

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



Respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en
pacientes dispépticos menores de 18 años

Glenda Berena Tello Orizabal

Vanesa Iris Johanna Wannan Gramajo

Químicas Biólogas

Guatemala, noviembre 2018

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large, circular emblem. It features a central figure of a man in a cap and robe, possibly a saint or scholar, surrounded by various heraldic symbols including castles, a lion, and a crown. The Latin motto "CETERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter. The text "Respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años" is overlaid on the seal.

Respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en
pacientes dispépticos menores de 18 años

Seminario de investigación

Presentado por

Glenda Berena Tello Orizabal
Vanessa Iris Johanna Wannan Gramajo

Para optar al título de
Químicas Biólogas

Guatemala, noviembre 2018

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M. A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carol Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por ser nuestra fortaleza, apoyo constante, fuente de sabiduría y permitirnos alcanzar una meta más.

A NUESTROS PADRES

Por su apoyo incondicional, amor y sacrificio.

A LAS UNIDADES DE
INVESTIGACIÓN

Unidad de Inmunopatología de Enfermedades Tropicales así como a la Unidad de Estadística y Biométrica

A LA TRICENTENARIA
UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA

Por formarnos como profesionales preparados para el servicio de nuestro país.

ÍNDICE

	Página
I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	01
II. RESUMEN	02
III. ANTECEDENTES	
A. Historia	04
B. Características generales de <i>Helicobacter pylori</i> .	05
C. Factores de patogenicidad	06
D. Epidemiología de la infección	15
E. Factores de riesgo de la infección	18
F. Transmisión	18
G. Signos y síntomas	20
H. Asociación de <i>H. pylori</i> con la enfermedad ulcerosa péptica	20
I. Asociación de <i>H. pylori</i> con cáncer gástrico	22
J. Tratamiento	24
K. Resistencia al tratamiento	25
L. Métodos para la detección de la infección	25
IV. JUSTIFICACIÓN	31
V. OBJETIVOS	33
VI. HIPÓTESIS	34
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	35

VIII.	RESULTADOS	45
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	52
X.	CONCLUSIONES	61
XI.	RECOMENDACIONES	62
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
IX.	ANEXOS	74

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Helicobacter pylori es un bacilo Gram negativo, microaerófilico, con forma de espiral que es capaz de colonizar la mucosa gástrica. El bacilo se reconoce como la causa principal de gastritis atrófica, úlcera gástrica y duodenal, así como cáncer gástrico de tipo intestinal. En 1994, la International Agency for Research on Cancer (IARC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconocieron al bacilo como cancerígeno tipo I para el ser humano, esto indica que el bacilo es un alto inductor de cáncer (IARC, 1994). En Guatemala, se reportan frecuencias de infección de 65% en población adulta y 51% en niños de 5 a 10 años (Hunt, Xiao, Megraud, Leon-Barau, Bazzoli, Van der Merwe et al, 2011).

La unidad de Investigación Inmunopatología de Enfermedades Tropicales y el área de Inmunodiagnóstico del Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR), tiene entre sus ámbitos de investigación el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Por tanto, el objetivo de este seminario de investigación fue determinar la respuesta inmunológica a proteínas recombinantes de *H. pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años. Así mismo, determinar la frecuencia de estas proteínas y establecer el riesgo que tiene un paciente de desarrollar cáncer gástrico a largo plazo. Para lograr tal objetivo se procedió a seleccionar pacientes con diagnóstico de infección de *H. pylori* por endoscopia, a quienes se les realizaron pruebas serológicas para detectar anticuerpos IgG e IgA específicos para los antígenos recombinantes CagA, VacA, GroEL, UreA, HcpC y gGT. La detección de los antígenos CagA y VacA sirvió además para la clasificación de la infección de la cepa de *H. pylori* en tipo I o II en los pacientes evaluados.

II. RESUMEN

Helicobacter pylori posee la capacidad de colonizar exclusivamente el estómago humano. La infección con este microorganismo puede promover la aparición de múltiples patologías gástricas como gastritis, úlcera gástrica y duodenal, carcinoma del tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) y cáncer gástrico, lo que depende de los factores de virulencia que presenta la bacteria infectante (Torres y Rodríguez, 2008; Cueva, 2010). Entre ellos, los más importantes son la proteína CagA, la citotoxina VacA y otros que fueron descritos posteriormente como la proteína BabA (Justin, Schwartz & Lee-Ann, 2006).

El objetivo del presente estudio fue determinar la respuesta inmunológica a proteínas recombinantes de *H. pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años. Se identificaron anticuerpos de tipo IgG e IgA específicos, y de acuerdo a la respuesta obtenida se determinó si la infección es causada por la cepa tipo I asociada como cancerígena o tipo II de *H. pylori*. Para ello se utilizó la prueba recomLine® *Helicobacter* IgG e IgA, que es un inmunoblot con distribución lineal que permite la identificación de anticuerpos específicos frente a cada uno de diferentes antígenos de *Helicobacter pylori* (Mikrogen Diagnostik, 2013).

Se evaluaron un total de 60 pacientes, de los cuales 14 (23.33%) presentaron un resultado positivo para anticuerpos IgG, mientras que únicamente 5 (8.33%) presentaron anticuerpos IgA contra *H. pylori*. Los antígenos recombinantes más frecuentes para ambos tipos de anticuerpos fueron CagA con 12 pacientes positivos (20.69%) para IgG y 4 (6.90%) para IgA, GroEL y HcpC con 4 pacientes positivos para cada una. Las proteínas recombinantes menos frecuentes fueron VacA y UreA.

Se encontraron 12 pacientes con infección por cepa de *H. pylori* tipo I y 2 con infección tipo II. Según el análisis estadístico realizado no se encontró significancia

estadística entre la positividad a *H. pylori* en biopsia gástrica y la presencia de cepa tipo I de *H. pylori* ($p=0.2550$).

En este estudio, 4 pacientes (6.67%) refirieron tener algún familiar que ha sido diagnosticado con carcinoma gástrico. Únicamente uno de ellos presentó infección de tipo I, con antígeno CagA positivo, la cual está asociada a un mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico.

En conclusión, en los pacientes de estudio la cepa de *H. pylori* más frecuente fue la tipo I, siendo el antígeno CagA el más reconocido.

Se recomienda continuar con estos estudios a fin de establecer la prevalencia de *H. pylori* tipo I en la población guatemalteca.

III. ANTECEDENTES

A. Historia

De acuerdo con Strauss-Ayali y Simpson (1999), antes del siglo XIX y hasta finales del mismo, se tuvo la creencia de que el estómago era un órgano estéril. Sin embargo, en 1881 se detectó por primera vez la presencia en este órgano de bacterias espirales en animales domésticos. Estos hallazgos terminaron de confirmarse a inicios del siglo XX con otros estudios.

A partir de entonces, las bacterias observadas en el estómago humano fueron consideradas como crecimiento excesivo bacteriano o como contaminantes de alimentos. Sobre el particular, Kusters, Van Vliet y Kuipers (2006) señalan que Warren y Marshall realizaron experimentos hasta principios de 1980, e identificaron una bacteria en 58 de 100 pacientes consecutivos, logrando un cultivo exitoso y demostrando la erradicación de la infección con bismuto y amoxicilina o tinidazol.

Warren y Marshall nombraron inicialmente a esta bacteria *Campylobacter*, *Campylobacter* gástrico, *Campylobacter pyloridis* y *Campylobacter pylori*. No obstante, en 1989 se demostró que esta especie era distinta a las señaladas, por lo que fue reclasificada dentro de su propio género como *H. pylori*. El nombre "pylori" procede del término latino *pylorus*, que significa "guardabarrera" y hace referencia al píloro como separación entre estómago y duodeno (Kusters, Van Vliet & Kuipers, 2006; Somodevilla, 2012).

Pronto se hizo evidente que esta bacteria causa gastritis crónica activa, que en algunas personas puede progresar a otras condiciones, en particular, úlcera péptica, adenocarcinoma distal gástrico y linfoma gástrico (Kusters, et al, 2006).

B. Características Generales de *Helicobacter pylori*

1. Hábitat

H. pylori es una bacteria que posee la capacidad única de poder persistir dentro del ambiente extremadamente ácido del estómago, una barrera efectiva para impedir la colonización gástrica por la mayoría de las especies bacterianas. Esta bacteria es capaz de sobrevivir a la acidez gástrica por la acción específica de la enzima ureasa, la cual metaboliza la urea del lumen gástrico generando amonio, lo que eleva el pH a su alrededor y le permite sobrevivir (Macenlle, 2007; Espino, 2010).

Estos microorganismos se encuentran primordialmente libres en el moco gástrico, localizándose también en la superficie de las células epiteliales o en el intersticio celular. Este microorganismo puede atravesar las uniones intercelulares, probablemente por la expresión de moléculas que ligan proteínas séricas y de la matriz extracelular del hospedero y se considera rara la invasión celular. (Chan, Hui, Leung & Thomas, 1992; Sahay & Axon, 1996; Cover, 1997).

2. Morfología y estructura de la pared celular

H. pylori es un bacilo Gram negativo corto, espiral o en forma de S, con una longitud de 2.5 a 4.0 μm y de 0.5 a 1.0 μm de ancho. Cultivado *in vitro* se observa menos espiral, asemejándose más a un bacilo curvado, aunque en ocasiones aparece con otras morfologías (rectas, esféricas, en "U" o en "V"). Goodwin, Armstrong & Peters (1989) señalan que *H. pylori* posee múltiples flagelos en uno de sus polos (de 5 a 6), lo que lo hace altamente móvil. Es un microorganismo de crecimiento lento (Macenlle, 2007).

Estudios acerca de la superficie externa de *H. pylori* usando ácido tánico, han revelado que presenta una estructura de glicocálix de unos 40 nanómetros (nm) de grosor y pilli de 2 nm, que permite la adherencia a las microvellosidades del epitelio gástrico (Macenlle, 2007).

C. Factores de patogenicidad

H. pylori posee la capacidad de colonizar exclusivamente el estómago humano. La infección con este microorganismo promueve la aparición de múltiples patologías gástricas como gastritis, úlcera gástrica y duodenal, carcinoma del tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) y cáncer gástrico (Torres y Rodríguez; Cueva, 2010).

Para lograr sobrevivir en un ambiente tan ácido como es el estómago, la ureasa le permite a *H. pylori* convertir su entorno inmediato en un medio neutro protector. Además, sus flagelos le facilitan penetrar y anidarse bajo la capa de mucus, lo cual es un factor esencial para la colonización de la mucosa. Las adhesinas también colaboran con la colonización y permiten establecer una permanencia de largo plazo condicionando distintas lesiones inflamatorias (Valenzuela, 2004; Ignasi, 2004)

Son varios los factores de virulencia que presenta *H. pylori*; sin embargo, los más importantes son la proteína CagA, la citotoxina VacA y otros que fueron descritos posteriormente como la proteína BabA (Justin, Schwartz & Lee-Ann, 2006).

Aproximadamente desde el año dos mil, numerosos estudios han incrementado considerablemente el conocimiento sobre la función y los mecanismos moleculares de estos factores de virulencia y su influencia en la

inducción de enfermedades gastroduodenales en los humanos (Torres y Rodríguez, 2008).

1. Ureasa

Una de las características más importantes de las cepas de *H. pylori* oxidasa y catalasa positivas, es la presencia de una potente enzima denominada ureasa, la cual protege a la bacteria de los efectos letales del ácido. La ureasa cataliza la hidrólisis de urea en amoníaco y dióxido de carbono (Piñol y Paniagua, 1999; Torres y Rodríguez, 2008).

El amonio es derivado de la unión del amoníaco y el ácido clorhídrico del jugo gástrico. El amonio neutraliza el ácido clorhídrico y permite a *H. pylori* colonizar el tracto gastrointestinal. La concentración del amonio en el estómago de los pacientes infectados es significativamente mayor que en los sujetos no infectados (Piñol y Paniagua, 1999; Olivares & Gisbert, 2006).

El daño histológico sobre la mucosa no es directamente causado por el amonio, sino se debe al ión hidroxilo generado por el equilibrio del amonio con el agua. Este licúa el moco gástrico, haciéndolo más fluido, permitiendo a la bacteria desplazarse más fácilmente y ganar espacios intercelulares. En esta capa de moco funciona uno de los mecanismos que protegen la mucosa del propio ácido, lo cual se conoce como el gradiente de bicarbonato, pero al licuarse el moco se pierde parte de esa protección. Al perder este medio protector se está más susceptible a generar una gastritis (Rivas y Hernández, 2000; Cueva, 2010).

El amoníaco es capaz de modificar la secreción gástrica al estimular la secreción de gastrina e incrementar la producción de ácido clorhídrico que alteran la barrera mucosa gástrica y con lo cual se favorece la retrodifusión de hidrogeniones y se provoca más daño hístico. Se ha reportado que el amoníaco

causa daño a la mucosa porque altera el funcionamiento mitocondrial, la respiración celular y el metabolismo energético, con lo cual disminuye la vitalidad de las células, se produce su muerte y por consiguiente necrosis del tejido (Piñol y Paniagua, 1999).

La enzima ureasa se conforma en total por doce subunidades, seis de UreA y seis de UreB. Cabe mencionar que el mayor daño de la ureasa hacia el hospedero se debe a su gran capacidad inmunógena. Además que esta podría actuar como un factor quimiotáctico, activando a los macrófagos a producir citocinas proinflamatorias (Torres y Rodríguez, 2008; Ignasi, 2004). Piñol y Paniagua (1999) indican que el amoníaco y otras sustancias liberadas por las bacterias son nocivas debido a su capacidad de reducir la actividad bactericida de las células polimorfonucleares y de los monocitos, al inhibir la acidificación de los lisosomas durante la fagocitosis.

2. Flagelos

H. pylori tiene de 4 a 8 flagelos polares, adaptados al medio ácido que le permiten navegar a través del moco gástrico, un mecanismo esencial para el proceso de colonización (Ramírez y Sánchez, 2009). Los flagelos están recubiertos por una vaina de estructura lipídica, igual que la membrana externa, que parece tener la misión de protegerlos de su degradación por el medio ácido (Paredes, 2012). De esta forma, *H. pylori* se protege del pH ácido, más letal en el lumen y accede a las múltiples ventajas que representa ubicarse cerca de las células epiteliales (Torres y Rodríguez, 2008).

El flagelo está formado por la polimerización de dos subunidades proteicas diferentes, las flagelinas A y B (Fla-A y B). Su papel en el establecimiento de la infección ha sido contundentemente demostrado, puesto que al construir cepas con mutaciones en los genes *flaA* y *flaB*, estas fueron incapaces de colonizar

eficientemente la cavidad estomacal en el modelo animal del cerdo gnotóbico (Torres y Rodríguez, 2008).

Dicha deficiencia es reafirmada por Bauer & Meyer (2011) al señalar que mutantes defectuosos nulos en la producción de flagelos son incapaces de colonizar al cerdo gnotóbico, aunque se observa un crecimiento normal *in vitro*.

3. Proteína de adhesión a los antígenos de Lewis B (BabA)

Es una proteína de membrana que permite a la bacteria *H. pylori* adherirse a la célula gástrica, mediante la interacción con los antígenos de Lewis B fucosilados que forman parte del glicocáliz de la membrana del epitelio gástrico. Esa adhesión a la mucosa gástrica acentúa la inflamación severa y atrofia (Barragán, Gutiérrez y Castiblanco, 2015).

La proteína BabA presenta un peso de 78 kDa aproximadamente y constituye uno de los principales factores de adhesión de *H. pylori* (Torres y Rodríguez, 2008). La adhesina BabA es codificada por los genes *BabA1* y *BabA2*, donde el único funcional es este último. Por tanto, el gen *BabA2* podría ser un marcador molecular útil para identificar pacientes con mayor riesgo de presentar patologías severas asociadas a infecciones por *H. pylori* (Yu, Leung, Go, Cjhan, To, Ng et al, 2002).

El principal papel patogénico de la proteína BabA2 consiste en el efecto sinérgico que presenta con otros factores de patogenia (Torres y Rodríguez, 2008), tales como *CagA* y *VacA*. La indicada proteína optimiza la acción de estos últimos, lo que da lugar a una mayor alteración del tejido epitelial gástrico. En estudios de pacientes con desórdenes gastroduodenales se ha establecido la correlación de la presencia del alelo patogénico (*BabA2*) con el desarrollo de adenocarcinoma gástrico, úlcera péptica y gastritis crónica (Olivares & Gisbert, 2006).

4. Citotoxinas y toxinas vacuolizantes

La gastritis crónica se asocia con un aumento de la presencia de *H. pylori* citotoxigénico, que evoluciona hacia una metaplasia intestinal, lesión considerada como precancerosa. La capacidad de producir citotoxinas y toxinas vacuolizantes difiere en los tipos de cepas reconocidos actualmente, lo que permite clasificarlas en dos grupos (Piñol y Paniagua, 1999).

El Tipo I expresa la citotoxina vacuolizante (VacA) y el antígeno asociado a la citotoxina (CagA), muestra una mayor agresividad, por lo que predispone al paciente a desarrollar úlcera péptica gastroduodenal. El Tipo II no expresa los marcadores VacA y CagA, más bien se asocia con la existencia de gastritis crónica sin ulceración (Rosales, Navarro, Acevedo y Valdés, 2014).

a. Citotoxina vacuolizante (VacA)

H. pylori posee la habilidad de producir la citotoxina vacuolizante VacA, que es el factor de virulencia responsable de la formación de vacuolas en las células epiteliales gástricas (López, Delgado, Jaramillo, Amézquita, Parra y Echeverry, 2009). Estas vacuolas alteran las funciones normales en la vía endocítica, dado que facilita la liberación de hidrolasas al medio extracelular, lo que a su vez afecta la integridad del epitelio gástrico y la degradación de ligandos exógenos (González y Rodríguez, 2011).

Entre el 50 y el 65% de las cepas de *H. pylori* producen esta proteína citotóxica. Sin embargo, se ha observado que la infección por cepas de *H. pylori* que producen la toxina es más frecuente en pacientes con úlcera péptica y cáncer gástrico que en pacientes sólo con gastritis (Olivares y Gisbert, 2006).

La proteína VacA de aproximadamente 95kDa, es codificada por el gen *vacA* y produce diferentes efectos que pueden contribuir a la persistencia de *H. pylori* en el nicho gástrico (López et al, 2009).

Trujillo, Martínez y Bravo (2014) señalan que este gen está formado por dos regiones. La región s codifica al péptido señal y presenta dos variantes alélicas, s1 y s2. López y otros (2009) refieren que el tipo s1 es completamente activo, mientras que el tipo s2 tiene un extremo amino corto que bloquea la formación de vacuolas y disminuye la formación de poros en las membranas eucariotas. Las cepas que expresan el alelo s1 se asocian con úlcera péptica, mayor inflamación gástrica y mayor producción de citotoxina, comparadas con cepas s2 (Espino, 2010).

La otra región es la m, o región media que presenta las variantes alélicas m1 y m2. El alelo m1 tiene la actividad citotóxica, mientras que el alelo m2 carece de ésta (López et al, 2009).

La diversidad en la secuencia afecta la actividad vacuolizante de la citotoxina. Por ejemplo, las cepas *vacA* s1m1 están asociadas a una enfermedad más severa, como el carcinoma gástrico (Jang, Jones, Olsen, Joo, Chung, Cha, et al, 2010).

La toxina VacA forma poros en la membrana celular de células epiteliales, facilitando la salida de urea, que al ser hidrolizada por la ureasa de *H. pylori*, permite la sobrevivencia de la bacteria en el ambiente gástrico (Yáñez, 2013). López et al (2009) sostienen que esta proteína también favorece la labilidad de las uniones epiteliales, lo que hace posible el paso de los nutrientes a través de la barrera mucosa en beneficio de la bacteria. Asimismo, sugieren que VacA tiene efecto en la supresión de la respuesta inmune específica mediante la inhibición de la maduración de los fagosomas en los macrófagos, la inhibición selectiva de la presentación de los antígenos a las células T y el bloqueo de la proliferación de dichas células, entre otros efectos. Además, Cervantes y García (2015) afirman que

VacA es el blanco de la membrana mitocondrial en donde induce la liberación del citocromo C, lo cual inicia la apoptosis.

b. Proteína codificada por el gen A asociado a la citotoxina (CagA)

La proteína CagA es codificada por el gen *cagA*, incluido un segmento de unas 40 kilobases (Kb) conocido como isla de patogenicidad Cag. Esta región codifica múltiples proteínas con la capacidad de inducir la expresión de la interleucina 8 (IL-8) en las células epiteliales, por lo que es altamente probable que la región Cag contribuya a la virulencia de *H. pylori* (Naranjo, Suarez, Bayona, Gallego, Urbina y Rojas, 2012).

La IL-8 atrae neutrófilos que migran desde los capilares y emergen entre las células epiteliales, pudiendo participar en la producción de úlcera péptica a través de la liberación de diversas sustancias. Las cepas con esta isla también inducen la síntesis de metaloproteinasas que participan en el proceso de degradación y remodelación de la mucosa gástrica (Macenlle, 2007).

González y Rodríguez (2011) afirman que CagA activa los mecanismos de señalización de factores de crecimiento que pueden provocar un desarrollo celular anormal, caracterizado por reordenamiento del citoesqueleto celular, una excesiva proliferación, elongación y motilidad de las células epiteliales, además de promover la apoptosis. Este aumenta considerablemente la posibilidad de que ocurran mutaciones que promuevan la aparición de células tumorales.

Por otra parte, Yañez (2013) enfatiza la importancia de la proteína (CagA), debido a que es capaz de generar fuerte actividad pro-inflamatoria, induciendo lesiones precancerosas que pueden desencadenar en cáncer gástrico. La proteína CagA también puede afectar la integridad del epitelio gástrico mediante la alteración de las uniones estrechas, entre las células epiteliales. La acción de la proteína CagA

es sumamente nociva, pues afecta la morfología de las células del epitelio, así como su función como barrera de protección; además, modifica la polarización de las células epiteliales, ocasionando la disfunción de disímiles mecanismos de transporte y señalización (Torres y Rodríguez, 2008).

5. Otros factores de virulencia

Pan y colaboradores (2014) se refieren a GroEL como una proteína perteneciente a la familia chaperona, requerida para el correcto plegamiento de muchas proteínas en las bacterias. Señalan que GroEL se asocia con la adhesión de *H. pylori* a las células epiteliales gástricas y la inducción de respuestas inflamatorias. Además, mencionan que GroEL es un predictor independiente para la progresión de las lesiones gástricas. Se ha descrito que tales anticuerpos de reacción cruzada podrían contribuir a la respuesta inflamatoria y por lo tanto una patología gástrica más severa. Adicionalmente, Gao et al (2009) indican que se ha reportado que GroEL puede desempeñar un papel en la homeostasis gastrointestinal debido a la capacidad de unirse a componentes de la mucosa gástrica y adherir a *H. pylori*.

La Gamma Glutamil Transpeptidasa (gGT) es un factor de virulencia que convierte la glutamina en glutamato y amoniaco, y el glutatión en glutamato y cisteinilglicina. Este factor puede producir el consumo de glutamina y glutatión en las células del hospedero, así como amonio y especies reactivas de oxígeno. Dichos productos inducen la detención del ciclo celular, apoptosis y necrosis de las células epiteliales gástricas. Esta enzima también induce tolerancia inmunológica a través de la inhibición de la inmunidad mediada por células T y la diferenciación de células dendríticas (Ricci, Giannouli, Romano & Zarrilli, 2014).

Según lo indican Pan y colaboradores (2014), la seropositividad a gGT se asocia inversamente con la presencia de lesiones gástricas preneoplásicas. Indican

que podría deberse a que los anticuerpos contra gGT interfieren con los efectos de gGT y así disminuyen el daño epitelial que causa; no obstante, se necesitan más estudios para confirmar estos hallazgos.

Las proteínas del helicobacter ricas en cisteína (Hcp) constituyen una de las más grandes familias de proteínas que son específicas para proteobacteria del subgrupo delta/epsilon. Estas son nombradas por letras, basándose en secuencias genéticas (A, B, C, etc.). La mayoría de las proteínas pertenecientes a esta familia hasta ahora sólo han sido reconocidas a nivel de genoma (Mittl, Luthy, Reinhardt & Joller, 2003).

Gao y colaboradores (2009) encontraron que las funciones biológicas de HcpC no están totalmente claras, aunque si refieren que HcpA está asociado en la liberación de citosinas que inician una respuesta inflamatoria. Ello apoyaría un papel patogénico de HcpC en la infección por *H. pylori*.

El aumento de títulos de anticuerpos contra HcpC han sido detectados principalmente en los sueros de pacientes que sufren de cáncer gástrico. Se han detectado inmunoglobulinas G (IgG) contra estas proteínas en pacientes infectados por *H. pylori*, lo que demuestra que estas proteínas se expresan bajo condiciones nativas y que son reconocidas por el sistema inmune del hospedero. Dado que estas proteínas son específicas para *H. pylori*, las proteínas Hcp podrían ser dianas útiles para el diagnóstico de infecciones por esta bacteria (Mittl et al, 2003).

En cuanto a la seropositividad para CagA, VacA, GroEL, UreA, HcpC y gGt el estudio realizado por Pan et al. (2014) mostró que el riesgo de progresión fue más pronunciado en sujetos que presentan respuesta inmunológica a más de tres de estas proteínas. Ese resultado sugirió que una alta puntuación de prueba con más de tres antígenos positivos puede indicar la progresión de las lesiones gástricas y

de este modo facilitar la decisión sobre el tratamiento de estas lesiones si están relacionadas con el *H. pylori*.

En el estudio de referencia también se observó que algunos pacientes con lesiones gástricas avanzadas mostraron respuestas séricas más bajas en comparación con los pacientes con otra patología gástrica. Esto se puede deber a que en estos pacientes la infección se resolvió durante la progresión de lesiones gástricas, y por lo tanto se redujo la seropositividad (Pan et al, 2014).

D. Epidemiología de la infección

1. Epidemiología a nivel mundial

H. pylori es considerada una bacteria común, se estima que aproximadamente el 50% de la población mundial presenta la infección; siendo el ser humano el principal reservorio. La prevalencia de la infección varía ampliamente según el área geográfica, edad, raza, etnia y nivel socioeconómico (Morris, 2000).

Al parecer la infección es más frecuente en países en vías de desarrollo que en países desarrollados, observándose prevalencias en Latinoamérica y África de 70-90% mientras que en Estados Unidos y Canadá de 30%; siendo la mínima en Australia con 20% (Organización Mundial de Gastroenterología, 2010).

En las regiones en vías de desarrollo la incidencia de la infección durante la infancia es elevada mientras que en los países desarrollados la prevalencia es baja en la niñez, pero aumenta progresivamente a partir de la cuarta o quinta década de vida (Pueyo, 1998).

Se considera que la infección es adquirida durante la infancia y que entre las edades de 20 a 40 años la mitad de la población mundial tiene en sus vías digestivas

esta bacteria, aunque solo entre 10 a 20 % de los infectados desarrollan úlcera duodenal o gástrica. Por lo tanto, la infección por *H. pylori* es un factor necesario, pero no suficiente para el desarrollo de la úlcera. Otros factores involucrados son los genes de virulencia bacteriana, el estado socioeconómico, la dieta y la genética del hospedero como son los antígenos leucocitarios humanos (HLA), antígenos eritrocitarios y fisiología del ácido gástrico (Gamboa, 2003).

Por otro lado, en el caso de las úlceras pépticas, la prevalencia en países occidentales desarrollados es elevada ya que un 5-15% de las personas la padecerán en algún momento de su vida. En la mayor parte de los estudios es levemente más frecuente en varones. La incidencia anual oscila entre un 0.04% y el 2.4% para la úlcera duodenal y entre un 0.02% y un 0.34% para la úlcera gástrica. La úlcera duodenal se diagnostica hacia los 40 años por término medio y es más frecuente en varones, aunque en algunos estudios se ha igualado en ambos sexos. La úlcera gástrica se suele diagnosticar más tarde, por término medio hacia los 55 años y afecta por igual a ambos sexos (Truyols, Martínez y García, sf).

2. Epidemiología en Guatemala

Oregel (2002) encontró una frecuencia de 33.15% de inmunoglobulina IgG contra *H. pylori*, en 184 niños menores de 3 años de baja condición socioeconómica.

En 2009, buscando la asociación entre la presencia de *H. pylori* y patologías gástricas detectadas por endoscopía realizado en 1468 adultos, se encontró que el 53% de los pacientes que se sometieron a una endoscopía presentaron un resultado positivo para *H. pylori* (Alonzo et al, 2009). Así mismo, en 2010 analizando la prevalencia de la infección periodontal por *H. pylori* en 34 parejas niño-madre y 38 adultos dispépticos dio como resultado que en los niños es de 47% y para las madres de 61% mientras que la prevalencia para adultos dispépticos fue de 58% (Schneider, 2010).

Ese mismo año, un estudio reportó que en Guatemala, el 51% de la población comprendida entre las edades de 5 a 10 años presentan infección con *H. pylori*, mientras que la población adulta tiene una prevalencia del 65% (Hunt et al, 2011).

Matta (2012), en un estudio que incluyó 178 pacientes con síntomas de dispepsia que acudieron al Instituto Nacional de Cancerología (INCAN) a realizarse una endoscopia; demostró los cambios pre-tratamiento y post-tratamiento de la frecuencia de IgG cagA, IgM, IgA y antígeno en heces contra *H. pylori*. La frecuencia de anticuerpos IgG específicos contra el antígeno cagA pre-tratamiento fueron de 56.5% y los de post-tratamiento fueron de 53.1%. Los anticuerpos IgM aumentaron de 43.3% a 60.3%, los de IgA disminuyeron de 66.3% a 57.1%, la detección de antígeno en heces disminuyó de 36.7% a 17.7%. Los resultados demostraron que la única prueba de diagnóstico que presentó un cambio estadísticamente significativo luego del tratamiento, por medio de la prueba X^2 de McNemar, fue la detección de antígeno fecal la cual disminuyó significativamente. Por último, después del tratamiento por cinco meses se observó un incremento de pacientes asintomáticos de 1.1% a 31%.

Hidalgo y colaboradores realizaron un estudio en 118 niños menores de 3 años, incluyendo recién nacidos, encontrando una frecuencia de 41.52% de anticuerpos IgG contra *H. pylori*; así mismo en 215 niños de 3 a 10 años se identificó una prevalencia de 48.37%. Se observó un incremento significativo de la frecuencia para los niños menores de 3 años al comparar los datos obtenidos por Oregel en el 2002 en una población similar, con una frecuencia de 33.15%, lo que podría sugerir que la infección puede adquirirse en etapas más tempranas comparadas con lo descrito hace diez años (Hidalgo, Martínez, y Medina, 2013).

Luarca et al (2015) encontraron que el 35% de 40 niños entre los 3 y 12 años de edad, infectados por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), presentaron un resultado positivo para la infección por *H. pylori* utilizando la detección de

antígeno en heces por inmunocromatografía. El rango de edad con más casos positivos fue el comprendido entre los 7 y 8 años, con un 66.7% y la mayor incidencia se observó en varones, correspondiendo al 71.4% de los casos.

E. Factores de riesgo de la infección

El estado socioeconómico es uno de los determinantes más importantes para el desarrollo de la infección por *H. pylori*, especialmente durante la infancia, donde las clases más pobres demuestran una mayor prevalencia.

La infección ocurre con mayor frecuencia en individuos que viven en ambientes de hacinamiento. Así mismo un aumento en la prevalencia de la infección ha sido asociado con el incremento en el consumo de alimentos de vendedores ambulantes, lo cual apoya el rol de los alimentos preparados bajo condiciones insalubres, como un probable factor de riesgo en la transmisión de *H. pylori* (Palomino & Tomé, 2012).

F. Transmisión

La ruta de transmisión de la bacteria es controversial, se han propuesto principalmente tres vías; la iatrogénica, la oro-oral, puesto que se ha podido identificar la presencia de *H. pylori* en la placa dental y la vía oro-fecal, ya que se ha logrado aislar la bacteria a partir de deposiciones de sujetos infectados (González, 2007).

1. Transmisión oral-oral

La cavidad oral se ha considerado como un reservorio apropiado para la subsistencia de *H. pylori*, por lo tanto se ha sugerido que la transmisión oral-oral

pueda producirse con besos u otro tipo de contacto con saliva infectada (Palomino y Tomé, 2012).

La base de esta propuesta es el hallazgo de *H. pylori* en placa dental, en saliva o bien la identificación de su genoma en esta misma. También se apoya en las reacciones positivas de ureasa en muestras de saliva (Rivas y Hernández, 2000).

2. Transmisión feco-oral

Otra posible vía es la feco-oral. Los argumentos para esta ruta de transmisión están basados en estudios que muestran que *H. pylori* puede ser cultivada a partir de heces humanas. Esta bacteria ha sido aislada de las heces de niños infectados, sin embargo, el aislamiento a partir de heces de adultos ha sido raro. La identificación del genoma de esta bacteria en agua potable, tanto en países en desarrollo como en países industrializados, apoya la transmisión fecal de este agente. Asimismo, el agua y los alimentos contaminados con heces pueden constituir una fuente de infección (Palomino & Tomé, 2012).

3. Transmisión iatrogénica

La vía iatrogénica ocurre cuando los tubos o endoscopios que estuvieron en contacto con la mucosa gástrica de un individuo se utilizan en otro paciente (Van Duynhoven & De Jonge, 2001).

Debido a la detección de *H. pylori* en heces, secreciones orales y jugos gástricos, la endoscopía puede ser una ruta de transmisión para algunos individuos. La infección con *H. pylori* puede ocurrir tanto en pacientes como en miembros del personal médico. En los primeros por el inadvertido uso de equipos descontaminados inadecuadamente y en los segundos por el contacto con

secreciones infectadas de los pacientes (Vaira, Holton, Ricci, Menegatti, Gatta, Berardi et al, 2001).

G. Signos y síntomas

H. pylori ha sido ampliamente relacionado con afecciones gastrointestinales crónicas, como úlceras duodenales y gástricas, cáncer gástrico, linfoma gástrico en adultos. La infección en niños, cuando se establece, produce manifestaciones clínicas mínimas como malestar ligero, febrículas asociadas a diarrea crónica y retraso en el crecimiento, parasitismo, gastritis, úlcera, estomatitis y glositis. Debido a la disminución del ácido gástrico, la persona se encontrará más expuesta a sobreinfección por salmonella y/o cólera, incluso a varios tipos de virus. En niños pequeños, la infección por *H. pylori* se ha calificado como factor contribuyente a enteropatía con pérdida proteica, diarrea crónica, talla baja, gastritis linfoproliferativa y probable asociación a alergias alimentarias (De Pardo, 2013).

H. Asociación de *H. pylori* con la enfermedad ulcerosa péptica

Diversos estudios han descrito que alrededor del 10% de la población general presentará, en algún momento de su vida, una úlcera gástrica o duodenal siendo una causa frecuente de consulta a nivel primario y secundario. El 95% de las úlceras duodenales y el 70% de las úlceras gástricas están asociadas con *H. pylori*. La prevalencia de infección por *H. pylori* en los países en desarrollo es bastante alta, por esta razón la úlcera péptica es una enfermedad de alto impacto en estos países. (Ministerio de Salud, 2013; Ford et al, 2011).

La clínica de la úlcera péptica es amplia y se caracteriza por la presencia de dispepsia en el 10% de las personas y más clásicamente por el síndrome ulceroso (dolor epigástrico de presentación cíclica). Estos síntomas se asocian con *H. pylori*

debido a la liberación de sustancias inflamatorias asociadas con la infección (Ministerio de Salud, 2013; Gonzales y Concepción, 2002).

La úlcera péptica es una lesión que penetra la capa mucosa gástrica, que se extiende por lo menos hasta la capa muscular del estómago o duodeno y se localiza siempre en regiones del tracto digestivo expuestas a la acción del ácido clorhídrico. Precisa como sustrato la existencia de mucosa gástrica o de áreas de metaplasia gástrica en otra localización diferente a la cavidad gástrica. Cuando se trata del duodeno las lesiones suelen situarse en la primera porción del mismo (Camacho, 2014; Sáez, 2008).

Cotillo (2004) afirma que cuando la bacteria coloniza el estómago, daña la mucosa superficial e induce infiltración de la misma por leucocitos polimorfonucleares y mononucleares. Cuando la gastritis crónica afecta el antro del estómago, lesiona las células D que producen somatostatina, dando lugar a una hipergastrinemia. Esta condición incrementa la secreción de ácido, cuyo exceso incontrolado en el duodeno induce la aparición de metaplasia gástrica en la mucosa de la zona.

En lo referente a la relación causal de la infección por *H. pylori* con la úlcera péptica, Gamboa (2003) indica que esta se apoya en dos argumentos principales. En primer lugar, por estudios epidemiológicos que demuestran la alta prevalencia de la infección en enfermos con úlcera péptica y en segundo lugar, por estudios clínicos que evidencian la drástica disminución de las recidivas y complicaciones tras la erradicación del microorganismo.

En la actualidad, los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad ulcerosa péptica se definen en el orden siguiente:

1. Infección por *H. pylori*.
 2. Tabaquismo.
 3. Consumo frecuente de bebidas alcohólicas.
 4. Consumo de antiinflamatorios no esteroideos.
 5. Elevado nivel de estrés.
 6. Tener parientes directos con historia de enfermedad ulcerosa.
 7. Insuficiencia renal.
 8. Cirrosis hepática.
- (Gamboa, 2003).

Por último, Gamboa, (2003) señala que la enfermedad ulcerosa es el resultado de un desequilibrio entre factores agresivos (ácido gástrico, pepsina, antiinflamatorios no esteroideos, ácido acetil-salicílico, tóxicos, estrés emocional y *H. pylori*) y los denominados factores causales endógenos, los cuales garantizan la protección de la barrera mucosa. Estos últimos se dividen en:

- Factores preepiteliales: involucra la secreción de mucus y bicarbonato.
- Factores epiteliales: barrera epitelial formada por las células epiteliales superficiales.
- Factores post-epiteliales: incluyen el flujo sanguíneo de la mucosa, las prostaglandinas, el factor de crecimiento epidérmico (FCE) y componentes neurológicos y musculares.
- Secreción anormal de ácido clorhídrico.

I. Asociación de *H. pylori* con cáncer gástrico

Aproximadamente entre el 90-95% de los cánceres del estómago son adenocarcinomas. Cuando se emplean los términos cáncer de estómago o cáncer gástrico casi siempre se refieren a un adenocarcinoma. Estos cánceres se originan en las células que forman la capa más interna del estómago (conocida como la mucosa) (American Cancer Society, 2015).

De acuerdo con la Sociedad Americana Contra El Cáncer, para el año 2015 las estadísticas para este tipo de cáncer en los Estados Unidos de América son las siguientes:

- Aproximadamente 24,590 casos de cáncer de estómago (15,540 hombres y 9,050 mujeres).
- Aproximadamente 10,720 personas (6,500 hombres y 4,220 mujeres) morirán a causa de este cáncer.

Hasta finales de la década de los 30, el cáncer de estómago fue la causa principal de muertes por cáncer en los Estados Unidos. No obstante, en la actualidad las muertes ocasionadas por el cáncer de estómago han disminuido notablemente. Algunos médicos creen que el descenso puede estar asociado al uso frecuente de antibióticos para tratar las infecciones, dado que éstos pueden destruir el *H. pylori*, que es una causa importante de cáncer de estómago (American Cancer Society, 2015).

El cáncer gástrico es una enfermedad heterogénea. En su patogénesis interviene una serie de etapas bien definidas: la gastritis atrófica multifocal, seguida de metaplasia intestinal, displasia y finalmente, carcinoma (Cervantes, 2007).

El adenocarcinoma gástrico se clasifica en dos tipos histológicos distintos: intestinal y difuso. El primero predomina en poblaciones de alto riesgo y es más común en personas de edad avanzada. Es precedido por continuos cambios histológicos, tales como gastritis activa, atrofia intestinal, metaplasia y displasia. El tipo difuso es menos común, las lesiones precancerosas no han sido bien definidas y se presenta en poblaciones de menor riesgo, compuesta generalmente por grupos de gente joven (Rivas y Hernández, 2000).

La infección con *H. pylori* se asocia con un 70% de los casos de gastritis crónica activa, 90-95% de las úlceras duodenales y con un 60% de pacientes con

cáncer. Durante, un estudio realizado en múltiples centros que abarcó 17 poblaciones separadas en 13 países europeos, incluyendo a Japón y los Estados Unidos de América, se estableció una significativa asociación entre la infección mediante la detección de anticuerpos IgG contra *H. pylori* y la mortalidad e incidencia por cáncer gástrico. Así también con un riesgo relativo seis veces superior de padecer cáncer en poblaciones con alta prevalencia de la infección, en comparación con poblaciones no infectadas. Por otra parte, las tasas de infección de *H. pylori* y el cáncer gástrico se correlaciona de manera inversa con el nivel socioeconómico y aumentan con la edad, concluyendo que existe una importante asociación entre esta infección y el cáncer gástrico (The Eurogast Study Group, 1992).

J. Tratamiento

El tratamiento de la infección por *H. pylori* consiste en la combinación durante 10 a 14 días de 2 antibióticos como amoxicilina, tetraciclina, metronidazol, o claritromicina, con ranitidina-bismuto, subsalicilato de bismuto o un inhibidor de la bomba de protones (IBP). La supresión ácida por antagonistas de los receptores de histamina tipo 2 o inhibidores de la bomba de protones, alivian los síntomas asociados a la úlcera (dolor abdominal, náuseas, etc.), ayudan a contrarrestar la inflamación de la mucosa y pueden aumentar la eficacia de los antibióticos frente a *H. pylori* en la superficie de la mucosa gástrica (Horn, 2000).

Existen múltiples combinaciones en el tratamiento. Las diferentes sensibilidades según las regiones hacen que el tratamiento de elección pueda variar de una parte del mundo a otra. Las tasas de erradicación están entre 64 y 94%, en función del tratamiento usado. En líneas generales, las pautas con tres fármacos presentan mejores tasas de erradicación que aquellas con dos (Gamboa, 2003).

Si la combinación de un IBP, amoxicilina y claritromicina fracasa, la cuádruple terapia es la más empleada. La cuádruple terapia es la combinación de un IBP, bismuto, tetraciclina y metronidazol. Aunque se ha demostrado que un tratamiento con levofloxacina junto con amoxicilina y un IBP es igual o más eficaz que la cuádruple terapia, con el beneficio de ser más sencillo y mejor tolerado. Finalmente, las terapias basadas en rifabutina combinada con amoxicilina y un IBP han alcanzado resultados prometedores, al ser eficaces incluso en los casos de múltiples fracasos o resistencias antibióticas (Gisbert, 2010).

K. Resistencia al tratamiento

La resistencia del microorganismo y el no cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes, suelen ser las dos causas más frecuentes de fracaso terapéutico (Gamboa, 2003).

En un estudio realizado en el Hospital Universitario, San Ignacio, en Bogotá se encontró que la resistencia del *H. pylori* a metronidazol y a tetraciclina sobrepasan el 85% y a claritromicina era superior al 60% en la población estudiada. El antecedente de consumo previo de antibióticos no permitió predecir una mayor probabilidad de resistencia. Dado que estos antibióticos son los más usados en los esquemas de erradicación del *H. pylori*, se debe evaluar en experimentos clínicos la repercusión de estos hallazgos en la efectividad de los diferentes esquemas de erradicación (Yepes, 2008)

L. Métodos para la detección de la infección

1. Técnicas invasivas

a. Cultivo

Para el diagnóstico de gastritis asociada con *H. pylori*, la tinción histológica y el cultivo de muestras de biopsia han sido considerados las pruebas de referencia (gold standard). Las muestras apropiadas incluyen las biopsias gástricas y duodenales (Koneman, Winn, Allen, Janda, Procop, Schreckenberger, et al, 2008).

La muestra debe colocarse directamente en un medio de transporte como el medio de Stuart para evitar que se deseeque. Las muestras pueden ser refrigeradas hasta 24 horas antes del procesamiento; los tejidos deben macerarse y homogenizarse con suavidad. Las colonias de *H. pylori* pueden requerir de 4 a 7 días de incubación antes de observar colonias pequeñas, translúcidas y circulares. Se identifican de manera presuntiva por la morfología celular típica y los resultados positivos de las pruebas de la oxidasa, la catalasa y la ureasa rápida (Forbes, 2009).

b. Análisis histológico

La observación de microorganismos de forma espiral, en cortes histológicos con diferentes tinciones, es un método sencillo para diagnosticar la infección por *H. pylori*, así como para determinar la densidad de la colonización. En la actualidad se emplean las tinciones con Hematoxilina-Eosina, la de Warthin-Starry con nitrato de plata y la tinción con azul de metileno, aunque esta última ha sido sustituida por la tinción con Giemsa. Los análisis histológicos son importantes no sólo para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, sino fundamentalmente para determinar el nivel de daño en el tejido. Estos estudios brindan información sobre la presencia de infiltrado leucocitario y la gravedad de la gastritis, metaplasia y/o de atrofia en el tejido analizado (Bermúdez, 2008).

c. Prueba rápida de la ureasa

Constituye el método más rápido y práctico para detectar *el H. pylori* en pacientes sometidos a endoscopia. La ureasa producida por el *H. pylori* convierte la urea a amonio y dióxido de carbono, lo que modifica el pH del medio y provoca el cambio de color que define la reacción como positiva (Alba, 2006).

Es de gran sencillez, rapidez y bajo costo. La prueba se realiza a temperatura ambiente, aumentando la sensibilidad si se hace a 37°C o más, para la interpretación del resultado se deben esperar 24 horas (Macenlle, 2007).

La especificidad de esta prueba es alta debido a que el número de bacterias diferentes de *H. pylori* es muy escaso en la cavidad gástrica. Sin embargo, la sensibilidad de la prueba se ve afectada en los pacientes que han recibido tratamiento con antibióticos (tratamiento no erradicador) y en los pacientes tratados con fármacos inhibidores de la bomba de protones (Bermúdez, 2008).

d. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

González (2006) afirma que el diagnóstico molecular de infección por *H. pylori* se basa en la detección de ácido desoxirribonucleico (ADN) del microorganismo en una muestra clínica. Estos ensayos han sido probados tanto en biopsias como en muestras de heces. Se ha comprobado que la sensibilidad y especificidad de las pruebas moleculares en muestras de biopsia gástrica son similares al examen bacteriológico y cultivo. Por otro lado, las pruebas moleculares en muestras de heces presentan una sensibilidad de 90% y una especificidad de 100%; así mismo presentan un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo de 90%. Los ensayos en muestras de heces tienen la ventaja de no ser invasivos, además que pueden concluirse en un día completo. Al no ser invasivos resultan ser una buena opción diagnóstica para pacientes pediátricos.

La principal ventaja del diagnóstico por PCR 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 que facilitan la amplificación de una secuencia nucleotídica, que a su vez es específica para el *H. pylori* (Premoli, 2004).

2. Técnicas no invasivas

- a. Prueba del aliento con urea marcada con un isótopo de carbono no radioactivo: el carbono 13 o 14 (C^{13} - C^{14})

También es conocida como prueba en aire espirado (Breath Test); utiliza C^{13} no radiactivo o C^{14} , que puede ser leído en un contador de centelleo. Se detecta la descomposición de la urea marcada, ingerida por el paciente, por la ureasa del *H. pylori*. La sensibilidad y la especificidad son comparables a la serología, con la ventaja de poder confirmar la erradicación cuatro semanas después de terminada la terapia, sin necesidad de repetir la endoscopia (Alba, 2006).

- b. Pruebas serológicas

La infección por *H. pylori* desencadena una reacción inmunitaria, local y sistémica, cuyo resultado es la formación de anticuerpos contra diferentes antígenos del microorganismo, principalmente inmunoglobulinas de tipo IgG e IgA. Puede determinarse la presencia de los mismos en fluidos corporales tales como sangre o suero y en caso de que se detecten, ha de tenerse en cuenta que no solamente aparecen si hay infección activa, puesto que en caso de que la infección desaparezca, todavía serán detectables durante varios meses, siendo este uno de los inconvenientes de las pruebas serológicas como método diagnóstico (Macenlle, 2007).

En la práctica clínica es suficiente la detección de los anticuerpos de tipo IgG al tratarse de una infección crónica, para lo cual se pueden emplear diferentes técnicas, tales como fijación de complemento, aglutinación al látex, enzimoimmunoanálisis (ELISA) y el inmunoblot, siendo las más utilizadas las dos últimas. Algunos preconizan la detección conjunta de ambos tipos de anticuerpos, IgG e IgA, para aumentar la rentabilidad diagnóstica (Macenlle, 2007).

En el caso de ELISA la sensibilidad y especificidad superan el 90% y la erradicación de la infección se asocia a una lenta pero progresiva caída en los títulos, de modo que la mayoría de las pruebas serán negativas seis meses o un año después de una erradicación efectiva. La reinfección se asocia a una nueva elevación de los títulos (Alba, Toledo y Viana, 2006).

La prueba que se utilizará en este estudio consiste en una prueba serológica comercial llamada recomLine® Helicobacter IgG, IgA de Mikrogen Diagnostik, es una prueba cualitativa para la detección de anticuerpos IgG e IgA contra *H. pylori* en suero o plasma humano.

El recomLine® Helicobacter IgG, IgA es un ensayo inmunológico lineal. Debido a la alineación separada de los antígenos individuales, el principio de la prueba permite la identificación de anticuerpos específicos frente a cada uno de los antígenos de *Helicobacter pylori*, comparado con la prueba ELISA. Mediante la aplicación de los tipos específicos de antígenos se puede diferenciar entre una infección de tipo I y de tipo II. El Tipo I expresa la citotoxina vacuolizante (VacA) y el antígeno asociado a la citotoxina (CagA), lo que predispone al paciente a desarrollar úlcera péptica gastroduodenal. El Tipo II no expresa ninguno de esos marcadores y se asocia más bien con la existencia de gastritis crónica sin ulceración. El recomLine® Helicobacter IgG, IgA es una prueba de confirmación y

puede utilizarse para la clarificación de los resultados de tamizaje. (Mikrogen Diagnostik, 2013; Rosales et al, 2014).

Además de identificar las infecciones de tipo I por medio de CagA y VacA, RecomLine® Helicobacter presenta alta sensibilidad y especificidad para los antígenos recombinantes GroEL, UreA, HcpC y gGT.

Formichella et al (2013) evaluó a 210 pacientes positivos para *H. pylori* por medio de análisis histológico con la prueba recomLine® Helicobacter, encontrando 205 positivos, lo que demostró una sensibilidad de 97.6% y una especificidad de 96.2%. Se encontró que los anticuerpos contra GroEL y CagA fueron los más frecuentes, con 88.1% y 66.2% respectivamente. Seguidos por una frecuencia moderada de los antígenos gGT con 51.9% y HcpC con 47.1%. La frecuencia más baja la presentaron UreA con 28.1% y VacA con 21.4%.

c. Detección de antígenos en heces

La detección de antígenos de *H. pylori* en heces, mediante técnicas inmunoenzimáticas, se ha empleado para el diagnóstico inicial de la bacteria y para confirmar la erradicación de la misma después del tratamiento. Esta técnica tiene la ventaja de ser totalmente no invasiva y por tanto muy útil para el diagnóstico de la infección en pacientes de cualquier edad, sobre todo en niños (Bermúdez, 2008).

IV. JUSTIFICACIÓN

Helicobacter pylori se ha encontrado en la mitad de la población en todo el mundo. Su prevalencia es altamente variable con relación a la geografía, etnia, edad y factores socioeconómicos, es alta en países en vías de desarrollo y baja en países desarrollados (Hunt et al, 2011).

Guatemala es un país en vías de desarrollo, y los estudios han demostrado que *H. pylori* presenta una alta prevalencia en los diferentes estratos de la población. Así, Hunt et al. (2011) indican que en Guatemala la prevalencia de *H. pylori* en niños de 5 a 10 años es de 51%, en tanto que en adultos es del 65%.

Es importante mencionar que existen dos tipos de cepas de *H. pylori* reconocidos actualmente. El tipo I es más agresivo debido a que expresa la citotoxina vacuolizante (VacA) y el antígeno asociado a la citotoxina (CagA), los cuales predisponen a patologías más graves como la úlcera péptica gastroduodenal y en casos más avanzados el desarrollo del carcinoma gástrico. El Tipo II se asocia con gastritis crónica sin ulceración debido a que no expresa los marcadores VacA y CagA (Rosales, Navarro, Acevedo y Valdés, 2014).

En un estudio realizado en Guatemala por Hernández en el 2002, se evaluó la relación del cáncer gástrico con la infección por *H. pylori*, y se determinó el patrón genético de las cepas aisladas en estos pacientes, encontrando que el 57.1% de los pacientes con cáncer gástrico presentaron resultados positivos para *H. pylori* y que el 100% de las cepas de estos pacientes presentaron el factor de virulencia *cagA* y *vacA*. La combinación alélica de *vacA* presente en los pacientes fue s1/m1, las cuales están asociadas a una enfermedad más severa, como el carcinoma gástrico (Jang et al, 2010).

Es importante detectar la respuesta antigénica a los diferentes factores de virulencia, para asociar las patologías presentes en Guatemala con el tipo de cepa I y II, ya que estos determinan el pronóstico de los pacientes infectados. Por esta razón, en este estudio se determinó la prevalencia de cada tipo de cepa y los factores de virulencia más frecuentes en los pacientes estudiados. También se estableció la asociación entre una biopsia positiva para *H. pylori* con una infección de tipo I, la cual presenta riesgo de desarrollar cáncer gástrico. Este tipo de estudios es de gran utilidad debido a que Guatemala es un país con alta prevalencia de la enfermedad.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Determinar la respuesta inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años.

B. Objetivos Específicos

- Identificar el reconocimiento antigénico específico de los anticuerpos IgG e IgA contra *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años.
- Identificar el tipo de infección (tipo I o II) en pacientes dispépticos menores de 18 años con base en el reconocimiento antigénico observado.
- Establecer el riesgo que tiene un paciente con infección de tipo I, de desarrollar cáncer gástrico a largo plazo si estos no son tratados oportunamente.

VI. HIPÓTESIS

El presente estudio es de tipo descriptivo, por lo tanto no incluye hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Pacientes dispépticos menores de 18 años.

B. Muestra

60 pacientes dispépticos menores de 18 años, que cumplieron los criterios de inclusión:

1. Criterios de Inclusión

- Pacientes menores de 18 años.
- No estar bajo tratamiento con antibiótico
- Pacientes sometidos a endoscopia y con diagnóstico de *H. pylori* en biopsia.
- Ser voluntarios.
- Firmar consentimiento informado.

2. Criterios de exclusión

- Pacientes en tratamiento con antibióticos al menos durante dos semanas antes.
- Alergia a la lactosa.

C. Recursos

1. Humanos

a. Investigadores

Glenda Berena Tello Orizabal

Vanesa Iris Johanna Wannan Gramajo

b. Asesores

Doctora Vivian Lucrecia Matta Ríos de García
Licenciada Karla Josefina Lange Cruz

c. Asesor Estadístico

Doctor Jorge Luis de León Arana

d. Colaborador

Doctora Ana Carolina Ortiz López de Wyss

2. Institucionales

- a. Unidad de Inmunopatología de Enfermedades Tropicales, Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- b. Laboratorio Microbiológico de Referencia (LAMIR).
- c. Unidad de Estadística y Biométrica.

3. Físicos

a. Materiales

- Agua desionizada (calidad alta)
- Pinzas de plástico
- Probetas graduadas de 50 mL y 1000 mL
- Micro pipetas con puntas de uso único, 20 μ L y 1000 μ L
- Pipeta de 10 mL
- Puntas para pipetas
- Papel absorbente
- Tubos vacutainer sin aditivo (tapón rojo) de 5 mL
- Guantes

- Gradillas
 - Hielera para transporte de muestras
 - Bolsas rojas para descarte de desechos bioinfecciosos
 - Bolsa negra para desechos comunes
 - Bolsas blancas para desechos especiales
 - Descartadores de punzocortantes
 - Botella de lavado o un sistema de lavado automático
 - Hielo o refrigerante
 - Marcador indeleble
 - Lapiceros
 - Hoja de registro de pacientes
- b. Equipo
- Cronómetro
 - Vórtex
 - Centrífuga
 - Refrigerador de 2 a 8 °C (almacenamiento de reactivos)
 - Agitador horizontal
- c. Reactivos
- Kit recomLine Helicobacter IgG Mikrogen Diagnostik®
 - Kit recomLine Helicobacter IgA Mikrogen Diagnostik®
 - Isopropanol al 70%

D. Procedimiento y Metodología

1. Selección del paciente y toma de muestra

- Se seleccionaron a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión mencionados anteriormente.
- Se brindó información sobre el estudio y se procedió a llenar la ficha epidemiológica y consentimiento informado (Anexo 1 y 2).
- Como proceso de la endoscopia, cada paciente se canalizó, en ese momento se procedió a tomar la muestra.
- Las muestras fueron centrifugadas y se separó rápidamente el suero del coágulo sanguíneo para evitar hemólisis. Las muestras se conservaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de realizar las pruebas.
- Cada uno de los tubos fueron rotulados con los datos correspondientes a cada paciente, los cuales incluían fecha de toma de muestra y código del paciente, el cual fue asignado en orden correlativo al momento de la toma de datos para la ficha epidemiológica.
- Se llevó un registro de las endoscopías positivas y negativas para *H. pylori*.
- Únicamente se procesaron las muestras de pacientes con diagnóstico positivo para *H. pylori*, en la biopsia gástrica. Las muestras de pacientes negativos para *H. pylori* fueron descartadas y no se incluyeron en el estudio, excepto una muestra que presentaba lesiones características de la infección por la bacteria.

2. Pruebas diagnósticas

A cada paciente se le realizaron las siguientes pruebas

- Anticuerpos IgG contra *H. pylori*.
- Anticuerpos IgA contra *H. pylori*.

a. Determinación de Anticuerpos IgG e IgA contra *H. pylori*

Ambas pruebas se realizaron de la misma manera, lo único que cambió fue la solución del conjugado que fue IgG Anti-humano o IgA Anti-humano dependiendo de la prueba.

b. Preparación de reactivos

i. Preparación del buffer de lavado A listo para el uso

- Se disolvieron 5 g de leche en polvo desnatada en 100 mL de concentrado de buffer de lavado A (10x).
- La mezcla del buffer de lavado A listo para el uso se completó posteriormente con agua desmineralizada para obtener un volumen final de 1 litro: 100 mL de buffer de lavado A (10x) + 900 mL de agua desmineralizada. Este buffer se necesitó para la dilución del suero y del conjugado, así como los pasos de lavado.

ii. Preparación de las soluciones de conjugado

- Se preparó la solución de conjugado mediante la adición de buffer de lavado A listo para el uso a la solución de conjugado concentrada (100x) para obtener un volumen final de 50 mL: 500 uL de solución de conjugado concentrada (100x) + 50 mL de buffer de lavado A. Nota: La solución de conjugado debía prepararse justo antes del uso.

c. Procedimiento de la prueba

- Antes de comenzar con la prueba, se dejó atemperar todos los reactivos a 18°C - 25°C (temperatura ambiente) durante 30 minutos como mínimo.

- Se sumergieron las tiras en 2 mL de buffer de lavado A listo para el uso. Nota: No se tocaron las tiras con las manos, siempre se utilizaron pinzas. Para cada tira se necesitó una concavidad en una caja de incubación. Las tiras se sumergieron por completo.
- Se pipetearon 20 μ L del suero no diluido por cada bloque de incubación a la tira de ensayo. Nota: Se pipeteó la muestra en un extremo de la tira sumergida en el buffer de lavado A y se agitó cuidadosamente.
- Se incubó durante 1 hora agitando ligeramente. Nota: Se cubrió la caja de incubación con una tapa de plástico y se colocó en el agitador horizontal.
- Se retiró la tapa de plástico de la caja de incubación. Posteriormente se succionó la dilución de suero de las concavidades. Se pipetearon 2 mL del buffer de lavado A listo para su uso en cada concavidad, se lavó durante 5 minutos agitando ligeramente y a continuación se succionó el buffer de lavado A. Se realizaron los pasos de lavado tres veces. Se evitó la contaminación cruzada.
- Se añadieron 2 mL de solución de conjugado listo para el uso y se incubó durante 45 minutos agitando ligeramente. Nota: Se cubrió la caja de incubación con la tapa de plástico y se puso en el mezclador.
- Se retiró la tapa de plástico de la caja de incubación. Posteriormente se succionó la dilución de suero de las concavidades. Se pipetearon 2 mL del buffer de lavado A listo para su uso en cada concavidad, se lavó durante 5 minutos agitando ligeramente y a continuación se succionó el buffer de lavado A. Nota: Se realizaron los pasos de lavado tres veces. Se evitó la contaminación cruzada.
- Se añadieron 1.5 mL de la solución de sustrato y se incubó durante 8 minutos agitando ligeramente.
- Se lavó brevemente 3 veces como mínimo con agua desmineralizada.

- Se secaron las tiras antes de la evaluación durante 2 horas entre dos capas de papel absorbente. Nota: Se retiraron las tiras del agua con pinzas de plástico. Estas se guardaron protegidas de la luz.

d. Resultados

Validación y control de calidad

Se pudo proceder al análisis de una prueba siempre que se cumplieran los siguientes criterios:

- Banda de control de reacción claramente teñida (línea superior), banda oscura.
- Categoría de anticuerpos (segunda y tercera banda) la banda de control de la conjugación IgG o IgA debe aparecer teñida con una intensidad diferente.
- Control de corte (cuarta banda): teñida en un color más débil pero visible.

e. Evaluación

- Se anotó en el formulario de evaluación adjunto la fecha y el número de lote, así como las categorías de anticuerpos detectadas.
- Se escribieron los números de identificación de las muestras en la hoja de registros.
- Se pegaron con pegamento las tiras de ensayo pertenecientes en el campo correspondiente del formulario de evaluación. Para ello, se ajustaron las tiras de ensayo con las bandas de control de reacción en las bandas marcadas. A continuación, se fijaron con una cinta adhesiva transparente las tiras de ensayo a la izquierda de las bandas marcadas.

La evaluación de las tiras de ensayo se realizó de forma computarizada con el software de supervisión y escaneo de tiras de ensayo *recom*, el cual está diseñado para el apoyo de la interpretación de las tiras de ensayo.

f. Interpretación

El resultado de la prueba se determinó sumando los valores de cada una de las bandas reactivas con intensidad de color mayor o igual a la banda de corte. La valoración de cada antígeno fue la siguiente:

Antígenos	Puntos
CagA	2
VacA	2
GroEL	2
UreA	1
HcpC	1
gGT	1

La suma resultante permitió la evaluación de las muestras en la siguiente forma:

Suma de Puntos	Evaluación
0	Negativo
1	Dudoso
≥ 2	Positivo

Estos datos se incluyeron en el formulario de evaluación. La diferenciación del tipo de cepa se realizó mediante la reacción obtenida con los antígenos CagA y VacA y sólo es posible realizarla en IgG. Si la banda CagA y/o VacA reaccionaron por encima del corte (esto es, al menos con +), se interpretó que hay una infección

por *H. pylori* de tipo I. Por el contrario, si en la banda CagA y VacA no hubo reacción o la reacción fue menor que la banda de corte se interpretó que había una infección por *H. pylori* de tipo II.

g. Entrega de informe de resultados

El informe de resultados fue entregado a la gastroenteróloga de la clínica privada donde los pacientes acudieron a realizarse la endoscopia. De esta manera ella pudo darle las indicaciones y tratamiento adecuado a cada paciente.

E. Diseño Metodológico

Estudio descriptivo de tipo transversal. Se determinó la respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en 60 pacientes dispépticos menores de 18 años que fueron positivos a la presencia de *H. pylori* por endoscopia. El número de pacientes fue elegido por conveniencia.

A cada uno de los pacientes se le realizaron las pruebas: anticuerpos IgG e IgA contra *H. pylori*. Se caracterizaron los antígenos CagA y VacA para la identificación de la infección tipo I en pacientes dispépticos menores de 18 años. Así mismo se detectaron los anticuerpos contra los antígenos recombinantes GroEL, UreA, HcpC y gGT.

Los datos obtenidos de las pruebas se colocaron en tablas 2x2 comparando los resultados obtenidos. Se calculó el Odds Ratio para determinar cuántos pacientes que presentan una biopsia positiva para *H. pylori* tienen una infección de Tipo I y por lo tanto tiene más riesgo de desarrollar cáncer gástrico a largo plazo si estos no son tratados oportunamente.

El análisis exploró la presencia de significancia de la asociación entre los resultados de las pruebas y la presencia de *H. pylori* aplicando la prueba estadística Chi cuadrado con un nivel de confianza del 0.05.

VIII. RESULTADOS

El presente estudio se realizó en los meses de agosto a octubre del año 2016, durante este periodo asistieron 74 pacientes dispépticos menores de 18 años. De ellos a 59 (79.73%) se les diagnosticó la presencia de *H. pylori* por biopsia. A los pacientes diagnosticados con *H. pylori* se les realizó pruebas serológicas para detectar anticuerpos IgG e IgA específicos para los antígenos recombinantes CagA, VacA, GroEL, UreA, HcpC y gGT. En el estudio también se incluyó un paciente que presentó un diagnóstico negativo para *H. pylori* mediante la biopsia, sin embargo, presentó lesiones características de la infección por la bacteria, según el criterio de la gastroenteróloga del estudio.

En el cuadro 1 se muestran las características sociodemográficas de los pacientes. La muestra estudiada estuvo conformada en su mayoría por pacientes del género masculino, obteniendo una participación de 35 niños (58.33%) y 25 niñas (41.67%). Así mismo el rango de edad de los pacientes se encontró entre 9 meses hasta 12 años. Se puede observar que la mayoría de los pacientes se encuentran entre el rango de 1 a 6 años con 47 pacientes (78.33%).

Según los antecedentes familiares, 32 (53.33%) pacientes con biopsia positiva para *H. pylori* conviven con algún familiar que padece o ha padecido de infección por la bacteria de los cuales 9 (15%) presentaron anticuerpos IgG contra la bacteria. Este antecedente se encontró estar con significancia estadística ($p=0.001$). De ellos, únicamente 4 (6.67%) refirieron tener algún familiar que ha sido diagnosticado con cáncer gástrico de los cuales 2 (3.33%) presentaron anticuerpos IgG contra *H. pylori*.

En lo que se refiere al estado económico de la familia de los pacientes con una biopsia positiva para *H. pylori*, 31 (51.67%) refirieron un ingreso menor a Q3,000

mensuales ($p=0.4800$) de los cuales 9 (15%) presentaron anticuerpos IgG contra la bacteria. Los pacientes provienen de distintas regiones del país, sin embargo la región con una mayor cantidad de pacientes fue la metropolitana con 26 pacientes ($p=0.5824$). Para ambos parámetros no se encontró significancia estadística con un resultado positivo para *H. pylori*.

Cuadro 1.

Características sociodemográficas de los pacientes del estudio (N=60)

	Variable	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Género	Masculino	35	58.33
	Femenino	25	41.67
Rango de edad	Menor de 1 año	3	5.00
	1-3	24	40.00
	4-6	23	38.33
	7-9	5	8.33
	10-12	5	8.33
Ingresos económicos de los padres (Quetzales)	Menor de 1000	4	6.67
	1000-3000	27	45.00
	3000-5000	19	31.67
	Más de 5000	10	16.67
Región de origen	Metropolitana	26	43.33
	Suroccidental	12	20.00
	Central	7	11.67
	Suroriental	7	11.67
	Nororiental	6	10.00
	Norte	1	1.67
	Noroccidental	1	1.67

Datos experimentales

En la biopsia además de analizar la integridad del tejido y la presencia de gastritis se determinó la presencia de *H. pylori* y la densidad bacteriana. El tipo de gastritis reportada con mayor frecuencia fue de leve a moderada (32). La mayoría de pacientes presentaron escasa densidad bacteriana (39) (Cuadro 2).

Cuadro 2.

Resultado de gastritis y densidad bacteriana en biopsia de los pacientes del estudio (N=59).

	Variable	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Tipo de gastritis	Leve	10	16.95
	Leve-moderada	32	54.24
	Moderada	16	27.12
	Moderada-severa	1	1.69
Densidad bacteriana	Escaso	39	66.10
	Regular	18	30.51
	Abundante	2	3.39

Datos experimentales

Según los datos obtenidos en la entrevista el 100% de los pacientes presentaron alguna sintomatología. Para los pacientes con resultado de recomLine® *Helicobacter* positivo los síntomas más frecuentes reportados fueron las molestias en la región abdominal superior (81.67%), seguido de embotamiento (70%). Sin embargo, todos los síntomas descritos comúnmente en la infección por *H. pylori* tienen una frecuencia bastante alta en de los pacientes (Cuadro 3).

Cuadro 3.

Síntomas de pacientes con resultados positivos en las pruebas recomLine®

Helicobacter IgA e IgG.

Síntomas	IgA positivo	IgG Positivo	Total
Molestias en región abdominal superior	5	11	16
Embotamiento	5	10	15
Reflujo	2	8	10
Acidez	3	7	10
Náusea	2	8	10
Diarrea	2	8	10
Vómitos	2	8	10
Gastritis	3	7	10

Datos experimentales

De los 60 pacientes incluidos en el estudio, 40 de ellos refirieron haberse realizado alguna prueba diagnóstica de *H. pylori* anteriormente, sin embargo,

únicamente 16 de estos obtuvieron un resultado positivo. La mayoría indicó que el método diagnóstico que se realizó fue la detección de antígeno de *H. pylori* en heces (72.5%) (Cuadro 4).

Cuadro 4.

Método de diagnóstico de H. pylori utilizado previamente por los pacientes del estudio (N=60).

Diagnóstico	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Antígeno en heces	29	48.33
Antígeno en heces y prueba serológica	4	6.67
Histopatología de biopsia	3	5.00
Prueba serológica	3	5.00
Antígeno en heces e histopatología de biopsia	1	1.67
Ninguna prueba	20	33.33
Total	60	100.00

Datos experimentales

Únicamente 20 pacientes (33.33%) refirieron haber recibido algún tipo de tratamiento previo. De ellos el 75% refirió haber recibido antibiótico para tratar la infección por *H. pylori*, sin embargo al momento del estudio ningún paciente estaba tomando antibiótico, únicamente antiácidos (Cuadro 5).

Cuadro 5.

Tipo de tratamiento recibido previamente por los pacientes de estudio (N=20).

Tipo de tratamiento	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Antibiótico	15	75.00
Antiácido	2	10.00
Inhibidor de bomba de protones	2	10.00
Sucralfato	1	5.00
Total	20	100.00

Datos experimentales

A las 60 muestras se les realizó la detección de anticuerpos con las pruebas recomLine® Helicobacter IgG, IgA. De todos los pacientes, 14 presentaron un resultado positivo para anticuerpos IgG y 5 para anticuerpos IgA. Los 5 pacientes con anticuerpos IgA también fueron positivos para IgG (Cuadro 6).

Cuadro 6.

Resultados obtenidos en las pruebas realizadas de recomLine® Helicobacter.

Prueba	Resultado	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Anticuerpos IgG	Positivas	14	23.33
	Negativas	44	73.33
	Dudosas	2	3.33
Anticuerpos IgA	Positivas	5	8.33
	Negativas	55	91.67
Anticuerpos IgG e IgA	Positivas	5	8.33

Datos experimentales

Del total de 14 pacientes positivos para las pruebas recomLine® Helicobacter únicamente 7 refirieron tener un diagnóstico previo para *H. pylori* (Cuadro 7).

Cuadro 7.

Resultados de diagnóstico previo de pacientes con resultados de recomLine® Helicobacter positivo (N=14).

Diagnóstico	Resultados Positivos (n)	Resultados negativos (n)	Porcentaje (%)
Antígeno en heces	5	1	85.71
Anticuerpos serológicos		1	14.29
Total	5	2	100.00

Datos experimentales

Con relación a los antígenos recombinantes, tanto para IgG como para IgA el de mayor frecuencia fue CagA con 12 (20.69%) y 4 (6.90%) pacientes positivos, respectivamente (Cuadro 8).

Cuadro 8.

Respuesta a los antígenos recombinantes detectados en los pacientes mediante las pruebas realizadas recomLine® Helicobacter.

		IgG		IgA	
	Variable	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Antígenos	CagA	12	20.69	4	6.90
	GroEL	4	6.90	0	0.00
	HcpC	4	6.90	0	0.00
	VacA	2	3.45	2	3.45
	UreA,	1	1.72	0	0.00
	Ggt	1	1.72	0	0.00
Tipo de gastritis	Leve	2	15.38	0	0.00
	Leve-Moderada	5	38.46	2	40.00
	Moderada	6	46.15	3	60.00
Densidad Bacteriana	Escasa	6	46.15	2	40.00
	Regular	5	38.46	2	40.00
	Abundante	2	15.38	1	20.00

Datos experimentales

Al realizar el análisis para determinar el tipo de cepa, se encontró que 12 pacientes presentaron una infección de tipo I y únicamente 2 pacientes presentaron infección de tipo II (Cuadro 9).

Cuadro 9.*Frecuencia de tipo de infección presente en los pacientes de estudio.*

Tipo de infección	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Tipo I	12	85.71
Tipo II	2	14.29
Total	14	100.00

Datos experimentales

Se estimó que el riesgo de que en una biopsia positiva para *H. pylori* la infección sea de tipo I es de 3.25 (IC = 0.39 - 27.35), es decir que un paciente con biopsia positiva para *H. pylori* tiene 3.25 veces más probabilidad que esta cepa sea del tipo I y por consiguiente desarrollar carcinoma gástrico.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se evaluó la respuesta inmunológica de pacientes dispépticos menores de 18 años frente a determinantes antigénicos de *Helicobacter pylori*. Se eligió la biopsia como método diagnóstico de referencia debido a que es considerado el estándar de oro para el diagnóstico de este microorganismo (Koneman, Winn, Allen, Janda, Procop, Schreckenberger, et al, 2008). En 59 (79.73%) pacientes se observó morfología de tipo bacilar compatible con esta bacteria y la presencia de gastritis, en su mayoría de leve a moderada.

En Guatemala, la frecuencia de anticuerpos IgG contra *H. pylori* en niños ha sido descrita por varios autores, Oregel (2002) indicó una frecuencia de 33.15% en niños menores de 3 años de baja condición socioeconómica. Posteriormente Hunt et al (2011) reportaron una frecuencia de 51% en niños de 5 a 10 años. Posteriormente Hidalgo y colaboradores (2013) encontraron una frecuencia de 41.52% en niños menores de 3 años y 48.37% en niños de 3 a 10 años. En este estudio se incluyeron pacientes de 9 meses hasta 12 años de edad, en los cuales se encontró una prevalencia más alta de 79.73% para *H. pylori* por biopsia gástrica, lo que podría explicarse ya que en este estudio se evaluaron pacientes sintomáticos o con patologías gástricas, mientras que en los otros estudios se evaluaron niños en general.

En los países en desarrollo la prevalencia de *H. pylori* en niños menores de 5 años llega al 80% (Drumm, Day, Gold, Gottrand, Kato, Kawakami et al, 2004). En el presente estudio se encontró una mayor prevalencia de *H. pylori* en el grupo de niños comprendidos entre 1 a 3 años de edad (40%), seguido del grupo de niños de 4 a 6 años (38.33%). Los resultados obtenidos del 78.33% de prevalencia de *H. pylori* en niños de 1 a 6 años, son parecidos a los descritos por los autores mencionados.

En un estudio realizado en Paraguay, que abarcó a 80 pacientes de 1 a 17 años de edad que consultaron en el Hospital Nacional entre enero de 2000 a julio de 2005, se encontró que el síntoma más frecuente fue el dolor abdominal (Zacur, Duarte, Petit, Ibieta, y Nunez, 2006). Asimismo, Martínez y Perdomo (2010), reportaron que el motivo de consulta habitual en aproximadamente la tercera parte de los niños con *H. pylori* fue el dolor abdominal, acompañado de vómitos, mientras que la anorexia con pérdida de peso, pirosis y sensación de plenitud posprandial se encuentran en menor proporción. En este estudio, todos los pacientes que asistieron a la clínica privada presentaron algún síntoma, siendo las molestias en la región abdominal superior (81.67%) el más reportado, concordando con lo mencionado por Martínez et al (2010), seguido de embotamiento (70%), reflujo (68.33%), acidez (65%), náusea (60%) diarrea (55%), vómitos (53.33%) y gastritis (48.33%), síntomas inespecíficos que han sido relacionados con la infección por *H. pylori*.

Los factores genéticos juegan un papel importante en el riesgo de contraer cáncer gástrico. Las personas con mayor riesgo son las que tienen un pariente de primer grado con antecedentes de cáncer gástrico, así como tener varios casos de cáncer a través de varias generaciones en la misma familia (Drumm et al, 2004). Debido a esto es importante cuando se realiza un estudio sobre *H. pylori* indagar sobre los antecedentes familiares de cáncer gástrico. En este estudio 4 (6.67%) pacientes refirieron tener algún familiar que ha sido diagnosticado con esta patología. Solamente 1 paciente con antecedentes de cáncer gástrico en la familia presentó una infección de tipo I, con antígeno CagA positivo, lo cual implica un mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico si la infección no es tratada oportunamente.

H. pylori se transmite más fácilmente dentro de las familias. Esto se debe a que el único reservorio bien establecido de la bacteria es el estómago humano (Zacur et al, 2006). Según los antecedentes familiares encontrados en este estudio, 32 (53.33%) pacientes tienen algún familiar que vive dentro de la misma casa que

padece o ha padecido de *H. pylori*, lo cual demostró significancia estadística ($p=0.0012$), y confirma que este es un factor de riesgo para contraer la infección. El resto de los familiares de los pacientes no han sido diagnosticados, sin embargo podrían ser pacientes asintomáticos. Únicamente 10 de estos pacientes presentaron un resultado positivo para anticuerpos IgG contra *H. pylori* con las pruebas recomLine® Helicobacter, de los cuales 7 fueron considerados ser de la cepa tipo I de *H. pylori*.

La infección con *H. pylori* se correlaciona fuertemente con las condiciones socioeconómicas de los pacientes, en el presente estudio el mayor porcentaje (51.67%) de padres de los pacientes indican tener un ingreso menor a Q 3,000 mensuales. Tomando en cuenta que en Guatemala el salario mínimo es de 2,747.04 quetzales mensuales, se puede observar que el mayor porcentaje de pacientes positivos para *H. pylori* presentan un nivel socioeconómico bajo. Sin embargo, en este estudio no se encontró significancia estadística entre un nivel socioeconómico bajo y un resultado positivo para *H. pylori* ($p=0.4800$).

Según indica Díaz (2015) en un estudio realizado en Guatemala la prevalencia de *H. pylori* es mayor en la población ladina (54.79%) y los departamentos con más casos de infección son Guatemala, Alta Verapaz y Escuintla. En el presente estudio el departamento con más casos de infección por *H. pylori* fue Guatemala (43.33%) lo cual coincide con el estudio antes mencionado. Sin embargo, cabe mencionar que la clínica donde los pacientes fueron evaluados se encuentra en la ciudad capital, lo cual influye en que los pacientes infectados sean en su mayoría de este departamento.

A los 60 pacientes del estudio se les realizaron las pruebas recomLine® Helicobacter, para identificar el reconocimiento antigénico específico de los anticuerpos IgG e IgA contra *H. pylori*. Del total de los pacientes 14 (23.33%) presentaron resultado positivo para *H. pylori*, es importante recordar que los

anticuerpos IgG son anticuerpos de memoria por lo que un resultado positivo no discrimina entre una infección activa o antigua (Mejía y Mejía, 2006), sin embargo, por el hecho de que estos pacientes presentan un resultado de biopsia positivo se puede determinar que no se trata de una infección resuelta y que está activa. Según Quintana y colaboradores (2002) los pacientes con resultado negativo en las pruebas recomLine® Helicobacter podrían tener una infección reciente en la que los títulos de anticuerpos aun no son detectados por la prueba y la bacteria puede encontrarse en concentraciones muy bajas, detectable solamente por medio de una biopsia, lo que podría ser la razón que en este estudio la respuesta serológica detectada es menor a la esperada.

De los 14 pacientes con resultado positivo para *H. pylori* por las pruebas recomLine® Helicobacter, únicamente 7 refirieron tener un diagnóstico previo para la bacteria. Dos pacientes indicaron tener un diagnóstico negativo para *H. pylori* previamente, lo cual puede ser por infección posterior o la infección era tan reciente que los títulos de anticuerpos anti *H. pylori* eran muy bajos para ser detectados (Quintana y colaboradores, 2002). En el resto de pacientes el resultado previo coincide al de las pruebas recomLine® Helicobacter.

Se evaluó la positividad a los diferentes determinantes antigénicos, principalmente CagA y VacA debido a que están asociados con el pronóstico de la infección por *H. pylori*, y el tener presente estos factores de virulencia indica una infección más agresiva y con mayor riesgo de desarrollar cáncer gástrico (Justin, Schwartz & Lee-Ann, 2006). En este estudio la proteína recombinante más frecuente para los anticuerpos IgG fue CagA con 12 pacientes positivos para esta proteína. Yañez (2013) enfatiza la importancia de la proteína (CagA), debido a que es capaz de generar fuerte actividad pro-inflamatoria, induciendo lesiones precancerosas que pueden desencadenar en cáncer gástrico. Esto aumenta considerablemente la posibilidad de que ocurran mutaciones que promuevan la aparición de células tumorales (González y Rodríguez, 2011). La presencia de la

proteína CagA en niños representa un riesgo elevado de desarrollar carcinoma gástrico si la infección no es tratada oportunamente, debido a que por la corta edad de los pacientes la infección puede llegar a permanecer activa por muchos años.

Las siguientes proteínas recombinantes más frecuentes fueron GroEL y HcpC con 4 pacientes positivos para cada una. Tanto GroEL como HcpC se asocian a inducción de respuestas inflamatorias (Pan y colaboradores, 2014; Gao y colaboradores, 2009). Las proteínas recombinantes menos frecuentes fueron VacA y UreA. Esto es beneficioso para los pacientes del estudio, debido a que VacA eleva el riesgo de desarrollo de carcinoma gástrico y la ausencia de UreA disminuye la adaptación de la bacteria en la mucosa gástrica. La proteína recombinante VacA es el factor de virulencia responsable de la formación de vacuolas en las células epiteliales gástricas, mientras que la enzima ureasa protege a la bacteria de los efectos letales del ácido (López, Delgado, Jaramillo, Amézquita, Parra y Echeverry, 2009; Piñol y Paniagua, 1999). Según Formichella et al (2013) el antígeno más frecuente en una cohorte de 210 pacientes positivos para *H. pylori* fue GroEL con un 88.1%, seguido de CagA con un 66.2% y en tercer lugar gGT con un 51.9%, datos muy diferentes a los obtenidos en este estudio.

Se encontraron únicamente 5 pacientes que presentaron un resultado positivo para *H. pylori* tanto para IgA como para IgG. De acuerdo con Mejía et al (2006) los pacientes con un resultado positivo para anticuerpos IgA presentan una infección activa con irritación de la mucosa, en este estudio 3 pacientes presentaron una gastritis moderada y 2 gastritis de leve a moderada en el resultado de la biopsia, lo cual corrobora lo indicado en la literatura. Por lo tanto, de los 14 pacientes positivos para IgG, únicamente 5 presentan daño en la mucosa. Los 9 pacientes restantes no tienen daño en la mucosa a pesar de tener la bacteria o bien los títulos de anticuerpos son tan bajos que no fueron detectados por la prueba recomLine®. En el consenso europeo de Maastricht se indicó brindar tratamiento para la infección

por *H. pylori* en pacientes sintomáticos (Gisbert, Calvet, Bermejo, Boixeda, Bory, Bujanda, et al, 2013).

Para los anticuerpos IgA las únicas proteínas recombinantes que tuvieron un resultado positivo fueron CagA y VacA, con 4 y 2 pacientes positivos, respectivamente. Los pacientes con anticuerpos IgA positivos para la proteína recombinante CagA, también fueron positivos para anticuerpos de tipo IgG, en tanto que los pacientes con anticuerpos IgA positivos para VacA no coinciden con anticuerpos positivos de tipo IgG. En estos pacientes que no se identificaron anticuerpos IgG probablemente porque no ha ocurrido una seroconversión o estos anticuerpos si existen, están en niveles muy bajos. La respuesta de tipo IgA para *H. pylori* es predominantemente al nivel de las mucosas y son indicativos de una infección activa (Quintana, Salas, Achí, Davidovich y Schosinsky, 2002).

Se esperaba un alto porcentaje de positividad en las pruebas recomLine® Helicobacter tomando en cuenta la sensibilidad y especificidad de las pruebas y que estas fueron realizadas en pacientes que ya habían sido diagnosticados por *H. pylori* mediante una biopsia. Las pruebas recomLine® Helicobacter tienen una sensibilidad del 99.3% para IgG y 63.3% para IgA, mientras la especificidad es del 100% para ambos anticuerpos (Mikrogen Diagnostik, 2013). Por el contrario, se encontraron 42 pacientes (72.41%) con resultados negativos para *H. pylori*. Estos resultados obtenidos pueden deberse a que existen antecedentes que el diagnóstico serológico es menos sensible y específico en niños menores de 10 años.

Bonamico, Strappini, Bonci, Ferri, Crisogianni, Guido, Thanasi, Nenna, Macchia, Luzzi, Magliocc & Mastromarino (2004), evaluaron en 190 niños la eficacia de la técnica serológica Inmunoblot para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. El resultado global de la serología fue: sensibilidad 80.6%, especificidad 89.6%, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo 76 y 92% respectivamente. Esto

puede indicar que la técnica serológica no representa la mejor opción para diagnosticar la infección por *H. pylori* en pacientes pediátricos. Es recomendable validar la utilidad diagnóstica de las pruebas recomLine® Helicobacter en pacientes menores de 6 años.

Únicamente el 23.33% de los pacientes presentaron anticuerpos IgG y 8.33% anticuerpos IgA contra *H. pylori*. Este desempeño tan bajo podría deberse al estado inmunológico de los pacientes. En algunos niños la duración y grado de la infección de la bacteria no ha estado presente el tiempo necesario para generar una buena respuesta inmune en los pacientes, por lo que los niveles de anticuerpos son muy bajos para ser detectados por las pruebas serológicas (Harris, Serrano y Gonzales, 2005).

Según lo indica Harris et al (2005) los estudios de prevalencia basados en métodos no invasivos, por su misma naturaleza, pueden ser aplicados a una gran cantidad de personas y por lo tanto dar resultados más específicos, sin embargo estos no están suficientemente estandarizados para su uso en menores de 6 años de edad. Bonamico y otros autores (2004) han documentado disminución en el rendimiento de las pruebas en niños más pequeños, especialmente en menores de dos años, en este estudio el 83.33% de los pacientes eran niños de 6 años o menos, y esto puede reflejar un bajo rendimiento de las pruebas evaluadas.

También es importante mencionar que según Martínez y Perdomo (2010) la prevalencia de determinados factores de patogenicidad, como la citotoxina asociada al gen *cagA* (CagA) y la toxina vacuolizante asociada al gen *vacA* (VacA), relacionados con el desarrollo de úlcera y cáncer gástrico en adultos, es significativamente menor en los niños y aumenta proporcionalmente con la edad, lo que explica la menor incidencia de úlcera péptica en la población pediátrica.

Gao, Weck, Michel, Pawlita & Brenner (2009) indican que el genoma de *H. pylori* muestra una extensa variación genética, lo cual contribuye inmensamente en el nivel de patogenicidad observado entre los diferentes aislamientos clínicos. Dos de los factores de virulencia que se han visto implicados en este proceso son el gen asociado a la citotoxina A (CagA) y la citotoxina vacuolizante A (VacA), las cuales son citotoxinas inyectadas y secretadas por *H. pylori*, respectivamente. Debido a lo mencionado son estos dos factores de virulencia los que se buscan para clasificar la infección por *H. pylori* (Piñol y Paniagua, 1999).

La infección de *H. pylori* se puede clasificar en tipo I y tipo II, es de tipo I cuando expresa la citotoxina vacuolizante (VacA) o el antígeno asociado a la citotoxina (CagA) por lo que está más relacionado con el desarrollo de cáncer gástrico. El tipo II no expresa ninguno de estos marcadores. (Rosales et al, 2014). En el estudio se encontraron 12 pacientes con infección de tipo I, quienes según el resultado de la biopsia 6 presentaron una gastritis moderada, 4 gastritis leve a moderada y 1 paciente gastritis leve. En el paciente restante el resultado de la biopsia fue negativo. Debido a que estos pacientes tienen una corta edad puede ser que todavía no se haya evidenciado histológicamente la agresividad de la infección que presentan, ya que estos cambios degenerativos ocurren a lo largo de los años. Sin embargo, se puede decir que están predispuestos a desarrollar úlcera péptica gastroduodenal, si estos no son tratados oportunamente.

La infección por *H. pylori* generalmente se inicia en la infancia, pero muestra sus consecuencias más severas en el adulto, cuando esta se vuelve una infección crónica (Rosales et al, 2014). Es importante señalar que en este estudio 2 pacientes presentaron una infección de tipo II, ambos con la proteína recombinante GroEL positiva. Pan y colaboradores (2014) mencionan que GroEL se asocia con la adhesión de *H. pylori* a las células epiteliales gástricas y la inducción de respuestas inflamatorias. Sobre estos pacientes se puede decir que presentan una infección menos agresiva que se asocia con la existencia de gastritis crónica sin ulceración.

Se tiene un total de 5 pacientes positivos para *H. pylori* con las pruebas recomLine® Helicobacter con un diagnóstico previo para *H. pylori*, 4 de estos presentaban infección de tipo I y 1 paciente infección tipo II.

El valor del Odds Ratio obtenido en los pacientes con una biopsia positiva para *H. pylori* y una infección de tipo I fue de 3.25 (IC = 0.39 - 27.35). Esto indica que en un paciente con una biopsia positiva para *H. pylori* es 3.25 veces más probable de que sea una infección con cepa tipo I. El intervalo de confianza indica que esta asociación no es estadísticamente significativa debido a que el valor 1 se encuentra dentro del intervalo y este es demasiado amplio. No se encontró asociación entre la presencia de *H. pylori* con la positividad a infección de tipo I ($p=0.2550$), lo cual confirma que una biopsia positiva para *H. pylori* no está asociada a que el paciente presente los determinantes antigénicos *VacA* o *CagA* positivas, por lo tanto, que el paciente tenga riesgo de desarrollar carcinoma gástrico.

X. CONCLUSIONES

1. Únicamente 14 (23.33%) pacientes presentaron un resultado positivo para anticuerpos IgG y 5 (8.33%) para anticuerpos IgA utilizando las pruebas recomLine® Helicobacter.
2. La proteína recombinante más frecuente para los anticuerpos IgG e IgA fue CagA con 12 y 4 pacientes positivos respectivamente.
3. Se encontró un predominio de cepa de Tipo I lo cual está asociado con una infección con una mayor agresividad.
4. No se encontró significancia estadística entre la positividad a *H. pylori* en biopsia gástrica y la presencia de cepa tipo I de *H. pylori* y el riesgo a desarrollar carcinoma gástrico ($p=0.2550$).

XI. RECOMENDACIONES

- 1.** Validar la utilidad diagnóstica de las pruebas recomLine® Helicobacter en pacientes menores de 6 años.
- 2.** Utilizar las pruebas recomLine® Helicobacter para determinar prevalencia en pacientes adultos, ya que por su misma naturaleza, pueden ser aplicados a una gran cantidad de personas y por lo tanto dar resultados más reales.
- 3.** Realizar y correlacionar pruebas ELISA con recomLine® Helicobacter en pacientes menores de 18 años.

XII. REFERENCIAS

- Alba, R. S., Toledo, R. A., y Viana, M. L. (2006). *Helicobacter pylori*: Clínica, Diagnóstico y Tratamiento. *Revista de posgrado de la Cátedra de Medicina*, (158), 9-12.
- Alonzo, L., Arroyo, G., Benito, M., Duarte, A., Matta, V., Nave, F., et al. (2009). Asociación entre la presencia de *Helicobacter pylori* y patologías gástricas detectadas por endoscopia. *Revista Científica. Edición especial*, 5(1), 34-40.
- American Cancer Society. (2015). ¿Qué es el cáncer de estómago? Recuperado de: <http://www.cancer.org/espanol/cancer/cancerdeestomago/guiadetallada/cancer-de-estomago-what-is-what-is-stomach-cancer>.
- Barragán, C. E., Gutiérrez, A. J. y Castiblanco, L. P. (2014). Membrana externa de *Helicobacter pylori* y su papel en la adhesión al epitelio gástrico. *Universitas Médica*, 56(1), 44-62.
- Bauer, B. & Meyer, T., F. (2011). The Human Gastric Pathogen *Helicobacter pylori* and Its Association with Gastric Cancer and Ulcer Disease. *Hindawi Publishing Corporation*, (10), 1-24.
- Bermúdez, L., Torres, L. E., y Rodríguez, B. L. (2008). Métodos para la detección de la infección por *Helicobacter pylori*. *Centro Nacional de investigaciones Científicas*, (48).
- Bonamico, M., Strappini, P., Bonci, E., Ferri, M., Crisogianni, M., Guido, M., Thanasi, E., Nenna, R., Macchia, S., Luzzi, I., Magliocca, F. & Mastromarino, P. (2004). Evaluation of stool antigen test, PCR on oral samples and serology for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* in children. *Helicobacter*, 9, 69-76.

Camacho, J., E. (2014). Úlcera péptica. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica*, 129-134.

Cervantes, A. (2007). Cáncer Gástrico. Recuperado de: https://books.google.com.gt/books?id=qb2ysmbcRWMC&pg=PT19&dq=El+c%C3%A1ncer+g%C3%A1strico+es+una+enfermedad+heterog%C3%A9nea.&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=El%20c%C3%A1ncer%20g%C3%A1strico%20es%20una%20enfermedad%20heterog%C3%A9nea.&f=false

Cervantes, E. y García, R. (2015). *Helicobacter pylori* y la respuesta inmune. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 62(2), 112-118.

Chan, W, Hui, P., Leung, K. & Thomas, T. (1992). Modes of *Helicobacter pylori* colonization and gastric epithelial damage. *Histopathology*, 21(6), 521-528.

Cotillo, P. (2004). *Atención Farmacéutica: Bases Farmacológicas*. Lima: Fondo Editorial.

Cover, T. (1997). Commentary: *Helicobacter pylori* transmission, host factors, and bacterial factors. *Gastroenterology*; 113(1), 29-30

Cueva, G. (2010). *Prevalencia de Helicobacter pylori en las alumnas del centro artesanal "Juan Rafael Arrobo" del cantón Macará*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Loja, Ecuador.

De Pardo, E. M. (2013). *Helicobacter pylori*: un problema actual. Artículo de revisión. *Gaceta Médica Boliviana*, 36(2), 108-111.

Díaz, Y. (2015). *Prevalencia de la infección por Helicobacter pylori en la población de APROFAM durante el periodo 2006-2011*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

- Drumm, B., Day, A., Gold, B., Gottrand, F., Kato, S., Kawakami, E., Madrazo, A., Snyder, J. & Thomas, J. *Helicobacter pylori* and Peptic Ulcer: Working Group Report of the second world congress of pediatric gastroenterology, Hepatology, and nutrition. *Journal of pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 39(2), 626-631.
- Espino, A. (2010). Infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterología Latinoamericana*, 21(2), 323-327.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., y Weissfeld, A. S. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. (12a ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana. p. 422
- Ford, A., Delaney, B., Forman, D. y Moayyedi, P. (2011)..Tratamiento de erradicación de la úlcera péptica en pacientes con pruebas positivas para el *Helicobacter pylori*. Recuperado de: <http://www.cochrane.org/es/CD003840/tratamiento-de-erradicacion-de-la-ulcera-peptica-en-pacientes-con-pruebas-positivas-para-el-helicobacter-pylori>
- Formichella, L., Romberg, L., Bolz, C., Vieth, M., Geppert, M., Göttner, G., et al. (2013). A Novel Line Immunoassay Based on Recombinant Virulence Factors Enables Highly Specific and Sensitive Serologic Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20(11), 1703-1710.
- Gamboa, J. L. (2003). Infección por *Helicobacter pylori* y enfermedad ulcerosa péptica. Artículo de revisión. *Universidad Diagonal Barcelona*, 3(1), 20-24
- Gao, L., Weck, M., Michel, A., Pawlita, M. & Brenner, H. (2009). Association between Chronic Atrophic Gastritis and Serum Antibodies to 15 *Helicobacter pylori* Proteins Measured by Multiplex Serology. *American Association for Cancer Research*, 69(7), 2973-2980.

- Gisbert, JP., Calvet, X., Bermejo, F., Boixeda, D., Bory, F., Bujanda, L., et al. (2013). Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterología y Hepatología*, 36(5), 340-374.
- Gisbert, JP. (2010). Tratamiento de rescate ante el fracaso erradicador de *Helicobacter pylori*. *Gastroenterología y Hepatología*, 34(2), 89-99.
- González, C. G., Serrano, C., y Harris, P. R. (2007). Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños mediante la detección de antígenos en deposiciones. *Revista Médica Chile*, 135(2), 182-188.
- González, F. (2006). Ensayos Médicos sobre genética. Quito: Imprenta Noción. p. 183
- González, L. y Rodríguez, B. L. (2011). Patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*. *Centro Nacional de Investigaciones Científicas*, 50.
- Gonzales, M. y Concepción, L. (2002). *Helicobacter pylori* y dispepsia, un problema de salud comunitario. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 18(3), 207-212.
- Goodwin, C., Armstrong, J. & Peters, M. (1989). Microbiology of *Campylobacter pylori*. *Igaku Shoin Medical Publishers*, 25-49.
- Harris, P., Serrano, C., y Gonzales, C. (2005). Utilidad del diagnóstico serológico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Revista Chilena de Pediatría*, 76(3), 241-251.
- Hernández, R. (2002). *Detección de los genes de virulencia de cepas de Helicobacter pylori en biopsias de pacientes con cáncer gástrico*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

- Hidalgo, E. L., Martínez, E. M. y Medina, N. G. (2013). *Comparación de la frecuencia de anticuerpos IgG anti Helicobacter pylori con base en dos estudios realizados hace 10 años.* (Seminario de investigación). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Horn, J. (2000). The proton-pump inhibitors: similarities and differences, *Clinical Therapeutics*, 22(3), 266-280.
- Hunt, R. H., Xiao, S.D., Megraud, F., Leon-Barau, R., Bazzoli, F., Van der Merwe, S., et al. (2011). *Helicobacter pylori* in Developing Countries. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 20(3), 299-304.
- Ignasi, E. (2004). *Helicobacter pylori* y enfermedades relacionadas. *Revista Elsevier*, 3(6), 256-261.
- International Agency for Research on Cancer, (1994). Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, 61, 218–220.
- Jang, S., Jones, K. R., Olsen, C. H., Joo, Y. J., Chung, I. S., Cha, J. H., et al. (2010). Epidemiological link between gastric disease and polymorphisms in VacA and CagA. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(2), 559-567.
- Justin, T., Schwartz & Lee-Ann, H. A. (2006)..Role of urease in megasome formation and *Helicobacter pylori* survival in macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 79, 1214-1225.
- Koneman, E. W., Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Procop, G. W., Schreckenberger, P. C. et al. (2008). *Diagnóstico Microbiológico.* (6a ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana. p. 385

- Kusters, J. G., Van Vliet, A. H., & Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449-490.
- López, A. M., Delgado, M. P., Jaramillo, C., Amézquita, A., Parra, G. y Echeverry, M. M. (2009). Caracterización del gen de la citotoxina vacuolizante de *Helicobacter pylori* a partir de biopsias gástricas de pacientes residentes en Tolima, Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*, 41(1), 4-10.
- Luarca, J., Parada, F., Osorio, O., Linares, J., Pezzarossi, F., Orantes, A., et al. (2015). Prevalencia de *Helicobacter pylori* en un grupo de pacientes pediátricos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad San Carlos de Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*. 2(2), 6.
- Macenlle, R. (2007). *Prevalencia de la infección por Helicobacter pylori en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudios de factores de riesgo asociados*. (Tesis de Doctorado), Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- Martínez, M. y Perdomo, M. (2010). Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica SEGHNPAEP: Infección por *Helicobacter pylori* en niños. Hospital Universitario Niño de Jesús, Madrid. Recuperado de: <https://www.gastroinf.es/sites/default/files/files/Protocolos%20SEGHNP.pdf>
- Matta, V. (2012). Evaluación de las alternativas de diagnóstico por *H. pylori*: Búsqueda de alternativas de diagnóstico y evaluación de productos naturales para el tratamiento. Proyecto FODECYT No. 52-2009. Recuperado de: <http://glifos.concyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%202009.52.pdf>

Mejía, G. y Mejía, M. (2006). *Interpretación clínica del laboratorio*. (7a ed.). Bogotá: Médica Panamericana. p. 73.

Mikrogen Diagnostik. (2013). *Manual de Instrucciones*. Recuperado de: http://www.mikrogen.de/uploads/tx_oemikrogentables/dokumente/GARLHP002ES.pdf

Ministerio de Salud. (2013). Tratamiento de erradicación de *Helicobacter pylori* en el paciente con úlcera péptica. Recuperado de: http://www.supersalud.gob.cl/difusion/572/articles-8310_recurso_1.pdf.

Mittl, P. R., Luthy, L., Reinhardt, C. & Joller, H. (2003). Detection of High Titers of Antibody against Helicobacter Cysteine-Rich Proteins A, B, C, and E in *Helicobacter pylori*-Infected Individuals. *Clinical and Vaccine Immunology*, 10(4), 542-545.

Naranjo, D., Suarez, M., Bayona, M, Gallego, M., Urbina, M. y Rojas, D. (2012). Aspectos históricos, epidemiológicos y patológicos de las Helicobacteriosis en Humanos y en Caninos. *Medicina Bogotá*, 34(2), 146-161.

Olivares, D. y Gisbert, J.P. (2006). Factores implicados en la patogenia de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Española Enfermedades Digestivas*, 98(5), 374-386.

Oregel, S. (2002). *Prevalencia de anticuerpos séricos contra Helicobacter pylori en niños menores de 3 años de baja condición socioeconómica*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas, Guatemala.

Organización Mundial de Gastroenterología. (2010). Guías prácticas de la organización mundial de gastroenterología: *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. *Gastroenterología Latinoamericana*, 21(2), 165-181.

- Palomino, C. y Tomé, E. (2012). *Helicobacter pylori*: Rol del agua y los alimentos en su transmisión. Artículo de Revisión. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 25(2), 85-93.
- Pan, K., Formichella, L., Zhang, L., Zhang, Y., Ma, J., Li, Z., et al. (2014). *Helicobacter pylori* antibody responses and evolution of precancerous gastric lesions in Chinese population. *International Journal of Cancer*, 134(9), 2118-2125.
- Paredes, E. B. (2012). *Helicobacter pylori* 29 años después (1983-2012): Epidemiología, Patogenia, Diagnóstico y Relación con la Enfermedad periodontal. *Revista Kiru*, 9(1), 83-90.
- Piñol, F. N. y Paniagua, M. (1999). Mediadores bacterianos de la inflamación en la gastritis crónica por *Helicobacter pylori*. *Revista Cubana de Medicina*, 38(4), 276-283.
- Premoli, G., González, A. Millan-Mendoza, B., Percoco, T., y Vielma, A. (2004). Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Centro de investigaciones odontológicas, Mérida-Venezuela. *Revista Cubana de Medicina Tropical y Parasitología*, 56(2), 85-90.
- Pueyo, AM., Huarte, MP., y Jiménez, C. (1998). Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 21(2), 9-17.
- Quintana, M., Salas, P., Achí, R., Davidovich, H. y Schosinsky, K. (2002). Valor diagnóstico de anticuerpos anti *Helicobacter pylori* en pacientes referidos al servicio de endoscopia digestiva del Hospital San Vicente de Paul, Costa Rica. *Revista Biomédica*, 13(1), 15-23.

- Ramírez, A. y Sánchez, R. (2009). *Helicobacter pylori* 25 años después (1983 -2008): epidemiología, microbiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 29(2), 158-170.
- Ricci, V., Giannouli, M., Romano, M. & Zarrilli, R. (2014). *Helicobacter pylori* gamma-glutamyltranspeptidase and its pathogenic role. *World Journal of Gastroenterology*, 20(3), 630-638.
- Rivas, F. y Hernández, F. (2000). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, Patología y diagnóstico. *Revista Biomédica*, 11(3), 187-205.
- Rosales, R., Navarro, E., Acevedo, L. y Valdés, A. (2014). *Helicobacter pylori* como agente causal de afecciones gastrointestinales. *Revista Cubana de Tecnología de la Salud*, 1-8.
- Sahay, P. & Axon, A.T.R. (1996). Reservoirs of *Helicobacter pylori* and modes of transmission. *Helicobacter*, 1(3), 175-182.
- Schneider, R. (2010). La infección periodontal con *Helicobacter pylori* como mecanismo etiopatogénico de la infección gástrica activa producida por esta bacteria en niños y adultos guatemaltecos. Proyecto FODECYT No. 048-2007. Recuperado de: <http://glifos.concyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%202007.48.pdf>
- Somodevilla, A. (2012). *Factores de virulencia, aspectos inmunológicos y patrones de sensibilidad en aislamientos clínicos de Helicobacter pylori* (Tesis de Doctorado). Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- Strauss-Ayali, D. & Simpson, K. (1999). Gastric *Helicobacter* infection in Dogs. *Veterinary Clinic of North America*. 29(2), 397-414.

- The Eurogast Study Group. (1992). An International Association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet*, 34, 1359.
- Torres, L.E. y Rodríguez, B. L. (2008). Principales factores de patogenia en la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Centro Nacional de Investigaciones Científicas*, 39(1), 52-62.
- Trujillo, E., Martínez, T. y Bravo, M. M. (2014). Genotipificación de los factores de virulencia *vacA* y *cagA* de *Helicobacter pylori* en individuos de dos regiones de Colombia con riesgo opuesto de cáncer gástrico. *Revista Biomédica*, 34, 567-573.
- Truyols, J., Martínez, A. y García, A. (sf.) *Úlcera Gástrica y Duodenal: Guía de actuación clínica en A.P.* Recuperado de: <http://www2.san.gva.es/docs/dac/guiasap035ulcera.pdf>
- Vaira, D., Holton, J., Ricci, C., Menegatti, M., Gatta, L., Berardi, S. et al. (2001). Review article: the transmission of *Helicobacter pylori* from stomach to stomach. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 15(1), 33-42.
- Valenzuela E, J. (2004). *Helicobacter pylori*: 20 años después. *Revista médica de Chile*, 132(11), 1339-1344.
- Van Duynhoven, Y. T. & De Jonge, R. (2001). Transmission of *Helicobacter pylori*: a role for food? *Bulletin of the World Health Organization*, 79(5), 455-460.
- Yáñez, C. (2013). Los genes como marcadores de riesgo en cáncer gástrico. *Cucuta Colombia*, 18(2), 61-73.

Yepes, CA., Rodríguez, A., Ruiz, A., y Ariza, B. (2008). Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá. *Acta Médica Colombiana*. 33(1), 11-14.

Yu, J., Leung, W., Go, M., Cjhan, M., To, K., Ng, E. et al. (2002) Relationship between *Helicobacter pylori* babA2 status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. *Gut*. 51(4), 480-484.

Zacur, M., Duarte, D., Petite, S., Ibieta, F & Nunez, M. (2006). *Helicobacter pylori* en niños. *Pediatría (Asunción)*, 33(1), 26-31.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1 Consentimiento Informado

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Biológica

Código del paciente

Consentimiento Informado

“Respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años”

Identificación

Según estudios realizados, el 51% de la población Guatemalteca comprendida entre las edades de 5 a 10 años se encuentra infectada con *H. pylori*. El presente estudio busca determinar la respuesta inmunológica a proteínas recombinantes de *H. pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años.

Procedimiento

Sí usted está de acuerdo en que el paciente participe en el estudio, se le pedirán datos personales para llenar una ficha epidemiológica. Posteriormente durante el proceso de la endoscopia se tomarán 3 mL de sangre para poder realizar los análisis correspondientes.

Criterio de inclusión

Únicamente se realizarán los análisis de sangre si el paciente padece de infección por *H. pylori*, diagnosticada por el análisis de la biopsia.

Beneficios

- Al paciente se le realizará exámenes específicos para *H. pylori* completamente gratis y al finalizar los análisis usted recibirá su informe de resultados, en caso de ser necesario ayudará al médico a instituirle su tratamiento.
- Su participación en el presente estudio contribuirá a tener una mejor comprensión de la respuesta inmunológica de pacientes pediátricos a ciertos antígenos de *H. pylori*. Con lo que estará contribuyendo con el avance de la ciencia y el conocimiento de la infección en Guatemala.

Riesgos

En general no existen riesgos relacionados a la participación en el presente estudio.

Confidencialidad

La información recolectada será tratada con total confidencialidad. No se publicará el nombre de su hijo(a) en ningún documento o revista científica, únicamente los resultados obtenidos. Las muestras podrán conservarse hasta que sean de utilidad para el estudio. Solicitamos autorice que la muestra sea utilizada para futuros análisis que permitan conocer datos sobre su salud. Los resultados no serán entregados a terceras personas y el nombre de su hijo(a) no será divulgado de ninguna forma.

Consideraciones financieras

- No se dará ninguna compensación monetaria por participar en el estudio.
- Usted no debe pagar por las pruebas serológicas que se realizarán.

Participación

Usted tiene el derecho de participar o no en esta investigación y tiene la libertad de salir del estudio en cualquier momento.

Cualquier duda o comentario puede comunicarse al correo: vanesawannan@hotmail.com

Consentimiento

Yo _____ de _____ años de edad y con numero de DPI _____ padre y/o responsable del niño(a) _____ con _____ años de edad, estoy de acuerdo en que mi hijo(a) participe voluntariamente en el estudio titulado "Respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años" He comprendido los objetivos, procedimientos, beneficios y riesgos de esta investigación y estoy enterado que esta participación es totalmente confidencial. Tengo la libertad de participar o salir del estudio en cualquier momento. Autorizo la utilización del suero de mi hijo(a) en este estudio y otros estudios sobre este tema.

Fecha _____ Firma del padre y/o encargado _____

Nombre y firma del investigador _____

ANEXO 2 Ficha Epidemiológica

“Respuesta Inmunológica a proteínas recombinantes de *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos menores de 18 años”

Fecha _____ Código del paciente _____

Datos Generales del paciente

Apellidos _____

Nombres _____

Edad ____ Género _____ Grado escolar _____

Fecha de nacimiento _____

Número de personas que constituyen su familia _____

Datos de los padres

Teléfono _____ E-mail _____ Ocupación _____

Dirección _____

Encuesta

Instrucciones: Marque con una “X” lo que se le solicita a continuación o llene el espacio cuando se requiera.

1. Su hijo(a) ha padecido frecuentemente de:

Gastritis ____ Vómitos ____ Diarrea ____ Reflujo ____ Acidez ____ Náusea ____

Embotamiento ____ Otros (especifique) _____

2. ¿Su hijo(a) presenta molestias frecuentes en la región abdominal superior?

Sí ____ No ____

3. ¿Anteriormente su hijo(a) se ha realizado alguna prueba para la detección de *H. pylori*?

Sí ____ No ____

4. Si su respuesta anterior fue sí, mencione cuándo se la realizó _____
y qué tipo de prueba se realizó _____

5. ¿Cuál fue el resultado de la prueba?

Positivo___ Negativo___

6. ¿Algún miembro de su familia que viva en la misma casa padece o ha padecido
de la infección por *H. pylori*?

Sí ___ No___

7. ¿Su hijo(a) ha recibido tratamiento contra *H. pylori*?

Sí ___ No___

8. Si su respuesta anterior fue sí, mencione que medicamentos utilizó y si cumplió
o no con el tiempo y dosis establecidos por el médico.

9. ¿Cuál fue el motivo de consulta?

10. ¿Algún miembro de su familia ha sido diagnosticado con cáncer gástrico?

Sí ___ No___

11. ¿Su hijo(a) consume alimentos que se venden en la calle?

Sí ___ No___

12. ¿Tiene refrigerador en su casa?

Sí ___ No___

13. ¿Cuál es el ingreso de su familia?

< Q1,000.00 _____ Q1,000.00-Q3,000.00 _____ Q3,000.00-Q5,000.00 _____
> 5,000.00_____

14. ¿Su hijo está recibiendo algún tipo de tratamiento?

No___ Sí: Antibiótico_____ Antiácido_____ Otros (Especifique) _____

ANEXO 3 Ficha de resultados

Código del paciente: _____

Serología

IgG		
	Negativo	Positivo
CagA		
VacA		
GroEL		
UreA		
HcpC		
gGT		
Resultado		
Tipo de infección		

IgA		
	Negativo	Positivo
CagA		
VacA		
GroEL		
UreA		
HcpC		
gGT		

Glenda Berena Tello Orizabal

Autora

Vanesa Iris Johanna Wannan Gramajo

Autora

Licda. Karla Josefina Lange Cruz

Asesora

Dra. Vivian Lucrecia Matta Ríos de García

Asesora

MA. Isabel Cristina Gaitán Fernández

Revisora

MSc. Alba Marina Valdés de García

Directora

Escuela Química Biológica

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia