

# Abordaje de la infección por *Helicobacter pylori*

## MICROBIOLOGÍA

DIAGNÓSTICO pág. 57

INDICACIONES TRATAMIENTO pág. 62

TRATAMIENTO 1.ª LINEA pág. 67

MANUEL LÓPEZ-BREA  
Y TERESA ALARCÓN

Servicio de Microbiología.  
Hospital Universitario de La  
Princesa. Madrid. España.

## Aspectos microbiológicos

### Puntos clave

*Helicobacter pylori* es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerofílico que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano asociado a diferentes enfermedades digestivas.

*H. pylori* se puede identificar por su forma en la tinción de Gram, la forma de la colonia (colonias pequeñas, brillantes e incoloras) y por las pruebas positivas de ureasa, catalasa y oxidasa cuando crece en medios de cultivo incubados en atmósfera microaerofílica.

Se han desarrollado diferentes técnicas *in vitro* que permiten detectar los factores de virulencia de *H. pylori* con el fin de caracterizar las cepas más patógenas, aunque hasta ahora no se ha demostrado una clara correlación clínica.

La resistencia a la claritromicina y al metronidazol es un indicador de fallo del tratamiento. Existen técnicas moleculares que permiten detectar las mutaciones implicadas en la resistencia a la claritromicina de forma rápida y permite elegir el tratamiento más adecuado.

*Helicobacter pylori* es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerofílico que sobrevive en la mucosa gástrica del estómago humano y se ha asociado a diferentes enfermedades digestivas<sup>1-7</sup>.

Se consideró que era un *Campylobacter* por el aspecto de la bacteria y se denominó *Campylobacter pyloridis*, aunque poco después se cambió el nombre de la especie por la forma latina correcta: *Campylobacter pylori*. En 1989 se clasificó dentro de un nuevo género (con el estudio de la secuencia 16S ARN ribosomal): *Helicobacter*<sup>2</sup>. En la actualidad existen más de 24 especies de este género<sup>3</sup> agrupadas en especies gástricas o enterohepáticas, y algunas de ellas se han aislado de muestras humanas (gástricas: *H. pylori*, *H. heilmannii*, *H. bizzozeronii*; enterohepáticas: *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. canadensis*, *H. pullorum*, *H. canis*, *Helicobacter* sp. *flexispira*).

### Características de *Helicobacter pylori*

*H. pylori* es un bacilo gramnegativo espiral, con forma de sacacorchos cuando se encuentra en la mucosa gástrica y menos espiral cuando crece en medios artificiales.

Presenta las características estructurales de los bacilos gramnegativos, con una membrana externa y una interna. Tiene de 4 a 8 flagelos polares, que son fundamentales para su movilidad, y que están recubiertos por una vaina de estructura lipídica, igual que la membrana externa, que parece tener la misión de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido<sup>8</sup>.

Su característica más importante es la potente ureasa, que es capaz de hidrolizar urea. Esto puede detectarse en el laboratorio mediante la preparación de un medio con urea y un indicador de pH. Si se encuentra la bacteria, también habrá ureasa, que hidrolizará la urea produciendo amonio y aumentando el pH del medio, que hará que cambie de color (la prueba positiva es

de color rosa)<sup>9</sup>. Tiene otras 2 enzimas muy útiles para su identificación cuando crece en medios de cultivo: la oxidasa y la catalasa.

Para cultivarlo en medios artificiales necesita medios enriquecidos, suplementados con sangre o derivados. *H. pylori* es resistente, de forma natural, a algunos antimicrobianos, que se han utilizado como agentes selectivos en los medios de cultivo: vancomicina, cefsulodina, polimixina, trimetoprim/sulfametoxazol y anfotericina B<sup>10,11</sup>. Necesita una incubación en atmósfera microaeróbica durante un mínimo de 4 días para el cultivo primario y de 2 días para el cultivo secundario. Se pueden identificar por su forma en la tinción de Gram, la forma de la colonia (colonias pequeñas, brillantes e incoloras) y por las pruebas de la ureasa, catalasa y oxidasa, que son positivas.

### El genoma de *Helicobacter pylori*

En agosto de 1997, el Instituto para la Investigación Genómica publicó la secuencia completa de la cepa 26695 de *H. pylori*<sup>12</sup>, que se aisló en el Reino Unido antes de 1987, de un paciente con gastritis<sup>12</sup>. El tamaño del genoma es de 1.667.867 pares de bases, que coincide con el tamaño determinado para diferentes cepas de *H. pylori* mediante electroforesis en campos pulsados (1,6 a 1,73 Mb)<sup>13</sup>. El genoma es circular y los genes de ARN ribosomal 23S-5S y 16S se localizan separados<sup>13,14</sup>. En total se identificaron 1.990 secuencias con función para codificar para proteínas, basándose en estudios previos de *H. pylori* o por homología con secuencias descritas para otros microorganismos, y 499 secuencias para las que no se conoce una función.

Posteriormente se secuenció el genoma de un segundo aislamiento clínico de *H. pylori* (J99) por la Genome Therapeutics Corporation (con licencia de ASTRA, Cambridge, MA).

## Lectura rápida



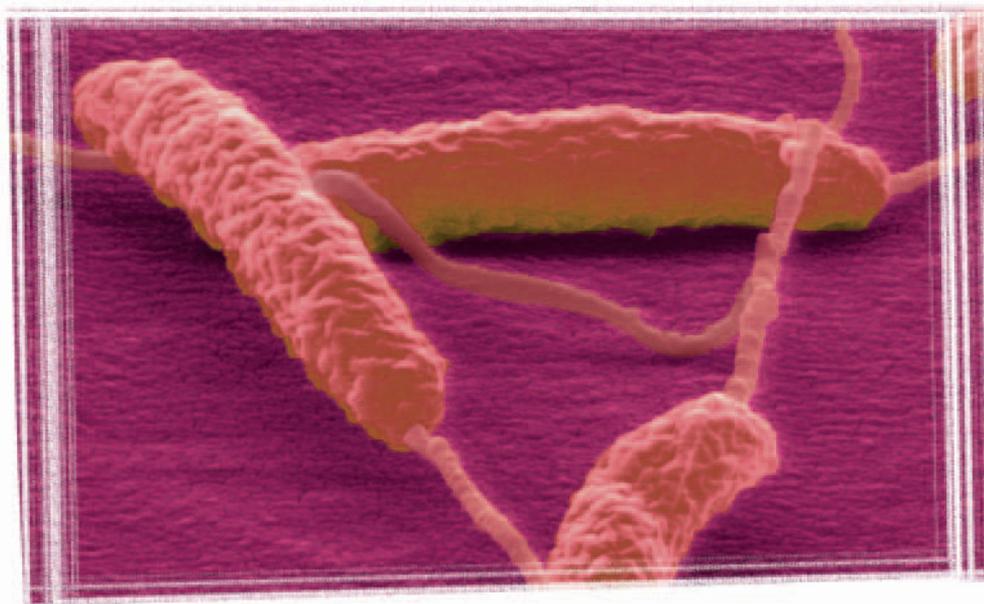
*Helicobacter pylori* es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerófilico que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano asociado a diferentes enfermedades digestivas.

Su característica más importante es la potente ureasa, que es capaz de hidrolizar urea. Tiene, además, otras 2 enzimas muy útiles para su identificación cuando crece en medios de cultivo: la oxidasa y la catalasa.

Cuando crecen en medio de cultivo se les puede identificar por su forma en la tinción de Gram, la forma de la colonia (colonias pequeñas, brillantes e incoloras) y por las pruebas de la ureasa, la catalasa y la oxidasa, que son positivas.

El genoma es circular, de 1.667.867 pares de bases, y se han identificado 1.990 secuencias con función conocida. Los genes de ARN ribosomal 23S-5S y 16S se localizan separados.

La bacteria presenta diferentes factores de virulencia que necesita para colonizar la mucosa gástrica (la movilidad, las adhesinas, el requerimiento microaerófilico, la ureasa, etc.), para persistir en ella (el lipopolisacárido o los sistemas de evasión inmune) y para producir daño en la propia mucosa (la toxina VacA, la proteína CagA, las fosfolipasas, la secreción y estimulación del pepsinógeno, la ureasa, etc.).



La cepa J99 se aisló en Estados Unidos en 1994 de un paciente con úlcera duodenal y se sometió a mínimos pasos antes de ser secuenciado en 1996<sup>15</sup>. El cromosoma circular es de 1.643.831 pares de bases (24.036 pb menor que el de 26695). Aunque el patrón de restricción de J99 y 26695 era bastante diferente<sup>16</sup>, el análisis de determinadas proteínas y los genes que las codifican sugieren que las proteínas de estas 2 cepas son muy similares y los genes se encuentran relativamente conservados en la localización de sus respectivos cromosomas<sup>17</sup>.

## Factores de virulencia

La bacteria presenta diferentes factores que necesita para colonizar la mucosa gástrica (la movilidad, las adhesinas, el requerimiento microaerófilico, la ureasa, etc.), para persistir en ella (el lipopolisacárido o los sistemas de evasión inmune) y para producir daño en la propia mucosa (la toxina VacA, la proteína CagA, las fosfolipasas, la secreción y estimulación del pepsinógeno, la ureasa, etc.)<sup>18</sup>.

La colonización se produce en varias fases, empezando por la colonización de la cavidad oral, la posterior colonización de la capa de mucina gástrica y, por último, la unión a las células del epitelio gástrico.

### Lipopolisacárido

El lipopolisacárido de *H. pylori* es una de las moléculas de unión, pero además permite camuflar a la bacteria de la respuesta inmune al mimetizar los antígenos de grupo sanguíneo de Lewis, por lo que puede permanecer de forma crónica en el estómago sin ser eliminado por la respuesta inflamatoria<sup>19</sup>.

### Ureasa

La ureasa está codificada por un conjunto de genes (*ure*) compuestos por 7 unidades y permite neutralizar el pH ácido porque genera amonio al descomponer la urea. Además, puede provocar un importante daño en la mucosa porque origina hidróxido de amonio que es tóxico y porque interacciona con el sistema inmune que origina productos oxidativos que también son dañinos<sup>20</sup>.

### Citotoxina vacuolizante VacA

Aproximadamente la mitad de las cepas de *H. pylori* producen una toxina que forma grandes vacuolas en las células eucarióticas de cultivos celulares<sup>21</sup>. La toxina está codificada por el gen *vacA*, que se encuentra en todas las cepas, produzcan o no toxina, pero presentan un mosaicismo en 2 regiones del gen: la región secuencia señal (*s1a*, *s1b* y *s2*) y la región media (*m1* y *m2*)<sup>22</sup>. Las cepas *s1m1* producen grandes cantidades de toxina, mientras que las *s2m2* no producen toxina y el resto de los patrones producen cantidades variables de toxina.

**Proteína CagA.** El gen *cagA* se describió como un gen asociado a citotoxina, aunque en la actualidad se sabe que no es un gen aislado, sino que se encuentra dentro de la llamada isla de patogenicidad, un fragmento de 40 kb que contiene 31 genes (*cagA*, *cagB*, *cagE*, *cagN*, etc.), que tiene un contenido en G+C más bajo que el del resto del genoma de *H. pylori*, que sugiere que se haya transferido de forma horizontal a partir de otras especies<sup>23</sup>. El gen *cagA* codifica para una proteína que es inyectada dentro de la célula hospedadora, originando secuencias de fosforilación en cascada

que llevan a la reorganización del citoesqueleto celular<sup>24</sup>.

Alguno de los factores de virulencia están en todas las cepas de *H. pylori*, mientras que otros no, lo que ha llevado a intentar relacionar determinadas cepas con el tipo de enfermedad que se puede desarrollar en el paciente<sup>25-27</sup>.

Se han desarrollado diferentes técnicas *in vitro* que permiten detectar los factores de virulencia en *H. pylori* con el fin de caracterizar las cepas más patógenas<sup>22,23,25-28</sup>. Se han diseñado diferentes protocolos de PCR para detectar el gen *cagA* u otros genes dentro de la isla de patogenicidad, para detectar los alelos s1 o s2 del gen *vacA* o los alelos m1 y m2. La detección del producto codificado por el gen *cagA*, la proteína CagA, se ha realizado mediante técnicas serológicas: inmunotransferencia, EIA<sup>27,28</sup>. Sin embargo, la correlación entre estas técnicas y la presencia o ausencia del gen *cagA* no siempre es buena. Y además, a pesar de los múltiples estudios realizados, en la actualidad no se pueden diferenciar las cepas en buenas y malas basándose en la presencia de diferentes factores de patogenicidad, con intención de que tenga repercusión en el tratamiento.

## Actividad antimicrobiana

Desde que se descubrió *H. pylori* y su implicación en la patología gastroduodenal se han realizado numerosos estudios buscando los antimicrobianos más activos *in vitro* frente a este microorganismo y los que presenten buena eficacia clínica, ya que no siempre existe una buena correlación, debido a diferentes factores, como la pobre penetración en zonas profundas de la mucosa gástrica, la inactivación del antibiótico por el pH ácido del estómago o el desarrollo de resistencias adquiridas durante el tratamiento<sup>29,30</sup>.

Los betalactámicos muestran una buena actividad *in vitro* frente a *H. pylori*, y la amoxicilina es la que presenta CMI más bajas (0,01-0,125 mg/l). Las tetraciclinas presentan también buena actividad *in vitro*. La resistencia a la amoxicilina y la tetraciclina es muy poco frecuente. El metronidazol administrado *in vitro* es activo y se ha demostrado su eficacia clínica, aunque en algunas poblaciones la resistencia es muy elevada. Los macrólidos tienen buena actividad y la claritromicina es la que presenta mejores CMI, aunque la resistencia a esta sustancia está aumentando en diferentes poblaciones, por lo que representa un problema cada vez mayor. La infección por cepas resistentes a la claritromicina o

al metronidazol supone un importante problema porque se relaciona con el fallo del tratamiento<sup>31</sup>.

Otros antimicrobianos con actividad *in vitro* que se han utilizado en ensayos clínicos son las rifampicinas o derivados, la furazolidona y las fluoroquinolonas<sup>32</sup>.

La resistencia a la claritromicina se produce por una mutación puntual en el ARN ribosomal 23S en la posición 2142 (cambio de adenina por guanina o citosina) o en la posición 2143 (cambio de adenina por guanina)<sup>33</sup> y se han desarrollado diversas técnicas moleculares que permiten detectar la presencia de estas mutaciones<sup>34</sup>. Por ejemplo, la PCR en tiempo real permite diferenciar las cepas sensibles (sin mutación) de las cepas resistentes en 1 hora (después de extraer el ADN) y se ha utilizado en cepas cultivadas *in vitro* pero también en muestras de biopsia gástrica<sup>35</sup>.

## Bibliografía



1. López-Brea M, Domingo D, Alarcón T. *Helicobacter pylori* y patología gástrica: una visión actual. Farmacoterapia. 1999; 16:423-30.
2. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. Int Syst Bacteriol. 1989;39:397.
3. Solnick JV, Shauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clin Microbiol Rev. 2001;14:59-97.
4. Rappin G. Contribution à l'étude bactérienne de la bouche à l'état normal et dans la fièvre typhoïde. A. Parent, Paris, France.
5. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet. 1984;1:1311-5.
6. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA. 1994;272:65-9.
7. World Health Organization: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. Geneva: World Health Organization, 1994;61:177-240.
8. Geis G, Suerbaum S, Forsthoef B, Leying H, Opferkuch W. Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of *Helicobacter pylori*. J Med Microbiol. 1993;38:371-7.
9. Laine L, Chun D, Stein C, El-Beblawi I, Sharma V, Chandrasoma P. The influence of size or number of biopsies on rapid urease test results: a prospective evaluation. Gastrointest Endosc. 1996;43:49-53.
10. Ndip RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiological methods. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003; 36:616-22.
11. López-Brea M, Alarcón T, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. The year of *Helicobacter pylori* 1997. Curr Op Gastroenterol. 1997;13 Suppl 1:13-9.
12. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature. 1997;388: 539-47.
13. Taylor DE, Eaton M, Chang N, Salama SM. Construction of a *Helicobacter pylori* genome map and demonstration of diversity at the genome level. J Bacteriol. 1992;174:6800-6.
14. Jiang Q, Hiratsuka K, Taylor DE. Variability of gene order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. Mol Microbiol. 1996;20:833-42.

## Lectura rápida



La toxina vacuolizante está codificada por el gen *vacA*, que se encuentra en todas las cepas, produzcan o no toxina, pero presentan un mosaicismo en 2 regiones del gen: la región secuencia señal (s1a, s1b y s2) y la región media (m1 y m2). Las cepas s1m1 producen grandes cantidades de toxina, mientras que las s2m2 no producen toxina y el resto de los patrones producen cantidades variables de toxina.

El gen *cagA* se encuentra dentro de la isla de patogenicidad, que es un fragmento de 40 kb que contiene 31 genes (*cagA*, *cagB*, *cagE*, *cagN*, etc.) con un contenido en G+C más bajo que el del resto del genoma, lo que sugiere que se ha transferido de forma horizontal a partir de otras especies.

La amoxicilina, la claritromicina, el metronidazol y la tetraciclina son los antimicrobianos más utilizados en las pautas de tratamiento, aunque la infección por cepas resistentes a la claritromicina o al metronidazol supone un importante problema porque se relaciona con fallo del tratamiento.

Otros antimicrobianos con actividad *in vitro* que se han utilizado en ensayos clínicos son las rifampicinas o derivados, la furazolidona y las fluoroquinolonas.

La resistencia a la claritromicina se produce por una mutación puntual en el ARN ribosomal 23S en la posición 2142 (cambio de adenina por guanina o citosina) o en la posición 2143 (cambio de adenina por guanina) y se han desarrollado diversas técnicas moleculares que permiten detectar la presencia de estas mutaciones.



## Bibliografía recomendada

**Ndip RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiologic methods. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003;36:616-22.**

*El cultivo de H. pylori es el método de referencia para el diagnóstico de la infección y permite probar la sensibilidad a los antimicrobianos. La muestra de biopsia gástrica es la más habitual, aunque también se han utilizado otras (heces, saliva, vómitos, placa dental). Este artículo revisa los métodos que se utilizan en la actualidad para el cultivo de H. pylori de muestras biológicas.*

**Solnick JV. Clinical significance of *Helicobacter* species other than *Helicobacter pylori*. Clin Infect Dis. 2003;36:349-54.**

*El cultivo de H. pylori ha servido para estimular el interés en bacterias asociadas con el tracto gastrointestinal y hepatobiliar. Se han identificado muchas nuevas especies de Helicobacter que se asocian cada vez más con enfermedades humanas, aunque la identificación de estas especies puede ser difícil por métodos habituales.*

**Rautelin H, Lehours P, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 2003;8 Suppl 1:13-20.**

*En este capítulo se revisan diversos métodos utilizados para diagnosticar la infección por H. pylori: breath test urea, antígeno en heces y las diferentes técnicas de PCR (PCR múltiple, PCR en tiempo real) para detectar H. pylori en muestras de biopsia gástrica y en otras muestras, los factores de virulencia y la resistencia a macrólidos.*

**López-Brea M, editor. Helicobacter pylori: retos para el siglo XXI. Microbiología, clínica y tratamiento. Barcelona: Prous Science; 1999.**

*Este libro trata sobre numerosos aspectos de la infección por H. pylori, incluyendo desde los aspectos de biología molecular y microbiología hasta los aspectos clínicos de esta infección.*

15. Alm RA, Ling LSL, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature. 1999;397:176-80.
16. Taylor DE. Genética molecular de *Helicobacter pylori*. En: López-Brea M, editor. *Helicobacter pylori: retos para el siglo XXI*. Microbiología, Clínica y tratamiento. Barcelona: Prous Science; 1999. p. 95-106.
17. Hancock REW, Alm R, Bina J, Trust T. *Helicobacter pylori*: a surprisingly conserved bacterium. Nat Biotechnol. 1998;16:216-7.
18. Alarcón T. Aspectos patogénicos de la infección por *Helicobacter pylori*. En: López-Brea M, editor. *Helicobacter pylori: retos para el siglo XXI*. Microbiología, clínica y tratamiento. Barcelona: Prous Science; 1999. p. 55-74.
19. Aspinall GO, Monteiro MA. Lipopolysaccharides of *Helicobacter pylori* strains P466 and MO19: structures of the O antigen chain and core oligosaccharide regions. Biochemistry. 1996;35:2489-97.
20. Murakami M, Yoo JK, Teramura S, Yamamoto K, Saita H, Matuo K, et al. Generation of ammonia and mucosal lesion formation following hydrolysis of urea by urease in the rat stomach. J Clin Gastroenterol. 1990;12 Suppl 1:S104-9.
21. Leunk RD, Jonson PT, David BC, Kraft WJ, Morgan DR. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. J Med Microbiol. 1988;26:93-9.
22. Atherton JC, Sharp PM, Cover TL, González-Valencia G, Peek RM, Thompson SA, et al. Vacuolating cytotoxin (vacA) alleles of *Helicobacter pylori* comprise two geographically widespread types, m1 and m2 and have evolved through limited recombination. Curr Microbiol. 1999;39:211-8.
23. Censini S, Lange C, Xiang ZY, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovskiy M, et al. Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori* encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93:14648-53.
24. Odenbreit S, Puls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science. 2000;287:1497-500.
25. Van Door L, Figueriedo C, Sanna R, Pena S, Midolo P, Enders K, et al. Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori* vac A. J Clin Microbiol. 1998;36:2597-603.
26. Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Galle PR, et al. Diversity of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. J Clin Microbiol. 1998;36:944-8.
27. Figueiredo C, Quint W, Nouhan N, Van den Munckhof H, Herbrink P, Scherpenisse J, et al. Assessment of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genotypes and host serological response. J Clin Microbiol. 2001;39:1339-44.
28. Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Zuna I, Von Herbay A, Galle PR, et al. Serum antibodies against *Helicobacter pylori* proteins VacA and CagA are associated with increased risk for gastric adenocarcinoma. Dig Dis Sci. 1997;42:1652-9.
29. Graham DY, Lew GM, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Klein PD, et al. Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. Gastroenterology. 1992;102:493-6.
30. Qasim A, O'Morain CA. Review article: treatment of *Helicobacter pylori* infection and factors influencing eradication. Aliment Pharmacol Ther. 2002;16 Suppl 1:24-30.
31. Houben MH, Van de Beek D, Hensen EF, Craen AJ, Rauws EA, Tytgat GN. A systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy—the impact of antimicrobial resistance on eradication rates. Aliment Pharmacol Ther. 1999;13:1047-55.
32. Megraud F, Lamouliatte H. Review article: the treatment of refractory *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther. 2003;17:1333-43.
33. Domingo d, Alarcón T. Mecanismos de resistencia a antibióticos en *Helicobacter pylori*. En: López-Brea M, editor. *Helicobacter pylori: retos para el siglo XXI*. Microbiología, clínica y tratamiento. Barcelona: Prous Science; 1999. p. 307-25.
34. Versalovic J, Osato MS, Spakovsky K, Dore MP, Reddy R, Stone GG, et al. Point mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* associated with different levels of clarithromycin resistance. J Antimicrob Chemother. 1997;40:283-6.
35. Lascols C, Lamarque D, Costa JM, Copie-Bergman C, Le Glaunec JM, Deforges L, et al. Fast and accurate quantitative detection of *Helicobacter pylori* and identification of clarithromycin resistance mutations in *H. pylori* isolates from gastric biopsy specimens by real-time PCR. J Clin Microbiol. 2003;41:4573-7.