. Mutation of the Cytotoxin-associated CagA gene does not affect the vacuolating cytotoxin activity of *Helicobacter pylori* . *Infection and Immunity* 1994; 62: 2609-2613
26. Ader F. *et al* Prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies in normal children. *Pediatric Infectology. Dis. J.* 1996; 15: 172-174
27. Parsonet J. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentation, Pharmacology and Therapy* 1995; 9(2):45-51

28. Miehke S. *et al* Recurrence of duodenal ulcer during five years of follow up after cure of *Helicobacter pylori* infection. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1995; 7: 975-978.
29. Staat MA, *et al*. A population based serologic survey of *Helicobacter pylori*. *Journal of Infectious Diseases* 1996; 174: 1120-1123.
30. Hoda MM, Evans DG, Evans DJ, Graham DY. *Helicobacter pylori* in Hispanics: comparison with blacks and whites of similar age and socio-economic class. *Gastroenterology* 1998; 103: 813-816.
31. Graham DY. *et al* Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in United States effect of age, race an socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991; 100: 1495-1501.
32. Dowsett S. *et al* *H. pylori* infection in indigenous families in Guatemala, serostatus and oral and fingernail carriage. *Journal Clinical of Microbiology* 1999; 37(8): 2456-2460.
33. Drumm B, Pérez-Pérez GI, *et al*. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine* 1990 ; 322: 359-362.
34. Lee A, Fox JG, *et al* . Transmission of *Helicobacter* spp: a challenge to the Dogma of faecal-oral spread. *Epidemiology and Infectology* 1991; 107: 99-109.
35. Pytko-Polonczyc J, *et al*. Oral cavity as permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potencial source of reinfection. *Journal of Physiology and Pharmacology* 1996; 214: 5-8.
36. Ashorm M, *et al*. Seroepidemiological study of *Helicobacter pylori* infection in infancy. *Archives of Diseases in Children, Fetal and Neonatals* 1996; 74: 141-142.

48. Genta RM, Hammer HW, Graham DY. Gastric lymphoid follicles in *Helicobacter pylori* infection : Frequency, distribution and response to triple therapy. *Human Pathology* 1993; 24: 577-583.
49. Coghlan J, *et al.* *Campylobacter pylori* and recurrence of duodenal ulcers a 12 month follow up study. *Lancet* 1987; 2: 1109-1111.
50. Cordon S. Comparación de un test serológico de ELISA vrs. Biopsia gástrica para la detección de *Helicobacter pylori*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Escuela de Química Biológica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2000.73p.
51. Cornelius P, Cohen H. Clinical significance of *Campylobacter pylori*. *Annals of Internal Medicine* 1998; 108:70-79.
52. Ormand J, *et al.* Prevalence of *Helicobacter pylori* in specific forms of gastritis. Further evidence supporting a pathogenic role for *Helicobacter pylori* in non specific gastritis. *Digestive Diseases Science* 1991; 36: 142-145.
53. Blaser M. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *Journal of Infectious Diseases* 1990; 161: 626-633.
54. Ricci V, *et al.* Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cell migration and proliferation *in vitro*: role of Vac A and Cag A. *Infection and immunity* 1996;64: 2829-2833.
55. Kinoshita Y, Kawanami C, Kishi K, Nakata H, Seino Y, Chiba T. *Helicobacter pylori* independent chronological change in gastric acid secretion in the Japanese. *Gut*. 1997; 41:452-458.
56. Sipponen P, Sápala K. Gastric carcinoma: failed adaptation to *Helicobacter pylori*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1992; 27: 33-38.

57. Correa P, Haenszel W, Cuello C. Gastric precancerous process in a high risk population: cohort follow up. *Cancer Reviews* 1990; 50: 4737-4740.
58. Siurala M, Varis K, Kekki M. New aspects on epidemiology, genetics and dynamics of chronic gastritis. *Gastroenterology* 1980; 6: 148-166.
59. Taylor D, Parsonnet J. Epidemiology and natural history of *Helicobacter pylori* infection. *Infections of Gastrointestinal Tract* 1995; 40: 551-563.
60. Correa P, Fox J, Fontham E, *et al.* *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma: serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risks. *Cancer* 1990; 66: 2569-2574.
61. Recavarren S, Leon R, Cok J, *et al.* *Helicobacter pylori* and progressive gastric pathology that predisposes to gastric cancer. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1991; 18: 51-57.
62. Parsonnet J, Vandersen D, *et al.* *Helicobacter pylori* infection in intestinal and diffuse type gastric adenocarcinomas. *Journal of National Cancer Institute* 1991; 83: 640-643.
63. Forman D, Newell DG, Fullerton F, *et al.* Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence of a prospective investigation. *British Medical Journal* 1991; 302: 1302-1305.
64. Parsonnet J, Vandersen D, *et al.* *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *New England Journal of Medicine* 1991; 325: 1127-1131.
65. Vollmers H, Dammrich J, Ribbert H, *et al.* Human monoclonal antibodies from stomach carcinoma patients react with *Helicobacter pylori* and stimulate stomach cancer cells in vivo. *Cancer* 1994; 74: 1525-1532.

66. D'Elis M, Manghetti M, De Carli M, *et al.* Impaired T cell regulation of Bcell growth in *Helicobacter pylori* related gastric low grade MALT lymphoma. *Gastroenterology* 1999; 117: 1105-1112.
67. Gulik R, Embretson J, Richman D. *Helicobacter pylori* as a direct cause of gastric cancer. *Gastroenterology* 1998; 116: 356-364.
68. Correa P, Miller M. Carcinogenesis, apoptosis and cell proliferation. *British Medical Bulletin* 1998; 54: 151-162.
69. Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *American Journal of Surgery* 1995; 24: 568-574.
70. Yeung J, Percy C, Asire A, *et al.* Cancer incidence and mortality in the United States. *National Cancer Institute Monography* 1981; 57: 1-187.
71. Rathbone B, Heatley R. Immunology of *Campylobacter pylori* infection. *British Medical Journal* 1989; 13: 135-140.
72. Cover T, Dooley C, Blaser M. Characterization of a human serologic response to proteins in *Helicobacter pylori* broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. *Infection and Immunity* 1990; 58: 603-610.
73. Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Annals of Clinical Gastroenterology* 1995; 9: 507-518.
74. Bourguignon G. *In vitro* study of different media to detect urease of *Campylobacter pylory*. *Gastrointestinal Pathology* 1989; 847: 49-52.
75. Stark M, *et al.* Physiology and biochemistry of *Helicobacter pylori*. *British Journal of Biomedical Science* 1995; 52: 282-290.

76. Kraiden S, *et al.* Comparison of selective and non selective media for recovery of *Campylobacter pylori* from antral biopsies. *Journal of Clinical Microbiology* 1987; 25: 1117-1119.
77. Hilzenrat N. *Helicobacter heilmanii*-like spiral bacteria in gastric mucosal biopsies: prevalence and clinical significance. *Archives of Pathological Laboratory Medicine* 1995; 119:1149-1153.
78. Dubois A. Spiral bacteria in the human stomach: The gastric *Helicobacters*. *Emerging Infectious Diseases* 1995; 1: 79-85.
79. Goodwin C, *et al.* Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucose. *Journal of Clinical Pathology* 1985; 38: 1127-1131.
80. Giono M, Cerezo S. Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales. *INDRE S.A. México* 1994; 637: 295-309.
81. Malaty H, *et al.* *Helicobacter pylori* in Hipanics: comparison with blacks and whites of similar age and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1992; 103: 813-817.
82. Blaser M. *Helicobacter pylori* a slow bacterial infection. *Trends in Microbiology* 1993; 7: 255-260.
83. Chisolm S, Owen R, Teare E, Saverymuttu S. PCR-based diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and Real time determination of clarithromycin resistance directly from human gastric biopsy samples. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39: 1217-1220.
84. Valentine J, Arthur R. Detection of *Helicobacter pylori* by using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 1991; 29: 689-695.

85. Ho SA, Hoyle J, *et al.* Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. *Journal of Clinical Microbiology* 1991; 29: 2453-2459.
86. Megraud F. The most important diagnostic modalities for *Helicobacter pylori* now and in the future. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1997; 9: 13-15.
87. Cutler AF, Havstad S, Ma CK, Blazer MJ, Perez GI Schubert T. Accuracy of invasive and non invasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1996; 109: 136-141.
88. Figueroa G, Acuña R, *et al.* Respuesta de anticuerpos IgG en pacientes colonizados por *Helicobacter pylori*. *Revista Médica de Chile* 1990; 118: 1195-1200.
89. Kim MJ, Michener R, Triadafilopoulos G. Serum ¹³C-bicarbonate assay for the diagnosis of gastric *Helicobacter pylori* infection and response to treatment. *Gastroenterology* 1997; 113: 31-37.
90. Hansson L, *et al.* *Helicobacter pylori* seropositivity is a risk factor for gastric adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1992; 102: 361-369.
91. Gassmer D, Dreismann H. Rapid purification of urease from *Helicobacter pylori* and incorporation of the enzyme into second generation of serologic tests. *Revista Española de Enfermedades Digestivas* 1990; 78: 34-41.
92. Vaira D, Malfentheiner P, Megraud P, Axon TR. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by HpSA test. *Lancet* 1999; 354: 1732-1738.
93. Forné M, Lite J, Dominguez J, Esteve M, *et al.* Accuracy of a non-invasive immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* in stools in the diagnosis of infection and follow-up after eradication. *Gut* 1999; 45 (111); A214-A222.

94. Lehmann F, Drewe J, Terracciano L, Stuber R, *et al.* Comparison of stool immunoassay with standard methods for detecting *Helicobacter pylori* infection. *British Medical Journal* 1999; 319: 1409-1415.
95. Del Giudice G, Covacci A, Telford JL, *et al.* The design of vaccines against *Helicobacter pylori* and their development. *Annual Review of Immunology* 2001; 99: 523-533.

10. ANEXOS

CUESTIONARIO

NOMBRE _____ FECHA _____

EDAD _____ NUMERO _____

INSTRUCCIONES: Marque con una X en **SI** o **NO** según sea el caso

- | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|
| 1. Presenta dolor abdominal tipo ardoroso en la parte media superior del abdomen | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |
| 2. Presenta nausea | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |
| 3. Presenta Vómitos | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |
| 4. Presenta Agruras | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |
| 5. Presenta dolor después de las comidas | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |
| 6. Ha tomado antibióticos en los últimos 15 días | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |
| 7. Ha tomado antiácidos en los últimos 15 días | <input type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO |

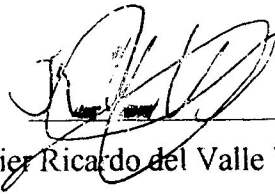
Acepto a participar en el estudio (f) _____

ANEXO 2

TABLA DE RESULTADOS

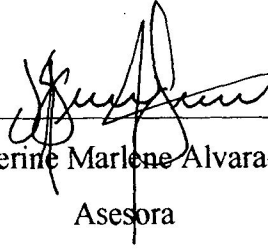
	HECES	
SUERO	ENFERMOS	SANOS
POSITIVOS	3*	22**
NEGATIVOS	6	49'

- * Pacientes diagnosticados como verdaderos enfermos, ya que ambas pruebas fueron positivas.
- ** Pacientes diagnosticados falsamente enfermos, prueba de oro fue negativa y la prueba en estudio fue positiva.
- ' Pacientes diagnosticados falsamente sanos, prueba de oro fue positiva y la prueba en estudio fue negativa.
- '' Pacientes diagnosticados como verdaderos sanos, ya que ambas pruebas fueron negativas.



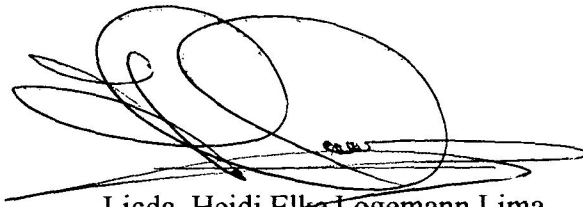
Javier Ricardo del Valle Villagran

Tesista



Licda. Katherine Marlene Alvarado Illescas

Asesora



Licda. Heidi Elke Logemann Lima

Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

Decana