

**PERFIL MOLECULAR DE GENES DE RESISTENCIA DE *Helicobacter pylori* Y SU  
RELACIÓN CON LOS GENES DE VIRULENCIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD  
GÁSTRICA EN UNA POBLACIÓN DEL CAUCA**

**Angélica Alejandra Domínguez Acosta, Bact.**

**© Derechos Reservados**

**Maestría en Ciencias Biomédicas  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad del Valle  
Cali  
2016**

**PERFIL MOLECULAR DE GENES DE RESISTENCIA DE *Helicobacter pylori* Y SU RELACIÓN CON LOS GENES DE VIRULENCIA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD GÁSTRICA EN UNA POBLACIÓN DEL CAUCA**

**Tesis para obtener el título de Maestría en Ciencias Biomédicas**

**Angélica Alejandra Domínguez Acosta, Bact.**

**Carlos Hernán Sierra Torres, PhD, MBE.  
Tutor**

**Claudia Patricia Acosta Astaiza, PhD (c)  
Asesor**

**Maestría en Ciencias Biomédicas  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad del Valle  
Cali  
2016**

## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

Firma jurado 1

---

Firma jurado 2

---

Firma jurado 3

Santiago de Cali, febrero 2017.

A mi pequeño Juan Martín por ser el motor de mi vida, el origen de mi fuerza, mi fuente de motivación e inspiración y mi más grande amor.

## DEDICATORIA

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a la PhD (c). Claudia Patricia Acosta, por su apoyo en mi formación profesional permitiendo mi participación en el proyecto “*Mutación en los genes de resistencia antimicrobiana en Helicobacter pylori y su relación con la virulencia*” financiado por Colciencias (Cod.110351929123), por asesorarme en este proyecto y por todos sus aportes a mi vida profesional y personal.

Al PhD Hernán Sierra, quien me incentivo a iniciar mis estudios de maestría, por aceptar ser el director de este trabajo y contribuir en mi formación académica y profesional.

Eternamente agradecida con Fundación InnoVaGen por todo lo que representa en mi vida.

A cada uno de los integrantes del Grupo de Investigación en Genética Humana Aplicada (GIGHA). Gracias Yexania Arboleda, Marcela Torres, Lorena Urbano, Andrés Quiroga, Aldair Rosero, Sulma Muñoz y Rosa Álvarez por las contribuciones que desde su quehacer contribuyeron a la culminación de este trabajo, pero sobretodo, gracias por su amistad.

A la Universidad del Cauca, la Vicerrectoría de Investigaciones y a los doctores Jesús Díaz, Fredy Calambas y Harold Bolaños de los departamentos de Medicina Interna y Patología de la Facultad de Ciencias de la Salud por la colección y confirmación de los casos.

A la Universidad del Valle y el Programa de Maestría en Ciencias Biomédicas por contribuir a mi formación profesional.

A los directivos del Hospital Universitario San José y el Hospital Susana López de Valencia en la ciudad de Popayán y ENDOVIDEO y a cada uno de los participantes.

A mi familia, en especial a mi madre por su apoyo en cada momento de mi vida.

A mis amigos por permanecer a mi lado y no dejar que tirara la toalla.

A Dios por su amor y bondad, por permitirme culminar con éxito este proceso formativo.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	14
OBJETIVOS.....	17
OBJETIVO GENERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
CAPITULO I. LA MICROBIOLOGIA DE <i>Helicobacter pylori</i> .....	18
1.1 INTRODUCCIÓN.....	18
1.2 GENOMA Y DIVERSIDAD GÉNICA .....	18
1.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	21
1.4 MORFOLOGÍA Y REQUERIMIENTOS DE CRECIMIENTO.....	21
1.5 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN.....	22
CAPITULO II. INFECCIÓN POR <i>Helicobacter pylori</i> Y ENFERMEDAD.....	24
2.1 INTRODUCCIÓN.....	24
2.2 EPIDEMIOLOGIA DE LA INFECCIÓN .....	25
2.3 POSIBLES MECANISMOS DE LA CARCINOGENESIS .....	26
2.3.1 Mecanismos indirectos .....	26
2.3.2 Mecanismos directos: .....	27
2.4 PATOBIOLOGÍA.....	28
2.4.1 Factores de virulencia.....	28
2.4.2 Factores del huésped .....	40
2.5 LESIONES GÁSTRICAS.....	43
Cáncer gástrico (CG): .....	45
CAPITULO III. ERRADICACIÓN Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE <i>Helicobacter pylori</i> .....	47
3.1 INTRODUCCIÓN.....	47
3.2 ESQUEMAS DE TRATAMIENTO .....	49
3.3 MECANISMOS DE RESISTENCIA.....	50
CAPITULO IV. METODOLOGIA .....	56
4.1 TIPO DE ESTUDIO .....	56
4.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	56
4.3 DEFINICIÓN DE CASOS .....	56
4.4 RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	57
4.5 TOMA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS .....	58

4.6	EXTRACCIÓN DE ADN .....	58
4.7	ANÁLISIS DE VIRULENCIA:.....	59
4.8	ANÁLISIS DE RESISTENCIA GENOTÍPICA.....	60
4.8.1	Resistencia a Metronidazol .....	60
4.8.2	Resistencia a Claritromicina .....	61
4.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	61
CAPÍTULO V. RESULTADOS.....		63
5.1	CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN .....	63
5.2	CONDICIONES DE SANEAMIENTO E HIGIENE AMBIENTAL .....	65
5.3	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	66
5.4	PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN EN ENFERMEDADES GÁSTRICAS .....	67
5.5	CARACTERIZACIÓN DE LOS GENES DE VIRULENCIA CAGA Y VACA .....	68
5.6	FRECUENCIAS DE LAS MUTACIONES RESISTENCIA <i>RDXA</i> Y 23 <i>RNAR</i> .....	70
	.....	71
5.7	INTERACCIONES ENTRE LA VIRULENCIA BACTERIANA CON LAS MUTACIONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA. ....	75
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN .....		78
6.1	CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN .....	79
6.2	CONDICIONES DE SANEAMIENTO E HIGIENE AMBIENTAL .....	80
6.3	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	81
6.4	PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN DE <i>H. PYLORI</i> EN ENFERMEDAD GÁSTRICAS	82
6.5	CARACTERIZACIÓN DE LOS GENES DE VIRULENCIA CAGA Y VACA .....	84
6.6	DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS CAGA Y VACA....	86
6.7	FRECUENCIAS DE LAS MUTACIONES RESISTENCIA <i>RDXA</i> Y 23 <i>RNAR</i> .....	88
6.8	INTERACCIONES ENTRE LA VIRULENCIA BACTERIANA CON LAS MUTACIONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA. ....	93
6.9	LIMITACIONES DEL ESTUDIO .....	94
CONCLUSIONES .....		95
RECOMENDACIONES .....		96
BIBLIOGRAFÍA .....		97
ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....		123
ANEXO 2. ENCUESTA .....		126

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN CIRCULAR DEL CROMOSOMA DE H. PYLORI 26695 .....	19
FIGURA 2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL H. PYLORI .....	21
FIGURA 3. ACTIVIDAD DE LAS ADHESINAS Y DEL SISTEMA SECRETOR TIPO IV .....	31
FIGURA 4. ACTIVIDAD DE LA UREASA DEL H. PYLORI.....	32
FIGURA 5. ACTIVIDAD DE LOS GENES DE VIRULENCIA DEL H. PYLORI .....	35
FIGURA 6. FIGURA 6. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL GEN VACA .....	38
FIGURA 7. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL GEN VACA DEL H. PYLORI .....	39
FIGURA 8. MODELO MULTIFACTORIAL DE LA CARCINOGENESIS GÁSTRICA .....	46
FIGURA 9. MECANISMO PROPUESTO DE RESISTENCIA A METRONIDAZOL .....	53
FIGURA 10. MECANISMO PROPUESTO DE RESISTENCIA A CLARITROMICINA .....	55
FIGURA 11. LOCALIZACIÓN TOPOGRÁFICA DE BIOPSIAS GÁSTRICAS.....	58
FIGURA 12 ELECTROFORESIS DE LA AMPLIFICACIÓN DE LOS GENES CAGÁ Y VACA .....	69
FIGURA 13 ELECTROFORESIS DE LA AMPLIFICACIÓN DEL GEN GEN RDXA .....	71
FIGURA 14 ELECTROFORESIS DE LA AMPLIFICACIÓN DEL GEN GEN 23S RRNA .....	71



## LISTA DE TABLAS

TABLA 1. OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LA ERRADICACIÓN DE H. PYLORI.....	50
TABLA 2. MODO DE ACCIÓN Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE LA RESISTENCIA DE LOS ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR H. PYLORI .....	52
TABLA 3. CEBADORES EMPLEADOS PARA LA AMPLIFICACIÓN DE GENES DE VIRULENCIA.....	59
TABLA 4. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIO CAPTADA .....	64
TABLA 5. CONDICIONES DE SANEAMIENTO E HIGIENE AMBIENTAL Y PERSONAL .....	65
TABLA 6. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	66
TABLA 7. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN EN ENFERMEDADES GÁSTRICAS .....	67
TABLA 8. FRECUENCIA DE LOS GENES DE VIRULENCIA CAG <sub>A</sub> Y VACA.....	68
TABLA 9. DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS CAG <sub>A</sub> Y VACA .....	69
TABLA 10 DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS CAG <sub>A</sub> Y VACA EN LAS ENFEMEDADES GASTRICAS.....	69
TABLA 11. FRECUENCIA DE MUTACIONES EN EL GEN 23S RNAR.....	72
TABLA 12. DISTRIBUCIÓN DE MUTACIONES PUNTUALES EN EL GEN 23S RNAR.....	72
TABLA 13. FRECUENCIA DE RESISTENCIA A METRONIDAZOL EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	72
TABLA 14. FRECUENCIA DE MUTACIONES PUNTUALES DE AMINOÁCIDOS EN LA NITROREDUCTASA RDXA DE H. PYLORI.....	73
TABLA 15. FRECUENCIA DE MUTACIONES DE AMINOÁCIDOS EN LA NITROREDUCTASA RDXA DE H. PYLORI RELACIONADOS CON CODONES DE TERMINACIÓN .....	74
TABLA 16. PRESENCIA DE MUTACIONES EN EL GEN 23S RNAR RELACIONADAS CON GENES DE VIRULENCIA DE H. PYLORI.....	76
TABLA 17. RELACIÓN DE LA MUTACIÓN R90K .....	76
TABLA 18. RELACIÓN DE LA MUTACIÓN R131K .....	76
TABLA 19. RELACIÓN DE LA MUTACIÓN A118T.....	76
TABLA 20. RELACIÓN DE LA MUTACIÓN H97T.....	76
TABLA 21. RELACIÓN DE LA MUTACIÓN S108A.....	76
TABLA 22. RELACIÓN DE LA MUTACIÓN R133K .....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS

MALT: Linfoma Asociado a la Mucosa Gástrica  
GCNA: Gastritis Crónica No Atrófica  
GCA: Gastritis Crónica Atrófica  
MI: Metaplasia Intestinal  
DG: Displasia Gástrica  
CG: Cáncer Gástrico  
LG: Lesión Gástrica  
UP: Úlcera Péptica  
UD: Úlcera Duodenal  
PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa  
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences, programa estadístico  
cagA: gen asociado a la citotoxina  
CagA: proteína codificada por el gen cagA  
vacA: gen de codifica para la citotoxina vacuolizante  
VacA: proteína codificada por el gen vacA  
LPS: Lipopolisacaridos  
IL-8: Interleucina 8  
INC: Instituto Nacional de Cancerología  
Pb: pares de bases  
OMP: proteínas de membrana externa  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
KDa: KiloDalton  
IL-1 $\beta$ : Interleucina 1- $\beta$   
TNF-  $\alpha$ : Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$   
NFK $\beta$ : Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras Kappa de las células B activadas  
SHP-2: Tirosin fosfatasa  
COX-2: Ciclo-oxigenasa 2  
VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

MTZ: Metronidazol

CLA: Claritromicina

AMX: Amoxicilina

PAI: Isla de Patogenicidad

LP: Lipopolisacarido

IBP: Inhibidor Bomba de Protones

IARC: Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer

## RESUMEN

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa, microaerófila que coloniza el estómago de los humanos. Es el agente causal de la gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico. La infección con *H. pylori* está extendida en todo el mundo y cerca de la mitad de las personas la ha presentado en algún momento de su vida. El tratamiento de *H. pylori* sigue siendo un reto para los médicos. Una de las fallas en el tratamiento contra *H. pylori* es el incremento de la resistencia de la bacteria asociada a mutaciones de manera intrínseca en genes. La eficacia en el esquema tradicional, que inicialmente era del 90%, ha venido disminuyendo en muchas partes del mundo y llega en la actualidad a cifras de 57-73% cuando la duración es de siete días y de 67-79% cuando la duración es de diez días. **Objetivo.** Caracterizar los perfiles moleculares de los genes de resistencia antimicrobiana *rdxA* y *23 RNAr* y su relación con genotipos de virulencia en pacientes con dispepsia, infectados con *H. pylori* en una población del Cauca. La **Metodología** a seguir, en resumen fue: **1.** Una vez seleccionada la población objeto de estudio y previamente firmado el consentimiento informado se aplicó el cuestionario para la obtención de información sociodemográfica y estilos de vida; **2.** Se obtuvo la muestra de biopsia gástrica de 453 individuos con síntomas de dispepsia; **3.** Se realizó la extracción del ADN de la bacteria y la amplificación de los genes de virulencia *cagA* y *vacA* por PCR múltiple, con el fin de determinar los genotipos de virulencia de las cepas circulantes en la población de estudio; **4.** Los genes *23S rRNA* y *RdxA* se amplificaron por PCR. Para el gen *23S rRNA* el patrón de mutaciones se identificó por secuenciación directa. Para el gen *RdxA*, las mutaciones en la nitroreductasa *RdxA* se realizó por análisis de las secuencias traducidas a aminoácidos y se comparó con la cepa de referencia 26695. **5. Análisis estadístico:** Los datos para cada variable se ingresaron en una base de datos en SPSS versión 19, para calcular las frecuencias y estimar la relación entre las variables de interés. **Resultados:** El genotipo de virulencia más frecuente fue *cagA<sup>+</sup>/vacAs1m1* (42,2 %). La frecuencia de mutaciones en la nitroreductasa *RdxA* en la población de estudio fue 78,2%, las mutaciones puntuales más frecuentes para este gen fue en las posiciones: D59N, (82,9%); R131K, (53,3%); R90K, (53,1%); A118T, (18,5%), I160F, (1,31%), H97T, (9,9%) y en los codones de

parada C159\*, (8,0%); I160\*, (6,1%); Q50\*, (2,6%); E75\*, (1,4%), por otra parte la frecuencia de resistencia para el gen 23 *RNAr* fue de (8,3%), siendo la mutacion A2143G la de mayor frecuencia (66,7%). **Conclusión:** En este estudio no encontró asociación entre la resistencia a claritromicina y metronidazol con los genotipos *cagA* y *vacA*.

**Palabras clave:** *H. pylori*, resistencia, mutaciones, infección, genes, Metronidazol, Claritromicina.

## INTRODUCCIÓN

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria gram negativa, espiralada y microaerófila que infecta alrededor del 50% de la población mundial (González López & Rodríguez González, 2011). Presenta una baja frecuencia (20-40%) en países desarrollados y es alta (70-90%) en países en vías de desarrollo (Espino, 2010). Estas diferencias se relacionan con los niveles de saneamiento ambiental, hacinamiento y nivel socioeconómico, que son los principales factores de riesgo para adquirir la infección (González & Jiménez, 2010). En Colombia, se ha reportado que cerca del 70% de los adultos sometidos a estudios endoscópicos presentan la infección (Martínez, Henao, & Granados, 2007). Debido a la relación de causalidad entre la infección con *H. pylori* y el desarrollo de tumores gástricos, en 1994 la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconocieron a *H. pylori* como un carcinogénico categoría I en humanos (Anderson et al., 2008).

La colonización persistente del epitelio gástrico por este microorganismo en ciertos pacientes resulta en el desarrollo de patologías gastroduodenales severas, que progresan de gastritis crónica a úlcera péptica, gastritis atrófica, linfoma del tejido linfoide asociado a mucosa (linfoma MALT) y adenocarcinoma gástrico (Makola, Peura, & Crowe, 2007). Actualmente, se presume que la infección se adquiere en la infancia y si no se elimina con antimicrobianos, persiste durante la vida del individuo. El mecanismo exacto de transmisión de esta infección se desconoce, probablemente se produzca a través de diferentes rutas, lo que permitiría al microorganismo una enorme capacidad para diseminarse (Otero Regino, Trespalacios, & Otero, 2009).

La resistencia a los antimicrobianos es una de las principales causas de fracaso del tratamiento para *H. pylori* y es en gran parte responsable de la disminución de las tasas de erradicación (Coy et al., 2009). Según diferentes guías de manejo de amplia difusión a nivel mundial como lo es el Consenso de Maastricht IV, el tratamiento recomendado para su erradicación como esquema de primera línea es la terapia triple estándar constituida por un inhibidor de la bomba de protones y dos antibióticos, amoxicilina, claritromicina o metronidazol, sin embargo, los datos más recientes muestran que esta

combinación ha perdido su eficacia y, a menudo permite la curación de tan sólo un 70% de los pacientes, que es inferior a la tasa del 80%, valor establecido y unánimemente aceptado para el umbral de respuesta a la terapia de erradicación (Malfertheiner et al., 2012). Esto causa preocupación médica ya que después de casi 30 años de su descripción los investigadores no han definido el protocolo ideal de tratamiento (Llano et al., 2012).

Las consecuencias finales de la infección por *H. pylori* dependen de los factores genéticos del huésped, factores medioambientales externos y la infección por genotipos más virulentos de *H. pylori* como *cagA*<sup>+</sup> y *vacA* s1m1, los cuales han mostrado una fuerte asociación con la resistencia antimicrobiana a *H. pylori* (Agudo, Pérez-Pérez, Alarcón, & López-Brea, 2010). El potencial biológico que presentan los genes *cagA*<sup>+</sup> y *vacA* s1m1 son sus productos, ya que están asociados con diversas patologías gástricas, lo cual constituye un aspecto de gran interés dentro de la etiología del cáncer gástrico (Galvis, Trespacios-Rangel, Otero, Mercado-Reyes, & Poutou-Piñales, 2012).

Acorde con la revisión de la literatura, no se reportan estudios sobre la resistencia a amoxicilina claritromicina y metronidazol en el departamento del Cauca. Así, la investigación sobre la resistencia al tratamiento utilizado en la infección por *H. pylori* se hace necesaria y dado que hay variaciones importantes entre países e incluso dentro de una misma región, se debe disponer de resultados a nivel regional. La alta incidencia de lesiones preneoplásicas gástricas en la población mundial y en el territorio nacional, señalan el cáncer gástrico (CG) como un grave problema de salud pública; siendo la primera causa de muerte por cáncer y la cuarta causa de mortalidad en general para el departamento del Cauca; actualmente se utiliza como estrategia de prevención para evitar el desarrollo de lesiones preneoplásicas administrar tratamiento de erradicación de *H. pylori*, con el fin de modificar el curso natural de la enfermedad, sin embargo los tratamientos que recomiendan las guías de manejo a nivel mundial no son efectivos.

En este sentido, la presente investigación tiene como propósito analizar ¿cuál es la relación que existe entre las cepas de alta virulencia y las mutaciones en genes

resistencia de *Helicobacter pylori* a los antibióticos amoxicilina y metronidazol en pacientes dispépticos de una población del Cauca?



## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Caracterizar los perfiles moleculares de los genes de resistencia antimicrobiana *rdxA* y *23 RNAr* y su relación con genotipos de virulencia en pacientes con dispepsia, infectados con *Helicobacter pylori* en una población del Cauca.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características sociodemográficas y clínicas de la población a estudio.
- Identificar las cepas de *Helicobacter pylori* y su distribución mediante la caracterización de los genes *cagA* y *vacA*.
- Determinar la frecuencia de las mutaciones de resistencia *rdxA* y *23 RNAr* en pacientes infectados.
- Establecer posibles relaciones entre la virulencia bacteriana con las mutaciones de resistencia antimicrobiana.

## CAPITULO I. LA MICROBIOLOGIA DE *Helicobacter pylori*

### 1.1 Introducción

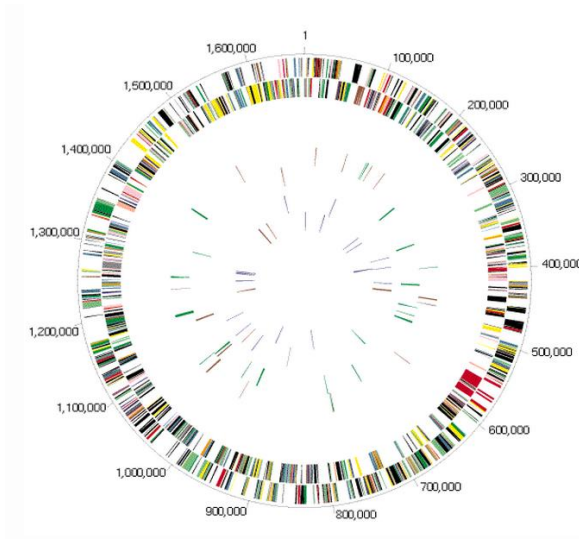
*Helicobacter pylori* llamó la atención en el mundo científico en 1983 cuando dos investigadores Australianos, *B.J. Marshall* y *J.R Warren*, reportaron la presencia de organismos espirales en cultivos de biopsias de la mucosa gástrica de pacientes con gastritis crónica activa; en ese entonces fue conocido como originalmente como "GCLO" (gastric *Campylobacter* like organism). Posteriormente recibió los nombres de *Campylobacter pyloridis*, *Campylobacter pyloricus* y *Campylobacter pgyouylori* (Fernández, 2012). En 1989 cuando se caracterizó la bioquímica y la genética del organismo recibe el nombre definitivo de *H. pylori*, donde además de *H. pylori* se puede encontrar en los humanos y otros mamíferos de diferentes especies de este género, esto permitió confirmar las observaciones y descripciones de bacterias morfológicamente semejantes, localizadas en el epitelio gástrico de animales a finales del siglo pasado (Fernández, 2012).

El descubrimiento de este microorganismo revolucionó la gastroenterología y obligó a replantear muchos conceptos, no sólo de la patología gastroduodenal, sino también de la fisiología gástrica. Los primeros trabajos, resultaron auténticos esfuerzos por parte de los microbiólogos en su intento de convencer a los clínicos, un tanto escépticos, del protagonismo de *H. pylori* en la patología de la gastritis y la úlcera péptica. Fue hasta 1992, con la evidencia de que la triple terapia antibiótica curaba la úlcera péptica, que se aceptó el carácter infeccioso de ésta bacteria (Trapero-Marugán, Gisbert, & Pajares, 2006).

### 1.2 Genoma y diversidad génica

Debido a la importancia de *H. pylori* como patógeno humano, nació el interés de estudiar su biología, evolución y el valor de la información de la secuencia del genoma completo con el fin de investigar nuevos fármacos y desarrollo de vacunas. Tomb, *et al.*, 1997, describieron la secuencia completa del genoma de la cepa 26665 del *H. pylori*, la secuencia se obtuvo por métodos de secuenciación randomizada, técnica previamente

utilizadas en los estudio genómico que permitieron conocer el genoma de *H. influenzae*, *Mycoplasma genitalium* y *methanococcus jannaschii* (Tomb et al., 1997).



**Figura 1. Representación circular del cromosoma de *H. pylori* 26695**

Fuente: Tomb, *et al*, 1997 (Tomb et al., 1997)

El análisis del genoma de la cepa 26695 consta de un cromosoma circular con un tamaño de 1.667.867 pares de bases (pb) y 1590 genes, cada uno con un promedio de 945 pb; 1091 de los cuales tiene asignado un papel biológico. El genoma del *H. pylori*, presenta un contenido de G+C del 39%. Los aminoácidos básicos: arginina y lisina, están presentes con una frecuencia doble en *H. pylori* respecto *Haemophilus influenzae* y *Escherichia coli*, lo que quizás refleja su adaptación al medio gástrico ácido. De acuerdo con un nicho ecológico tan restrictivo, *H. pylori* presenta una gran capacidad de biosíntesis y reparación, en un intento por adaptarse al medio. La supervivencia en condiciones tan ácidas depende, en parte, de su habilidad para generar un potencial positivo intracitoplasmático en condiciones de bajo pH.

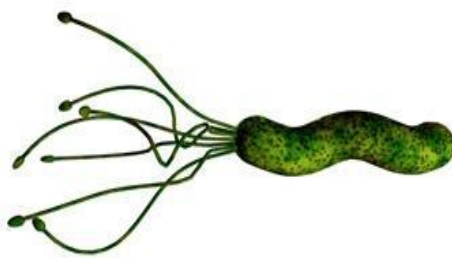
Tomb, *et al.*, Identificó 1,590 marcos de lectura abierta (ORFs), qué representa 91% del cromosoma de *H. pylori* de la cepa 26695, y Alm, *et al.*, Identificó 1,495 ORFs que representan 90.8% del cromosoma de la cepa J99. Ningún genoma de cadena larga muestra el prejuicio. Las regiones no codificantes de la cepa 26695 (9%) son divididos en tres clases. Las secuencias intergénicas que representan 6% de las regiones no

codificantes, mientras los no codificantes se repiten en 2.3%, y ARN estable del 0.7%. Entre los 1,590 ORFs, se encontraron 1,091 que contienen esas partes en otros organismos, mientras se pueda asignar los papeles biológicos a ellos, aunque no todos tienen función ortólogos conocidas. El ORFs 499 no se exhibe en ninguna base de datos puede ser considerado en este momento específico a *H. pylori*. En la reescritura de la corrida de este genoma por Alm, *et al.*, el número de ORFs de la cepa 26695 es de 1,552 del que 1,185 regiones ortólogas se han encontrado en otras especies, 367 son específicas para *H. pylori*, y 69 son específicos de la cepa 26695. La proporción de genes huérfanos en *H. pylori* es similar al encontrado en otra bacteria secuenciada a la fecha. Sin embargo, debe tenerse presente que los genes ortólogos de algunos de esos ORFs probablemente llegue a ser identificado cuando los genomas enteros extensos sean completamente secuenciados (Alm et al., 1999).

La isla de patogenicidad de *H. pylori* se ha considerado en función de su habilidad para producir la citotoxina vacuolizante (VacA) y la proteína asociada a la citotoxina (CagA). El gen *vacA*, de 3,9kb de tamaño, codifica para una proteína de 139 kDa con una secuencia líder de 33 aminoácidos, la propia citotoxina (VacA) y un fragmento C-terminal de aproximadamente 50kDa. La citotoxina induce la formación de vacuolas en las células epiteliales del huésped y se ha asociado su presencia con la capacidad de producir lesión tisular y enfermedad ulcerosa, aunque no se trata del único factor implicado. El gen *cagA* está posicionado en uno de los extremos de la isla de patogenicidad (PAI) de 35 kb, que contiene unos veinte genes, incluyendo el *picB*, requerido para inducir la producción de interleucina-8 por las células del epitelio gástrico (Tomb et al., 1997). Al menos cuarenta proteínas del genoma de *H. pylori* se encuentran implicadas en la regulación, secreción y ensamblaje de la arquitectura flagelar que permiten al *H. pylori* su movimiento, son estructuras complejas y envainadas con bulbo terminal, una flagelina mayor codificada por el gen *flaA* y otra menor codificada por el gen *flaB*.

### 1.3 Clasificación taxonómica

*Helicobacter* pertenece al subgrupo más pequeño de las proteobacterias. Dentro de este subgrupo todas las bacterias son bacilos gramnegativos, delgados, y pueden ser rectos, curvados o helicoidales, es decir que son polimórficos. Las proteobacterias tienen una clase, Campylobacteres, un orden, Campylobacterales y dos familias, Campylobacteraceae y Helicobacteraceae. Los dos géneros más importantes son *Campylobacter* y *Helicobacter*, se ubican en la Sección 2 de la primera edición del Manual Bergey, dado su condición morfológica de ser bacilos gramnegativos, microaerófilos, móviles, helicoidales o vibrioides (Fernández, 2012).



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

**Figura 2. Clasificación taxonómica del *H. pylori***

Fuente: Goodwin, *et al*, 1989 (GOODWIN *et al.*, 1989)

### 1.4 Morfología y requerimientos de crecimiento

*H. pylori* es un bacilo gramnegativo, curvado y microaerófilo que se encuentra en la mucosa gástrica del estómago humano. Presenta dos divisiones (pleomórfico), ambas observadas en el estómago humano: una forma espiralada y una cocoide, producto de la conversión morfológica de la primera. La forma espiralada es viable, cultivable, virulenta e induce inflamación en la mucosa gástrica mientras que la cocoide, refleja la adaptación a un medio hostil, en el cual el microorganismo es metabólicamente activo, menos virulento, incapaz de reproducirse y con menos probabilidad de colonizar e inducir inflamación (González & Jiménez, 2010) (Young, Allaker, & Hardie, 2001). Presenta un tamaño de 0,5 a 1,0 micras de ancho y de 3 micras de largo. Tiene de 2 a 6 flagelos monopolares, 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 del medio ácido (Amieva & El-Omar, 2008). Su temperatura óptima de crecimiento se produce a 37 °C, aunque puede desarrollarse en un rango de 35 a 39 °C en microaerofilia, con una concentración de Oxígeno y Dióxido de Carbono entre el 5-10%, 80-90% de Nitrógeno y un 2% de Hidrogeno (Kusters, van Vliet, & Kuipers, 2006). Su crecimiento es lento y toma de 5 a 7 días para poder observar y diferenciar sus colonias en los medios solidos ricos en nutrientes como: peptona, triptona, extracto de levadura, glucosa y sales de cloruro de sodio y bisulfito de sodio, suplementados con sangre de caballo, suero fetal bovino (SFB) o ambos, necesarios para su crecimiento (Alarcón, Baquero, Domingo, LÓPEZ, & Royo, 2004). Enzimas como la ureasa es uno de los factores de defensa más importante de *H. pylori* porque tiene la capacidad de hidrolizar la urea y de neutralizar el ácido del estómago facilitando su supervivencia. La catalasa y oxidasa, son útiles para identificación cuando crece en medios de cultivo (Moblely, Mendz, Hazell, Donahue, & Peek, 2001). Aunque *H. pylori* es muy homogéneo en cuanto a sus características bioquímicas, presenta una importantísima variabilidad antigénica; esto debido a que existen muchos genes que codifican proteínas de membrana y además entre ellas pueden darse distintos procesos de recombinación (Odenbreit, 2005).

### **1.5 Mecanismos de transmisión**

La infección por *H. pylori*, generalmente ocurre en la infancia (Gámez Escalona, Mulet Pérez, Miranda Moles, & Mulet Gámez, 2008). Los mecanismos exactos de transmisión de *H. pylori* se desconocen y son probablemente múltiples. Sin embargo, se ha propuesto que la vía de transmisión más probable es por contacto directo de persona a persona, donde las vías de contagio propuestas son: gastro-oral, oral-oral y fecal-oral, siendo esta última, la ruta más probable de adquirir la infección (Azevedo, Huntington, & Goodman, 2009). Estudios sobre el papel del agua de consumo humano en la transmisión de la infección por *H. pylori*, demuestran que esta bacteria se puede adquirir por este vector de tipo ambiental (Campos et al., 2011). La presencia de *H. pylori* en el agua potable, es una fuente importante de transmisión, que apunta a una vía fecal-oral de propagación (Goh et al., 2011). Actualmente, se ha propuesto que podría existir un

vector de transmisión de tipo zoonótico (moscas y gatos), que actuaría a la vez como reservorio de la infección al igual que el agua de consumo humano (Gião, Azevedo, Wilks, Vieira, & Keevil, 2010).

## CAPITULO II. INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori* Y ENFERMEDAD

### 2.1 Introducción

*H. pylori* fue identificado definitivamente en 1984 por *Warren y Marshall*, y 10 años más tarde, este organismo fue reconocido por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) como carcinógeno tipo I (Marshall & Warren, 1984). *H. pylori* ha sido reconocido como el principal causante de enfermedades del tracto gastrointestinal superior como lo son la gastritis crónica activa y uno de los factores contribuyentes en la etiología multifactorial de la úlcera péptica, el adenocarcinoma gástrico y el linfoma tipo MALT (“181,” n.d.).

La infección se adquiere durante la niñez a edades tempranas en los países en vías de desarrollo. Las vías postuladas para la transmisión son: fecal-oral, oral-oral, gastro-oral (Dinda & Kimang’a, 2016). La historia natural de la infección es bastante variable, y aunque todos los pacientes infectados desarrollan una gastritis crónica, no todos desarrollan enfermedad clínica, siendo muchos de ellos asintomáticos (Javier Pérez Gisbert & Santander, 2016). Factores ambientales, bacterianos y del huésped (respuesta inflamatoria generada), determinan la evolución natural de la infección (Ramírez Ramos & Sánchez Sánchez, 2008). La historia natural de la infección por *H. pylori* presenta diferentes escenarios clínicos: infección aguda, gastritis crónica, gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia epitelial gástrica y cáncer gástrico (Paredes, 2015).

La bacteria presenta una serie de factores de virulencia (adhesión, toxinas, enzimas, entre otros), los cuales le permiten adaptarse al medio gástrico y causar un daño continuo directamente sobre las células del epitelio e inducir alteraciones celulares que convergen en las lesiones preneoplásicas gástricas (Wroblewski, Peek, & Wilson, 2010). La movilidad de *H. pylori* es esencial para la colonización, pues permite a la bacteria difundirse por la capa viscosa de moco que cubre el epitelio gástrico. La persistencia de colonización de la bacteria induce gastritis y está asociada con el desarrollo de enfermedad úlcera péptica, gastritis atrófica y carcinoma gástrico (Alberto, 2016).



## 2.2 Epidemiología de la infección

La infección por *H. pylori* es la enfermedad bacteriana gastrointestinal más común del mundo, considerada un problema de salud pública por cuanto afecta al 50% de la población mundial (McColl, 2010). La prevalencia de la infección por *H. pylori* en países en desarrollo es del 90%, mientras que en los países desarrollados, con excepción de Japón, la prevalencia es del 40% (Gómez, Ruíz, Hernández, Albis, & Sabbagh, 2015). El riesgo de infección a lo largo de la vida en las personas que viven en países desarrollados es aproximadamente del 40% a 60%, pero llega al 90% o más en los países en vía de desarrollo, en los cuales más del 50% de la población está infectada a los 10 años de edad, a diferencia de los países desarrollados, en donde sólo del 5% a 10% de los niños están infectados a la edad de 10 años (Lehours & Yilmaz, 2007).

Los países que presentan incidencia elevada de la infección durante la infancia, donde esta se cronifica y persiste hasta la edad adulta, se presenta en regiones en desarrollo tales como: África, Asia, Egipto, América Central y Sur América, donde la prevalencia alcanza cifras entre el 70-90%, mientras que en áreas donde la incidencia es baja durante la infancia y se incrementa a lo largo de la vida, a este grupo pertenecen las regiones desarrolladas, como: Norte América, Australia y Europa occidental, las cuales reportan tasa del 30%, como resultado del mejoramiento en las condiciones de saneamiento (Ghotaslou et al., 2013). La prevalencia de infección que se presenta en muchos países en desarrollo, está relacionada con el bajo nivel socio-económico, deficiencias en los sistemas de saneamiento ambiental, falta de educación y con condiciones de hacinamiento, siendo estos los principales factores de riesgo de adquirir la infección (Bruce & Maaros, 2008).

## **2.3 Posibles mecanismos de la carcinogénesis**

Los mecanismos por los cuales *H. pylori* produce cáncer gástrico no se conocen completamente, pero en la actualidad se considera que la carcinogénesis puede involucrar mecanismos indirectos (inflamación permanente) y mecanismos directos representados por la acción de los diferentes factores de virulencia de *H. pylori* sobre el epitelio gástrico (P. Correa, 2011).

### **2.3.1 Mecanismos indirectos**

Estos se relacionan con la fuerte respuesta inflamatoria producida en el estómago infectado, la cual causa cambios moleculares y morfológicos en el epitelio originando la siguiente secuencia histopatológica: gastritis crónica, atrofia gástrica, metaplasia intestinal completa, metaplasia intestinal incompleta, displasia y cáncer en 1-2% de los infectados (Otero Regino, Gómez, & Castro, 2009).

Los mecanismos inflamatorios desencadenados por la presencia de la bacteria en la mucosa gástrica que contribuyen a la formación de lesiones preneoplásicas están determinados por mediadores de la inflamación y factores determinantes de la respuesta inmune del huésped (Alpízar-Alpízar, Une, & Sierra, 2009a). La liberación de citoquinas pro-inflamatorias, especies reactivas de oxígeno y la regulación positiva de la Cox-2, contribuyen a formar un ambiente gástrico propicio para favorecer las transformaciones malignas (Sánchez-Zauco, Giono-Cerezo, & Maldonado-Bernal, 2010). Los mecanismos que participan en las lesiones directas del ADN, la inhibición de la apoptosis, la subversión de la inmunidad, la estimulación de la angiogénesis y la inflamación crónica afectan la proliferación, adherencia y la transformación celular llevando a la agresividad en el desarrollo de lesiones precancerosas (Otero Regino, Gómez, et al., 2009). Estos procesos son el resultado de la interacción de una serie de factores del hospedero que llevan a determinar la severidad de las lesiones; los genes candidatos a estar implicados serían aquellos que estén involucrados en el manejo de la exposición de la bacteria y el ataque del hospedero (la respuesta inmune innata y adaptativa) (Sánchez-Zauco et al., 2010). La inflamación de la mucosa gástrica se

caracteriza por la respuesta tipo Th1 que lleva de una inflamación aguda a la cronicidad que persiste con el tiempo, caracterizada por la infiltración de varios tipos de células entre ellas están los neutrófilos, macrófagos, células dendríticas y linfocitos T; dicha respuesta inflamatoria está mediada por un complejo grupo de citoquinas proinflamatorias, quimiotácticas e inmunosupresoras y moléculas reactivas derivadas de oxígeno y nitrógeno, las cuales son producidas por células inflamatorias y células epiteliales en respuesta a estímulos inducidos por la bacteria (Alpizar-Alpizar, Une, & Sierra, 2009b).

### **2.3.2 Mecanismos directos:**

Se consideran diferentes factores de virulencia y/o determinantes de patogenicidad del microorganismo (ureasa, flagelos, adhesinas, superóxido dismutasa, citotoxina y proteína CagA o VacA) los que pueden contribuir a la inflamación gástrica (Rivas-Traverso & Hernández, 2000). La adhesión constituye un primer paso en la producción de lesiones. *H. pylori* expresa en su superficie diversas adhesinas capaces de reconocer y unirse a receptores específicos de las células epiteliales de la mucosa gástrica (Alberto, 2016). Además, parece existir una relación directa entre el grupo sanguíneo y la expresión de receptores específicos para *H. pylori* en la superficie de la célula epitelial. Los individuos de los grupos sanguíneos A y B tienen menor número de receptores que los del grupo O y estos últimos tienen un riesgo mayor de desarrollar úlcera péptica (Cava & Cobas, n.d.). Todas las cepas de *H. pylori* producen grandes cantidades de ureasa (Amieva & El-Omar, 2008). Esta enzima actúa sobre la urea que proviene del plasma produciendo amoníaco que favorece la supervivencia de la bacteria, altera la biosíntesis del moco y causa su desprendimiento facilitando la producción de úlceras y una colonización más estable (Lee et al., 2010). El amoníaco puede ser tóxico para las células del epitelio e incrementar la acción citotóxica de diversos mediadores de la inflamación producidos por neutrófilos. *H. pylori* generalmente no invade la mucosa gástrica, sino que vive en la capa de moco (Garza-González, Perez-Perez, Maldonado-Garza, & Bosques-Padilla, 2014). Aproximadamente 50% de los aislamientos clínicos producen la citotoxina VacA, esta citotoxina es un factor de patogénesis que la bacteria secreta y que provoca daño al tejido gástrico que lleva al

desarrollo de las enfermedades gástricas graves (Kusters et al., 2006). Las cepas difieren también en la expresión de una proteína antigénica de elevado peso molecular denominada CagA, el 70% por ciento de los aislamientos producen esta proteína. Entre 80% y 100% de los pacientes con úlcera duodenal producen anticuerpos contra CagA, mientras que en las personas con gastritis se detecta en sólo 63%(Azuma, 2009).

## **2.4 Patobiología**

### **2.4.1 Factores de virulencia**

*H. pylori* es una bacteria capaz de colonizar la mucosa gástrica humana y sobrevivir en un medio ambiente extraordinariamente hostil, causando en todas las personas infectadas una inflamación gástrica, sin embargo el hecho de que sólo una pequeña parte de las personas infectadas con *H. pylori* desarrollan síntomas clínicos y diferentes enfermedades, implica una vía multifactorial en el desarrollo de la enfermedad (Vallejos, Cerda, Valenzuela, & Toledo, 2003). *H. pylori* tiene diversos factores de virulencia que le permiten colonizar el estómago y permanecer por largos periodos de tiempo, estos factores son aquellos que ayudan a la persistencia de la infección y benefician su penetración a la mucosa gástrica. Estos factores son: su forma espiralada, la presencia de flagelos, la actividad de la enzima ureasa; además de los productos de los genes *vacA*, *cagA* e *iceA* que causan la inflamación del tejido gástrico en el hospedero (Wroblewski et al., 2010) (Premoli, González, Millán-Mendoza, Percoco, & Vielma, 2004).

**Flagelos:** Los flagelos de *H. pylori* le permiten moverse en la mucosa gástrica contrarrestando el peristaltismo, penetrando la capa de mucina (secretada por las células de la superficie de la mucosa) para alcanzar la superficie epitelial y escapar del ácido que la rodea (Rivas-Traverso & Hernández, 2000). La movilidad es importante para la persistencia de la infección.

**Lipopolisacáridos y Antígenos Lewis:** La envoltura celular, característica de este tipo de bacterias como *H. pylori*, está formada por una membrana celular externa, un

espacio periplasmático y una membrana celular interna. La membrana celular externa, está constituida por fosfolípidos, lipopolisacáridos (LPS) y glúcidos de colesterol (Rojas Campos, 1995). Los LPS a menudo llamados endotoxinas, son responsable de los fenómenos pato-fisiológicos asociados a infecciones generadas por microorganismos Gramnegativos (Romero Hurtado & Iregui, 2010). Los LPS juegan un papel importante en la patogénesis de las infecciones bacterianas, así como en la interacción con el hospedero y su sistema de defensa, están formados por tres partes: una porción lipídica e hidrofóbica, denominada lípido A, inmersa en la cara externa de la membrana celular de la bacteria; una porción antigénica e hidrofílica, llamada: región llamada polisacárido O, compuesta por azúcares que presenta una gran variabilidad estructural y un núcleo que conecta las dos regiones anteriores (Romero Hurtado & Iregui, 2010).

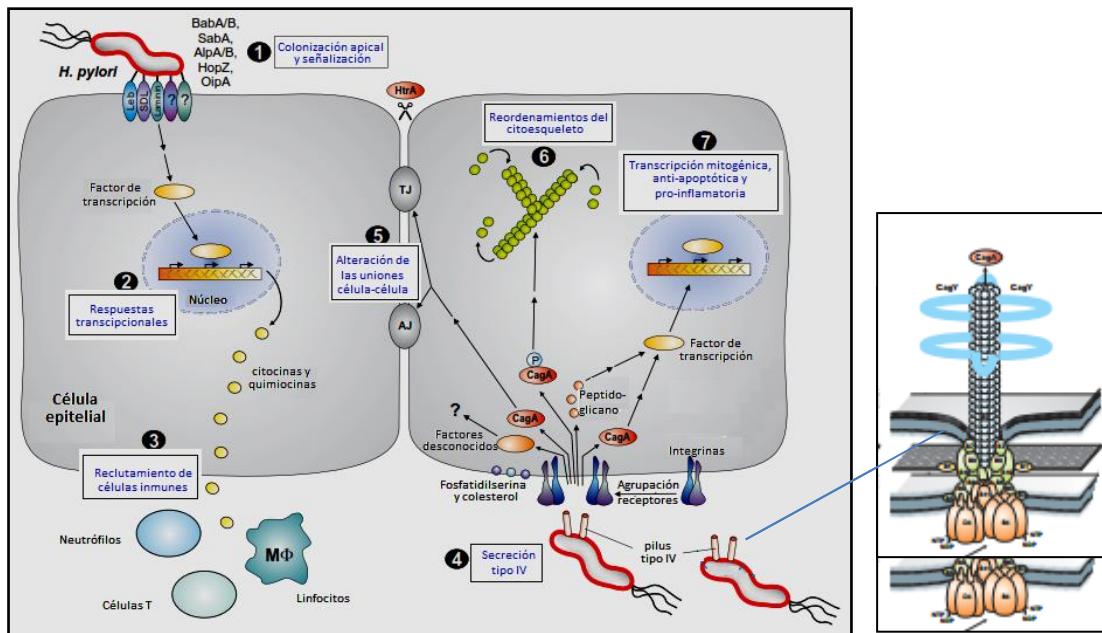
El lípido A posee la actividad endotoxina del LPS; dentro de sus funciones se encuentran, la activación de macrófagos, la producción de grandes cantidades de citoquinas y mediadores con múltiples efectos en diferentes órganos. El antígeno o polisacárido O participa en la adherencia de la bacteria a las células epiteliales gástricas y le confiere a esta su especificidad serológica (Fowler, Thomas, Atherton, Roberts, & High, 2006). Las cepas de *H. pylori* producen LPS de alto peso molecular con cadenas completas y antígeno O, lo cual les confiere un fenotipo liso pero en condiciones in vitro la bacteria puede convertirse a rugosa debido a la pérdida de la cadena del antígeno O (Occhialini et al., 2001). La cadena de antígeno O puede ser fucolisada y mimetizarse con el antígeno del grupo sanguíneo Lewis (Lewis x [Lex] y LeY ) con el fin de evadir la respuesta inmune del hospedero, teniendo en cuenta que este antígeno es reconocido por la proteína D surfactante y al fucolizarse no habría reconocimiento de este (Appelmelk et al., 1996). Comparado con otras bacterias gram-negativas, los lipopolisacáridos del *H. pylori*, activan débilmente la respuesta inmune innata del huésped (Muotiala, Helander, Pyhälä, Kosunen, & Moran, 1992). En consecuencia es improbable que estos LPS bacterianos representen un factor importante de activación de la respuesta inmune en el hospedero. Aún no es claro, si la capacidad de mimetismo que posee el *H. pylori* en los antígenos del grupo sanguíneo promuevan una respuesta autoinmune y generen la producción de auto-anticuerpos los cuales desencadenan una

respuesta inflamatoria y consecuentemente el desarrollo de gastritis atrófica, ante la imposibilidad del hospedero de activar una respuesta inmunológica que detenga este proceso infeccioso (Appelmelk et al., 1996).

**Adhesinas y Proteínas de membrana externa:** La adherencia a las células epiteliales gástricas es un prerrequisito para la colonización del estómago por *H. pylori*. En el tracto gastrointestinal el movimiento peristáltico de la pared gástrica combinado con la alta tasa de renovación de las células epiteliales exige que las bacterias se adhieran fuertemente a los tejidos para llevar a cabo la colonización; lo que favorece la persistencia de la infección y estimula mecanismos patogénicos, principalmente, los vinculados a cambios en la morfología celular y a la activación del sistema inmune. Además, se presume que la adhesión permitiría un mejor acceso a los nutrientes liberados desde el epitelio gástrico y un suministro de las toxinas bacterianas a las células huésped de manera más eficiente. Por otro lado, en sitios de inflamación fuerte, la pérdida de propiedades de adherencia puede permitirle a *H. pylori* escapar de la destrucción por las células inmunes del huésped (Van Amsterdam & Van Der Ende, 2004). Un subconjunto importante de proteínas que intervienen en estas adaptaciones y que son importantes en la persistencia de la infección son las Proteínas de Membrana Externa (OMPs) (Alm et al., 2000).

Varias de las OMPs han sido caracterizadas como adhesinas, lo que sugiere un papel central para estas proteínas en la colonización del estómago humano. En la patogénesis de la infección participan principalmente la familia de proteínas Hop, que a su vez incluye adhesinas como: a) BabA (HopS): blood antigen binding adhesión, es la proteína de adhesión a los antígenos del grupo sanguíneo Lewis B, b) SabA (HopP): sialic acid binding adhesión (adhesina de unión al Acido Siálico), c) OipA (HopH): outer membrane inflammatory protein. (Proteína inflamatoria de la membrana externa), d) HpaA (*H. pylori* adhesina A): constituida por una lipoproteína que actúa como adhesina, mediando la unión a glicoconjugados con ácido siálico (N-acetil-neuraminil-lactosa) (de Gastroenterología, Alvarez, & Guerrero, n.d.). Por otra parte, estas proteínas de adhesión actúan conjuntamente con factores de virulencia bacterianos, es el caso de BabA que se

encuentra asociada con *cagA* y con el alelo *vacA* s1, las cepas que poseen esta combinación presentan un papel importante en el desarrollar CG, por cuanto altera varios procesos de la célula huésped, incluyendo la transcripción, reordenamientos del citoesqueleto y la apertura de las uniones celulares, tal como lo muestra de Figura 3.

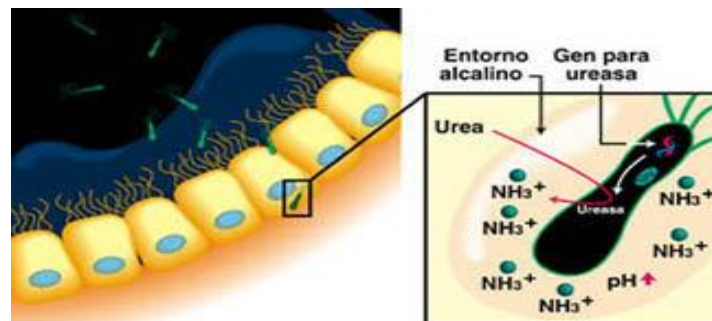


**Figura 3. Actividad de las adhesinas y del sistema secretor tipo IV**

Fuente: Backert *et al.*, 2011 (Tegtmeyer, Wessler, & Backert, 2011)

**Resistencia al ambiente ácido y producción de amonio:** El *H. pylori* entra al ambiente gástrico por vía oral y es sometido a las condiciones extremas que caracterizan el microambiente gástrico. Sin embargo, la bacteria tiene la habilidad de resistir este pH debido a que es capaz de establecer un potencial de membrana positivo y de modificar el microambiente mediante la producción de ureasa y la liberación de factores que inhiban la producción de ácido en las células parietales. El microorganismo tiene la habilidad de producir una enzima llamada ureasa, compuesta por dos subunidades UreA y UreB, la síntesis de la ureasa es regulada por siete genes contiguos (genes A-H, exceptuando la letra C), que incluyen los que codifican para UreA y UreB, y los que codifican para proteínas accesorias responsables de la inserción del níquel en el sitio activo de la enzima. La enzima está conformada por seis subunidades de UreA y seis de UreB, codificada por los genes *ureAB* que se organizan en un operón,

que se transcribe como un RNA bicistrónico. Esta enzima cataliza la conversión de la urea en  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{CO}_2$ , la bacteria capta urea a través de un canal de protones que se abre a pH ácido y se cierra a pH neutro; después de su captura, la urea es hidrolizada, lo que amortigua el pH del citoplasma, periplasma y del entorno que rodea a la bacteria, aspecto esencial para su supervivencia, tal como se muestra en la Figura 4 (Bijlsma et al., 2002).



**Figura 4. Actividad de la ureasa del *H. pylori***

Fuente: Fochesatto et al, 2004 (Fochesatto, Guayán, Moran, & Vizcaíno, 2004).

La ureasa es uno de los factores de colonización imprescindibles de *H. pylori*, ya que constituye su principal mecanismo de adaptación a un medio adverso como lo es el microambiente gástrico, esta enzima es secretada en elevadas cantidades y representa alrededor del 10% del total de las proteínas de la bacteria (Fochesatto et al., 2004). La actividad ureásica además de contribuir con la toxicidad celular producida por el  $\text{NH}_4^+$ , actúa como factor quimiotáctico, activando macrófagos para la producción de citocinas proinflamatorias; adicionalmente, se han establecido nexos entre la acción de la toxina VacA y la ureasa, puesto que la actividad de la VacA se incrementa en presencia de elevadas concentraciones de cloruro de amonio, por otra parte, las cepas con alteraciones en la producción de la enzima ureasa son incapaces de colonizar la mucosa gástrica.

**Citotoxina asociada al gen A (cagA):** El gen *cagA* codifica para una proteína citotóxica, altamente inmunogénica, denominada: CagA, la cual tiene un peso entre 128-140 kDa (Censini et al., 1996). El gen *cagA* es uno de los tantos genes localizado dentro

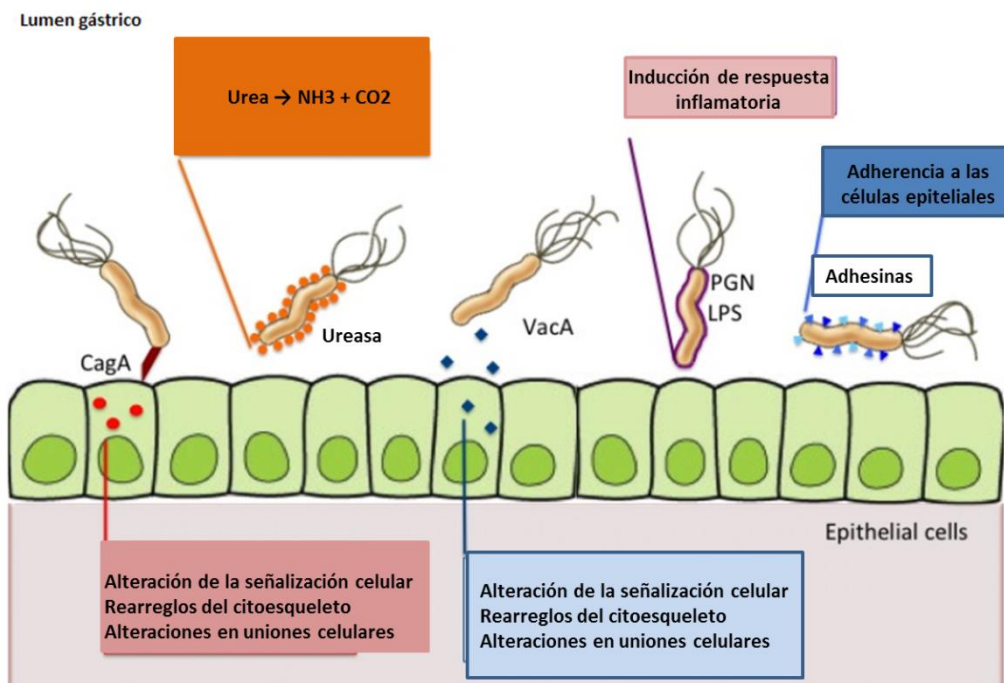


de la isla de patogenicidad PAI conocida como cag-PAI, región cromosómica característica del genoma de la bacteria *H. pylori* y que según se ha documentado fue adquirida por transferencia horizontal de genes a partir de otros organismos (Tomb et al., 1997). La presencia de esta isla ha permitido clasificar a las cepas de *H. pylori* en dos tipos: tipo I: Presentan la isla de patogenicidad (cag-PAI<sup>+</sup>) y se encuentran asociadas con procesos infecciosos graves y las tipo II: Aquellas que carecen de la isla (cag-PAI<sup>-</sup>), frecuentemente asociadas con infecciones leves a moderadas, presentes generalmente en pacientes asintomáticos.

Esta región de patogenicidad codifica para un sistema de secreción tipo IV, el cual constituye una potente herramienta biológica que posee la bacteria para iniciar el proceso de infección (Tummuru, Cover, & Blaser, 1993). Por medio de este sistema, el cual actúa como una jeringa molecular, el *H. pylori* inyecta directamente la proteína CagA y algunas moléculas de peptidoglicanos al interior del citoplasma de las células epiteliales, estos productos generan cambios estructurales y funcionales que favorecen la permanencia de la bacteria. La translocación de CagA depende de la presencia de un canal de urea protón dependiente Urel, cuando se presenta un descenso en el pH, se produce el movimiento de CagA desde el centro hasta la porción periférica del citoplasma. Este proceso de translocación aumenta la producción de IL-8, y de otras citoquinas como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y del factor de transcripción nuclear NF $\kappa$  $\beta$ , lo que determina el potencial patogénico de la bacteria (Evans & Evans, 2001).

La proteína inyectada interactúa con un número elevado de moléculas de la célula hospedero. La diana molecular de CagA más estudiada es una fosfatasa SHP-2. En el gen que codifica esta proteína se han encontrado mutaciones y polimorfismos que están relacionadas con la carcinogénesis gástrica. La propia activación de SHP-2 por CagA puede contribuir a la proliferación celular excesiva. Además, los cambios que se producen en la expresión génica en las células epiteliales tras la infección por *H. pylori* suelen ser dependientes de este sistema de secreción codificado por la cagPAI. Dentro de la célula, CagA, es reconocida como una molécula de señalización y por lo tanto es fosforilada por la familia de las quinasas Src en unos sitios específicos llamados:

motivos EPIYA, ubicados en la región C-terminal de la proteína y formados por una secuencia de cinco aminoácidos (Glutamina-Prolina-Isoleucina-Tirosina-Alanina). Se ha reportado que los motivos EPIYA pueden ser: EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C y EPIYA-D, estos motivos, a su vez permiten la clasificación de las cepas: Las tipo occidental, contienen EPIYA-A y EPIYA-B, seguidas de repeticiones de EPIYA-C mientras que el EPIYA-D, está presente en cepas de origen asiático (Panayotopoulou et al., 2007). Las cepas *cagA*<sup>+</sup> y con número elevado de motivos EPIYA han sido relacionadas con un aumento en el riesgo de desarrollar GCA (Evans & Evans, 2001). El motivo EPIYA C y D, sirve como sitio de fosforilación primaria de CagA y son requeridos para la unión con SHP-2. Algunos estudios han identificado que un incremento en el número de motivos EPIYA C, determinan la presencia de patologías gástricas más severas (Jones et al., 2009). El incremento en el número de repeticiones EPIYA C, estimula la producción de IL-8 y en consecuencia genera una serie de transformaciones morfológicas, que traen como consecuencia un incremento en los niveles de fosforilación de CagA, lo cual confiere un mayor riesgo a desarrollar CG (Wroblewski & Peek, 2013). Esto evidencia, que la variabilidad de la proteína CagA en relación a los motivos EPIYA, reconocidos como punto de fosforilación pueden jugar un papel importante en el proceso de carcinogénesis gástrica que desarrolla la infección permanente por *H. pylori*. En concordancia, la citotoxina asociada al gen A (CagA) se reconoce como un importante factor de virulencia relacionado con patogenicidad, las personas infectados con cepas *H. pylori cagA*<sup>+</sup> presentan un mayor riesgo de desarrollar úlcera péptica y CG como consecuencia del incremento de los mecanismos de inflamación y proliferación celular que se generan en la mucosa gástrica (Salih, Bolek, & Arkan, 2010).



**Figura 5. Actividad de los genes de virulencia del *H. pylori***

Fuente: Morales *et al.*, 2013 (Morales-Guerrero, Mucito-Varela, Aguilar-Gutiérrez, Lopez-Vidal, & Castillo-Rojas, 2012).

**Citotoxina vacuolizante (VacA):** El gen *vacA*, descubierto por Leunk, *et al.*, en 1988, codifica para una proteína altamente inmunogénica que induce vacuolización masiva en las células epiteliales gástricas en condiciones *in vitro* (Cover, 1996). Además, esta proteína desarrolla diversas actividades a nivel celular dentro de las cuales se incluyen: Formación de canales de membrana, interrupción de endosomas y de la actividad lisosomal, efectos en el proceso de señalización celular mediados por receptores de integrinas, alteraciones en la función del citoesqueleto, inducción de apoptosis y modulación de la respuesta inmune, tal como se muestra en la Figura 6 (Hennig, Godlewski, Butruk, & Ostrowski, 2005).

Aproximadamente el 50% de todas las cepas del *H. pylori*, secretan el gen *vacA*, cuya expresión proteica juega un papel importante en la patogénesis de la Úlcera Péptica (UP) y del CG (Kusters *et al.*, 2006). La proteína VacA es producida como una protoxina de aproximadamente 140 kDa, que es clivada para producir una citotoxina

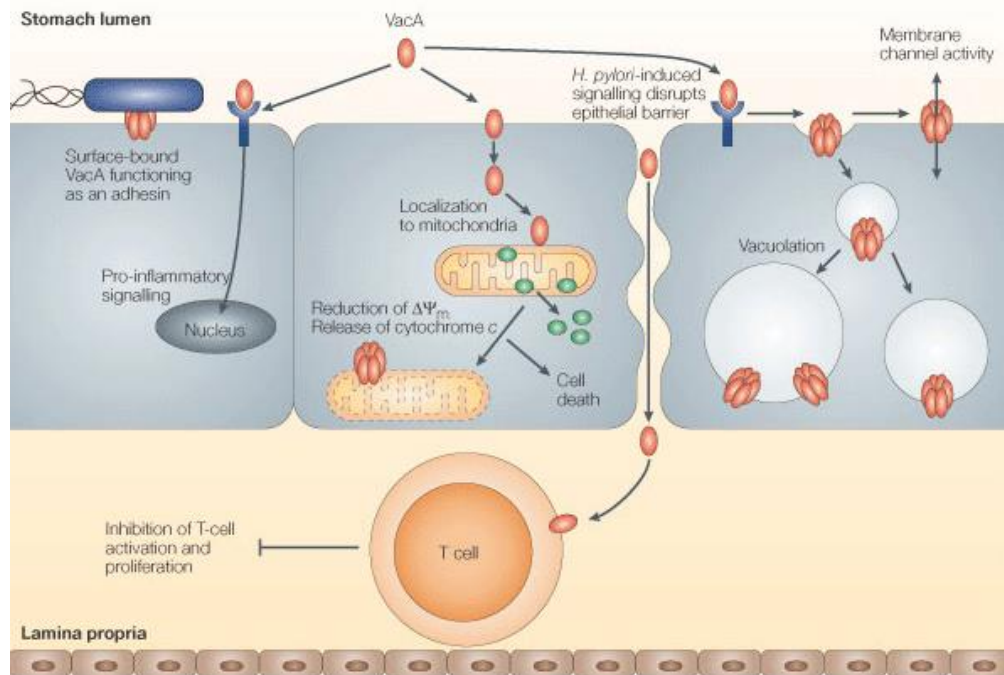
madura de 95 kDa, la cual a través de un clivaje proteolítico, forma dos regiones; una amino-terminal de 33 kDa que constituye el péptido señal, estructuralmente se encuentra formada por hojas plegadas  $\beta$  y por residuos hidrofóbicos ricos en el aminoácido Glicina, adicionalmente presenta una región sensible a proteasas. La región N-terminal realiza funciones esenciales tales como: la formación de los canales aniónicos, el transporte de la pro-toxina del citoplasma celular al espacio periplasmático de la bacteria. En tanto, la región C-terminal de 55 kDa, está relacionada con la adherencia de la citotoxina a las células del hospedero (Cover & Blanke, 2005). Cada uno de estos dominios contribuye al proceso de vacuolización celular mediante un aporte de 422 aminoácidos por parte de la región amino terminal y 100 aminoácidos provienen de la región carboxi-terminal.

Aunque todas las cepas de *H. pylori*, portan un gen *vacA* funcional, se presentan variaciones en la actividad vacuolizante, debido a la alta heterogeneidad dentro del gen (Atherton et al., 1995). Estructuralmente, se reconocen dos secuencias, una ubicada en el extremo 5', llamada región señal (s) la cual codifica para un péptido señal y la otra corresponde a la región media (m) (De Bernard et al., 1997)(76)(Leunk, 1991). En estas regiones con alta variabilidad genética, se reconocen dos alelos para cada una de ella, s1y s2 y m1 y m2 (van Doorn et al., 1998). A su vez el alelo s1 y m1 pueden ser subdivididos en varios subtipos: s1a, s1b y s1c y el "m" en m1a, m1b y m1c (M. Sugimoto & Yamaoka, 2009).

La asociación entre el genotipo *vacA* y la actividad vacuolizante, muestra que las cepas pueden presentar cuatro genotipos, producto de la combinación de la región s y m, In vitro los experimentos muestran que s1/m1,son más citotóxicas en consecuencia presentan una alta actividad vacuolizante, seguidas de las cepas con genotipo s1/m2 producen cantidades moderadas de toxina y una actividad vacuolizante moderadamente baja mientras que las cepas s2/m2 no presentan actividad citotóxica y s2/m1 son cepas extremadamente raras (Atherton et al., 1995).

Además de la relación que se establece entre los alelos y la producción de citotoxina vacuolizante, los fenotipos de vacuolización de las cepas de *H. pylori* no solo dependen de las secuencias de aminoácidos de VacA, estos pueden también ser modulados por otros factores específicos de la cepa, tales como el nivel de transcripción y la eficiencia con la cual se secreta la proteína VacA (Perales et al., 1999). Varios estudios muestran que los individuos infectados con cepas de *H. pylori* vacA s1 o m1 en poblaciones occidentales tiene un mayor riesgo de desarrollar UP y/o CG cuando se comparan con personas infectadas con los alelos s2 o m2 (M. Sugimoto & Yamaoka, 2009). Se ha reportado que las cepas s1a/m1 tienen mayor capacidad de virulencia, por cuanto estimulan el incremento de neutrófilos en la mucosa y la infiltración in vivo de linfocitos (Aydin et al., 2004). Un estudio realizado por Basso *et al.*, en 1998 en una población del Reino Unido, mostró que todos los pacientes con Úlcera Duodenal (UD) tenían cepas con genotipo VacAs1, lo cual propuso una asociación entre este genotipo y la presencia de esta patología gástrica (Basso et al., 1998). Este mismo genotipo fue relacionado con un mayor riesgo de padecer CG, tal como lo muestran cuatro estudios realizados en diferentes poblaciones (Con et al., 2007).

Rhead *et al.*, identificaron un tercer polimorfismo, ubicado entre la región s y la región m, el cual ha sido designado como región intermedia (i), este polimorfismo ha sido comúnmente encontrado en cepas de Estados Unidos, Irán y Reino Unido, tal como lo muestra la Figura 6. Dos variantes alélicas ha sido reportadas para este determinante de toxicidad, la región i1 (vacuolizante) e i2 (no-vacuolizante), todas las cepas con genotipo vacAs1/m1 fueron de tipo i1, las cepas con genotipo s2/m2 fueron tipo i2 y las s1/m2 pueden ser i1 o i2 (Rhead et al., 2007). Rhead *et al.*, en el 2007, concluyen que de los tres sitios polimórficos del gen vacA, la región i parece ser mejor predictor de CG cuando se compara con las otras regiones. En el 2012, Yordanov *et al.*, corroboran los resultados de Rhead, ellos realizaron un estudio donde evaluaron la importancia biológica de la región intermedia del gen vacA, como un factor de virulencia asociado con una mayor severidad de enfermedad gástrica en una población de Bulgaria.

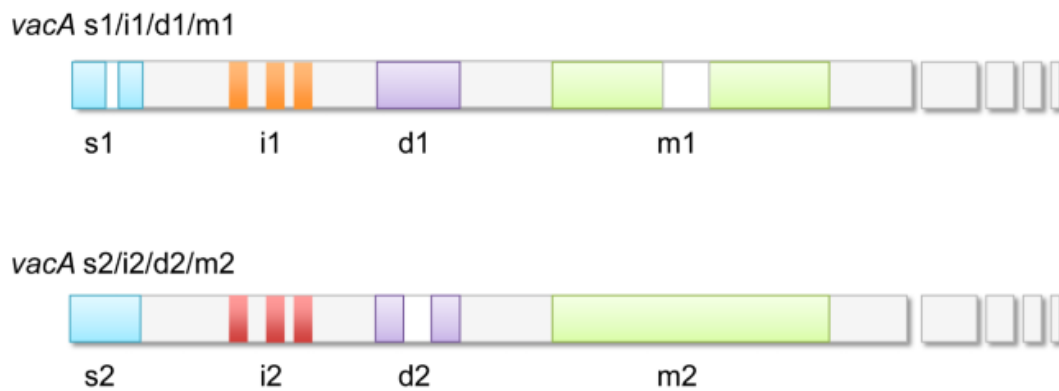


**Figura 6. Mecanismos de acción del gen *vacA***

Fuente: Cover *et al.*, 2005 (Cover & Blanke, 2005).

El estudio propuso evaluar la prevalencia y el valor del alelo *vacAi* cuando se encontraba solo o en combinación con los otros alelos *vacA* en pacientes sintomáticos búlgaros, los resultados, muestran que la prevalencia de *vacAi* es significativamente mayor (75%) en cepas de pacientes con úlcera péptica que en cepas de pacientes con enfermedad gástrica no-ulcerosa. El estudio concluye que el alelo *i* es mejor predictor del potencial de virulencia de las cepas cuando se lo compara con los otros alelos del gen *vacA* (Yordanov, Boyanova, Markovska, Gergova, & Mitov, 2012). Hiroaki, *et al.*, en el 2009, reportan la presencia de una cuarta región, la cual se denominó región *d*, esta corresponde a un región de 81 pb que se encuentra la región intermedia (*i*) y media (*m*) del gen *vacA*, localizada en la porción N-terminal del dominio p55, esta región presentan dos variantes alélicas *d1* y (*Ogiwara et al.*, 2009) *d2*, regiones representadas en la Figura 6. Se reporta que la función de la región *d* está relacionada con la unión de la toxina a las células epiteliales gástricas del hospedero y la actividad vacuolizante, a la fecha no se ha reportado la especificidad funcional de cada una de las variantes de la región *d* (*Ogiwara et al.*, 2009). Hiroaki, concluye que la región *d* es un marcador más sensible de

inflamación severa y atrofia de la mucosa gástrica cuando se lo compara con la región s o m, por lo cual podría ser reconocido como un factor de riesgo para CG aún más importante que la región i, el menciona como limitante el tamaño de muestra, por lo que se hace necesario realizar investigaciones en diferentes poblaciones con un mayor tamaño de muestra, lo que permitiría conocer la función biológica de estas regiones en el proceso de patogénesis gástrica (Ogiwara et al., 2009).



**Figura 7. Representación esquemática del gen *vacA* del *H. pylori***

Fuente: Suzuki et al, 2012 (R. Suzuki, Shiota, & Yamaoka, 2012).

La proteína VacA madura es secretada fuera de la bacteria, pero un 50% de esta permanece unida a la superficie de la bacteria e interactúan con la membrana de la célula del hospedero, el resto de la toxina libre se oligomeriza formando una estructura con forma de flor, cuando esta hace contacto con la célula blanco (Amieva & El-Omar, 2008). Esta estructura hexamérica se ensambla en la bicapa lipídica de las células del hospedero, donde forma un canal selectivo de aniones y produce un gradiente de pH que atrae sustancias alcalinas al interior, incrementando la captura de agua a través de un proceso de ósmosis, lo que origina una vacuolización alrededor del núcleo y más tarde el estallido y la muerte celular. A su vez interfiere con el tráfico vesicular de los lisosomas a nivel del citoplasma celular (Rudnicka, Chmiela, & others, 2004). VacA puede llevar a la muerte programada, de forma independiente a la vacuolización, induciendo la reducción en el potencial de membrana, liberación del citocromo C y posterior activación de las caspasa 3 a nivel mitocondrial, tal como se representa en la Figura 5. Por otro lado, VacA amplifica la respuesta inflamatoria de la mucosa gástrica

umentando la expresión de ciclooxigenasa 2 (COX-2), en las células T, neutrófilos y macrófagos, que a su vez activa la producción del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y puede provocar el desarrollo de un tumor. Aunque no están perfectamente definidos los mecanismos por los que la respuesta inmune inducida por *H. pylori* contribuye a la carcinogénesis gástrica, la sobreexpresión de COX-2, VEGF, la activación de NF- $\kappa$ B y el aumento de citoquinas proinflamatorias originan alteraciones morfológicas que llevan al desarrollo de gastritis atrófica y metaplasia gastrointestinal.

#### **2.4.2 Factores del huésped**

Diversos efectos del sistema inmunológico del huésped han sido descritos como respuesta a la interacción entre patógeno y la mucosa (Ruggiero, 2012). Existe una sólida relación entre la respuesta inflamatoria crónica, la infección con la bacteria y el desarrollo de lesiones gástricas con potencial desarrollo de CG (Fuentes-Pananá, Camorlinga-Ponce, & Maldonado-Bernal, 2009). Dicha respuesta se caracteriza por la inducción de una respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica que está determinada por la infiltración constante de neutrófilos, macrófagos y células dendríticas que componen el primer sistema de defensa del organismo, la inmunidad innata. Posteriormente la participación de linfocitos T en la respuesta inmune adaptativa establecen la agudización de la respuesta inflamatoria (Alpizar-Alpizar et al., 2009b).

La cascada inflamatoria desencadenada por el *H. pylori* está relacionada a factores de virulencia de la bacteria, específicamente los asociados a la isla de patogenicidad *cagA*. Las cepas de *H. pylori* *CagA*<sup>+</sup>, estimulan a las células epiteliales gástricas en la producción de grandes cantidades citoquinas pro-inflamatorias como la interleuquina 18, iniciando el proceso inflamatorio (Crabtree et al., 1995).

Así, la exposición prolongada de la mucosa gástrica a factores virulentos de la bacteria y la respuesta inmune asociada lidera a la expansión de zonas proliferativas del tejido y predispone a la progresión neoplásica (Houghton & Wang, 2005).

**Respuesta inmune innata:** Las células epiteliales gástricas, son el primer blanco de infección por *H. pylori* y contribuye al inicio de la respuesta inmune innata, con la



expresión de receptores tipo toll (TLRs) en la membrana celular (Moss & Blaser, 2005). Los lipopolisacáridos bacterianos presentan alta afinidad por TLR-2 y TLR-4, mejorando la producción de factor nuclear NF- $\kappa$ B. Este factor está involucrado en la transcripción de múltiples citoquinas proinflamatorias como IL-2 y IL-18, y TNF- $\alpha$ , procesos iniciales de la inflamación crónica comúnmente vista durante la infección (Ihan, Pinchuk, & Beswick, 2012). La expresión de moléculas como ciclooxigenasa- 2 inducidas por la infección y a través de la vía de TLR-2 ha estado implicada en el desarrollo y progresión del CG (van Rees et al., 2002).

La expresión de citoquinas inflamatorias, quimiotácticas e inmunosupresoras en la mucosa gástrica favorece la infiltración de neutrófilos, macrófagos y células dendríticas, las cuales favorecen la respuesta inflamatoria con la constante producción de más moléculas pro-inflamatorias y moléculas reactivas derivadas de oxígeno y nitrógeno (Alpizar-Alpizar, Une, & Sierra, 2009). Dicha respuesta inflamatoria de la mucosa gástrica es compleja y va acompañada de varias alteraciones genéticas y moleculares que conducen al progreso de la carcinogénesis gástrica (Yasui et al., 2011). Igualmente, componentes bacterianos como la ureasa inducen significativamente respuestas inmunes innatas en monocitos y macrófagos, estimulando la generación de citoquinas y óxido nítrico (Peek, Fiske, & Wilson, 2010).

La infiltración de neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares está mediada por la producción de la proteína atrayente de neutrófilos, factor de virulencia secretado por la bacteria y adicionalmente induce la producción de radicales libres de oxígeno (Satin et al., 2000). Así mismo, la proteína está involucrada en la sobrerregulación de IL-12, IL-23 y TNF- $\alpha$  y modula la respuesta inmune adaptativa influenciando la producción de células T (Amedei et al., 2006).

**Respuesta inmune adaptativa:** La respuesta inmune adaptativa se considera una respuesta predeterminada a una previamente identificada a un estímulo inmunológico. Por lo tanto, la respuesta es específica para un determinado patógeno e implica la memoria inmunológica. La respuesta inmune adaptativa frente a la infección por *H.*

*pylori* es controversial dado que induce una respuesta fuerte celular y humoral en la mucosa, luego la producción de anticuerpos no permite erradicar la infección pero puede contribuir al daño del tejido. Durante la respuesta inmune específica surgen diferentes grupos de linfocitos T, estas células participan en la protección a la mucosa haciendo distinción entre bacterias patógenas y comensales. Los linfocitos T ayudadores inmaduros (Th0) expresan CD4 pueden diferenciarse en Th1 o Th2 dependiendo del estímulo presente, ya que mientras que las primeras son inducidas por patógenos intracelulares, y se caracterizan por secretar IL-2, INF $\gamma$ ; las Th2 son inducidas por patógenos extracelulares secretan IL-4, IL-5, IL 10 y estimulan a los linfocitos (Wilson & Crabtree, 2007). En el caso de la infección por *H. pylori* la respuesta de la célula T es fundamentalmente Th1, una respuesta equivocada, lo anterior dado que *H. pylori* es un germen extracelular el cual debería desencadenar una respuesta Th2 (Robinson, Argent, & Atherton, 2007). La respuesta Th1 produce interferón gamma (IFN-g), factor de necrosis alfa (TNF - $\alpha$ ), IL-12, IL-18. La polarización de la respuesta hacia Th1 puede contribuir al desarrollo de lesiones gástricas más severas y por el contrario la activación de la respuesta Th2 y la expresión de citoquinas como IL-4, producen la disminución de la inflamación gástrica y protección contra lesiones gástricas más severas (Otero Regino, Gómez, et al., 2009).

Dicha respuesta inflamatoria de la mucosa gástrica es compleja y va acompañada de varias alteraciones genéticas y moleculares que conducen al progreso de la carcinogénesis gástrica (Yasui et al., 2011). Entre ellas se encuentran genes de citoquinas (TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-8, IFN- $\gamma$ ) que participan en el sistema inmune adaptativo y el patrón de factores de reconocimiento (TLR-4, NOD-1, NOD-2) que inician el sistema innato (Mitsushige Sugimoto, Yamaoka, Furuta, & others, 2010). Adicionalmente, la variación de genes que codifican para las proteasas, enzimas del metabolismo de xenobióticos, reguladores del ciclo celular, apoptosis y mucinas (Bornschein, Rokkas, Selgrad, & Malfertheiner, 2011).

## 2.5 Lesiones gástricas

Las lesiones preneoplásicas gástricas son anormalidades histopatológicas en las que es más probable que ocurra CG (Morson et al., 1980). La infección por *H. pylori* genera un proceso inflamatorio en la mucosa gástrica, esta inflamación puede ser predominantemente agudo, pudiendo evolucionar a una condición crónica, acompañada por cambios en la mucosa gástrica, que normalmente conllevan a una serie de alteraciones histológicas secuenciales, que inician con una gastritis no atrófica luego evoluciona a gastritis atrófica y metaplasia intestinal, para en determinados casos avanzar a displasia y neoplasia gástrica de tipo intestinal. Se postula que el avance de una etapa a la siguiente está determinado por factores etiológicos ligados al proceso inflamatorio, a esta serie de cambios histológicos se les conoce como: la cascada de la carcinogénesis gástrica, propuesta por Pelayo Correa, las etapas clásicas de esta cascada, se ilustran en la Figura 8.

Las lesiones preneoplásicas en la carcinogénesis gástrica son: gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal y la displasia gástrica.

**Gastritis crónica no atrófica (GCNA):** Se caracteriza por la ausencia de atrofia, un aumento moderado de inflamación en el antro y un normal a ligero inflamación en el cuerpo. La GCNA está asociada con ya sea normal o aumento en la secreción de ácido (Rugge & Genta, 2005).

**Gastritis crónica atrófica (GCA):** Es el precursor más importante de carcinoma gástrico y en Japón se ha encontrado que hasta el 80% de los pacientes con *H. pylori* tienen GCA, mientras que en Europa ésta alcanza una prevalencia hasta del 13%. La GCA es asociado con el 94.8% de carcinomas gástricos tempranos en Japón; está presente en casi la totalidad de los pacientes con cáncer gástrico de localización no proximal de tipo histológico intestinal (Nardone, Rocco, & Malfertheiner, 2004). La gastritis es una entidad de elevada morbilidad a nivel mundial, su incidencia varía en las diferentes regiones y países (Riva, Muñoz-Navas, & Sola, 2004). Se caracteriza por un infiltrado con linfocitos, células plasmáticas o ambas y si además presentan

polimorfonucleares toma la denominación de gastritis crónica atrófica activa (Valdivia Roldán, 2011). La relación de *Helicobacter* con la gastritis crónica es de gran interés y significativa en gastritis crónica atrófica multifocal. La gastritis crónica atrófica multifocal se considera el precursor más común de CG, y se distribuye en el antro y cuerpo gástrico con áreas de atrofia, metaplasia y displasia (Rugge & Genta, 2005). Adicionalmente, se ha postulado que la GCA precede la aparición de cáncer gástrico de tipo intestinal. En este proceso *H. pylori* participa activamente en la pérdida de glándulas o atrofia (P. Correa, 2011).

**Metaplasia Intestinal (MI):** Se define como la presencia de epitelio diferenciado similar al del intestino delgado. Se clasifica según características morfológicas e histoquímicas en MI compleja (tipo I) y MI incompleta de intestino delgado (tipo II) o colónica (tipo III). La MI tipo I se relaciona con baja incidencia de CG a diferencia de la metaplasia tipo III que tiene un riesgo de 2,7 a 5,8 de desarrollar CG (Riva et al., 2004).

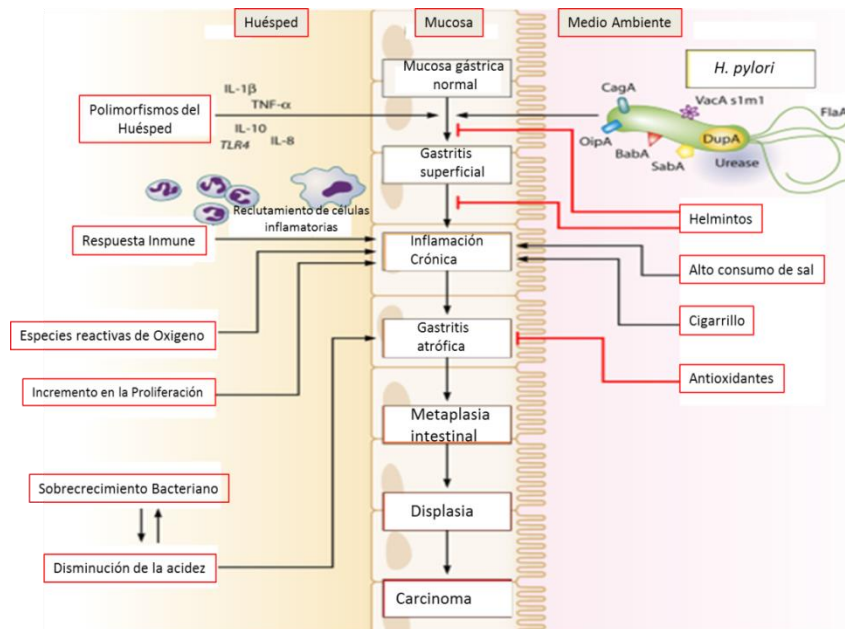
**Displasia gástrica (DG):** La displasia epitelial gástrica (también llamada neoplasia no-invasiva o adenoma), es una lesión neoplásica epitelial no invasiva, considerada el penúltimo estadio de la carcinogénesis gástrica (P. Correa, Piazzuelo, & Wilson, 2010). La presencia de gastritis atrófica representa el principal antecedente de las lesiones displásicas, se ha observado que los mayores grados de atrófia gástrica se asocian con las formas más severas de displasia (Misraji & Lauwers, 2002). Esta lesión está caracterizada por la presencia de una serie de alteraciones histológicas como variaciones en el tamaño, forma y orientación de sus células y aumento del tamaño de los núcleos. La DG generalmente se encuentra asociada con una GCA y suele estar acompañada de MI. La gradación de la DG permite clasificarla como leve, moderada o de alto grado, la DP leve o moderada tiende a regresar o permanecer estable, la moderada y la de alto grado frecuentemente están asociadas con el desarrollo de CG, todos los grados de DG son más frecuentes de encontrar en el antro y la cisura angularis gástrica (Castro, Camacho, Sáenz, & Montero, n.d.). La prevalencia de DG reportada en la población general occidental varía desde 0,5-37,5 %, pero hay índices

desde 9-20%, en poblaciones de alto riesgo como en Colombia y China (Castro et al., n.d.).

**Cáncer gástrico (CG):** La carcinogénesis gástrica es un proceso complejo que involucra varios factores genéticos, epigenéticos, ambientales e infeccioso, los cuales interactúan causando efecto que se acumulan en la mucosa gástrica y que finalmente conllevan a la aparición de una neoplasia (Corso, Seruca, & Roviello, 2012). El adenocarcinoma gástrico usualmente aparece en la región distal (antro o cuerpo) y está estrechamente asociado con infección por *H. pylori*, el CG proximal (cardias) presenta diferentes patrones epidemiológicos y pato-biológicos y no es común, en las regiones que presentan una alta incidencia de infección por este microorganismo (S. S. Kim, Ruiz, Carroll, & Moss, 2011). La organización mundial de la salud a través de su Agencia para la Investigación del Cáncer (IARC), reconoció en 1994 al *H. pylori*, como un carcinógeno tipo I en su clasificación de agentes biológicos carcinogénicos (Humans & others, 1994). La infección por *H. pylori*, contraída en los primeros años de vida es la causa más frecuente de la carcinogénesis gástrica, los pacientes infectados a edades tempranas desarrollan pangastritis, la cual evoluciona hacia una atrofia con disminución de la secreción ácida gástrica y posterior aparición de MI, con el tiempo estos cambios son acompañados de agentes mutagénicos inflamatorios, que conllevan a displasia gástrica y en función de la susceptibilidad genética del hospedero eventualmente se desencadena un proceso neoplásico en la mucosa gástrica (P. Correa, 1994).

Las áreas que presentan pérdida glandular y metaplasia se extienden de manera multifocal con el tiempo incrementado el riesgo de cáncer gástrico de 5 a 90 veces, dependiendo de la extensión y la severidad de la atrofia (Kusters et al., 2006). Según la clasificación de Lauren, se distinguen dos tipos de CG, el tipo Intestinal: se caracteriza por la formación de estructuras tubulares que recuerdan a las glándulas intestinales mientras que el tipo difuso, se caracteriza por no formar estructuras tubulares sino nidos de células malignas en patrón de anillo de sello (Dixon, Genta, Yardley, Correa, & others, 1996). Se conoce que la infección por *H. pylori*, es reconocida como un importante factor de riesgo para CG. Estudios epidemiológicos han determinado que el

riesgo atribuible a la infección para CG es aproximadamente del 75%. Aunque la infección incrementa significativamente el riesgo a desarrollar tanto CG de tipo intestinal como difuso, el proceso inflamatorio que precede a la neoplasia gástrica no es necesario para el desarrollo del CG tipo difuso, lo cual sugiere que los mecanismos que sustentan la capacidad de esta bacteria para inducir malignidad gástrica son diferentes en estos dos tipo de CG (Polk & Peek, 2010).



**Figura 8. Modelo multifactorial de la carcinogénesis gástrica**

Fuente: Wroblewski *et al.*, 2010 (Wroblewski *et al.*, 2010).

## **CAPITULO III. ERRADICACIÓN Y MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *Helicobacter pylori***

### **3.1 Introducción**

La mayoría de bacterias, por su inmensa capacidad de adaptación, son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos para poder sobrevivir a las condiciones del medio. Los microorganismos adquieren resistencia a los antimicrobianos por diferentes mecanismos como son: la resistencia natural o intrínseca, aquí las bacterias carecen de un sitio diana para la actuación del antibiótico. La resistencia adquirida es debida a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética. Sin embargo, investigadores consideran que las mutaciones (cualquier cambio en la secuencia de ADN) son el único mecanismo que puede producir nuevas actividades y funciones genéticas en el mundo biológico, capaz de proporcionar un mecanismo para la evolución que explique el origen de la resistencia a los antibióticos (Graham & Shiotani, 2008) (Pérez-Cano & Robles-Contreras, n.d.)

La resistencia intrínseca a los antimicrobianos es un carácter constante en las cepas de una misma especie o género de bacterias, debido a la imposibilidad del antibiótico de alcanzar su sitio de acción debido a la falta de afinidad por el sitio de acción, presencia de bombas de eflujo o de otros mecanismos de resistencia cromosómica, por otra parte, la conjugación, transformación o transducción son los principales medios para la adquisición de resistencia. La resistencia intrínseca se trasmite de forma vertical de generación en generación; la conjugación, transformación o transducción se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movible como Integrones y transposones; este último no solo permite la trasmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos (Monreal Garcia, Eli Amanda, Medina Medrano, & Rene, 2013).

La resistencia a antibióticos es probablemente la principal causa del fracaso del tratamiento para *H. pylori* y es en gran parte responsable de la disminución de las tasas de erradicación (J. P. Gisbert & Calvet, 2011). Se conoce que los mecanismos de resistencia a antibióticos de *H. pylori* no están mediados por plásmidos, se deben fundamentalmente a mutaciones en genes cromosomales, es decir que la resistencia es intrínseca (Reyes-Zamora, Hernández-Power, Torres-Domínguez, Bermúdez-Díaz, & Rodríguez-González, 2011a). Los antibióticos que no hacen parte del esquema del tratamiento son: glucopéptidos, polimixinas, ácido nalidíxico, sulfonamidas, trimetropina y agentes antimicóticos. Para todos los otros antibióticos la resistencia no ocurre en todas las células bacterianas, pero puede ser adquirida, en particular se incluyen los  $\beta$ -lactámicos, macrólidos, tetraciclinas, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, rifamicinas, cloranfenicol y 5-nitroimidazoles (Mégraud & Corti, 2009).

Es conocido que los antibióticos empleados para el tratamiento de *H. pylori*, también son empleados en otras enfermedades infecciosas, en donde su uso indiscriminado, la automedicación, entre otras causas, han incrementado rápidamente la presencia de cepas de *H. pylori* resistentes a muchos de estos antibióticos, es por esto que el estudio de la resistencia de *H. pylori* a los antibióticos usados en las terapias, es fundamental para lograr aumentar la eficacia de los tratamientos contra este patógeno humano (Reyes-Zamora et al., 2011a).

En las últimas dos décadas, el tratamiento recomendado para la erradicación de esta bacteria como esquema de primera línea es la triple terapia estándar, constituida por un inhibidor de la bomba de protones, amoxicilina y claritromicina o metronidazol (Trespacios Rangel, 2011). Sin embargo datos recientes demuestran que la eficacia de este esquema tradicional, que inicialmente era del 90%, de manera progresiva ha disminuido en muchas partes del mundo y llega en la actualidad a cifras de 60%, debido fundamentalmente a la creciente resistencia a los antibióticos, principalmente a claritromicina y metronidazol (Dacoll et al., 2014).



### 3.2 Esquemas de tratamiento

En una infección crónica con *H. pylori*, la bacteria no puede ser eliminada por el sistema inmune del hospedero, por lo que, para erradicar la infección, se requiere del uso de antibióticos (Hildebrand et al., 2001). El éxito en la erradicación de la infección depende de varios factores, entre los más importantes se consideran: la susceptibilidad de las cepas a los antibióticos utilizados y que el tratamiento se complete adecuadamente por los pacientes (Francis Megraud, 1999). El grupo Europeo de estudio sobre *H. pylori* organizó una reunión en Maastricht con expertos microbiólogos, médicos generales y gastroenterólogos, para establecer normas en el manejo de la infección por *H. pylori*. Los lineamientos del Maastrich recomiendan la terapia de erradicación en pacientes positivos a la infección por *H. pylori* con úlcera duodenal o gástrica, linfoma asociado a la mucosa gástrica (MALT) de bajo grado, gastritis con severos cambios macro o microscópicos y después de una resección de CG temprano. El tratamiento para la erradicación debe tener una tasa de erradicación superior al 90%, utilizando una terapia triple con un inhibidor de la bomba de protones (IBP) claritromicina, metronidazol o tinidazol y amoxicilina durante una semana, lo que corresponde con los lineamientos establecidos (Malfertheiner et al., 2012). La terapia de primera línea es la combinación de un IBP como omeprazol o lansoprazol o antagonistas de los receptores tipo 2 de la histamina como ranitidina-citrato bismuto (RBC) y claritromicina más amoxicilina o metronidazol, dos veces al día. La segunda línea de tratamiento es una terapia cuádruple con IBP o RBC dos veces al día, bismuto y tetraciclina cuatro veces al día y metronidazol tres veces al día. Ambas terapias deben seguirse por un mínimo de siete días (Otero Regino, Trespalacios, et al., 2009). La supresión ácida por antagonistas de los receptores tipo 2 de la histamina o inhibidores de la bomba de protones, ayudan en el alivio de 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). En la tabla 1 se describen las opciones terapéuticas para la erradicación de *H. pylori*.

**Tabla 1. Opciones terapéuticas para la erradicación de *H. pylori***

<b>Terapia triple clásica: 7 a 10 días</b>
Subsalicilato de bismuto, tetraciclina 500 mg (3v/día), metronidazol 500 mg (3v/día)
<b>Terapia triple estándar: 7 a 10 días</b>
IBP dos veces al día, amoxicilina 1g (2v/día), claritromicina 500 mg (2v/día) o metronidazol 500 mg (3v/día)
Eficacia actual (en donde se le ha estudiado): 57 a 73% (7 días), 67 a 79% (10 días)
Inconvenientes: no utilizarla en áreas con resistencia a claritromicina >20% y/o metronidazol >40%
<b>Terapia cuádruple: 7-10 días</b>
IBP dos veces al día + terapia triple clásica
Eficacia: 7-10 días: 74%
Inconvenientes: múltiples tabletas, menor adherencia
<b>Terapia cuádruple en una sola cápsula: 10 días</b>
Una cápsula con bismuto bisulfito+metronidazol+tetraciclina más IBP dos veces al día
Eficacia: USA 87% Europa 93%
Inconvenientes: no está comercializada
<b>Terapia secuencial: 10 días.</b>
IBP dos veces al día 10 días Amoxicilina 1g (2v/día) primeros cinco días Claritromicina 500 mg (2v/día) + tinidazol 500 mg (2v/día): últimos cinco días
Eficacia: 80-93%
Inconvenientes: resistencia dual (claritromicina/metronidazol)
<b>Terapias concomitantes (terapias cuádruples sin bismuto): 7 a 14 días</b>
IBP (2v/día), amoxicilina 1g (2v/día), claritromicina 500 mg (2v/día) y tinidazol 500 mg (2v/día) o metronidazol 500 mg (2v/día)
Eficacia: 91,7%
<b>Triples terapias con levofl oxacina: 7 a 10 días</b>
IBP (2v/día), amoxicilina 1g (2v/día), levofl oxacina 500 mg (1 a 2v/día) o 250 mg (2v/día)
Eficacia:
Primera línea 84 a 96%, promedio 90%
Segunda línea: 60% a 94%, promedio 80%
Tercera línea: 60% a 70%
<b>Alérgicos a penicilina</b>
Levofl oxacina 500 mg dos veces al día 7 días
Claritromicina 500 mg dos veces al día 7 días
IBP dos veces al día 7 días
Eficacia: 87%
Claritromicina 500 mg dos veces al día
Metronidazol 500 mg tres veces al día
IBP dos veces al día
Inconvenientes: alta resistencias a claritromicina y metronidazol.

Fuente: Otero *et al.*, 2010 (Otero Regino, Trespalacios, et al., 2009)

### 3.3 Mecanismos de Resistencia

Teniendo en cuenta que las bacterias Gram negativas cuentan con varios mecanismos de resistencia y que la selección de estos mecanismos puede llevar a falla terapéutica, se hace importante conocer los mecanismos más relevantes, estos mecanismos son:

**Modificación enzimática del antibiótico:** Las bacterias, expresan enzimas capaces de crear cambios en la estructura del antibiótico haciendo que éste pierda su funcionalidad: Las  $\beta$ -lactamasas son las más prevalentes. Son proteínas capaces de hidrolizar el anillo  $\beta$ -lactámico que poseen los antibióticos de esta familia.

**Bombas de salida:** Las bacterias, operan tomando el antibiótico del espacio periplásmico y expulsándolo al exterior, con lo cual evitan que llegue a su sitio de acción. Este mecanismo es frecuentemente utilizado por las bacterias Gram negativas.

**Cambios en la permeabilidad de la membrana externa:** Las bacterias pueden generar cambios de la bicapa lipídica, aunque la permeabilidad de la membrana se ve alterada, principalmente, por cambios en las porinas. Las porinas son proteínas que regulan la entrada de los antibióticos, cambios en su conformación pueden llevar a que la membrana externa no permita el paso de estos agentes al espacio periplásmico.

**Alteraciones del sitio de acción:** las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria para interrumpir una función vital de ésta. Este mecanismo es principalmente utilizado por las bacterias Gram positivas, las cuales generan cambios estructurales en los sitios de acción de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos a nivel de las proteínas unidoras de penicilinas (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

Es bien conocido, que son pocos los antibióticos que pueden ser utilizados para la erradicación de *H. pylori*, puesto que no tienen la capacidad de llegar a niveles apropiados en la capa de la mucosa gástrica, inactivando el pH a pH bajo, además del crecimiento lento de esta bacteria. Antibióticos como metronidazol, claritromicina y amoxicilina han sido ampliamente usados para el tratamiento de esta bacteria, pero es claro que han sido un obstáculo para su erradicación por la resistencia que se presenta en consecuencia de los mecanismos moleculares de resistencia a estos antibióticos por mutaciones puntuales localizadas en el cromosoma (Tabla 2) (M. M. Gerrits, van Vliet, Kuipers, & Kusters, 2006).

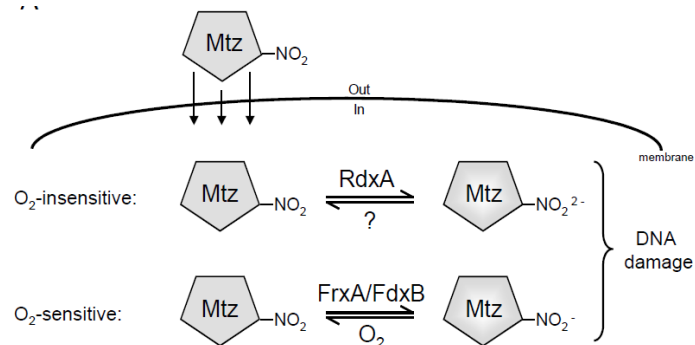
**Tabla 2. Modo de acción y mecanismos de resistencia de la resistencia de los antimicrobianos utilizados para el tratamiento de la infección por *H. pylori***

Compuesto antimicrobiano	Modo de acción	Mecanismo de resistencia
Metronidazol (MTZ)	Reducción del Mtz por nitroreductasas que posee la bacteria para dar lugar a la formación de radicales nitro e intermediarios del Mtz, causando daños estructurales en el ADN de la bacteria.	La ausencia de la reducción del Mtz por mutaciones en genes <i>rdxA</i> , <i>fdxA</i> principalmente que codifican dichas nitrorreductasas.
Clarithromicina (CLA)	Unión a la subunidad ribosomal rRNA 23s, inhibiendo la síntesis proteica.	Mutaciones puntuales en la subunidad 23s.
Amoxicilina (AMX)	Unión a las proteínas de unión a las penicilina (PBPs), y por tanto, interfiere con la síntesis de la pared celular bacteriana.	Disminución de la unión de la Amx a PBPD (tolerancia), PBP1A (resistencia causada por la mutación puntual en el gen <i>pbp1A</i> ) y la reducción de la permeabilidad de la membrana (resistencia).

**Resistencia a Metronidazol:** El Metronidazol es uno de los antibióticos más utilizados en los esquemas de primera línea para el tratamiento de la erradicación de *H. pylori* (Miftahussurur & Yamaoka, 2015). Sin embargo, la incidencia mundial de resistencia a este antibiótico es de 17% en Europa y 44.1% en Estados Unidos (Papastergiou, Georgopoulos, & Karatapanis, 2014). Para América Latina, las prevalencias reportadas en treinta y cuatro estudios fueron de 30% en Argentina, 54% en Brasil, 31% en Chile, 42% en Costa Rica, 60% en México, 66% en Perú, 59% en Venezuela, la resistencia más alta se registró en Colombia con un 83% (Camargo et al., 2014). Esta resistencia se debe a la utilización indiscriminada de los nitroimidazoles para tratar enfermedades infecciosas como infecciones parasitarias y trastornos ginecológicos en poblaciones como la nuestra, con una alta tasa de prevalencia de la infección por *H. pylori* (Gómez, Otero, & Gutiérrez, 2007).

El principal mecanismo de resistencia de *H. pylori* al Mtz se relaciona con la pérdida de la actividad enzimática necesaria para que el Mtz intracelularmente pueda servir como agente antimicrobiano. El Mtz es activado, por la acción de las nitroreductasa que lo reduce generando intermedios nitrosos y el metabolito activo la hidroxilamina (radical libre) que daña el DNA provocando, ruptura, desestabilización, desenrollamiento de la doble hélice y muerte celular, el medicamento tiene un potencial rédox bajo y es efectivo en organismos con este mismo estado rédox, como bacterias anaerobias, protozoarios, *Trichomonas vaginalis* y también microaerófilos como *H. pylori* que crecen mejor a

tensiones bajas de oxígeno, este potencial redox tan bajo hace Mtz un eficiente aceptor de electrones (Martínez, Henao, & Lizarazo, 2014).



**Figura 9. Mecanismo propuesto de resistencia a Metronidazol**

Fuente: Gerrits, *et al.*, 2004 (M. Gerrits, 2004)

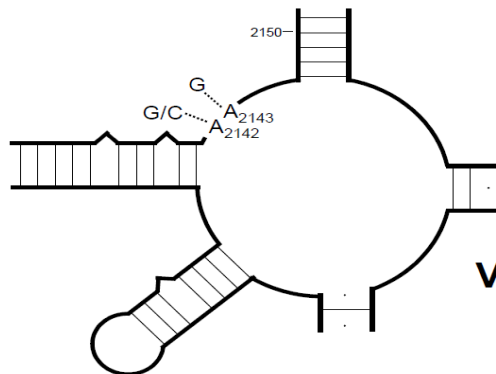
Los nitroimidazoles, son pro-fármacos que necesitan ser activados intracelularmente para ser efectivas, siendo estas muy estables a pH bajo (M. M. Gerrits et al., 2006). Después de entrar en las células por difusión pasiva, los nitroimidazoles son metabolizados por un paso de reducción en el que la droga es el aceptor de electrones (M. M. Gerrits et al., 2004). Para esta reducción *H. pylori* posee diversas nitrorreductasas, sugiriendo la más importante una nitroreductasa NAD(P)H insensible al oxígeno que es codificada por el gen *rdxA*, esta nitroreductasa, le garantiza a la bacteria un poder reductor, el cual es capaz de reducir el metronidazol y activarlo, pues el antibiótico en su forma oxidada es inactivo y por tanto, no puede ejercer su efecto bactericida (Wu, Yang, & Sun, 2012) (Tu et al., 2014). Esta enzima reduce el metronidazol a metabolitos activos (hidroxilamina) mutagénicos que son tóxicos para la bacteria; estos nitrosoderivados tóxicos no pueden ser reoxidados por el oxígeno molecular, produciendo daño en el DNA y ocasionando la muerte de la bacteria (Reyes-Zamora et al., 2011a). Por su parte, el gen *frxA*, que tiene un menor efecto sobre la resistencia del microorganismo al metronidazol, codifica para una flavinoxidoreductasa que presenta un mecanismo de interacción con el antibiótico muy similar al de la nitroreductasa RDXA (Zamora, Power, Domínguez, Díaz, & González, 2010).

Existen diferentes tipos de mutaciones que afectan la actividad de los genes *rdxA* y *frxA* y son:

1. Las que conducen a codones de parada que incorporan bases erróneas, determinando el fin de la síntesis de la proteína ya que se produce una proteína más corta y no funcional. Estas pueden ser sustituciones, inserciones o deleciones de nucleótidos.
2. Mutaciones puntuales que cambian la estructura tridimensional de ambas reductasas y dificultan o imposibilitan la unión del metronidazol al sitio activo de dichas enzima
3. Secuencias repetidas de adenina y timina (poli A y poli T) en el gen *rdxA* vinculadas con la aparición de resistencia, estas regiones son propensas a inserciones o deleciones de adenina o timina, respectivamente, ocasionando como resultado final una nitroreductasa no funcional, incapaz de activar el Mtz y por ende, no ocurre la destrucción de la bacteria (Reyes-Zamora et al., 2011a).

**Resistencia a Claritromicina:** La claritromicina fue reconocida como el antibiótico con el mayor poder bacteriostático contra *H. pylori*, comparada contra las otras moléculas disponibles (Graham & Fischbach, 2010). Desafortunadamente, la resistencia primaria a este antibiótico se está incrementando en todo el mundo y está contemplada como el principal factor de una reducida eficacia en la erradicación de *H. pylori* (Llano et al., 2013). La frecuencia de esta resistencia varía de un país a otro y está relacionada con el uso previo del antibiótico en infecciones respiratorias (J. P. Gisbert & Calvet, 2011). La prevalencia promedio de la resistencia en Europa es de 11,1%, con diferencias entre los países, pues es alta en España 49,2% y baja en Holanda 0,8%; en Asia, la prevalencia promedio alcanza 18,9%, siendo muy alta en Japón 40,7% y baja en Malasia 2,1 %; en América, el valor promedio de la prevalencia es de 29,3%, con prevalencias altas en países suramericanos y una prevalencia menor en Norteamérica (De Francesco et al., 2010). Para América Latina, las prevalencias reportadas en treinta y cinco estudios fueron de 14% en Argentina, 11% en Brasil, 9% en Chile, 6% en Costa Rica, 13% en México, 8% en Venezuela, la resistencia más alta se registró en Colombia con un 18% (Camargo et al., 2014).

La Cla es un antibiótico bacteriostático que pertenece al grupo de los macrólidos, es el más utilizado por su mayor estabilidad en medio ácido. Penetra la membrana externa y pared celular de los microorganismos susceptibles y se une en forma reversible a la subunidad 50S del ribosoma 70S, inhibiendo la translocación del aminoacil tRNA y por ende la síntesis de polipéptidos bacterianos (R. B. Suzuki, Lopes, da Câmara Lopes, Ho, & Sperança, 2013). Su mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis de proteínas al unirse directamente al RNA ribosomal (rRNA) 23S obtenidos en muchos análisis genéticos que demuestran la aparición de diversas mutaciones puntuales en el dominio V de este gen, específicamente en la región que afecta la actividad peptidiltransferasa (F. Megraud, 2013)



**Figura 10. Mecanismo propuesto de resistencia a Claritromicina**

Fuente: Gerrits, *et al.*, 2004 (M. Gerrits, 2004)

La resistencia a Cla en *H. pylori* es el resultado de mutaciones puntuales que se presentan en el gen del RNAr 23S (Fontana et al., 2002). En *H. pylori* se han encontrado diferentes mutaciones puntuales (A2115G, G2141A, A2142G, A2142C, A2142T, A2143G, A2143C, A2143T y T2717C) en la horquilla del dominio V del RNAr 23S asociadas con la resistencia a Cla (R. B. Suzuki et al., 2013). Como consecuencia de estas mutaciones se produce una modificación en la estructura del ribosoma que afecta la unión permanente del antibiótico y, por tanto, no se afecta la síntesis de proteínas.

## CAPITULO IV. METODOLOGIA

### 4.1 Tipo de estudio

Este es un estudio de tipo descriptivo, serie de casos de corte transversal, diseñado con el objetivo de caracterizar los perfiles moleculares de los genes de resistencia antimicrobiana *rdxA* y *23 RNAr* y su relación con genotipos de virulencia en pacientes con dispepsia, infectados con *H. pylori*, dentro del proyecto titulado: “Mutación en los genes de resistencia antimicrobiana en *H. pylori* y su relación con la virulencia”, financiado por Colciencias, con código: 110351929123

### 4.2 Población de estudio

El estudio evaluó 453 pacientes que asistieron a tres centros de salud de referencia de gastroenterología de la ciudad de Popayán: Hospital Universitario San José, Hospital Susana López de Valencia y ENDOVIDEO 2000, en el periodo comprendido entre agosto de 2011 a febrero de 2015 y que fueron referidos a endoscopia por presentar síntomas de dispepsia o síntomas de reflujo gastroesofágico.

### 4.3 Definición de casos

Se definió como caso aquel paciente con síntomas dispépticos, con infección por *H. pylori* confirmado por pruebas moleculares.

### Criterios de inclusión

Pacientes mayores de 18 años, sin discriminación de sexo o etnia, con síntomas de dispepsia o reflujo gastroesofágico, que no hubieran recibido tratamientos previos de erradicación de *H. pylori* como tampoco sales de bismuto durante el último año y con aprobación voluntaria del consentimiento informado.



## **Criterios de exclusión**

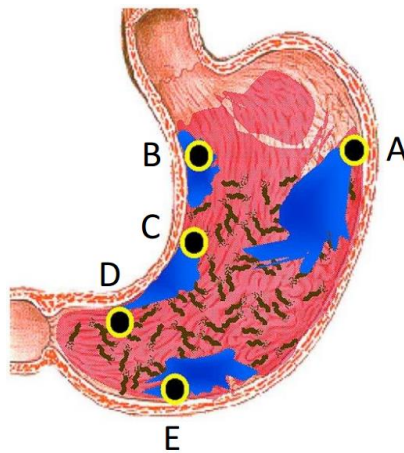
Pacientes con tratamiento previo contra *H. pylori* en menos de un año, infección con VIH, cirugía gástrica previa o quienes no desearon participar voluntariamente en el estudio o aquellos a los que su estado de salud no se lo permitió.

### **4.4 Recolección de la información**

Los pacientes fueron motivados a participar en el estudio a través de una corta conversación con el investigador, una vez aprobada su participación, se diligencio el consentimiento informado de cada persona a incluir en el estudio, para ello se realizó un consentimiento informado que cumple con todos los requerimientos éticos (Anexo 1). Adicionalmente, el estudio al ser parte del proyecto “Mutación en los genes de resistencia antimicrobiana en *H. pylori* y su relación con la virulencia”, financiado por Colciencias, fue previamente evaluado y aprobado por el Comité de Ética de la Universidad del Cauca, adoptando los principios bioéticos establecidos en la declaración de Helsinki (de Helsinki, 2004). Para motivar la participación de las personas en la investigación, se realizó una corta introducción con el fin de presentar los objetivos, beneficios, posibles riesgos y resultados esperados del proyecto. Posteriormente, el investigador procedió a leer el consentimiento informado a cada participante y obtener la firma de las personas que decidieron participar voluntariamente (Anexo 1). Adicionalmente, se realizó una encuesta con la finalidad de obtener datos sociodemográficos, estilo de vida, dieta y estado de salud entre otras (Anexo 2).

#### 4.5 Toma y almacenamiento de muestras

El procedimiento de endoscopia digestiva superior lo realizó, un médico especialista en gastroenterología, con acompañamiento del auxiliar de enfermería. En cada paciente se colectaron biopsias correspondientes a cinco localizaciones intragástricas (antro curvatura mayor, antro curvatura menor, incisura angularis, cuerpo curvatura mayor y cuerpo curvatura menor) (Figura 11), de acuerdo al sistema Sídney, protocolo internacional previamente publicado (de Vries et al., 2009). Cada una de las biopsias fue registrada y codificada de manera consecutiva asignando un número único a cada paciente. Las se transportaron en el medio de transporte caldo *brucella* BBL (BD) más glicerol al 20% (Sigma) al laboratorio, donde fueron conservadas a una temperatura entre 2-8°C hasta su procesamiento.



**Figura 11. Localización topográfica de biopsias gástricas**

A) Cuerpo curvatura mayor, B) Cuerpo curvatura menor, C) Incisura angularis, D) Antro curvatura menor y E) Antro curvatura mayor.

Fuente: de Vries *et al.*, (de Vries et al., 2009).

#### 4.6 Extracción de ADN

El ADN fue extraído desde las muestras frescas de biopsia utilizando el kit Wizard Genomic DNA purification kit (Promega, Madison, WI, USA) y proteinasa K (Boehringer Mannheim), Según protocolo establecido en la literatura (Yamasaki et al., 2006). Este protocolo fue modificado en el laboratorio de Genética Humana Aplicada de la Universidad del Cauca, posteriormente el ADN fue re suspendido en 100ul de Buffer TE

y se almaceno a  $-30^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Se determinó la calidad de ADN extraído por medio de la pureza, usando como indicador la relación de absorbancias a longitudes de onda de 260nm y 280nm (ratio A260/A280) y se cuantifico usando la misma relación con un espectrofotómetro Thermo Scientific Nanodrop 200<sup>TM</sup>. El ADN extraído de las muestra fue utilizado para la genotipificación de *H. pylori* y la determinación de mutaciones de genes de resistencia.

#### 4.7 Análisis de Virulencia:

Se amplificaron por PCR los genes *vacA* y *cagA* en el DNA de las biopsias de la siguiente manera:

El ADN bacteriano se amplifico a través de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) múltiplex, en un termociclador BIO-RAD Peltier Thermal Cycler (PTC-100) para lo cual se preparó una mezcla de 12  $\mu\text{l}$  de pre-PCR y se programaron las condiciones del amplificado (desnaturalización, unión y extensión) según los genes de interés de *H. pylori*: *cagA* y *vacA*, siguiendo el protocolo previamente descrito en la literatura internacional (Henegariu, Heerema, Dlouhy, Vance, & Vogt, 1997). Los cebadores empleados en el estudio se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3. Cebadores empleados para la amplificación de genes de virulencia**

Gen	Secuencia Forward/Reverse	Tamaño(pb)
<i>cagA</i>	GTTGATAACGCTGTCGCTTC GGGTTGTATGATATTTCCATAA	360
<i>vacA</i> s	ATGGAAATACAACAAACACAC CTGCTTGAATGCGCAAAC	s <sub>1</sub> :259 s <sub>2</sub> :286
<i>vacA</i> m	CAATCTGTCCAATCAAGCGAG CGCTCAAATAATTCCAAGG	m <sub>1</sub> :567 m <sub>2</sub> :642

La PCR se realizó en un volumen de 12  $\mu\text{l}$  que contenía 2  $\mu\text{l}$  del ADN extraído, 2 $\mu\text{l}$  del mix de los primers de interés a una concentración [2mM], 6  $\mu\text{L}$  de mixQ a una

concentración de 6X (según inserto del Kit comercial Quiagen) y 2 µl de agua H<sub>2</sub>O. Los ciclos de la PCR fueron: 95°C por 15 min, seguido de 10 ciclos de 94°C por 30 seg, 57°C por 1,5 min y 70°C por 1 min, seguido de 20 ciclos, de 94°C por 30 seg, 56°C por 1,5 min y 72°C por 1 min y un paso final de 15°C hasta retirar las muestras. El proceso de revelado se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% teñido con 5 µl SYRB Safe®, corrido a 70 voltios por 70 min, en una cámara de electroforesis horizontal, empleando un marcador de peso molecular de 100 lanes de hyperlader II de Boline. Para el análisis molecular del gen se tomó como control negativo la solución de mix y como control positivo el ADN de la bacteria de la cepa de *H. pylori* NCTC11637 (cagA<sup>+</sup>/vacAs1m1) y el aislado clínico 3062 (cagA<sup>-</sup>/vacAs2m2), estos controles fueron donados por la Dra. María Mercedes Bravo del Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá-Colombia, Posteriormente se visualizaron mediante transiluminador Uvidoc (Sigma, Saint Louis, USA), la visualización de una banda de 360 pb se consideró como positiva para la presencia del gen cagA en ausencia de esta banda se reportó un genotipo cagA<sup>-</sup>. Para el análisis molecular de los alelos del gen vacA se tuvo en cuenta la presencia de una banda de 259 y 286 pb para s1 y s2, respectivamente, en tanto la identificación de los alelos m1 y m2 de este mismo gen, se determinó mediante la presencia de una banda de 567 y 642 pb respectivamente.

#### **4.8 Análisis de resistencia genotípica**

##### **4.8.1 Resistencia a Metronidazol**

La resistencia a metronidazol ha mostrado estar fuertemente asociada con mutaciones en el gen rdxA. Para la amplificación de este gen se obtuvieron productos de PCR de 851 pb, a partir de DNA obtenido de biopsias gástricas utilizando los cebadores descritos por Kim, *et al.*, (S. Y. Kim et al., 2009), con las siguientes secuencias: 5' AATTTGAGCATGGGGCAG; 3' R5GAAACGCTTGAAAACACCCCT-3'. La amplificación fue estandarizada en el laboratorio utilizando sistemas de alta fidelidad. La amplificación del DNA se verificó en geles de agarosa al 2% revelado en solución de SYRB Safe®. Los productos de PCR fueron secuenciados y analizados para determinar la presencia de mutaciones relacionadas con resistencia a metronidazol.

Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados en MacroGen Inc. Korea Company. Las secuencias se analizaron usando la herramienta BLASTx (Basic Local Alignment Search Tool - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) para comparar las secuencias de nucleótidos de los productos de PCR de la región amplificada con la secuencia reportada en el GenBank HP26695, la numeración de la posición de los nucleótidos siguió el sistema propuesto por Bereswill S, *et al.* (Bereswill, Krainick, Stähler, Herrmann, & Kist, 2003). Se realizó análisis de los resultados para determinar los cambios presentes en comparación con la cepa de referencia 26695. Las posiciones de aminoácidos de la proteína RdxA se basó en la cepa de referencia 26695 (Tomb *et al.*, 1997); esta cepa es susceptible a Mtz como se determinó previamente (Jeong *et al.*, 2000).

#### **4.8.2 Resistencia a Claritromicina**

La resistencia a la claritromicina ocurre por la aparición de diversas mutaciones puntuales en el gen que codifica el rRNA 23S. Se amplificó un fragmento de 425 pb del gen que codifica para la peptidiltransferasa en la región del gen rRNA 23S (Número de acceso U27270). Se utilizaron los primers descritos por (S. Y. Kim *et al.*, 2009). F 5'-CCACAGCGATGTGGTCTCAG-3' (complementaria a la región 2191 a 2210) R1 5'-CTCCATAAGAGCCAAAGCCC-3' (complementaria a las posiciones 2596 a 2615). La amplificación del DNA se verificó en geles de agarosa al 2%, teñidos en SYRB Safe®. Las condiciones de PCR fueron descritas por Acosta, *et al.*, (Acosta, Hurtado, & Trespalacios, 2013).

#### **4.9 Análisis estadístico**

Los datos de las variables sociodemográficas se ingresaron en una base de datos en SPSS versión 19. Las variables cualitativas fueron descritas en frecuencias y porcentajes y para las variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central. Se realizarán análisis descriptivos, a través de pruebas no paramétricas de significancia

estadística (Chi Cuadrado  $X^2$ ). Un nivel de probabilidad de  $p < 0,05$  fue considerado como estadísticamente significativo.

## CAPÍTULO V. RESULTADOS

### 5.1 Características sociodemográficas de la población

Durante el período de estudio, ingresaron un total de 453 pacientes previo cumplimiento de los criterios de inclusión. La Tabla 4 presenta un resumen de las características sociodemográficas más relevantes de la población de estudio. Los pacientes estuvieron en un rango de edad entre los 18 a 88 años, con un promedio  $49,75 \pm 14,08$  años. Se observó predominio de la infección por *H. pylori* en la población de sexo femenino 285/453 (62,9%). La etnia se caracterizó cualitativamente, siendo la mestiza la más frecuente 432/453 (95,4%). En cuanto al nivel educativo 251/453 (55,4%) pacientes reportaron un bajo nivel de escolaridad, representado en básica primaria o ausencia de escolaridad. De la ocupación podemos decir que en su mayoría fueron amas de casa y agricultores 55,4 y 32,2 % respectivamente, debido probablemente a que estas ocupaciones están fuertemente ligadas al género. Los datos muestran que casi la totalidad de las personas infectadas con *H. pylori* reportan ingresos menores a un salario mínimo 346/453 (57,4%), siendo el mayor porcentaje de individuos procedentes del área urbana 267/453 (58,9%).

**Tabla 4. Características sociodemográficas de la población estudio captada**

	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Total</b>	453	100
<b>Edad (años)</b>		
Media ± DE	49,75 ± 14,08	
<40	108	23,8
40-60	246	38,2
>60	99	21,9
<b>Género</b>		
Masculino	168	37,1
Femenino	285	62,9
<b>Etnia</b>		
Mestiza	432	95,4
No mestiza	21	4,6
<b>Nivel Educativo</b>		
Bajo	251	55,4
Medio	146	32,2
Alto	56	12,4
<b>Ocupación</b>		
Ama de casa	165	36,4
Agricultor	83	18,3
Otras	205	45,3
<b>Lugar de procedencia</b>		
Urbano	267	58,9
Rural	186	41,1
<b>Ingresos Mensuales</b>		
< 1 SMLV	346	57,4
≥ 1 SMLV	107	23,6



## 5.2 Condiciones de saneamiento e higiene ambiental

El análisis de las condiciones sanitarias y de higiene de la población de estudio se presenta en la Tabla 5. Los resultados muestran que el 18,3% de la población convive con alguna persona infectada con la bacteria. En cuanto a la fuente de agua, el 83,4% de la población toma agua de acueducto, sin embargo el 4,6 y 11,9% consumen agua de fuentes como pozo/aljibes y ríos/manantiales respectivamente. Del agua de consumo podemos decir que el 48,8% de la población hierve el agua, sin embargo el 44,2% no realiza tratamiento previo antes de su consumo. Para la disposición de excretas, el 91,8% de la población de estudio utiliza baterías sanitarias.

**Tabla 5. Condiciones de saneamiento e higiene ambiental y personal**

	Frecuencia	%
<b>Total</b>	453	100
<b>Convive con personas infectadas por <i>H. pylori</i></b>		
No	304	67,1
Si	83	18,3
No Sabe	66	14,6
<b>Fuente de Agua</b>		
Acueducto	378	83,4
Pozo/aljibe	21	4,6
Rio/manantial	54	11,9
<b>Tratamiento de agua</b>		
Ninguno	200	44,2
Hervido	221	48,8
Otros	32	7
<b>Excretas</b>		
Sanitario	416	91,8
Letrina/campo Abierto	37	8,2

### 5.3 Características clínicas de la población de estudio

La caracterización clínica de la población se muestra en la Tabla 6. Los resultados muestran que los síntomas más frecuentes en los pacientes con infección por *H. pylori* fueron: ardor 69,1%, dolor 62%, llenura 59,2% y regurgitación 52,3%, la frecuencia de los otros síntomas fue  $\leq$  al 33,8%.

Tabla 6. Características clínicas de la población de estudio

	Frecuencia	%
<b>Total</b>	453	100
<b>Ardor</b>		
No	140	30,9
Si	313	69,1
<b>Dolor</b>		
No	172	38,0
Si	281	62,0
<b>Llenura</b>		
No	185	40,8
Si	268	59,2
<b>Vómito</b>		
No	300	66,2
Si	153	33,8
<b>Pérdida de peso</b>		
No	327	72,2
Si	126	27,8
<b>Anorexia</b>		
No	402	88,7
Si	51	11,3
<b>Disfagia</b>		
No	398	87,9
Si	55	12,1
<b>Regurgitación</b>		
No	216	47,7
Si	237	52,3
<b>Anemia</b>		
No	422	93,2
Si	31	6,8

#### 5.4 Prevalencia de la infección en enfermedades gástricas

La Tabla 7. Presenta la prevalencia de la infección de *H. pylori* en las diferentes patologías gástricas. La mayor frecuencia de la infección por *H. pylori* se presentó en la GCNA 40,8%, seguida por MI 37,1%, GCA 13,5%, DG 2,9% y CG 5,7%. El diagnóstico de las lesiones se realizó a través de pruebas histológicas.

**Tabla 7. Prevalencia de la infección en enfermedades gástricas**

	Frecuencia	%
<b>Total</b>	453	100
<b>Patologías gástricas</b>		
GCNA	185	40,8
GCA	61	13,5
MI	168	37,1
DG	13	2,9
CG	26	5,7

GCNA: Gastritis crónica no atrófica

GCA: Gastritis crónica atrófica

MI: Metaplasia intestinal

DG: displasia gástrica

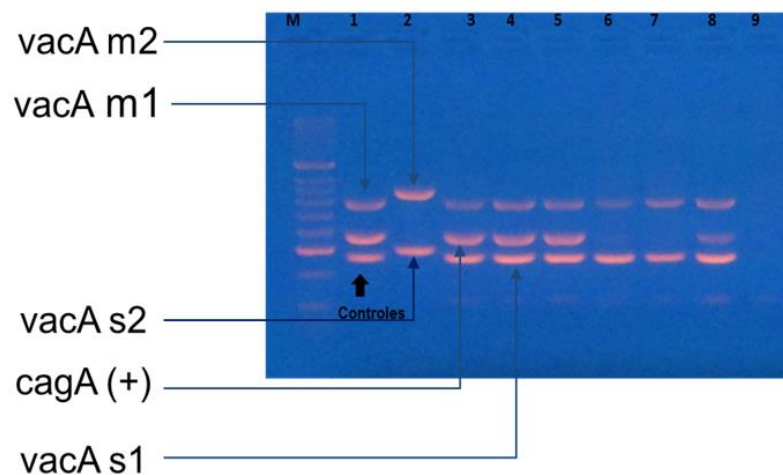
CG: Cáncer gástrico

## 5.5 Caracterización de los genes de virulencia cagA y vacA

La identificación de los genotipos de virulencia, se realizó mediante la técnica de PCR múltiple a partir del ADN obtenido de las muestras de biopsia con enfermedades gástricas, estos se relacionan en la Tabla 8. El gen cagA negativo se encontró en 261/453 (57,6%), mientras que en 192/453 (42,4%) resultó positivo. Las muestras fueron positivas para al menos uno de los alelos (región s o m), se encontraron dos combinaciones sencillas, s1/m1, s2/m2, siendo la combinación s1/m1 la más frecuente 359/453 (79,2%), seguida de s2/m2 44/453 (9,7%). Adicionalmente, se observaron combinaciones múltiples como s1s2/m1m2 (4.6%), lo cual indica que 29/453 pacientes, presentaron infección con múltiples cepas de *H. pylori*. La distribución de los genotipos de *H. pylori* se muestra en la Tabla 9. Los resultados muestran que los genotipos más frecuentes fueron: cagA<sup>-</sup>/vacAs1m1 191/453 (42,2%) y cagA<sup>+</sup>/ vacAs1m1 168/453 (37,1%). La presencia de los alelos vacA s1 y s2 fue visualizada mediante una banda de 259 y 286 pb respectivamente en tanto la presencia de los alelos m1 y m2 fue visualizada mediante una banda de 567 y 642 pb respectivamente, tal como se observa en la Figura 12. En la tabla 10. Se muestra la distribución de la frecuencia de los genotipos cagA y vacA en las enfermedades gástricas, las diferencias entre los grupos no fueron significativas ( $p= 0,115$ ).

**Tabla 8. Frecuencia de los genes de virulencia cagA y vacA**

Gen	Alelo	Frecuencia	%
<b>cagA</b>	CagA-	261	57,6
	CagA+	192	42,4
<b>vacA</b>			
	Región s/m		
	s1/m1	359	79,2
	s2/m2	44	9,7
	s1s2/m1m2	21	4,6
	Otros	29	6.3
<b>Total</b>		453	100



**Figura 12 Electroforesis de la amplificación de los genes *cagA* y *vacA***

Línea M: Marcador molecular 100 pb, línea 1. Controles positivos, cepas de referencia NCTC11637 y 3062, línea 2-8 muestras de ADN, línea 9 control negativo

**Tabla 9. Distribución de la frecuencia de los genotipos *cagA* y *vacA***

Genotipos	Frecuencia	%
<b>Total</b>	453	100
<i>cagA</i> <sup>+</sup> / <i>vacA</i> s1m1	168	37,1
<i>cagA</i> <sup>+</sup> / <i>vacA</i> s1s2m1m2	11	2,4
<i>cagA</i> <sup>-</sup> / <i>vacA</i> s1m1	191	42,2
<i>cagA</i> <sup>-</sup> / <i>vacA</i> s2m2	43	9,5
<i>cagA</i> <sup>-</sup> / <i>vacA</i> s1s2m1m2	10	2,2
Otros	30	6,6

**Tabla 10 Distribución de la frecuencia de los genotipos *cagA* y *vacA* en las enfermedades gastricas**

	GCNA	GCA	MI	DG	CG	Total	<i>p</i> <sup>a</sup>
<i>CagA</i> <sup>-</sup> / <i>Vac</i> s1m1	74 (40)	22 (36)	73 (43)	7 (54)	15 (58)	191 (42)	0,115
<i>CagA</i> <sup>+</sup> / <i>Vac</i> s1m1	58 (31)	21 (34)	77 (46)	5 (38)	8 (31)	169 (37)	
Otros	53 (29)	18 (30)	18 (11)	1 (8)	3 (12)	93 (21)	
<b>Total</b>	185 (41)	61 (13)	168 (37)	13 (3)	26 (6)	453	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

## 5.6 Frecuencias de las mutaciones resistencia *rdxA* y 23 *RNAr*

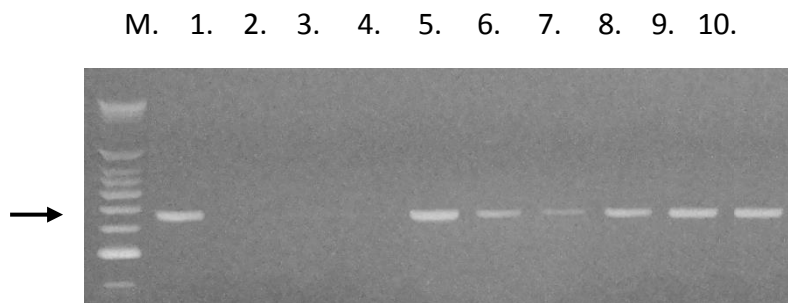
La frecuencia de mutaciones en el gen 23S *RNAr* se muestran en la tabla 11. El análisis de la secuencia del fragmento de 425 pb del gen 23 *RNAr* obtenido de las muestras de pacientes con infección de *H. pylori* mostro que el 8,3% (30/363) de estas poseían mutaciones relacionadas con resistencia de *H. pylori* a la claritromicina, en tanto que 91,7 % (333/363) de las muestras no presentó ninguna de estas mutaciones relacionadas con la resistencia de *H. pylori* a la claritromicina. La distribución de mutaciones puntuales se presenta en la tabla 12. Los resultados de este estudio muestran que la mutación, más frecuente fue A2143G, 20/30 (66,7%), seguida de A2142G, 8/30 (26,7%), en baja frecuencia se encontró A2143T, 1/30 (3,3%). Adicionalmente se encontró doble mutación A2142G/A2143G, 1/30 (3,3%).

En la tabla 13 se muestra la frecuencia de resistencia a Mtz en la población de estudio 78,2%. Para obtener el cálculo esta de frecuencia se tuvieron en cuenta las mutaciones puntuales reportadas por la literatura: R90K, H97T, S108A, A118T, R131K, E133K. Por otra parte, los cambios encontrados en la proteína RdxA, muestra que el 99% (423/426) de las muestras analizadas presentan cambios en al menos un aminoácido en comparación con la cepa de referencia 26695. En la tabla 14 se muestra la frecuencia de mutaciones puntuales de aminoácidos en la nitroreductasa RdxA de *H. pylori*. Se muestran mutaciones reportadas por la literatura relacionadas con resistencia a Mtz. Para este estudio las frecuencia de las mutaciones puntuales relacionadas con resistencia a este antibiótico fueron: La más frecuente fue R131K, 227/426 (53,3%) seguido por R90K, 226/426 (53,1%); en A118T, 79/426 (18,5%); H97T 47/426 (11,0%); S108A, 15/426 (3,5%); E133K, 12/426 (2,8%); entre otras que se encuentran descritas en tabla en mención. En este estudio, también se encontraron mutaciones puntuales que no han sido reportadas en aislamientos resistentes como: D59N, 353/426 (82,9%); G98S, 74/426 (17,4%); H97Y, 42/426 (9,9%); I160F, 48/426 (1,31%); I160L, 38/426 (9,8%); M56I, 33/426 (7,7%); C159S, 33/426 (7,7%); A118S, 11/426 (2,6%); I160K, 11/426 (2,6%); entre otras que se encuentran descritas en tabla en mención. En la tabla 15 se muestra la frecuencia de mutaciones de aminoácidos en la nitroreductasa RdxA de *H. pylori* relacionadas con codones de terminación. Las mutaciones con mayor

frecuencia fueron: C159\*, 34/426 (8,0%); I160\*, 26/426 (6,1%); Q50\*, 11/426 (2,6%); E75\*, 6/426 (1,4%); entre otras que se encuentran descritas en tabla en mención.

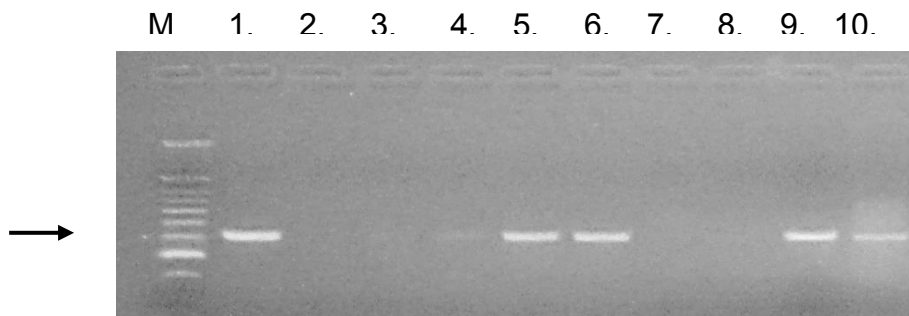
Por otra parte en este estudio se encontraron mutaciones que no han sido reportadas en la literatura: C159A, (19%); C159V, (24%); I161C, (10%); I161F, (71%); I161L, (51%); I161M, (11%); I161V, (16%); I161W, (13%), H69D, (14%); Y71F, (12%); S158I, (11%); I66N, (22%); S45R (19%); Q65T, (20%); V123T, (12%).

La presencia de los genes RdxA y 23S rRNA fue visualizada mediante una banda de 460 y 425 pb respectivamente tal como se observa en las Figuras 13 y 14 respectivamente.



**Figura 13 Electroforesis de la amplificación del gen Gen RdxA**

Línea M: Marcador molecular 460 pb, línea 1. Controles positivos, línea 2. Control negativo, línea 3. H<sub>2</sub>O, línea 4-10 muestras de ADN



**Figura 14 Electroforesis de la amplificación del gen Gen 23S rRNA**

Línea M: Marcador molecular 425 pb, línea 1. Controles positivos, línea 2. Control negativo, línea 3. H<sub>2</sub>O, línea 4-10 muestras de ADN

**Tabla 11. Frecuencia de mutaciones en el gen 23S *RNAr***

	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Total</b>	363	100
<b>Presencia mutación</b>	30	8,3
A2142G	8	2,2
A2143G	20	5,5
A2142G/ A2143G	1	0,3
A2143T	1	0,3
<b>Ausencia mutación</b>	333	91,7

**Tabla 12. Distribución de mutaciones puntuales en el gen 23S *RNAr***

	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Total</b>	30	100
<b>Presencia mutación</b>		
A2142G	8	26,7
A2143G	20	66,7
A2142G/ A2143G	1	3,3
A2143T	1	3,3

**Tabla 13. Frecuencia de resistencia a Metronidazol en la población de estudio**

	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Total</b>	426	100
Resistente	323	75,8
Sensible	103	2



**Tabla 14. Frecuencia de mutaciones puntuales de aminoácidos en la nitroreductasa RdxA de *H. pylori***

Tipo de mutación	Frecuencia	%
<b>Total</b>	n=426	100
T31E	2	0,5%
A37V	1	0,2%
A40P	1	0,2%
S43A	1	0,2%
S43L	3	0,7%
Q50R	1	0,2%
H53R	13	3,1%
F54L	3	0,7%
M56I	33	7,7%
V57F	1	0,2%
T58A	1	0,2%
D59N	353	82,9%
I62F	21	4,9%
I62V	16	3,8%
K64N	7	1,6%
A67V	2	0,5%
A68V	13	3,1%
Y71S	10	2,3%
E75K	4	0,9%
A80T	4	0,9%
A82G	20	4,7%
M84I	1	0,2%
C87Y	1	0,2%
S88P	27	6,3%
R90Ka	226	53,1%
H97Ta	47	11,0%
H97Y	42	9,9%
G98S	74	17,4%
P106S	5	1,2%
S108Aa	15	3,5%
V111A	20	4,7%
P115L	2	0,5%
A118S	11	2,6%
A118Ta	79	18,5%
G122S	2	0,5%
R131Ka	227	53,3%
E133Ka	12	2,8%
C140V	1	0,2%
C159S	33	7,7%
I160F	48	11,3%
I160K	11	2,6%
I160L	38	8,9%
G170S	1	0,2%
K179R	1	0,2%

a. R90K, H97T, S108A, A118T, R131K, E133K cambios asociados a resistencia según la literatura (Martínez et al., 2014) (Mirzaei, Poursina, Moghim, Rahimi, & Safaei, 2014)

**Tabla 15. Frecuencia de mutaciones de aminoácidos en la nitroreductasa RdxA de *H. pylori* relacionados con codones de terminación**

<b>Tipo de mutación</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>
<b>Total</b>	n=426	100
Y47*	3	0,7%
Q50*	11	2,6%
D59*	1	0,2%
I62*	2	0,5%
Q65*	2	0,5%
N73*	1	0,2%
E74*	1	0,2%
E75*	6	1,4%
K78*	1	0,2%
N103*	1	0,2%
E107*	1	0,2%
R112*	2	0,5%
V144*	1	0,2%
S158*	1	0,2%
C159*	34	8,0%
I160*	26	6,1%

## 5.7 Interacciones entre la virulencia bacteriana con las mutaciones de resistencia antimicrobiana.

En la tabla 16 se observa que hay una distribución similar de las muestras que presentan mutación para el gen 23S *RNAr* en los genotipos de virulencia de *H. pylori* estudiados, 6,5%  $cagA^-/vacA s1m1$  y 6,7%  $cagA^+/vacA s1m1$ . Las diferencias entre los grupos no fueron significativas ( $p= 0,928$ ).

En la tabla 17 se observa que la frecuencia de mutaciones de R90K en pacientes  $cagA^-/vacAs1m1$  y  $cagA^+/vacAs1m1$  es superior al 50% respecto a los que no portan dicha mutación, sin embargo no se observan diferencias significativas entre ambos grupos ( $p= 0.814$ ). En la tabla 18 la mutación R131K se muestra en un mayor porcentaje en  $cagA^+/vacAs1m1$  con un 55,7%, esta mutación no presentó diferencias significativas en comparación con el grupo que no la presentaron ( $p= 0.347$ ). En la tabla 19 se muestra que la mutación A118T es poco frecuente en la población estudiada, tan solo el 18,4 % presentó dicha mutación. La mayor frecuencia de esta mutación se presentó para el genotipo  $cagA^+/vacAs1m1$ . No se observan diferencias significativas entre ambos grupos ( $p= 0,095$ ). En la tabla 20 la mutación H97T presentó una baja frecuencia (11,3%), su distribución en los genotipos estudiados fue de 12,0% para  $cagA^+/vacAs1m1$  y el 10,6%  $cagA^-/vacAs1m1$ . Las diferencias entre los grupos no fueron significativas ( $p= 0,683$ ). En la tabla 21 la mutación S108A presentó una baja frecuencia (2,7%), manifestándose únicamente en 1,3% para  $cagA^+/vacAs1m1$  y el 3,9% para  $cagA^-/vacAs1m1$  de los pacientes. Las diferencias entre los grupos no fueron significativas ( $p= 0,133$ ). En la tabla 22 se observa que la frecuencia de mutaciones de E133K fue baja (3,6%), la frecuencia para  $cagA^-/vacAs1m1$  y  $cagA^+/vacAs1m1$  fue de 3,9% y 3,2% respectivamente. Los datos reportan que no hay diferencias significativas entre los grupos de resistentes y no resistentes al metronidazol ( $p= 0,712$ ).

**Tabla 16. Presencia de mutaciones en el gen 23S RNAr relacionadas con genes de virulencia de *H. pylori***

	cagA <sup>-</sup> /vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total	p <sup>a</sup>
Presencia	10 (6,5)	9 (6,7)	19 (6,6)	0,928
Ausencia	145 (93,5)	125 (93,3)	270 (93,4)	
<b>Total</b>	<b>155 (100)</b>	<b>134 (100)</b>	<b>289 (100)</b>	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

**Tabla 17. Relación de la mutación R90K**

	cagA <sup>-</sup> /vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total	p <sup>a</sup>
Presencia R90K	94 (52,5)	85 (53,8)	179 (53,8)	0,814
Ausencia R90K	85 (47,5)	73 (46,2)	158 (46,9)	
<b>Total</b>	<b>179 (100)</b>	<b>158 (100)</b>	<b>337 (100)</b>	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

**Tabla 18. Relación de la mutación R131K**

	cagA <sup>-</sup> /vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total	p <sup>a</sup>
Presencia R131K	90 (50,6)	88 (55,7)	178 (53,0)	0,347
Ausencia R131K	88 (49,4)	70 (44,3)	158 (47,0)	
<b>Total</b>	<b>179 (100)</b>	<b>158 (100)</b>	<b>337 (100)</b>	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

**Tabla 19. Relación de la mutación A118T**

	cagA <sup>-</sup> /vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total	p <sup>a</sup>
Presencia A118T	27 (15,1)	35 (22,2)	62 (18,4)	0,095
Ausencia A118T	152 (84,9)	123 (77,8)	275 (81,6)	
<b>Total</b>	<b>179 (100)</b>	<b>158 (100)</b>	<b>337 (100)</b>	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

**Tabla 20. Relación de la mutación H97T**

	cagA <sup>-</sup> /vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total	p <sup>a</sup>
Presencia H97T	19 (10,6)	19 (12,0)	38 (11,3)	0,683
Ausencia H97T	160 (89,4)	139 (88,0)	299 (88,7)	
<b>Total</b>	<b>179 (100)</b>	<b>158 (100)</b>	<b>337 (100)</b>	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

**Tabla 21. Relación de la mutación S108A**

	cagA <sup>-</sup> /vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total
Presencia S108A	7 (3,9)	2 (1,3)	9 (2,7)

Ausencia S108A	172 (96,1)	156 (98,7)	328 (97,3)
<b>Total</b>	<b>179 (100)</b>	<b>158 (100)</b>	<b>337 (100)</b>

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

**Tabla 22. Relación de la mutación R133K**

	cagA/vacA s1m1	cagA <sup>+</sup> /vacA s1m1	Total	<i>p</i> <sup>a</sup>
Presencia de mutación S133A	7 (3,9)	5 (3,2)	12 (3,6)	0,712
Ausencia de mutación S108A	172 (96,1)	153 (96,8)	325 (96,4)	
<b>Total</b>	<b>179 (100)</b>	<b>158 (100)</b>	<b>337 (100)</b>	

<sup>a</sup> Prueba de Chi-cuadrado para comparar diferencias entre proporciones.

## CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN

La infección por *H. pylori* es reconocida como la principal causa específica de cáncer en el mundo y afecta a todos los grupos de edad (Bessède, Dubus, Mégraud, & Varon, 2014). Es un patógeno gástrico que coloniza aproximadamente el 50% de la población mundial (Fernández, 2012). La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) y la OMS, consideran que existe evidencia suficiente sobre el potencial carcinogénico que presenta la bacteria *H. pylori* cuando coloniza la mucosa gástrica del hospedero, lo que permitió declararla como un agente carcinógeno de clase I (Humans & others, 1994).

La colonización persistente de la mucosa gástrica por parte de la bacteria parece estar influenciada por la presencia de ciertos factores genéticos, ambientales y de virulencia del microorganismo (Kusters et al., 2006). La infección por *H. pylori* se adquiere principalmente durante la infancia, y una vez adquirida, esta persiste durante toda la vida si no se trata específicamente con antimicrobianos (Bastos et al., 2013). En la gran mayoría de los casos la infección causa gastritis crónica, pero solo el 20% de ellos tendrá alguna enfermedad clínica: del 10 a 20% de los infectados durante su vida tendrán riesgo de desarrollar úlceras pépticas y un 1 al 2% podrán desarrollar CG (Pedraza, Regino, & Zuleta, 2010).

Las consecuencias finales de la infección por *H. pylori* dependen de los factores genéticos del huésped, factores medioambientales externos y la infección por genotipos más virulentos de *H. pylori* como *cagA*<sup>+</sup> y *vacA* s1m1, los cuales han mostrado una fuerte asociación con la resistencia antimicrobiana a *H. pylori* (Agudo et al., 2010). Según guías de práctica clínica y conferencias consenso recientes, los regímenes de tratamiento son la terapia con tres o cuatro medicamentos, para áreas con alta prevalencia de *H. pylori* y con falta de información sobre susceptibilidad como nuestra región del Cauca. Por consiguiente, este estudio determino los perfiles moleculares de genes de resistencia de *Helicobacter pylori* y su relación con los genes de virulencia en pacientes con dispepsia en una población del cauca.

## 6.1 Características sociodemográficas de la población

Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que la frecuencia más alta de infección por *H. pylori* se presenta en el sexo femenino, entre 40 y 60 años (38,2%), con edad promedio  $49,75 \pm 14,8$  años, datos que se relacionan con los reportados en la literatura y en los cuales se reporta que en esta edad se puede presentar un pico de prevalencia hasta del 80% en países en vías de desarrollo como el nuestro (Díez et al., 2002) (G. Correa et al., 2016). La prevalencia de *H. pylori* por sexo fue del (62,9%) en las mujeres y del (39,6%) en los hombres. El predominio de la infección en el sexo femenino se puede corroborar en estudios realizados en Latinoamérica. Ríos, C., et al. (Ríos, Sierralta, Zúñiga, & others, 2005), reportan que del total de pacientes que presentaron la infección por *H. pylori* el (58,6%) fueron del sexo femenino, mientras que el (41,4%) fueron del sexo masculino. En Colombia, en un estudio realizado en la ciudad de Medellín, correa, et al. (S. Correa et al., 2016); reportaron que el (63,8%) fueron mujeres y el (32,6%) fueron hombres. Esta tendencia se debe posiblemente a los factores de higiene, hacinamiento y hábitos de vida representativos de las madres cabeza de hogar las cuales permanecen la mayor parte del tiempo en los hogares.

En cuanto al lugar de procedencia, se observa que la población proviene del área urbana (58,9%) y el (41,1%) proviene del área rural. Los datos obtenidos en este estudio concuerdan con lo reportado por Prochazka, et al. (Prochazka Zárate, Salazar Munte, Barriga Calle, & Salazar Cabrera, 2010), donde el 56,2% de la población procedían del área urbana, mientras que el 43,7% procedieron del área rural. En Colombia, en un estudio realizado en el Hospital Universitario del Valle y Fundación Valle del Lili, reporto que según su sitio de residencia los pacientes vivían en el área urbana de la ciudad de Cali, (76.2%); en municipios del Valle, (23.1%); y en áreas rurales del Cauca, (1.2%) (Montaño, Dossman, Herrera, Bromet, & Moreno, 2013).

Otros resultados importantes en el perfil epidemiológico de la población es el nivel educativo, en este estudio se encontró que la mayoría de pacientes poseen un ningún nivel educativo bajo (primaria) o carecen de este, (55,4%); ocupaciones como ama de casa y agricultor son las más frecuentes, (36,5%) y (18,3%) respectivamente; con

ingresos económicos por debajo de un salario mínimo, (54,4%); estas características sociodemográficas pueden influenciar que la infección por *H. pylori* sea más prevalente en individuos de bajo nivel económico, son muchos los trabajos que muestran que la deprivación socioeconómica está asociada con una alta tasa de colonización durante la infancia y que la pobreza, es uno de los principales factores de riesgo (Páez, Solano, Nadaff, Boccio, & Barrado, 2006). Resultados de estudios realizados por Pérez, *et al.* (Motta, 2004); Lehours, *et al.*, (Lehours & Yilmaz, 2007); Fialho, *et al.*, (Fialho *et al.*, 2010), reportan que las personas de los estratos sociales más bajos y con menor nivel educativo están en mayor riesgo de presentar enfermedades gástricas asociadas a infección por *H. pylori*, y por consiguiente, se hace necesario mejorar las estrategias de promoción y prevención en estos grupos poblacionales.

## **6.2 Condiciones de saneamiento e higiene ambiental**

La tercera edición de la guía para la calidad del agua potable de la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce que el consumo de agua contaminada es una fuente potencial de infección, pero que se necesitan de estudios adicionales para establecer un posible vínculo de la transmisión por el agua. El contacto entre personas dentro de las familias se ha señalado como la fuente de contagio más probable por transmisión oral-oral; también se considera posible la vía de transmisión fecal-oral. Por lo tanto, para proteger el agua de consumo y/o los alimentos contaminados con heces fecales es importante evitar la contaminación por residuos humanos y realizar una adecuada desinfección (“OMS | Guías para la calidad del agua potable, tercera edición,” n.d.). Si bien el (67%) de los participantes en este estudio manifestarán que no conviven con pacientes infectados con *H. pylori* esta pregunta es subjetiva puesto que no se han realizado pruebas que permitan confirmar si en realidad los participantes han convivido o no con personas infectadas con esta bacteria.

En este estudio, se identificó que aproximadamente el 83,4% de la población consume agua de acueducto, sin embargo, el (44,2%) de la población no trataban el agua. Estudios epidemiológicos han demostrado que *H. pylori* vive en el agua y que su contacto con agua contaminada puede infectar la mucosa gástrica e iniciar el proceso de



carcinogénesis gástrica. El suministro de agua contaminada con materia fecal puede ser una fuente potencial de transmisión de *H. pylori*. Mazari, *et al.*, (Mazari-Hiriart, López-Vidal, Castillo-Rojas, de León, & Cravioto, 2001), reportaron contaminación fecal en muestra de agua en la ciudad de México, mientras que Ranjbar, *et al.*, (Ranjbar, Khamesipour, Jonaidi-Jafari, & Rahimi, 2016), evidenciaron la presencia de *H. pylori* en muestras de agua potable en Irán. Si bien la fuente de agua para la mayoría de la población es de acueducto, para el (11,9%) de la población el suministro de agua proviene de ríos y manantiales, esto es importante en los países en desarrollo donde los suministros de agua municipales no son tratados adecuadamente y el agua se obtiene de ríos y otras fuentes no tratadas.

El inadecuado manejo de excretas es una práctica preocupante, sobretudo en el área rural, por cuanto se reporta que la presencia de *H. pylori* en el agua es producto de malas condiciones sanitarias, eliminación inadecuada de desechos y la falta de educación en salud pública, lo cual establece una ruta de transmisión importante de la bacteria (Mazari-Hiriart *et al.*, 2001). Sin embargo en Colombia en departamentos como el Cauca, las zonas urbanas aun presentan situaciones precarias como lo son el inadecuado saneamiento y falta de higiene en los hogares lo que conlleva a mejorar las acciones en salud públicas y zonas tanto rurales como urbanas. El presente estudio indicó que el (91,8%) de personas realizan un adecuado manejo de excretas, sin, el (8,2%) las depositan en letrina y/o campo abierto. En este tipo de poblaciones se hace necesario realizar intervención con programas de educación sanitaria, higiene y prevención.

### **6.3 Características clínicas de la población de estudio**

La historia natural de la infección de *H. pylori* es variable, y aunque todos los pacientes infectados desarrollan una gastritis crónica, no todos desarrollan enfermedad clínica, siendo muchos de ellos asintomáticos (Ramírez Ramos & Sánchez Sánchez, 2008). Se ha descrito que los síntomas característicos de gastritis crónica son dolor abdominal en la parte superior que se incrementa al ingerir alimentos, indigestión abdominal, pérdida

de peso, náuseas y en algunos casos vómito (Cárdenas, Castro, Nevett, Patiño, & Urdaneta, 2007).

En el presente estudio se encontró que los síntomas más frecuentes en los pacientes infectados con *H. pylori* fueron: ardor (69,1%), dolor (62%), llenura (59,2%) y regurgitación (52,3%). García, *et al.*, (García Capote, Crespo Ramírez, & Guanche Garcell, 2014) determinaron las características clínico epidemiológicas de infección por *Helicobacter pylori* en pacientes atendidos en consulta de Gastroenterología, se apreció que el 100% de los pacientes referían dolor, seguido la acidez con (55.8%), llenura (40.6%), náuseas y flatulencia. En un estudio realizado en un centro de referencia de Medellín se describió que la presencia de *H. pylori* no siempre se asocia con síntomas dispépticos, sin embargo, todos los pacientes evaluados presentaban dichos síntomas (S. Correa *et al.*, 2016).

#### **6.4 Prevalencia de la infección de *H. pylori* en enfermedad gástricas**

El CG se desarrolla a través de una serie de lesiones precursoras, conocido como la cascada de la carcinogénesis gástrica propuesta por Pelayo Correa, la GCNA puede evolucionar a lo largo de los años a GCA y/o MI para posteriormente avanzar a DG y CG de tipo intestinal, progreso quizás relacionado con la presencia de ciertos factores genéticos y ambientales (P. Correa & Piazuelo, 2008). La colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori*, condiciona distintas lesiones inflamatorias inicialmente favoreciendo el desarrollo de gastritis superficial que puede evolucionar o no a través de procesos multifactoriales hacia gastritis atrófica hasta llegar a zonas metaplásicas, condición asociada a la aparición de CG (Piñeros, Ferlay, & Murill, 2006). La GCNA es una condición inflamatoria, que amerita un seguimiento diagnóstico continuo, por cuanto eventualmente algunos de estos individuos podrían desarrollar cáncer. En nuestro estudio (40,8%) de la población presentó CGNA, población con alta probabilidad de avanzar en la vía de la carcinogénesis gástrica. Chacaltana, A., *et al.*, (Chacaltana *et al.*, 2009) reportaron 76,5 % GCA; 65.5% MI y 16,7% DG en un estudio realizado en el Perú en pacientes infectados por *H. pylori*. Para Colombia Esta alta prevalencia de GCNA es

consistente con la reportada por Bravo, *et al.*, (Luis Eduardo Bravo et al., 2003) quienes reportaron un (36,4%) en un estudio multicéntrico.

## 6.5 Caracterización de los genes de virulencia *cagA* y *vacA*

La capacidad de patogénesis gastroduodenal del *H. pylori* esta principalmente representada en la presencia de dos factores de virulencia: *cagA* y *vacA*, es por esto que las cepas de *H. pylori* han sido diferenciadas según la expresión de la proteína CagA, codificada por el gen *cagA* y la expresión o no de la citotoxina vacuolizante (VacA) codificada por el gen *vacA* (Feliciano et al., 2015). La caracterización del presente estudio de *H. pylori* sobre la base del gen *cagA* realizada fue del (42,4%), mostrando baja frecuencia comparada con las reportadas en otros estudios Colombianos, Citty et al., (Citty et al., 2002); (63,7%), Trujillo et al., (Trujillo, Martínez, & Bravo, 2014); (69,2%) y Gálvis, et al., (Galvis et al., 2012) ; (71%) en un estudio realizado en pacientes de diferentes regiones del país, donde el 91,2% provenían de la región Andina de Colombia, sin embargo, Delgado et al., (Delgado, Henao, Perafán, Lozano, & Torres, 2008) en un estudio realizado por la Universidad de los Andes y del Tolima mostró una frecuencia para el gen *cagA* similar a la reportada en este estudio (43%). Sayehmiri et al., (Sayehmiri et al., 2015), en una revisión sistemática y meta-análisis de prevalencia de *cagA* y *vacA* en Irán encontraron altas y bajas frecuencias para *cagA*, en Netherlands (46%); Alemania (87,2%); Estonia (87%) y Sri Lanka (45%). Oliveira et al., (OLIVEIRA et al., 2014) reportan en un estudio de prevalencia de la infección de *H. pylori* para cepas *cagA*<sup>+</sup> en niños y adolescentes en el sur de Brasil una prevalencia del (29%). La identificación del gen *cagA* es de gran importancia clínica por cuanto los individuos infectados con cepas *cagA* positivos, normalmente presentan inflamación gástrica más severa y mayor daño tisular que los infectados con cepas *cagA*<sup>-</sup>. Si bien la frecuencia para este gen en la población caucana es menor a la reportada en la mayoría de estudios, constituye un aspecto de gran interés dentro de la historia natural del CG.

El gen *vacA*, genera una proteína que induce la formación de vacuolas en el epitelio del hospedero. Esta proteína presenta variantes en la región de señalización del péptido (s1, s2), así como en la región media (m1, m2) y dependiendo de la combinación de ellos se van a producir efectos tóxicos en mayor o menor medida, así por ejemplo el genotipo con s1/m1 produce más toxina vacuolizante que las cepas con el genotipo s2/m2, explicando hasta cierto punto porque en promedio solo el 50% de las cepas *vacA*

positivas desarrollan vacuolas en el epitelio (Antonio-Rincón et al., 2011). Existe evidencia que afirma que la diversidad genética del *H. pylori*, puede tener una relevancia clínica en el desarrollo de lesiones gástricas (Panayotopoulou et al., 2010). En el presente estudio se detectó la presencia de *vacA* en todas las cepas de pacientes. La combinación alélica más frecuente fue s1/m1, identificada en el (79,2%) de las muestras estudiadas, la cual ha sido considerada como la combinación *vacA* más virulenta, por su alta producción de citotoxina vacuolizante. Estos resultados muestran una prevalencia promedio a los hallazgos obtenidos por otros investigadores en Colombia, las prevalencias más alta fueron reportadas por Moncayo, *et al.*, (Moncayo & Santacruz, 2000), (80,9%); Bravo, *et al.*, (Luis E. Bravo, van Doorn, Realpe, & Correa, 2002), (84,2%); mientras que Quiroga, *et al.*, (Quiroga, Cittelly, & Bravo, 2005), (63,8%); López, *et al.*, (López et al., 2009), (52%). Todos los estudios realizados en Colombia y/o con cepas colombianas evidencian que la combinación s1/m1 es la más prevalente de las cepas circulantes en el país.

Varios estudios realizados en otros países Latinoamericanos, también han encontrado resultados similares de la combinación s1/m1 informada en este estudio, Mattana, *et al.*, (Perrone et al., 2009), (87%) Argentina; Ashour, *et al.*, (Ashour et al., 2002), (80,3%) Brasil; mientras que en otros países esta prevalencia es más baja, Araya, *et al.*, (Araya et al., 2004), (35,9%) Chile; Cogo, *et al.*, (Cogo et al., 2011), Brasil (51%); Paniagua, *et al.*, (Paniagua et al., 2009) (43,4%). México. Adicionalmente, se encontró una prevalencia de la combinación s2/m2 9,7%, la cual es más baja que la reportada por otros estudios realizados en cepas colombianas por Yamaoka, *et al.*, (Yamaoka et al., 1999) quienes reportan una prevalencia del 18%, muy similar a la reportada por Moncayo, *et al.*, (Moncayo & Santacruz, 2000) en una población de Risaralda (19%). A nivel mundial se ha observado que la distribución alélica de *vacA* presenta variaciones geográficas, en Estados Unidos, las combinaciones alélicas s1/m1 o s2/m2 son igualmente prevalentes, en tanto en Alemania o Inglaterra las combinaciones más frecuentes son s1/m1 y s1/m2, respectivamente, Ozbey, *et al.*, (Ozbey & Aygun, 2012). La alta prevalencia de la combinación de *vacA* s1/m1 en la población es un hallazgo importante por cuanto se conoce que esta combinación se relaciona con mayor daño en

el epitelio gástrico y mayor producción de citotoxina vacuolizante, lo que hace importante que individuos con cepas vacAs1/m1 puedan tener acceso a un tratamiento oportuno e iniciar un seguimiento riguroso en la presentación de la infección por *H. pylori*.

## **6.6 Distribución de la frecuencia de los genotipos cagA y vacA**

La combinación de los genes cagA y vacA puede ser quizás la mejor forma de expresar el poder patogénico de una cepa de *H. pylori* (Alarcon et al., 2000). La infección con ciertos genotipos de *H. pylori* está relacionada con alta morbilidad mientras que otras variantes genéticas de la bacteria parecen ser menos patogénicas. Este hecho ha generado un creciente interés por conocer los genotipos circulantes en las poblaciones y con base en esta evidencia científica poder establecer asociaciones con las diversas patologías gástricas. En consecuencia, el presente estudio, analizó el genotipo completo de virulencia, el cual mostró la presencia de 5 combinaciones de los genes cagA y vacA; de los cuales 2 evidencian la presencia de infección múltiple, lo cual concuerda con estudios realizados en China y México dónde es más frecuente que la infección esté producida por más de una cepa que a su vez presenta múltiples combinaciones del gen vacA (De Francesco et al., 2006). Resultados de diferentes trabajos alrededor del mundo han explicado que esta diversidad alélicas de las cepas, puede representar una ventaja competitiva entre las cepas, confiriendo a algunas de estas mayor capacidad de sobrevivencia dentro del nicho gástrico o una ventaja adaptativa a este (Figueiredo et al., 2001).

La distribución de genotipos completos mostró que la combinación alélica más frecuente de vacA fue s1m1 y se encontró comúnmente asociada a cepas cagA negativas (cagA<sup>-</sup>/vacAs1m1), mostrando una frecuencia del 42,2%, seguida del genotipo (cagA<sup>+</sup>/vacAs1m1) presente en el 37,1% de la población de estudio. Las cepas (cagA<sup>-</sup>/vacAs1m1) son cepas tipo II, consideradas como menos virulentas, por cuanto no producen la proteína CagA (altamente inmunogénica) y la actividad citotóxica de vacA puede ser baja o no producirse (Censini et al., 1996). Por su parte, la cepa

cagA<sup>+</sup>/vacAs1m1 son cepas tipo I, consideradas como “más virulentas” y asociadas con un mayor riesgo de enfermedades gástricas severas.

La prevalencia del genotipo cagA<sup>-</sup>/vacAs1m1 en el presente estudio son controversiales a los reportados en otros estudios colombianos, los cuales reportan mayor prevalencia para cagA<sup>+</sup>/vacAs1m1, Moncayo, *et al.*, (Moncayo & Santacruz, 2000), encontraron este genotipo en el 90,5%; Citty, *et al.*, (Citty et al., 2002), 89%; Quiroga, *et al.*, (Quiroga et al., 2005), 64%, Galvis, *et al.*, (Galvis et al., 2012), (16%). En países como Cuba, también se ha encontrado que cagA<sup>+</sup>/vacAs1m1 es la cepa más prevalente, Torres, *et al.*, (Torres et al., 2009), reportaron (54%). Los datos del presente estudio podrían explicarse desde lo publicado por Miehke, *et al.*, (Miehke et al., 1996) y Loh, *et al.*, (Loh et al., 2011) donde se propone que hay variaciones alélicas de las cepas de *H. pylori* según la región geográfica. Se sugiere realizar un estudio en el departamento del Cauca que permita dilucidar si otras regiones del gen cagA están implicadas en la severidad del desarrollo de patologías gástricas.

## 6.7 Frecuencias de las mutaciones resistencia *rdxA* y 23 *RNAr*

En la actualidad, guías de manejo de amplia difusión a nivel mundial como lo es el Consenso de Maastricht IV recomiendan la erradicación de *H. pylori* en pacientes con síntomas dispépticos; el tratamiento de erradicación más utilizados hoy en día como esquema de primera línea es la triple terapia estándar, constituida por un inhibidor de la bomba de protones, amoxicilina, claritromicina o metronidazol (Trespalacios et al., 2010). Estudios reportan que la claritromicina es el componente clave de la triple terapia para la erradicación de *H. pylori*; sin embargo, la resistencia a este antibiótico se ha convertido en una de las principales razones del fracaso del tratamiento (Figueroa, Cortés, Pazos, & Bravo, 2012). La baja resistencia genotípica de *H. pylori* a la claritromicina en la población en estudio fue baja, con una frecuencia de (8,3%).

Los resultados de este trabajo muestran que la resistencia obtenida para claritromicina está por debajo a la reportada en otros estudios Colombianos, En Bogotá, la prevalencia reportada por Henao, et al., (Henao Riveros, Quiroga, Martínez Marín, & Otero Regino, 2009) fue de (15%) y la obtenida por Trespalacios, et al., (Trespalacios et al., 2010) de (17,7%), al sur de la Costa Pacífica Colombiana, en el municipio de Tumaco Figueroa, et al.,(Figueroa et al., 2012) reportaron la prevalencia del (19,8%), sin embargo Álvarez, et al., (Álvarez, Moncayo, Santacruz, Corredor, et al., 2009), en la región del eje cafetero reportan frecuencias de (2,2%). El departamento del Cauca, según la Agencia Europea de Medicamentos se clasifica como una región de baja prevalencia teniendo en cuenta que la resistencia local del antibiótico oscila entre 0-10%, indicando que el tratamiento triple estándar puede utilizarse de forma positiva en la erradicación de la infección por *H. pylori*. El nivel de resistencia a claritromicina varía entre las diferentes regiones geográficas de un mismo país, es por esto la importancia de realizar estudios locales para caracterizar la población teniendo en cuenta que los resultados obtenidos en una región no pueden extrapolarse a otras.

La prevalencia de resistencia a claritromicina varía entre los diferentes países. España tiene uno de los niveles más altos de resistencia a la claritromicina reportados en Europa, Agudo, et al.,(Agudo et al., 2010) reporta una prevalencia del (30%). Es de



resaltar que al norte de Italia la prevalencia es del (1,8%) y en el centro del mismo país sea del (23,4%) (Castro-Fernández & Vargas-Romero, 2009) (Kato et al., 2002).

La resistencia de *H. pylori* a claritromicina, el macrólido más utilizado en el tratamiento de *H. pylori*, se explica en la mayoría de los casos por mutaciones puntuales (A2115G, G2141A, A2142G, A2142C, A2142T, A2143G, A2143C, A2143T y T2717C) en la horquilla del dominio V de la peptidil-transferasa de la subunidad 23S *rRNA*, ubicado entre la subunidad ribosomal 50S y 70S (F. Megraud, 1997) (Fontana et al., 2003) (Hultén, Gibreel, Sköld, & Engstrand, 1997) (van Doorn et al., 2000). Estas mutaciones se han correlacionado muy bien con los estudios fenotípicos de resistencia, en los cuales las concentraciones inhibitorias mínimas por dilución en agar iguales o superiores a 1 µg/ml han revelado la presencia de dichas mutaciones (Acosta et al., 2013).

En este estudio, la mutación A2143G fue la más frecuente (66,7%), seguida de A2142G (26,7%). La frecuencia de *H. pylori* con mutaciones resistentes a la claritromicina varía entre áreas geográficas: en Estados Unidos, entre 48 y 53% porta la mutación A2142G; en Europa se ha reportado entre 23 y 33% para A2142G y 44 y 67 % para A2143G. Algunos estudios en Japón demuestran que más de 90 % de las mutaciones tiene el genotipo A2143G y en China indican que 100 % de ellas es A2143G (K. S. Kim, Kang, Eun, Han, & Choi, 2002) (J. J. Kim et al., 2001). En Colombia son pocos los estudios que se han realizado sobre prevalencia de resistencia de *H. pylori* a claritromicina y tan solo un estudio ha relacionado las mutaciones A2143G y A2142G como responsables de resistencia. Este estudio realizado por Álvarez *et al.*, (Álvarez et al., 2009), en la región central occidental de Colombia (Pereira, Armenia y Manizales), se detectó que A2143G fue la mutación puntual con mayor frecuencia. Con este estudio se puede evidenciar que en el departamento del Cauca la frecuencia de mutaciones en el gen 23S *rRNA* es baja, permitiendo recomendar el uso de este antibiótico en las terapias de primera línea.

En la actualidad las pruebas genotípicas pueden utilizarse de manera rutinaria para la evaluación de resistencia de *H. pylori* en ADN obtenido directamente de biopsias gástricas y sus resultados son comparables con las pruebas de dilución en agar y de

epsilometría (E-test®) (F. Megraud, 1997). El método de secuenciación directa utilizado en este estudio se considera de gran utilidad para determinar mutaciones y, por lo tanto, puede utilizarse para evaluar la situación de resistencia en una región, en especial cuando los métodos fenotípicos no están disponibles como sucede en el departamento del Cauca.

El principal mecanismo de resistencia de *H. pylori* al Mtz se relaciona con la pérdida de la actividad enzimática necesaria para que el Mtz intracelularmente pueda servir como agente antimicrobiano (Martínez et al., 2014). La resistencia de *H. pylori* a metronidazol ha sido explicada por inhibición de la actividad de las nitroreductasas, especialmente por mutaciones en el gen *rdxA*, que en la gran mayoría de los casos se relaciona con la estabilidad de la proteína, La dimerización y actividad enzimática dependen de la unión al cofactor FMN (flavin mono nucleótido) (Martínez-Júlvez et al., 2012).

Para este estudio la frecuencia de resistencia a Mtz de la población fue 75,8%; para obtener esta frecuencia se tuvo en cuenta las muestras que presentaron mutaciones relacionadas con resistencia a Mtz reportadas por la literatura, tales como: R90K, H97T, S108A, A118T, R131K, E133K (Mendz & Mégraud, 2002) (Aldana et al., 2005) (Mirzaei et al., 2014) (Bereswill et al., 2003). La alta frecuencia de resistencia encontrada para Mtz en el departamento del Cauca coincide con estudios reportados en Colombia: Bogotá, Henao R., et al., (Henao et al., 2009); Alvarez A., (Álvarez, Moncayo, Santacruz, Corredor, et al., 2009); Trespalacios A., et al., (Trespalacios et al., 2010) 72%; 86% y 81% respectivamente.

Los resultados de mutaciones puntuales relacionadas con el gen 23S *rRNA* están acorde con los resultados encontrados en estudios científicos de diferentes países: Japón, Aldana, et al.,(Aldana et al., 2005); Singapur, Han, et al., (Han et al., 2007); Francia, Jenks et al., (Jenks, Ferrero, & Labigne, 1999); Korea, Kim, et al.,(S. Y. Kim et al., 2009) Estados Unidos, Kwon, et al., (Kwon, Osato, Graham, & El-Zaatari, 2000); Europa, Marais, et al., (Marais, Bilardi, Cantet, Mendz, & Mégraud, 2003); Suiza, Tankovic, et al., (Tankovic et al., 2000), Francia, Solca, et al., (Solcà, Bernasconi, & Piffaretti, 2000). Las mutaciones R90K, R131K, H97T fueron las más representativas, al

igual que D59N y A118T. Mendz, *et al.*, (Mendz & Mégraud, 2002) reportaron una compilación de mutaciones en RdxA incluyendo aquellas que representan pérdida de la función de la proteína, datos que coinciden con los encontrados en nuestro estudio, especialmente en las posiciones 56, 59, 90, 97, y 118, las cuales se han documentado cambios en los diferentes aislamientos. En este estudio se encontraron mutaciones con altas frecuencias que no han sido reportadas por la literatura. Sería importante en futuros estudios realizar pruebas fenotípicas con la finalidad de determinar su papel en la resistencia a este antibiótico.

Las mutaciones que afectan las posiciones A68V, A118T, R90K, R131K, R16H, S88P, H97T y las que introducen un codón de parada como N73\* y Q50\*, han sido correlacionadas con los estudios fenotípicos de resistencia a Mtz, particularmente con valores altos de MIC (concentraciones mínimas inhibitorias) y con MIC por dilución en agar iguales o superiores a 12 µg/ml (Kwon, Kato, El-Zaatari, Osato, & Graham, 2000). Por otro lado, mutaciones como H53R, M56I, L62V, A68V, H97T y G98S encontradas en este estudio son acordes con lo reportado en la literatura en aislamientos resistentes a metronidazol (Bereswill *et al.*, 2003), sin embargo, aislamientos sensibles también han presentado estas mutaciones, lo que podría confirmar el uso limitado de las mutaciones en RdxA como único marcador de resistencia a metronidazol en *H. pylori* (Bereswill *et al.*, 2003). Por lo tanto, se necesitan de estudios adicionales de transformación con cepas resistentes y susceptibles que contribuyan al entendimiento de la resistencia de metronidazol con el gen RdxA.

En un estudio reciente en Kuala Lumpur Solcá, *et al.*, obtuvieron por métodos fenotípicos que la resistencia primaria a metronidazol en aislados clínicos fue de 32,3%. Como un hallazgo interesante, al evaluar variaciones en el gen *rdxA* y su correspondiente alteración de RdxA se encontraron cambios en aminoácidos en el 70,2% de cepas resistentes y en el 56.8%, mutaciones asociadas con codones de parada (Teh *et al.*, 2014). Lo anterior soporta la importancia de evaluar la resistencia a Mtz por medio de pruebas moleculares (Álvarez, Moncayo, Santacruz, Santacoloma, *et al.*, 2009), además, Se ha reportado que sustituciones e inserciones que causan un

codón de terminación prematuro en la proteína RdxA están asociadas con el fenotipo de resistencia (Solcà et al., 2000). Mutaciones de codones de parada encontradas en nuestro estudio, podrían estar asociadas con fenotipo de resistencia.

El primer hallazgo importante del presente estudio fue describir la frecuencia de las mutaciones en el gen RdxA y 23 RNAr en pacientes infectados por *H. pylori* en el departamento del Cauca. Si bien existen dos tipos de técnicas fundamentales para evaluar la susceptibilidad de *H. pylori* a los antibióticos, tales como las técnicas fenotípicas o de cultivo y las genotípicas o moleculares. Las primeras son consideradas las “estándar de oro”, pero tienen como desventajas que consumen mucho tiempo, fracasan en un 10 % de los casos por contaminaciones o porque las bacterias no crecen y requieren condiciones especiales dadas por la microaerofilia del microorganismo. De ahí, que las técnicas moleculares se han convertido en una opción para evaluar la resistencia, ya que son rápidas, no requieren la viabilidad de las bacterias y sus resultados son reproducibles. Sin embargo, estas últimas en ocasiones requieren la secuenciación de genes o fragmentos de ellos, lo que imposibilita su uso en la práctica clínica, pero siguen siendo una poderosa herramienta en las investigaciones sobre la resistencia de este microorganismo (Malfertheiner et al., 2012). Este estudio revela la importancia realizar futuros estudios que permitan evaluar la resistencia de *H. pylori* a estos antibióticos utilizando las técnicas mencionadas anteriormente con el fin de generar un mejor diagnóstico y tratamiento a bajos costos.

## 6.8 Interacciones entre la virulencia bacteriana con las mutaciones de resistencia antimicrobiana.

Además de la resistencia antimicrobiana, los factores de virulencia pueden afectar la erradicación de *H. pylori* de la mucosa gástrica. Los resultados de este estudio mostraron que no existe relación entre los genotipos de *H. pylori* y la resistencia a claritromicina y metronidazol. Existen pocos artículos que relacionen las mutaciones de los genes 23s *RNAr* y *rdxA* con los genes *cagA* y *vacA* por métodos genotípicos como lo es el caso de este estudio, sin embargo investigadores han evaluado fenotípicamente esta relación. Para evaluar esta relación en Colombia, Trespalacios, *et al.*, (Trespalacios et al., 2010), realizaron pruebas por método de dilución en agar o el E-test, donde se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM). En este estudio se reportó que no encontró relación entre la resistencia a Cla y Mtz con los genotipos *cagA* y *vacA*, sin embargo en un estudio realizado en Irlanda donde se evaluó la relación entre la resistencia a Mtz y *cagA*, se encontró que la tasa de resistencia a este antibiótico es más alta en cepas *cagA*<sup>-</sup> (Taneike et al., 2009).

Se ha sugerido que las cepas *cagA*<sup>+</sup> promueven un ambiente fisiológico con la secreción de IL- 8 y la inflamación de la mucosa gástrica, lo que permite un incremento en el flujo sanguíneo favoreciendo el aumento en la difusión del antibiótico, logrando alcanzar una concentración suficiente para eliminar la bacteria (van Doorn et al., 2000). En tanto que las cepas *cagA*<sup>-</sup>, que inducen menos inflamación, son expuestas a concentraciones subóptimas de Mtz lo que favorece la selección de cepas resistentes (van Doorn et al., 2000). Lo anterior coincide con los datos de este estudio donde 4/6 mutaciones puntuales reportadas por la literatura que inducen resistencia a Mtz, presentan mayor frecuencia en el genotipo *cagA*<sup>-</sup>/*vacA* s1m1. A *vacA* s1m1 no se le ha encontrado ninguna relación de resistencia a Mtz (Taneike et al., 2009). La relación entre *cagA*<sup>+</sup> y el éxito del tratamiento con antibióticos se había informado anteriormente (Treiber et al., 2002). Se indicó que en los pacientes infectados con *cagA*<sup>+</sup> parecía ser erradicados con mayor facilidad que en aquellos tratados con *cagA*<sup>-</sup>. Una de las posibles razones de esto es que *cagA*<sup>+</sup> puede crecer más rápido, y por lo tanto es más susceptible a los antibióticos tales como Mtz, y desaparece rápidamente (Perez-Perez et al., 2002).

Se requieren estudios y pruebas adicionales para confirmar y ampliar los resultados de este estudio, la información derivada del mismo es de gran utilidad para los médicos involucrados en el tratamiento de *H. pylori*, permitiría utilizar un esquema antibiótico como terapia empírica. Esta información genera datos de gran impacto para la población Caucana y por lo tanto se hace necesario evaluar la resistencia a estos antibióticos por métodos fenotípicos.

### **6.9 Limitaciones del estudio**

- Una de las limitaciones de este estudio fue la correlación de los hallazgos con los resultados de evaluación de la sensibilidad/resistencia a partir de pruebas fenotípicas como el método de dilución en agar o el E-test; dado que cuando se formulo este proyecto la universidad del Cauca no contaba con un laboratorio con condiciones especiales que se requieren para cultivar esta bacteria.

## CONCLUSIONES

- En el presente trabajo no se encontró relación entre los genes de resistencia de *H. pylori* y su con los genes de virulencia en pacientes con dispepsia en esta una población del cauca.
- La distribución de genotipos completos para la población de estudio mostró que la combinación alélica más frecuente de *vacA* fue *s1m1* y se encontró comúnmente asociada a cepas *cagA* negativas (*cagA*<sup>-</sup>/*vacAs1m1*), mostrando una frecuencia del 42,2%.
- En la población sujeto de estudio la frecuencia observada de resistencia de *H. pylori* a metronidazol fue alta (75,8%), mientras la resistencia a claritromicina fue baja (8,3%); por lo tanto, se considera que el tratamiento con claritromicina es una opción válida para la erradicación en la población.
- En este trabajo Las mutaciones puntuales más frecuentes para los genes *RdxA* y *23 RNA* fue en las posiciones: D59N, R131K, R90K, A118T, I160F, H97T, codones de parada C159\*, I160\*, Q50\*, E75\* y la mutación A2143G respectivamente.
- Este estudio es una aproximación de la resistencia antimicrobiana de *H. pylori*, mediante la identificación de las mutaciones más frecuentes encontradas en la población del Cauca, sin embargo es necesario comparar los resultados con pruebas fenotípicas de susceptibilidad antimicrobiana que permitan una relación al estado de resistencia frente a los antibióticos utilizados en la terapia estándar.
- Las técnicas moleculares se han convertido en una opción para evaluar la resistencia, ya que son rápidas, no requieren la viabilidad de las bacterias y sus resultados son reproducibles. Sin embargo, estas últimas en ocasiones requieren la secuenciación de genes o fragmentos de ellos, lo que dificulta su uso en la práctica clínica, pero siguen siendo una poderosa herramienta en las investigaciones sobre la resistencia de este microorganismo.
- Debido a su eficiencia, se recomienda el uso de la secuenciación directa y análisis bioinformático, mediante la herramienta BLAST, para determinar la presencia de mutaciones asociadas a la resistencia a claritromicina y metronidazol.

## RECOMENDACIONES

- Uno de los retos futuros sería el desarrollo de esquemas terapéuticos eficaces para la erradicación del *H. pylori* como también es necesario valorar los porcentajes de erradicación, las tasas de reinfección o la recurrencia de la infección por *H. pylori*, los porcentajes de resistencia a los diferentes antibióticos, y el análisis de cepas patógenas y los polimorfismos genéticos inherentes a las poblaciones de estudio.



## BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, C. P., Hurtado, F. A., & Trespacios, A. A. (2013). Determinación de mutaciones de un solo nucleótido en el gen 23S rRNA de *Helicobacter pylori* relacionadas con resistencia a claritromicina en una población del departamento del Cauca, Colombia. *Biomédica*, *34*, 156–62.
- Agudo, S., Pérez-Pérez, G., Alarcón, T., & López-Brea, M. (2010). High prevalence of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains and risk factors associated with resistance in Madrid, Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, *48*(10), 3703–3707.
- Alarcón, T., Baquero, M., Domingo, D., Lopez, M., & Royo, G. (2004). Procedimientos en microbiología clínica. *Diagnostico Microbiológico de La Infección Por Helicobacter Pylori*. Retrieved from <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap28.asp>
- Alarcon, T., Martinez, M. J., Urruzuno, P., Cilleruelo, M. L., Madruga, D., Sebastian, M., Lopez-Brea, M. (2000). Prevalence of CagA and VacA antibodies in children with *Helicobacter pylori*-associated peptic ulcer compared to prevalence in pediatric patients with active or nonactive chronic gastritis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, *7*(5), 842–844.
- Alberto, R. R. (2016). *Helicobacter pylori* 25 años después (1983-2008): epidemiología, microbiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, *29*(2). Retrieved from <http://www.perurevista.com/index.php/gastro/article/view/2228>
- Aldana, L. P., Kato, M., Kondo, T., Nakagawa, S., Zheng, R., Sugiyama, T., Kwon, D. H. (2005). In vitro induction of resistance to metronidazole, and analysis of mutations in rdxA and frxA genes from *Helicobacter pylori* isolates. *Journal of Infection and Chemotherapy*, *11*(2), 59–63.
- Alm, R. A., Bina, J., Andrews, B. M., Doig, P., Hancock, R. E., & others. (2000). Comparative genomics of *Helicobacter pylori*: analysis of the outer membrane protein families. *Infection and Immunity*, *68*(7), 4155–4168.
- Alm, R. A., Ling, L.-S. L., Moir, D. T., King, B. L., Brown, E. D., Doig, P. C., others. (1999). Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, *397*(6715), 176–180.

- Alpizar-Alpizar, W., Une, C., & Sierra, R. (2009). Inflammation and its Role in the Development of Gastric Carcinoma. *Acta Médica Costarricense*, 51(2), 76–81.
- Alpizar-Alpizar, W., Une, C., & Sierra, R. (2009). La inflamación y su papel en el desarrollo del cáncer gástrico. Retrieved from <http://163.178.170.21/handle/10669/11088>
- Alpizar-Alpizar, W., Une, C., & Sierra, R. (2009). La inflamación y su papel en el desarrollo del cáncer gástrico. *Acta Méd. Costarric*, 51(2), 76–81.
- Alvarez, A., Moncayo, J. I., Santacruz, J. J., Corredor, L. F., Reinos, E., Martínez, J. W., & Beltran, L. (2009). [Antimicrobial susceptibility of Helicobacter pylori strains isolated in Colombia]. *Revista Medica de Chile*, 137(10), 1309–1314.
- Álvarez, A., Moncayo, J. I., Santacruz, J. J., Corredor, L. F., Reinos, E., Martínez, J. W., & Beltrán, L. (2009). Resistencia a metronidazol y claritromicina en aislamientos de Helicobacter pylori de pacientes dispépticos en Colombia. *Revista Médica de Chile*, 137(10), 1309–1314.
- Álvarez, A., Moncayo, J. I., Santacruz, J. J., Santacoloma, M., Corredor, L. F., & Reinos, E. (2009). Antimicrobial susceptibility and mutations involved in clarithromycin resistance in Helicobacter pylori isolates from patients in the western central region of Colombia. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(9), 4022–4024.
- Amedei, A., Cappon, A., Codolo, G., Cabrelle, A., Polenghi, A., Benagiano, M., others. (2006). The neutrophil-activating protein of Helicobacter pylori promotes Th1 immune responses. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(4), 1092–1101.
- Amieva, M. R., & El-Omar, E. M. (2008). Host-bacterial interactions in Helicobacter pylori infection. *Gastroenterology*, 134(1), 306–323.
- Anderson, L. A., Murphy, S. J., Johnston, B. T., Watson, R. G. P., Ferguson, H. R., Bamford, K. B., others. (2008). Relationship between Helicobacter pylori infection and gastric atrophy and the stages of the oesophageal inflammation, metaplasia, adenocarcinoma sequence: results from the FINBAR case-control study. *Gut*, 57(6), 734–739.
- Antonio-Rincón, F., López-Vidal, Y., Castillo-Rojas, G., Lazcano-Ponce, E. C., Ponce-de-León, S., Tabche-Barrera, M. L., & Aguilar-Gutiérrez, G. R. (2011). Pathogenicity

- island cag, vacA and IS 605 genotypes in Mexican strains of *Helicobacter pylori* associated with peptic ulcers. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 10(1), 1.
- Appelmelk, B. J., Simoons-Smit, I., Negrini, R., Moran, A. P., Aspinall, G. O., Forte, J. G., others. (1996). Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. *Infection and Immunity*, 64(6), 2031–2040.
- Araya, J. C., Anabalón, L., Roa, I., Bravo, M., Villaseca, M. Á., Guzmán, P., & Roa, J. C. (2004). Relación de la genotipificación de *Helicobacter pylori* con la forma e intensidad de la gastritis en población adulta portadora de patología gástrica benigna. *Revista Médica de Chile*, 132(11), 1345–1354.
- Ashour, A. A., Magalhães, P. P., Mendes, E. N., Collares, G. B., de Gusmão, V. R., Queiroz, D. M., de Oliveira, C. A. (2002). Distribution of vacA genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 33(3), 173–178.
- Atherton, J. C., Cao, P., Peek, R. M., Tummuru, M. K., Blaser, M. J., & Cover, T. L. (1995). Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori* association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *Journal of Biological Chemistry*, 270(30), 17771–17777.
- Aydin, F., Kaklikkaya, N., Ozgur, O., Cubukcu, K., Kilic, A. O., Tosun, I., & Erturk, M. (2004). Distribution of vacA alleles and cagA status of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(12), 1102–1104.
- Azevedo, N. F., Huntington, J., & Goodman, K. J. (2009). The epidemiology of *Helicobacter pylori* and public health implications. *Helicobacter*, 14(s1), 1–7.
- Azuma, T. (2009). Role of CagA in *Helicobacter pylori* Infection and Pathology. In *The Biology of Gastric Cancers* (pp. 389–401). Springer. Retrieved from [http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-69182-4\\_15/fulltext.html](http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-69182-4_15/fulltext.html)

- Basso, D., Navaglia, F., Brigato, L., Piva, M. G., Toma, A., Greco, E., others. (1998). Analysis of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genotypes and serum antibody profile in benign and malignant gastroduodenal diseases. *Gut*, *43*(2), 182–186.
- Bastos, J., Peleteiro, B., Pinto, H., Marinho, A., Guimarães, J. T., Ramos, E., Lunet, N. (2013). Prevalence, incidence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in a cohort of Portuguese adolescents (EpiTeen). *Digestive and Liver Disease*, *45*(4), 290–295.
- Bereswill, S., Krainick, C., Stähler, F., Herrmann, L., & Kist, M. (2003). Analysis of the rdxA gene in high-level metronidazole-resistant clinical isolates confirms a limited use of rdxA mutations as a marker for prediction of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, *36*(3), 193–198.
- Bessède, E., Dubus, P., Mégraud, F., & Varon, C. (2014). *Helicobacter pylori* infection and stem cells at the origin of gastric cancer. *Oncogene*. Retrieved from <http://www.nature.com/onc/journal/vaop/ncurrent/full/onc2014187a.html>
- Bijlsma, J. J., Waidner, B., van Vliet, A. H., Hughes, N. J., Håg, S., Bereswill, S., Kusters, J. G. (2002). The *Helicobacter pylori* homologue of the ferric uptake regulator is involved in acid resistance. *Infection and Immunity*, *70*(2), 606–611.
- Bornschein, J., Rokkas, T., Selgrad, M., & Malfertheiner, P. (2011). Gastric cancer: clinical aspects, epidemiology and molecular background. *Helicobacter*, *16*(s1), 45–52.
- Bravo, L. E., Cortés, A., Carrascal, E., Jaramillo, R., García, L. S., Bravo, P. E., Bravo, P. A. (2003). *Helicobacter pylori*: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. Retrieved from <https://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/3452>
- Bravo, L. E., van Doorn, L.-J., Realpe, J. L., & Correa, P. (2002). Virulence-associated genotypes of *Helicobacter pylori*: do they explain the african enigma? *The American Journal of Gastroenterology*, *97*(11), 2839–2842.
- Bruce, M. G., & Maarros, H. I. (2008). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, *13*(s1), 1–6.
- Camargo, M. C., García, A., Riquelme, A., Otero, W., Camargo, C. A., Hernandez-García, T., Rabkin, C. S. (2014). The problem of *Helicobacter pylori* resistance to

- antibiotics: a systematic review in Latin America. *The American Journal of Gastroenterology*, 109(4), 485–495.
- Campos, V. M., Meléndez, F. M., Cascante, G. L., Soto, A. H., Rojas, K. B., Gutiérrez, J. O., Santamaría, F. G. (2011). Hallazgo de la bacteria *Helicobacter pylori* en agua de consumo humano y su relación con la incidencia de cáncer gástrico en Costa Rica. *Tecnología En Marcha*, 24(3), 3–14.
- Cárdenas, Y., Castro, V., Nevett, A., Patiño, P., & Urdaneta, G. (2007). Apoptosis and *Helicobacter pylori*: a new model for infectious oncogenesis. Retrieved from <https://tspace.library.utoronto.ca/handle/1807/63614>
- Castro, J. J., Camacho, D. S., Sáenz, L. L., & Montero, F. R. (n.d.). Displasia gástrica, experiencia en el hospital San Juan de Dios 2004-2008. *Revista Clínica Escuela de Medicina UCR-HSJD*, 2(10). Retrieved from <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/clinica/article/view/7972>
- Castro-Fernández, M., & Vargas-Romero, J. (2009). Infección por *Helicobacter pylori*: Prevalencia, investigación y repercusión de la resistencia antibiótica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 101(11), 743–775.
- Cava, F., & Cobas, G. (n.d.). Dos décadas de *Helicobacter pylori*. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/vac/v12n1/vac01103.pdf>
- Censini, S., Lange, C., Xiang, Z., Crabtree, J. E., Ghiara, P., Borodovsky, M., Covacci, A. (1996). *cagA*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(25), 14648–14653.
- Chacaltana, A., Rodríguez, C., Urday, C., Ramon, W., Espinoza, J., Velarde, H., Rauch, E. (2009). Lesiones gástricas preneoplásicas y *Helicobacter pylori* en despistaje endoscópico para cáncer gástrico en población de nivel socioeconómico medio y alto. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, 29(3), 218–225.
- Cittelly, D. M., Huertas, M. G., Martínez, J. D., Oliveros, R., Posso, H., Bravo, M. M., & Orozco, O. (2002). Los genotipos de *Helicobacter pylori* en gastritis no atrófica difieren de los encontrados en úlcera péptica, lesiones premalignas y cáncer gástrico en Colombia. *Revista Médica de Chile*, 130(2), 143–151.

- Cogo, L. L., Monteiro, C. L. B., Nogueira, K. da S., Palmeiro, J. K., Ribeiro, M. L., Camargo, E. R. de Costa, L. M. D. (2011). Characterization of virulence genes *cagA* and *vacA* in *Helicobacter Pylori* and their prevalence in gastrointestinal disorders. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4), 1289–1295.
- Con, S. A., Takeuchi, H., Valerín, A. L., Con-Wong, R., Con-Chin, G. R., Con-Chin, V. G., others. (2007). Diversity of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* genes in Costa Rica: its relationship with atrophic gastritis and gastric cancer. *Helicobacter*, 12(5), 547–552.
- Correa, G., Cardona, A., Felipe, A., Correa, L., Alfonso, L., García, G., others. (2016). Prevalencia de *Helicobacter pylori* y características histopatológicas en biopsias gástricas de pacientes con síntomas dispépticos en un centro de referencia de Medellín. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(1). Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=01209957&AN=116287366&h=JMjRk2rnGptWguRnxcoC72SXjR0fk99P9zhjQSKChijP%2F7lkBBzkyfvnGII485jKvye9%2BjWEu1Kr6T30SYfgw%3D%3D&crl=c>
- Correa, P. (1994). *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *The American Journal of Surgical Pathology*, 19, S37–43.
- Correa, P. (2011). Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa. *Rev. Colomb. Cir*, 26(2), 111–7.
- Correa, P., Haenszel, W., Cuello, C., Zavala, D., Fontham, E., Zarama, G., Ruiz, B. (1990). Gastric precancerous process in a high risk population: cross-sectional studies. *Cancer Research*, 50(15), 4731–4736.
- Correa, P., & Piazzuelo, M. B. (2008). Natural history of *Helicobacter pylori* infection. *Digestive and Liver Disease*, 40(7), 490–496.
- Correa, P., Piazzuelo, M. B., & Wilson, K. T. (2010). Pathology of gastric intestinal metaplasia: clinical implications. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(3), 493–498.
- Correa, S., Cardona, A. F., Correa, T., Correa, L. A., García, H. I., & Estrada, S. (2016). Prevalence of *Helicobacter pylori* and Histopathological Features in Gastric

- Biopsies from Patients with Dyspeptic Symptoms at a Referral Center in Medellin. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 31(1), 9–15.
- Corso, G., Seruca, R., & Roviello, F. (2012). Gastric cancer carcinogenesis and tumor progression. *Ann Ital Chir*, 83(3), 172–176.
- Cover, T. L. (1996). The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Molecular Microbiology*, 20(2), 241–246.
- Cover, T. L., & Blanke, S. R. (2005). *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 320–332.
- Coy, J. M. Á., Arévalo, M. R., Reyes, M. M. M., Beltrán, O. R. V., Regno, W. O., & Trespalacios, A. A. (2009). Comparación de las pruebas de dilución en Agar y PCR para determinación de susceptibilidad antimicrobiana de *Helicobacter pylori*. Revisión sistemática de la literatura. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 24(2), 116–127.
- Crabtree, J. E., Covacci, A., Farmery, S. M., Xiang, Z., Tompkins, D. S., Perry, S., Rappuoli, R. (1995). *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with CagA positive phenotype. *Journal of Clinical Pathology*, 48(1), 41–45.
- Dacoll, C., Balter, H., Varela, L., Buenavida, G., González, N., Silveira, A., & Cohen, H. (2014). Evolución de la respuesta al tratamiento de primera línea de la infección por *Helicobacter pylori* en Uruguay. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 44(2), 88–93.
- De Bernard, M., Arico, B., Papini, E., Rizzuto, R., Grandi, G., Rappuoli, R., & Montecucco, C. (1997). *Helicobacter pylori* toxin VacA induces vacuole formation by acting in the cell cytosol. *Molecular Microbiology*, 26(4), 665–674.
- De Francesco, V., Giorgio, F., Hassan, C., Manes, G., Vannella, L., Panella, C., Zullo, A. (2010). Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: A systematic. *J Gastrointestin Liver Dis*, 19(4), 409–414.
- De Francesco, V., Margiotta, M., Zullo, A., Hassan, C., Troiani, L., Burattini, O., others. (2006). Clarithromycin-resistant genotypes and eradication of *Helicobacter pylori*. *Annals of Internal Medicine*, 144(2), 94–100.

- De Gastroenterología, S. V., Alvarez, R. P., & Guerrero, M. R. (n.d.). 1er. CONSENSO VENEZOLANO SOBRE HELICOBACTER pylori EN NIÑOS. Retrieved from [http://sovegastro.org/pdf/15-09-2014\\_CONSENSO\\_VENEZOLANO\\_SOBRE\\_HELICOBACTER\\_PYLORI\\_EN\\_NI\\_NOS.pdf](http://sovegastro.org/pdf/15-09-2014_CONSENSO_VENEZOLANO_SOBRE_HELICOBACTER_PYLORI_EN_NI_NOS.pdf)
- De Helsinki, D. (2004). Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. *Adoptada Por La, 18*, 20–3.
- De Vries, A. C., Haringsma, J., de Vries, R. A., ter Borg, F., Nagtzaam, N. M., Steyerberg, E. W., Kuipers, E. J. (2009). The use of clinical, histologic, and serologic parameters to predict the intragastric extent of intestinal metaplasia: a recommendation for routine practice. *Gastrointestinal Endoscopy, 70*(1), 18–25.
- Delgado, A. P. M., Henao, C. A. J., Perafán, M. del P. D., Lozano, M. E. B., & Torres, A. Á. (2008). Detección y genotipificación de Helicobacter pylori sobre la base de los genes ADNr 16S y el gen asociado a citotoxina (cagA) y posible asociación con enfermedades gastrointestinales. *Rev Cubana Med Trop, 60*(2), 105–10.
- Díez, J. B., Lareo, M. G., Fernández, J. M., Marín, I. L., Llama, D. M., Gila, J. T., Ibáñez, M. H. (2002). Prevalencia de la infección por Helicobacter pylori en atención primaria: estudio seroepidemiológico. *Atención Primaria, 29*(9), 553–557.
- Dinda, V., & Kimang'a, A. (2016). Co-occurrence of Helicobacter pylori with faecal bacteria in Nairobi river basin: public health implications. *African Health Sciences, 16*(1), 177–182.
- Dixon, M. F., Genta, R. M., Yardley, J. H., Correa, P., & others. (1996). Classification and grading of gastritis: the updated Sydney system. *The American Journal of Surgical Pathology, 20*(10), 1161–1181.
- Espino, A. (2010). Infección por Helicobacter pylori. *Gastroenterol Latinoam [Internet], 21*(2), 323–7.
- Evans, D. J., & Evans, D. G. (2001). Helicobacter pylori CagA: analysis of sequence diversity in relation to phosphorylation motifs and implications for the role of CagA as a virulence factor. *Helicobacter, 6*(3), 187–198.
- Feliciano, O., Gutierrez, O., Valdés, L., Fragoso, T., Calderin, A. M., Valdes, A. E., & Llanes, R. (2015). Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, and iceA



- genotypes in Cuban patients with upper gastrointestinal diseases. *BioMed Research International*, 2015. Retrieved from <http://www.hindawi.com/journals/bmri/aa/753710/>
- Fernández, H. (2012). Género *Helicobacter*: un grupo bacteriano en expansión, con características zoonóticas. *La Gaceta de Infectología Y Microbiología Clínica Latinoamericana*, 11.
- Fialho, A., Braga, A. B., Braga Neto, M. B., Carneiro, J. G., Rocha, A., Rodrigues, M. N., Braga, L. L. (2010). Younger Siblings Play a Major Role in *Helicobacter pylori* Transmission Among Children From a Low-Income Community in the Northeast of Brazil. *Helicobacter*, 15(6), 491–496.
- Figueiredo, C., Van Doorn, L.-J., Nogueira, C., Soares, J. M., Pinho, C., Figueira, P., Carneiro, F. (2001). *Helicobacter pylori* genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients and show a high prevalence of infections with multiple strains. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 36(2), 128–135.
- Figueroa, M., Cortés, A., Pazos, A., & Bravo, L. E. (2012). Sensibilidad in vitro a amoxicilina y claritromicina de *Helicobacter pylori* obtenido de biopsias gástricas de pacientes en zona de bajo riesgo para cáncer gástrico. *Biomédica*, 32(1), 32–42.
- Fochesatto, N. A., Guayán, V. A., Moran, E. L. I., & Vizcaíno, A. A. (2004). *Helicobacter pylori* y enfermedad gastroduodenal. Bases para el diagnóstico y tratamiento. *Revista de Posgrado de La Vía Cátedra de Medicina*, (138), 11–17.
- Fontana, C., Favaro, M., Minelli, S., Criscuolo, A. A., Pietroiusti, A., Galante, A., & Favalli, C. (2002). New site of modification of 23S rRNA associated with clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(12), 3765–3769.
- Fontana, C., Favaro, M., Pietroiusti, A., Pistoia, E. S., Galante, A., & Favalli, C. (2003). Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in stool samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(8), 3636–3640.
- Fowler, M., Thomas, R. J., Atherton, J., Roberts, I. S., & High, N. J. (2006). Galectin-3 binds to *Helicobacter pylori* O-antigen: it is upregulated and rapidly secreted by

- gastric epithelial cells in response to H. pylori adhesion. *Cellular Microbiology*, 8(1), 44–54.
- Fuentes-Pananá, E., Camorlinga-Ponce, M., & Maldonado-Bernal, C. (2009). Infección, inflamación y cáncer gástrico. *Salud Pública de México*, 51(5), 427–433.
- Galvis, A. A., Trespacios-Rangel, A. A., Otero, W., Mercado-Reyes, M. M., & Poutou-Piñales, R. A. (2012). Prevalence of cagA, vacA, babA2 and iceA genes in H. pylori strains isolated from Colombian patients with functional dyspepsia. *Polish J Microbiol*, 61, 33–40.
- Gámez Escalona, M. M., Mulet Pérez, A. M., Miranda Moles, Z., & Mulet Gámez, A. M. (2008). Gastritis crónica antral por Helicobacter pylori en la infancia. *Revista Cubana de Pediatría*, 80(1), 0–0.
- García Capote, E., Crespo Ramírez, E., & Guanche Garcell, H. (2014). Infección por Helicobacter pylori en pacientes atendidos en consulta de gastroenterología. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar Del Río*, 18(3), 453–462.
- Garza-González, E., Perez-Perez, G. I., Maldonado-Garza, H. J., & Bosques-Padilla, F. J. (2014). A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World J Gastroenterol*, 20(6), 1438–1449.
- Gerrits, M. (2004). *Molecular mechanisms of antibiotic resistance in Helicobacter pylori*. Erasmus MC: University Medical Center Rotterdam. Retrieved from <http://repub.eur.nl/pub/7356/>
- Gerrits, M. M., Van der Wouden, E.-J., Bax, D. A., Van Zwet, A. A., Van Vliet, A. H., de Jong, A., Kuipers, E. J. (2004). Role of the rdxA and frxA genes in oxygen-dependent metronidazole resistance of Helicobacter pylori. *Journal of Medical Microbiology*, 53(11), 1123–1128.
- Gerrits, M. M., van Vliet, A. H., Kuipers, E. J., & Kusters, J. G. (2006). Helicobacter pylori and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *The Lancet Infectious Diseases*, 6(11), 699–709.
- Ghotaslou, R., Milani, M., Akhi, M. T., Nahaei, M. R., Hasani, A., Hejazi, M. S., & Meshkini, M. (2013). Diversity of Helicobacter Pylori cagA and vacA Genes and Its Relationship with Clinical Outcomes in Azerbaijan, Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1), 57.

- Gião, M. S., Azevedo, N. F., Wilks, S. A., Vieira, M. J., & Keevil, C. W. (2010). Effect of chlorine on incorporation of *Helicobacter pylori* into drinking water biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(5), 1669–1673.
- Gisbert, J. P., & Calvet, X. (2011). Review article: the effectiveness of standard triple therapy for *Helicobacter pylori* has not changed over the last decade, but it is not good enough. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 34(11–12), 1255–1268.
- Gisbert, J. P., & Santander, C. (2016). Protocolo diagnóstico y tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 12(2), 96–100.
- Goh, K.-L., Chan, W.-K., Shiota, S., & Yamaoka, Y. (2011). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter*, 16(s1), 1–9.
- Gómez, M., Otero, W., & Gutiérrez, Ó. (2007). Tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. Encuesta en un grupo de médicos generales y especialistas en Colombia. *Rev Col Gastroenterol*, 22(1), 7–16.
- Gómez, M., Ruíz, O., Hernández, D. P., Albis, R., & Sabbagh, L. C. (2015). Erradicación del *Helicobacter pylori*: encuesta realizada por la Asociación Colombiana de Gastroenterología. Retrieved from <http://www.gastrocol.org.co/file/Revista/v30n1a05.pdf>
- González, C. R., & Jiménez, V. R. C. (2010). *Helicobacter pylori*, un modelo de bacteria carcinogénica. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 15(4), 242–251.
- González López, L., & Rodríguez González, B. L. (2011). Patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Cubana de Medicina*, 50(4), 441–452.
- Goodwin, A., Kersulyte, D., Sisson, G., Veldhuyzen van Zanten, S. J., Berg, D. E., & Hoffman, P. S. (1998). Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* is due to null mutations in a gene (*rdxA*) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Molecular Microbiology*, 28(2), 383–393.
- Goodwin, C. S., & Armstrong, J. A. (1990). Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 9(1), 1–13.
- Goodwin, C. S., ARMSTRONG, J. A., CHILVERS, T., PETERS, M., COLLINS, M. D., SLY, L., HARPER, W. E. (1989). Transfer of *Campylobacter pylori* and

- Campylobacter mustelae to Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter mustelae comb. nov., respectively. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39(4), 397–405.
- Graham, D. Y., & Fischbach, L. (2010). Helicobacter pylori treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut*, gut–2009.
- Graham, D. Y., & Shiotani, A. (2008). New concepts of resistance in the treatment of Helicobacter pylori infections. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 5(6), 321–331.
- Han, F., Liu, S., Ho, B., Yan, Z., & Yan, X. (2007). Alterations in rdxA and frxA genes and their upstream regions in metronidazole-resistant Helicobacter pylori isolates. *Research in Microbiology*, 158(1), 38–44.
- Henao, R., Sandra, C., Otero, R., Ángel, A., Alberto, L., Martínez, M., others. (2009). Resistencia primaria a metronidazol en aislamientos de Helicobacter pylori en pacientes adultos de Bogotá, Colombia. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 24(1), 10–15.
- Henao Riveros, S. C., Quiroga, A., Martínez Marín, J. D., & Otero Regino, W. (2009). Resistencia primaria a la claritromicina en aislamientos de Helicobacter pylori. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 24(2), 110–114.
- Henegariu, O., Heerema, N. A., Dlouhy, S. R., Vance, G. H., & Vogt, P. H. (1997). Multiplex PCR: critical parameters and step-by-step protocol. *Biotechniques*, 23(3), 504–511.
- Hennig, E. E., Godlewski, M. M., Butruk, E., & Ostrowski, J. (2005). Helicobacter pylori VacA cytotoxin interacts with fibronectin and alters HeLa cell adhesion and cytoskeletal organization in vitro. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 44(2), 143–150.
- Hildebrand, P., Bardhan, P., Rossi, L., Parvin, S., Rahman, A., Arefin, M. S., others. (2001). Recrudescence and reinfection with Helicobacter pylori after eradication therapy in Bangladeshi adults. *Gastroenterology*, 121(4), 792–798.
- Horn, J. (2000). The proton-pump inhibitors: similarities and differences. *Clinical Therapeutics*, 22(3), 266–280.

- Houghton, J., & Wang, T. C. (2005). Helicobacter pylori and gastric cancer: a new paradigm for inflammation-associated epithelial cancers. *Gastroenterology*, 128(6), 1567–1578.
- Hultén, K., Gibreel, A., Sköld, O., & Engstrand, L. (1997). Macrolide resistance in Helicobacter pylori: mechanism and stability in strains from clarithromycin-treated patients. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(11), 2550–2553.
- Humans, I. W. G. on the E. of C. R. to, & others. (1994). Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 61, 1–241.
- Ihan, A., Pinchuk, I. V., & Beswick, E. J. (2012). Inflammation, immunity, and vaccines for Helicobacter pylori infection. *Helicobacter*, 17(s1), 16–21.
- Jenks, P. J., Ferrero, R. L., & Labigne, A. (1999). The role of the rdxA gene in the evolution of metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43(6), 753–758.
- Jeong, J.-Y., Mukhopadhyay, A. K., Dailidienė, D., Wang, Y., Velapatiño, B., Gilman, R. H., others. (2000). Sequential inactivation of rdxA (HP0954) and frxA (HP0642) nitroreductase genes causes moderate and high-level metronidazole resistance in Helicobacter pylori. *Journal of Bacteriology*, 182(18), 5082–5090.
- Jones, K. R., Joo, Y. M., Jang, S., Yoo, Y.-J., Lee, H. S., Chung, I.-S., Cha, J.-H. (2009). Polymorphism in the CagA EPIYA motif impacts development of gastric cancer. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(4), 959–968.
- Kato, S., Fujimura, S., Udagawa, H., Shimizu, T., Maisawa, S., Ozawa, K., & Iinuma, K. (2002). Antibiotic resistance of Helicobacter pylori strains in Japanese children. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(2), 649–653.
- Kim, J. J., Reddy, R., Lee, M., Kim, J. G., El-Zaatari, F. A., Osato, M. S., Kwon, D. H. (2001). Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of Helicobacter pylori isolates from Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(4), 459–461.
- Kim, K. S., Kang, J. O., Eun, C. S., Han, D. S., & Choi, T. Y. (2002). Mutations in the 23S rRNA gene of Helicobacter pylori associated with clarithromycin resistance. *Journal of Korean Medical Science*, 17(5), 599.

- Kim, S. S., Ruiz, V. E., Carroll, J. D., & Moss, S. F. (2011). *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastric cancer and gastric lymphoma. *Cancer Letters*, *305*(2), 228–238.
- Kim, S. Y., Joo, Y. M., Lee, H. S., Chung, I.-S., Yoo, Y.-J., Merrell, D. S., & Cha, J.-H. (2009). Genetic analysis of *Helicobacter pylori* clinical isolates suggests resistance to metronidazole can occur without the loss of functional rdxA. *The Journal of Antibiotics*, *62*(1), 43–50.
- Kusters, J. G., van Vliet, A. H., & Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, *19*(3), 449–490.
- Kwon, D. H., Kato, M., El-Zaatari, F. A., Osato, M. S., & Graham, D. Y. (2000). Frame-shift mutations in NAD (P) H flavin oxidoreductase encoding gene (frxA) from metronidazole resistant *Helicobacter pylori* ATCC43504 and its involvement in metronidazole resistance. *FEMS Microbiology Letters*, *188*(2), 197–202.
- Kwon, D. H., Osato, M. S., Graham, D. Y., & El-Zaatari, F. A. (2000). Quantitative RT-PCR analysis of multiple genes encoding putative metronidazole nitroreductases from *Helicobacter pylori*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *15*(1), 31–36.
- Lee, J. S., Choe, Y. H., Lee, J. H., Lee, H. J., Lee, J. H., & Choi, Y. O. (2010). *Helicobacter pylori* urease activity is influenced by ferric uptake regulator. *Yonsei Medical Journal*, *51*(1), 39–44.
- Lehours, P., & Yilmaz, O. (2007). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, *12*(s1), 1–3.
- Leunk, R. D. (1991). Production of a cytotoxin by *Helicobacter pylori*. *Review of Infectious Diseases*, *13*(Supplement 8), S686–S689.
- Llano, R. C., Vélez, M. H. R., Campuzano-Maya, G., Fonnegra, E. S., Díaz, J. D. P., Calvo-Betancur, V., Diazgranados, A. Á. (2013). Estudio aleatorizado comparando una primera línea de terapia estándar contra *Helicobacter pylori* con claritromicina versus levofloxacina por 10 días. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, *28*(2), 101–108.
- Llano, R. C., Vélez, M. H. R., Hincapié, C. M., Aristizábal, F. A. N., Maya, M. G. C., Fonnegra, E. S., Velásquez, L. M. R. (2012). Evaluación para comparar dos

- esquemas de terapia estándar (7 frente a 10 días) contra el *Helicobacter pylori*, con seguimiento clínico a 1 año. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 27(2), 80–87.
- Loh, J. T., Shaffer, C. L., Piazuolo, M. B., Bravo, L. E., McClain, M. S., Correa, P., & Cover, T. L. (2011). Analysis of *cagA* in *Helicobacter pylori* strains from Colombian populations with contrasting gastric cancer risk reveals a biomarker for disease severity. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 20(10), 2237–2249.
- López, A. M., Delgado, M. P., Jaramillo, C., Amézquita, A., Parra, G., & 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. *Rev. Argent. Microbiol*, 41(1), 4–10.
- López Vidal, Y., & Ponce de León, S. (2006). Reflexiones a propósito del Premio Nobel, el *Helicobacter pylori*, la úlcera péptica y los paradigmas científicos. *Revista de Investigación Clínica*, 58(1), 6–8.
- Makola, D., Peura, D. A., & Crowe, S. E. (2007). *Helicobacter pylori* infection and related gastrointestinal diseases. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 41(6), 548–558.
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C. A., Atherton, J., Axon, A. T., Bazzoli, F., others. (2012). Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut*, 61(5), 646–664.
- Malnick, S. D. H., Melzer, E., Attali, M., Duek, G., & Yahav, J. (2014). *Helicobacter pylori*: Friend or foe? *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(27), 8979.
- Marais, A., Bilardi, C., Cantet, F., Mendz, G. L., & Mégraud, F. (2003). Characterization of the genes *rdxA* and *frxA* involved in metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Research in Microbiology*, 154(2), 137–144.
- Marshall, B., & Warren, J. R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet*, 323(8390), 1311–1315.
- Martínez, J. D., Henao, S. C., & Granados, C. (2007). The corporal atrophic chronic gastritis and the age. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 22(1), 17–22.

- Martínez, J. D., Henao, S. C., & Lizarazo, J. I. (2014). Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en América Latina y el Caribe. *Rev. Colomb. Gastroenterol*, 29(3), 218–227.
- Martínez-Júlvez, M., Rojas, A. L., Olekhovich, I., Angarica, V. E., Hoffman, P. S., & Sancho, J. (2012). Structure of RdxA—an oxygen-insensitive nitroreductase essential for metronidazole activation in *Helicobacter pylori*. *FEBS Journal*, 279(23), 4306–4317.
- Mazari-Hiriart, M., López-Vidal, Y., Castillo-Rojas, G., de León, S. P., & Cravioto, A. (2001). *Helicobacter pylori* and other enteric bacteria in freshwater environments in Mexico City. *Archives of Medical Research*, 32(5), 458–467.
- McColl, K. E. (2010). *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine*, 362(17), 1597–1604.
- Megraud, F. (1997). Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 11(S1), 43–53.
- Megraud, F. (1999). Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics: the main limitation of current proton-pump inhibitor triple therapy. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 11, S39.
- Megraud, F. (2013). *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: prevalence, mechanism, detection. *Helicobacter Pylori: Basic Mechanisms to Clinical Cure 2002*, 363.
- Mégraud, F., & Corti, R. (2009). Resistencia bacteriana de *Helicobacter pylori* en el mundo en el año 2009. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 39(4), 282–290.
- Mendz, G. L., & Mégraud, F. (2002). Is the molecular basis of metronidazole resistance in microaerophilic organisms understood? *Trends in Microbiology*, 10(8), 370–375.
- Miehlke, S., Kibler, K., Kim, J. G., Figura, N., Small, S. M., Graham, D. Y., & Go, M. F. (1996). Allelic variation in the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* obtained from Korea compared to the United States. *American Journal of Gastroenterology*, 91(7). Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=00029270&AN=16265821&h=%2FE5pgH2YCh3cfxndp6Jzov>



Yu%2B4K8gmQmBHyLLRUbK1xkqaulZ54plZqh5bMkeLABShJ%2FI7Rdz%2FVh  
rBs1N%2FEQQ%3D%3D&crl=c

- Miftahussurur, M., & Yamaoka, Y. (2015). Appropriate First-Line Regimens to Combat *Helicobacter pylori* Antibiotic Resistance: An Asian Perspective. *Molecules*, *20*(4), 6068–6092.
- Mirzaei, N., Poursina, F., Moghim, S., Rahimi, E., & Safaei, H. G. (2014). The mutation of the *rdxA* gene in metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Advanced Biomedical Research*, *3*. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3988589/>
- Misdraji, J., & Lauwers, G. Y. (2002). Gastric epithelial dysplasia. In *Seminars in diagnostic pathology* (Vol. 19, pp. 20–30). Retrieved from <http://europemc.org/abstract/med/11936263>
- Mobley, H. L., Mendz, G. L., Hazell, S. L., Donahue, J. P., & Peek, R. M. (2001). Restriction and Modification Systems. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2426/>
- Moncayo, J. I., & Santacruz, J. J. (2000). Detección del Gen *cagA* y Tipificación del Gen *vacA* en Cepas de *Helicobacter pylori* Aisladas, de Pacientes con Enfermedad Úlcero-Péptica en Risaralda. *MedUNAB*, *3*(8), 69–75.
- Monreal Garcia, H. M., Eli Amanda, D. A., Medina Medrano, J. R., & Rene, T. R. (2013). ANTIBIÓTICOS Y LA RESISTENCIA BACTERIANA ACTUAL: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA. Retrieved from <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/20720>
- Montaño, J. I., Dossman, X., Herrera, J. A., Bromet, A., & Moreno, C. H. (2013). *Helicobacter pylori* y estrés psicosocial en pacientes con gastritis crónica. Retrieved from <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/5608>
- Morales-Guerrero, S. E., Mucito-Varela, E., Aguilar-Gutiérrez, G. R., Lopez-Vidal, Y., & Castillo-Rojas, G. (2012). The Role of CagA Protein Signaling in Gastric Carcinogenesis—CagA Signaling in Gastric Carcinogenesis. *Current Topics in Gastritis*, *204*.

- Morson, B. C., Sobin, L. H., Grundmann, E., Johansen, A., Nagayo, T., & Serck-Hanssen, A. (1980). Precancerous conditions and epithelial dysplasia in the stomach. *Journal of Clinical Pathology*, 33(8), 711–721.
- Moss, S. F., & Blaser, M. J. (2005). Mechanisms of disease: inflammation and the origins of cancer. *Nature Clinical Practice Oncology*, 2(2), 90–97.
- Motta, C. R. A. (2004). Prevalência de lesões precursoras do câncer gástrico e do *Helicobacter pylori* em familiares de pacientes com câncer gástrico. Retrieved from <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/990>
- Muotiala, A., Helander, I. M., Pyhälä, L., Kosunen, T. U., & Moran, A. P. (1992). Low biological activity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Infection and Immunity*, 60(4), 1714–1716.
- Nardone, G., Rocco, A., & Malfertheiner, P. (2004). *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesions. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 20(3), 261–270.
- Occhialini, A., Marais, A., Urdaci, M., Sierra, R., Muñoz, N., Covacci, A., & Mégraud, F. (2001). Composition and Gene Expression of the cag Pathogenicity Island in *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Gastric Carcinoma and Gastritis Patients in Costa Rica. *Infection and Immunity*, 69(3), 1902–1908.
- Odenbreit, S. (2005). Adherence properties of *Helicobacter pylori*: impact on pathogenesis and adaptation to the host. *International Journal of Medical Microbiology*, 295(5), 317–324.
- Ogiwara, H., Sugimoto, M., Ohno, T., Vilaichone, R.-K., Mahachai, V., Graham, D. Y., & Yamaoka, Y. (2009). Role of deletion located between the intermediate and middle regions of the *Helicobacter pylori* vacA gene in cases of gastroduodenal diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(11), 3493–3500.
- OLIVEIRA, J. G. de, FERREIRA, C. H. T., CAMERIN, A. C. S., ROTA, C. A., MEURER, L., & SILVEIRA, T. R. da. (2014). Prevalence of infection with cagA-positive *Helicobacter pylori* strains among children and adolescents in southern Brazil. *Arquivos de Gastroenterologia*, 51(3), 180–185.
- OMS Guías para la calidad del agua potable, tercera edición. (n.d.). Retrieved November 25, 2016, from [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3rev/es/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/es/)

- Otero Regino, W., Gómez, M. A., & Castro, D. (2009). Carcinogénesis gástrica. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 24(3), 314–329.
- Otero Regino, W., Trespalacios, A. A., & Otero, E. (2009). Helicobacter pylori: Tratamiento actual. Un importante reto en gastroenterología. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 24(3), 279–292.
- Ozbey, G., & Aygun, C. (2012). Prevalence of genotypes in Helicobacter pylori isolates from patients in eastern Turkey and the association of these genotypes with clinical outcome. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1332–1339.
- Páez, V. M., Solano, B. M., Nadaff, G., Boccio, J., & Barrado, A. (2006). Infección por Helicobacter pylori (13C-UBT) y factores nutricionales y socioeconómicos asociados en escolares de estratos bajos de la ciudad de Valencia. Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(4), 342.
- Panayotopoulou, E. G., Sgouras, D. N., Papadakos, K., Kalliaropoulos, A., Papatheodoridis, G., Mentis, A. F., & Archimandritis, A. J. (2007). Strategy to characterize the number and type of repeating EPIYA phosphorylation motifs in the carboxyl terminus of CagA protein in Helicobacter pylori clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(2), 488–495.
- Panayotopoulou, E. G., Sgouras, D. N., Papadakos, K. S., Petraki, K., Breurec, S., Michopoulos, S., Archimandritis, A. (2010). CagA and VacA polymorphisms are associated with distinct pathological features in Helicobacter pylori-infected adults with peptic ulcer and non-peptic ulcer disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(6), 2237–2239.
- Paniagua, G. L., Monroy, E., Rodríguez, R., Arroniz, S., Rodríguez, C., Cortés, J. L., Vaca, S. (2009). Frequency of vacA, cagA and babA2 virulence markers in Helicobacter pylori strains isolated from Mexican patients with chronic gastritis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 8(1), 1.
- Papastergiou, V., Georgopoulos, S. D., & Karatapanis, S. (2014). Treatment of Helicobacter pylori infection: Past, present and future. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 5(4), 392.
- Papini, E., Satin, B., Norais, N., de Bernard, M., Telford, J. L., Rappuoli, R., & Montecucco, C. (1998). Selective increase of the permeability of polarized

- epithelial cell monolayers by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. *Journal of Clinical Investigation*, 102(4), 813.
- Paredes, E. B. (2015). HELICOBACTER PYLORI 29 AÑOS DESPUÉS (1983-2012): EPIDEMIOLOGÍA, PATOGENIA, DIAGNÓSTICO Y RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL. *Revista Kiru*, 9(1). Retrieved from <http://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/viewFile/207/181>
- Pedraza, J. L. G., Regino, W. O., & Zuleta, M. G. (2010). Úlcera duodenal no complicada y complicada con sangrado: ¿cuál es la importancia del tratamiento contra *Helicobacter pylori*? *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 25(3), 295–300.
- Peek, R. M., Fiske, C., & Wilson, K. T. (2010). Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiological Reviews*, 90(3), 831–858.
- Perales, G., Sanchez, J., Mohar, A., Lara-Lemus, R., Hernandez, A., Herrera-Goepfert, R., Ayala, G. (1999). Single-step PCR amplification and enzyme restriction analysis of the entire *Helicobacter pylori* cytotoxin vacA gene for genetic variability studies. *FEMS Microbiology Letters*, 178(1), 55–62.
- Pérez-Cano, H. J., & Robles-Contreras, A. (n.d.). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2013/md133i.pdf>
- Perez-Perez, G. I., Salomaa, A., Kosunen, T. U., Daverman, B., Rautelin, H., Aromaa, A., Blaser, M. J. (2002). Evidence that cagA+ *Helicobacter pylori* strains are disappearing more rapidly than cagA- strains. *Gut*, 50(3), 295–298.
- Perrone, M., González-Valencia, G., Camorlinga, M., Correnti, M., Cavazza, M. E., Torres, J., & others. (2009). *Helicobacter pylori* vac A genotypes in a Venezuelan population. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29(1), 39–43.
- Piñeros, M., Ferlay, J., & Murill, R. (2006). Cancer incidence estimates at the national and district levels in Colombia. *Salud Pública de México*, 48(6), 455–465.
- Polk, D. B., & Peek, R. M. (2010). *Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond. *Nature Reviews Cancer*, 10(6), 403–414.
- Pounder, R. E., & Ng, D. (1994). The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 9, 33–39.

- Premoli, G., González, A., Millán-Mendoza, B., Percoco, T., & Vielma, A. (2004). Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 56(2), 85–90.
- Prochazka Zárate, R., Salazar Muelle, F. A., Barriga Calle, E., & Salazar Cabrera, F. (2010). Prevalencia de *Helicobacter pylori* en una clínica privada de Lima: sensibilidad de las biopsias del antro y el cuerpo, y la prueba rápida de la ureasa. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, 30(1), 33–39.
- Quiroga, A. J., Cittelly, D. M., & Bravo, M. M. (2005). Frecuencia de los genotipos babA2, oipA y cagE de *Helicobacter pylori* en pacientes colombianos con enfermedades gastroduodenales. *Biomédica*, 25(3), 325–34.
- Ramírez Ramos, A., & Sánchez Sánchez, R. (2008). *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, 28(3), 258–266.
- Ranjbar, R., Khamesipour, F., Jonaidi-Jafari, N., & Rahimi, E. (2016). *Helicobacter pylori* isolated from Iranian drinking water: vacA, cagA, iceA, oipA and babA2 genotype status and antimicrobial resistance properties. *FEBS Open Bio*, 6(5), 433–441.
- Reyes-Zamora, O., Hernández-Power, M., Torres-Domínguez, L. E., Bermúdez-Díaz, L., & Rodríguez-González, B. L. (2011a). Mutaciones que confieren resistencia a metronidazol y tetraciclina en *Helicobacter pylori*, su detección en aislados cubanos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(1), 29–34.
- Reyes-Zamora, O., Hernández-Power, M., Torres-Domínguez, L. E., Bermúdez-Díaz, L., & Rodríguez-González, B. L. (2011b). Mutaciones que confieren resistencia a metronidazol y tetraciclina en *Helicobacter pylori*, su detección en aislados cubanos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(1), 29–34.
- Rhead, J. L., Letley, D. P., Mohammadi, M., Hussein, N., Mohagheghi, M. A., Hosseini, M. E., & Atherton, J. C. (2007). A new *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology*, 133(3), 926–936.
- Ríos, C., Sierralta, R., Zúñiga, S., & others. (2005). Frecuencia y características de las enfermedades más comunes, diagnosticadas por endoscopía alta en el Servicio de Medicina del hospital Hernán Henríquez Aravena de Temuco, 1998-2003. *Gastroenterol. Latinoam*, 16(1), 19–31.

- Riva, S. de la, Muñoz-Navas, M., & Sola, J. J. (2004). Carcinogénesis gástrica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 96(4), 265–276.
- Rivas-Traverso, F., & Hernández, F. (2000). de virulencia, patología y diag-nóstico. *Rev Biomed*, 11, 187–205.
- Robinson, K., Argent, R. H., & Atherton, J. C. (2007). The inflammatory and immune response to Helicobacter pylori infection. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 21(2), 237–259.
- Rojas Campos, N. (1995). El lipopolisacárido bacteriano: una potente endotoxina con múltiples actividades biológicas, recientes avances en estructura, genética y bioquímica. *Rev. Costarric. Cienc. Méd*, 16(3), 71–84.
- Romero Hurtado, S., & Iregui, C. A. (2010). Lipopolysaccharide. *Revista de Medicina Veterinaria*, (19), 37–45.
- Rudi, J., Kolb, C., Maiwald, M., Kuck, D., Sieg, A., Galle, P. R., & Stremmel, W. (1998). Diversity of Helicobacter pylori vacA and cagA Genes and Relationship to VacA and CagA Protein Expression, Cytotoxin Production, and Associated Diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), 944–948.
- Rudnicka, W., Chmiela, M., & others. (2004). Inflammation and host immune response in Helicobacter pylori infections. *Current Trends in Immunology, Volume 6*, 1–19.
- Rugge, M., & Genta, R. M. (2005). Staging and grading of chronic gastritis. *Human Pathology*, 36(3), 228–233.
- Ruggiero, P. (2012). Helicobacter pylori infection: what's new. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 25(3), 337–344.
- Salih, B. A., Bolek, B. K., & Arikan, S. (2010). DNA sequence analysis of cagA 3' motifs of Helicobacter pylori strains from patients with peptic ulcer diseases. *Journal of Medical Microbiology*, 59(2), 144–148.
- Sánchez-Zauco, N. A., Giono-Cerezo, S., & Maldonado-Bernal, C. (2010). Toll-like receptors, pathogenesis and immune response to Helicobacter pylori. *Salud Publica de Mexico*, 52(5), 447–454.
- Satin, B., Del Giudice, G., Della Bianca, V., Dusi, S., Laudanna, C., Tonello, F., ... Rossi, F. (2000). The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of Helicobacter pylori is a

- protective antigen and a major virulence factor. *The Journal of Experimental Medicine*, 191(9), 1467–1476.
- Sayehmiri, F., Kiani, F., Sayehmiri, K., Soroush, S., Asadollahi, K., Alikhani, M. Y., ... others. (2015). Prevalence of *cagA* and *vacA* among *Helicobacter pylori*-infected patients in Iran: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(7), 686–696.
- Solcà, N. M., Bernasconi, M. V., & Piffaretti, J.-C. (2000). Mechanism of Metronidazole Resistance in *Helicobacter pylori*: Comparison of the *rdxA* Gene Sequences in 30 Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(8), 2207–2210.
- Sugimoto, M., & Yamaoka, Y. (2009). The association of *vacA* genotype and *Helicobacter pylori*-related disease in Latin American and African populations. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(9), 835–842.
- Sugimoto, M., Yamaoka, Y., Furuta, T., & others. (2010). Influence of interleukin polymorphisms on development of gastric cancer and peptic ulcer. *World J Gastroenterol*, 16(10), 1188–1200.
- Suzuki, R. B., Lopes, R. A. B., da Câmara Lopes, G. A., Ho, T. H., & Sperança, M. A. (2013). Low *Helicobacter pylori* primary resistance to clarithromycin in gastric biopsy specimens from dyspeptic patients of a city in the interior of São Paulo, Brazil. *BMC Gastroenterology*, 13(1), 164.
- Suzuki, R., Shiota, S., & Yamaoka, Y. (2012). Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori*. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(2), 203–213.
- Tafur, J. D., Torres, J. A., & Villegas, M. V. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3), 227–232.
- Taneike, I., Nami, A., O'connor, A., Fitzgerald, N., Murphy, P., Qasim, A., OMORAIN, C. (2009). Analysis of drug resistance and virulence-factor genotype of Irish *Helicobacter pylori* strains: is there any relationship between resistance to metronidazole and *cagA* status? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 30(7), 784–790.
- Tankovic, J., Lamarque, D., Delchier, J.-C., Soussy, C.-J., Labigne, A., & Jenks, P. J. (2000). Frequent Association between Alteration of the *rdxA* Gene and

- Metronidazole Resistance in French and North African Isolates of *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(3), 608–613.
- Tegtmeyer, N., Wessler, S., & Backert, S. (2011). Role of the *cag*-pathogenicity island encoded type IV secretion system in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Febs Journal*, 278(8), 1190–1202.
- Teh, X., Khosravi, Y., Lee, W. C., Leow, A. H. R., Loke, M. F., Vadivelu, J., & Goh, K. L. (2014). Functional and molecular surveillance of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Kuala Lumpur. *PloS One*, 9(7), e101481.
- Tomb, J.-F., White, O., Kerlavage, A. R., Clayton, R. A., Sutton, G. G., Fleischmann, R. D., others. (1997). The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 388(6642), 539–547.
- Torres, L. E., Melián, K., Moreno, A., Alonso, J., Sabatier, C. A., Hernández, M., others. (2009). Prevalence of *vacA*, *cagA* and *babA2* genes in Cuban *Helicobacter pylori* isolates. *World J Gastroenterol*, 15(2), 204–210.
- Trapero-Marugán, M., Gisbert, J. P., & Pajares, J. M. (2006). Producción científica española relacionada con *Helicobacter pylori*: Un estudio a través de Medline. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 98(4), 255–264.
- Treiber, G., Wittig, J., Ammon, S., Walker, S., van Doorn, L.-J., & Klotz, U. (2002). Clinical outcome and influencing factors of a new short-term quadruple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomized controlled trial (MACLOR study). *Archives of Internal Medicine*, 162(2), 153–160.
- Trespalcios, A., Otero, W., & Mercado, M. (2010). Resistencia de *Helicobacter pylori* a metronidazol, claritromicina y amoxicilina en pacientes colombianos. *Rev Col Gastroenterol*, 25(1), 31–38.
- Trespalcios Rangel, A. A. (2011). Estudio de la resistencia de *Helicobacter pylori* a los antimicrobianos e implicaciones en las terapias de erradicación. Retrieved from <http://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/3935>
- Trujillo, E., Martínez, T., & Bravo, M. M. (2014). Genotyping of *Helicobacter pylori* virulence factors *vacA* and *cagA* in individuals from two regions in Colombia with opposing risk for gastric cancer. *Biomédica*, 34(4), 567–573.



- Tu, I.-F., Liao, J.-H., Yang, F.-L., Lin, N.-T., Chan, H.-L., & Wu, S.-H. (2014). Lon Protease Affects the RdxA Nitroreductase Activity and Metronidazole Susceptibility in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, *19*(5), 356–366.
- Tummuru, M. K., Cover, T. L., & Blaser, M. J. (1993). Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infection and Immunity*, *61*(5), 1799–1809.
- Valdivia Roldán, M. (2011). Gastritis y gastropatías. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, *31*(1), 38–48.
- Vallejos, C., Cerda, O., Valenzuela, M., & Toledo, H. (2003). Resistencia antimicrobiana en *Helicobacter pylori*: aspectos clínicos y moleculares. *Revista Médica de Chile*, *131*(11), 1313–1320.
- Van Amsterdam, K., & Van Der Ende, A. (2004). Nutrients released by gastric epithelial cells enhance *Helicobacter pylori* growth. *Helicobacter*, *9*(6), 614–621.
- Van Doorn, L.-J., Figueiredo, C., Sanna, R., Plaisier, A., Schneeberger, P., de Boer, W., & Quint, W. (1998). Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, *115*(1), 58–66.
- Van Doorn, L.-J., Schneeberger, P. M., Nouhan, N., Plaisier, A. P., Quint, W. G. V., & De Boer, W. A. (2000). Importance of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* status for the efficacy of antibiotic treatment. *Gut*, *46*(3), 321–326.
- Van Rees, B. P., Saukkonen, K., Ristimäki, A., Polkowski, W., Tytgat, G. N., Drilenburg, P., others. (2002). Cyclooxygenase-2 expression during carcinogenesis in the human stomach. *The Journal of Pathology*, *196*(2), 171–179.
- Wilson, K. T., & Crabtree, J. E. (2007). Immunology of *Helicobacter pylori*: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies. *Gastroenterology*, *133*(1), 288–308.
- Wroblewski, L. E., & Peek, R. M. (2013). *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis: mechanisms. *Gastroenterology Clinics of North America*, *42*(2), 285–298.
- Wroblewski, L. E., Peek, R. M., & Wilson, K. T. (2010). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clinical Microbiology Reviews*, *23*(4), 713–739.

- Wu, W., Yang, Y., & Sun, G. (2012). Recent insights into antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* eradication. *Gastroenterology Research and Practice*, 2012. Retrieved from <http://www.hindawi.com/journals/grp/aip/723183/>
- Yamaoka, Y., Kodama, T., Gutierrez, O., Kim, J. G., Kashima, K., & Graham, D. Y. (1999). Relationship between *Helicobacter pylori* *iceA*, *cagA*, and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(7), 2274–2279.
- Yamasaki, E., Wada, A., Kumatori, A., Nakagawa, I., Funao, J., Nakayama, M., Hirayama, T. (2006). *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic proteins Bax and Bak, leading to cytochrome c release and cell death, independent of vacuolation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(16), 11250–11259.
- Yasui, W., Sentani, K., Sakamoto, N., Anami, K., Naito, Y., & Oue, N. (2011). Molecular pathology of gastric cancer: research and practice. *Pathology-Research and Practice*, 207(10), 608–612.
- Yordanov, D., Boyanova, L., Markovska, R., Gergova, G., & Mitov, I. (2012). Significance of *Helicobacter pylori* *vacA* intermediate region genotyping—a Bulgarian study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 74(3), 253–257.
- Young, K. A., Allaker, R. P., & Hardie, J. M. (2001). Morphological analysis of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and dental plaque by scanning electron microscopy. *Oral Microbiology and Immunology*, 16(3), 178–181.
- Zamora, O. R., Power, M. H., Domínguez, L. E. T., Díaz, L. B., & González, B. L. R. (2010). Mutaciones en el gen *frxA* que potencian la resistencia a metronidazol en *Helicobacter pylori*, su detección en aislados Cubanos. Mutations in *frxA* gen that powering metronidazol resistance in *Helicobacter pylori*, detection in Cuban isolates. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41, 1–9.

## ANEXOS

### ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Entiendo que se me ha pedido que participe voluntariamente como sujeto de investigación en la Línea de Epidemiología Molecular en Cáncer Gástrico con los proyectos “*HELICOBACTER PYLORI*, ALTERACIONES EPIGENÉTICAS, SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y SU RELACIÓN CON LA CARCINOGENESIS GÁSTRICA” y “MUTACIÓN EN LOS GENES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN *HELICOBACTER PYLORI* Y SU RELACIÓN CON LA VIRULENCIA” bajo la dirección del PhD. Carlos Hernán Sierra Torres y la Mg. Claudia Patricia Acosta Astaiza, respectivamente, docentes del Laboratorio de Genética Humana, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad del Cauca, Popayán.

**PROPÓSITO:** Determinar el papel de la virulencia del *Helicobacter pylori* sobre el patrón de metilación y su relación con la herencia de polimorfismos en genes de inflamación para el desarrollo de lesiones gástricas preneoplásicas y cáncer gástrico en una población caucana con diferentes orígenes raciales; de igual manera, determinar las mutaciones de resistencia antimicrobiana de los genes bacterianos rdxA, 23 RNAr y PBP1A y su relación con los genotipos de virulencia, en los pacientes que se encuentren infectados con *H. pylori* en una población del departamento del Cauca.

**BENEFICIOS AL SUJETO:** Entiendo que me beneficiare por mi participación en este estudio recibiendo un informe detallado de patología sin costo alguno; pero entiendo que no recibiré los resultados de los análisis genéticos de la muestra dado que este estudio es de tipo poblacional y no diagnóstico. Además, por mi participación no recibiré ninguna compensación económica (dinero).

**BENEFICIOS A LA SOCIEDAD:** Aportara información acerca del papel de los factores de virulencia del *Helicobacter pylori* sobre el patrón de metilación de distintos genes involucrados en el proceso infeccioso, para identificar los posibles biomarcadores tempranos de susceptibilidad en el desarrollo de cáncer gástrico. Igualmente, se determinara la frecuencia de las mutaciones de los genes asociados a la resistencia a antibióticos frecuentemente usados en el tratamiento de la infección. Los resultados de estas investigaciones contribuirán a la formulación de mejores estrategias de prevención, pronóstico y tratamiento de pacientes con lesiones gástricas en la población.

**ENTIDADES PARTICIPANTES:** Las investigaciones serán lideradas por investigadores de la Universidad del Cauca, en colaboración con el Hospital Universitario San José, el Hospital Susana López de Valencia, y financiadas por Colciencias.

**NUMERO DE PARTICIPANTES:** El número aproximado será de 750 pacientes.

**PROCEDIMIENTOS:** Si decido participar voluntariamente en estos estudios una vez haya firmado el consentimiento informado, entiendo que:

Completaré un cuestionario sobre estilo de vida y estado de salud, facilitando información como teléfono y dirección que podrá ser utilizada para contactarme si existe la necesidad en el futuro.

Permitiré que se me tomen unas biopsias de tejido gástrico, acorde con las guías actuales de práctica clínica, procedimiento que será realizado por Médicos Gastroenterólogos calificados con el fin de: extraer material genético (ADN) a partir de las biopsias de tejido tomadas para establecer el tipo de cepa de *H. pylori* presente en la mucosa gástrica, para realizar análisis de los patrones de metilación de los genes objeto de estudio y la genotipificación de los genes de resistencia antimicrobiana.

Permitiré voluntariamente se me tome dos muestras de sangre por venopunción que se hará solamente en las venas periféricas de las extremidades superiores. El personal autorizado me realizara un máximo de tres intentos para obtener las muestras de sangre, las cuales se van a tomar de acuerdo al protocolo provisto por el investigador. La cantidad de sangre que me tomaran, debe ser regulada adecuadamente. Esto con el fin de: extraer material genético (ADN) para análisis de polimorfismos y determinación del origen racial, respectivamente.

Aceptaré que mis muestras sean guardadas en un *Banco de Muestras Biológicas*. El ADN extraído de las biopsias del tejido gástrico y de sangre periférica, será almacenado a -20 °C en una solución buffer tris-EDTA y guardado durante un periodo de 10 años en el área de custodia del Laboratorio de Genética Humana de la Universidad del Cauca.

Permitiré el uso de los datos y las muestras biológicas para estudios posteriores debidamente aprobados por los respectivos Comités de Ética en esta u otras instituciones nacionales o internacionales que pudieran colaborar en el desarrollo esta u otras investigaciones.

**RIESGOS POR PARTICIPACIÓN:** Entiendo que como riesgos potenciales de mi participación en este estudio se pueden presentar perforación faríngea, esofágica o gastrointestinal, así como hemorragia e infecciones en el sitio de toma de muestras. Sin embargo, estas lesiones son poco frecuentes cuando son tomadas por personal médico calificado y experimentado y serán evitadas al máximo mediante el uso de técnicas endoscópicas de alta calidad, manteniendo los estándares de asepsia. Cualquier incomodidad, dolor, riesgo o inconveniente asociado con mi participación serán atendidos por el Médico Gastroenterólogo que realice el procedimiento. Con respecto a la toma de muestra de sangre, entiendo que podría experimentar un síncope o malestar durante y luego de la toma

de muestras, para lo cual se tendrá especial cuidado en el momento de realizarme el procedimiento. Entiendo también que el consentimiento para recibir los tratamientos e intervenciones que podría necesitar para mi enfermedad será responsabilidad de la IPS que me atiende.

**CONFIDENCIALIDAD:** Entiendo que la información del cuestionario y todas las muestras serán identificadas con un código único para proteger mi identidad y datos personales. Esta información será mantenida bajo estricta confidencialidad por parte de los investigadores principales el PhD. Carlos Hernán Sierra Torres y la Mg. Claudia Patricia Acosta Astaiza.

**APROBACION:** Se me ha informado que los protocolos y procedimientos de investigación que se emplearan en estos estudios han sido aprobados por el Comité de Ética para la Investigación Científica de la Universidad del Cauca.

**PERSONAS A CONTACTAR:** Si tengo una pregunta durante o después del procedimiento puedo contactar al PhD. Carlos Hernán Sierra Torres o a la Mg. Claudia Patricia Acosta Astaiza en el Laboratorio de Genética Humana de la Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca o al tel. 8209872.

**CLAUSULAS ESTANDAR:**

Entiendo que el consentimiento voluntario es requerido para todas las personas que participan en estos proyectos. Me han explicado en un lenguaje que yo puedo entender el propósito de estas investigaciones, los beneficios, los procedimientos y riesgos por participación. Me han dicho que la Universidad de Cauca no tiene mecanismos de compensación si algún daño físico ocurriera como resultado directo para los sujetos de investigación de estos proyectos. Sin embargo, entiendo que los tratamientos de emergencia disponibles para el público en general están disponibles para mí también. Me han informado que tengo derecho a la privacidad y confidencialidad de toda la información obtenida con relación a estos estudios y que solo los investigadores principales podrán tener acceso a mi historia clínica si es necesario. Entiendo que los resultados de estos estudios pueden ser divulgados en eventos nacionales y/o internacionales o ser publicados en revistas científicas sin identificar mi nombre.

Después de explicarme la finalidad de los proyectos con un lenguaje sencillo y comprensible, haber respondido a mis preguntas, estar conforme con las respuestas, dejo constancia que acepto voluntariamente participar como sujeto de investigación en los proyectos antes mencionados, por lo tanto, firmo o coloco mi huella digital para ingresar a la investigación.

_____ Nombre del participante	_____ Firma/huella del participante	_____ Fecha
_____ Nombre del testigo	_____ Firma del testigo	_____ Fecha
Como constancia firma:	_____ Firma del director del proyecto	_____ Fecha

**AUTORIZACION PARA GUARDAR Y ENVIAR MUESTRAS A OTRAS INSTITUCIONES:** Una vez procesadas las muestras biológicas colectadas, los investigadores las almacenaran en un Banco de Muestra Biológicas en el Laboratorio de Genética Humana de la Universidad del Cauca. Es posible que algunas de las pruebas de laboratorio que sean necesarias realizar con mis muestras no puedan hacerse en las instalaciones de la Universidad del Cauca, por lo que sería necesario enviarlas a otras instituciones de Colombia o del exterior. En caso de que esto fuera necesario mis muestras estarían marcadas solo con el código único y mi nombre o datos personales no aparecerían en ninguna parte. Entiendo también que estas muestras podrán ser utilizadas para investigaciones futuras siempre y cuando estas se desarrollen con propósitos científicos enmarcados en la línea de investigación de estos proyectos.

Para constancia,

_____ Nombre del participante	_____ Firma/huella del participante	_____ Fecha
_____	_____	_____

Nombre del testigo

Firma del testigo

Fecha

Como constancia firma:

\_\_\_\_\_  
Firma del director del proyecto

\_\_\_\_\_  
Fecha

## ANEXO 2. ENCUESTA

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

MUTACIÓN EN LOS GENES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN *Helicobacter pylori*  
Y SU RELACIÓN CON LA VIRULENCIA

*Helicobacter pylori*, ALTERACIONES EPIGENÉTICAS, SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y SU RELACIÓN CON LA  
CARCINOGENÉISIS GÁSTRICA EN LA POBLACIÓN CAUCANA

Código \_\_\_\_\_ Entidad \_\_\_\_\_ Fecha: dd/mm/aaaa [\_\_\_\_][\_\_\_\_][\_\_\_\_]  
E.P.S. \_\_\_\_\_

### SECCIÓN A. INFORMACIÓN PERSONAL

A1. DOCUMENTO DE IDENTIDAD \_\_\_\_\_

A2. NOMBRES Y APELLIDOS \_\_\_\_\_

A3. TELÉFONOS \_\_\_\_\_

A4. DIRECCIÓN PERMANENTE \_\_\_\_\_

A5. FECHA DE NACIMIENTO: dd/mm/aaaa [\_\_\_\_][\_\_\_\_][\_\_\_\_]

A6. EDAD: [\_\_\_\_]

A7. SEXO:

- 1. MASCULINO
- 2. FEMENINO

A8. ETNIA:

- 1. INDÍGENA
- 2. BLANCA
- 3. NEGRA
- 4. MESTIZA
- 5. MULATA

A9. AFILIACIÓN AL SIST. SEGURIDAD SOCIAL:

- 1. VINCULADO
- 2. SUBSIDIADO
- 3. CONTRIBUTIVO

A10. ESTADO CIVIL ACTUAL (INDISTINTAMENTE DEL ESTADO  
LEGAL):

- 1. CASADO(A)
- 2. SOLTERO(A)
- 3. UNIÓN LIBRE
- 4. SEPARADO(A)
- 5. DIVORCIADO(A)
- 6. VIUDO(A)

A11. PROCEDENCIA:

DEPARTAMENTO \_\_\_\_\_

MUNICIPIO \_\_\_\_\_

- 1. URBANA (ENERGÍA, ACUEDUCTO Y PISO MÍN. CEMENTO)
- 2. RURAL CABECERA
- 3. RURAL DISPERSO
- VDA/ \_\_\_\_\_

A12. EN QUE LUGAR HA VIVIDO POR MÁS AÑOS?

DEPARTAMENTO \_\_\_\_\_

MUNICIPIO \_\_\_\_\_

- 1. URBANA (ENERGÍA, ACUEDUCTO Y PISO MÍN. CEMENTO)
- 2. RURAL CABECERA
- 3. RURAL DISPERSO
- VDA/ \_\_\_\_\_

A13. CUANTOS AÑOS HA VIVIDO ALLÍ? [\_\_\_\_]

A14. EN CUANTO ESTIMARÍA USTED SUS INGRESOS MENSUALES?

- 1. MENOS DE UN SALARIO MÍNIMO
- 2. UN SALARIO MÍNIMO
- 3. [\_\_\_\_] VECES UN SALARIO MÍNIMO

**SECCIÓN B. EDUCACIÓN Y OFICIO**

**B1. CUAL ES SU NIVEL EDUCATIVO?**

- |                     |                        |
|---------------------|------------------------|
| 1. NINGUNO [___]    | 4. TÉCNICO [___]       |
| 2. PRIMARIA [___]   | 5. UNIVERSITARIO [___] |
| 3. SECUNDARIA [___] | 6. POSTGRADO [___]     |

**B2. OCUPACIÓN EN LA QUE HA TRABAJADO POR MAS TIEMPO?**

- |                        |                      |
|------------------------|----------------------|
| 1. AGRICULTOR [___]    | 5. CONSTRUCTOR [___] |
| 2. AMA DE CASA [___]   | 6. JUBILADO [___]    |
| 3. COMERCIANTE [___]   | 7. PROFESIONAL [___] |
| 4. TRAB. PUBLICO [___] | 8. OTROS [___]       |
-

## SECCIÓN C. CARACTERÍSTICAS DE LA VIVIENDA DONDE HA VIVIDO

### POR MAS AÑOS

#### C1. TIPO DE PISO QUE PREDOMINAN EN SU CASA?

1. TIERRA  3. BALDOSA Y/O GRANITO   
2. CEMENTO  4. OTROS \_\_\_\_\_

#### C2. CUANTAS PERSONAS VIVEN EN SU CASA? [\_\_\_\_\_]

#### C3. CUANTAS HABITACIONES HAY EN SU CASA? [\_\_\_\_\_]

#### C4. NUMERO DE CAMAS POR HABITACIÓN? [\_\_\_\_\_]

#### C5. CUANTAS PERSONAS POR CAMA? [\_\_\_\_\_]

#### C6. DE DONDE OBTIENE EL AGUA POTABLE?

1. ACUEDUCTO  3. RÍO O MANANTIAL   
2. POZO O ALJIBE  4. OTROS

#### C7. QUE TRATAMIENTO LE DA AL AGUA?

1. NINGUNO  2. HERVIDO   
3. FILTRADO  4. FILTRADO Y HERVIDO   
5. OTRO (ESPECIFICAR) \_\_\_\_\_

#### C8. DONDE ALMACENA EL AGUA DE CONSUMO?

1. VIDRIO  2. PLÁSTICO   
3. BARRO  4. METAL   
5. NO ALMACENA

#### C8. DONDE DESECHA LAS EXCRETAS?

1. SANITARIO  2. LETRINA  3. CAMPO ABIERTO

---

## SECCIÓN D. ESTILO DE VIDA

#### D1. RESPECTO AL HÁBITO DE FUMAR USTED ES?

1. FUMADOR   
A. Fumador diario\*   
B. Fumador ocasional\*\*   
C. Ex-fumador\*\*\*   
2. NO FUMADOR

\* FUMA AL MENOS 1 CIGARRILLO AL DÍA EN EL ÚLTIMO AÑO.

\*\* FUMA AL MENOS 1 CIGARRILLO EN INTERVALOS MAYORES AL DIARIO.

\*\*\* FUMADOR DIARIO QUE HA DEJADO DE FUMAR EN EL ÚLTIMO AÑO SIN DIFERENCIA DE LA CANTIDAD.

#### D2. SI USTED ES FUMADOR DIARIO, CUANTOS CIGARRILLOS POR DÍA FUMA (FUMABA)?

[\_\_\_\_\_]

#### D3. SI USTED ES FUMADOR OCASIONAL, CUANTOS CIGARRILLOS POR MES FUMA?

[\_\_\_\_\_]

#### D4. POR CUANTOS AÑOS HA FUMADO O FUMO?

[\_\_\_\_\_]

#### D5. RESPECTO AL HABITO DE BEBER USTED ES?

1. BEBEDOR   
A. Bebedor habitual\*   
B. Bebedor ocasional\*\*   
C. Ex-bebedor\*\*\*   
2. NO BEBEDOR

\* BEBE AL MENOS 1 VEZ POR SEMANA EN EL ÚLTIMO AÑO.

\*\* BEBE CON INTERVALOS MAYORES A LA SEMANA.

\*\*\* BEBIÓ AL MENOS 1 VEZ POR SEMANA Y LO DEJO EN EL ÚLTIMO AÑO.

#### D6. SI USTED ES BEBEDOR, CUANTO CONSUME DE ESTAS BEBIDAS POR OCASIÓN?

1. AGUARDIENTE [c\_\_\_\_\_] 6. WHISKY [v\_\_\_\_\_]  
2. CERVEZA [b\_\_\_\_\_] 7. VODKA [v\_\_\_\_\_]  
3. RON [c\_\_\_\_\_] 8. TEQUILA [c\_\_\_\_\_]  
4. GUARAPO [v\_\_\_\_\_] 9. BRANDY [c\_\_\_\_\_]  
5. VINO [cp\_\_\_\_\_]

c:copa (25cc), b:botella (330cc), cp:copa vino (100cc), v:vaso (45cc).

Botella = 750cc; Media = 375cc.

#### D7. POR CUANTOS AÑOS HA CONSUMIDO? [\_\_\_\_\_]

---

## SECCIÓN E. HÁBITOS ALIMENTICIOS

#### E1. CUANTAS COMIDAS CONSUME USTED AL DÍA? [\_\_\_\_\_]

#### E2. DONDE PREPARAN GENERALMENTE SUS COMIDAS?

1. CASA  2. REST.  3. CASA Y REST.

#### E3. EN CASA, QUIEN COCINA?

1. USTED  2. PAREJA  3. EMPLEADA  4. OTRO

#### E4. LAVA SUS ALIMENTOS ANTES DEL CONSUMO?

1. SIEMPRE  2. ALGUNAS VECES  3. NUNCA

#### E5. COCINA USTED CON SAL SUS ALIMENTOS?

1. SIEMPRE  2. ALGUNAS VECES  3. NUNCA

#### E6. EN LA MESA, AÑADE USTED SAL A SUS COMIDAS?

1. SIEMPRE  2. ALGUNAS VECES  3. NUNCA

#### E7. CONSUME ALIMENTOS RECALENTADOS?

1. SIEMPRE  2. ALGUNAS VECES  3. NUNCA

#### E8. REUTILIZA EL ACEITE PARA FREÍR SUS ALIMENTOS?

1. SIEMPRE  2. ALGUNAS VECES  3. NUNCA

#### E9. UTILIZA ABLANDA CARNES?

1. SIEMPRE  2. ALGUNAS VECES  3. NUNCA

#### E10. POSEE USTED UNA NEVERA?

1. SI  2. NO  3. HACE CUANTO? \_\_\_\_\_

#### E11. COMO SUELE PRESERVAR LA CARNE Y EL PESCADO?

1. REFRIGERADO  2. SALADO   
3. AHUMADO  4. SALADO Y AHUMADO   
5. NO PRESERVA

#### E12. DONDE ALMACENA SUS ALIMENTOS?

1. DESPENSA  2. NEVERA  3. NO ALMACENA

#### E13. CON QUE COCINA SUS ALIMENTOS?

1. LEÑA  2. GAS  3. ENERGÍA

#### E14. DE QUE MATERIAL SON LOS UTENSILIOS DE COCINA?

1. PORCELANA  2. PLÁSTICO  3. METAL



E15. FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

ALIMENTO	NUNCA	DIARIO	1-2 VECES/SEM	1-2 VECES/MES	1-6 VECES/AÑO
<b>PROTEÍNAS</b>					
RES					
POLLO					
CERDO					
PESCADO					
MARISCOS					
HUEVOS					
LECHE PASTEURIZADA					
LECHE NO PASTEURIZADA (CARRO)					
QUESO PASTEURIZADO					
QUESO CAMPESINO					
CARNE AHUMADA					
CARNES PRESERVADAS CON SAL					
ENLATADOS					
EMBUTIDOS					
<b>CEREALES</b>					
ARROZ					
MAÍZ					
AVENA					
CEBADA					
PASTAS					
HARINA DE TRIGO					
PAN					
<b>VEGETALES</b>					
VERDURAS					
LEGUMBRES (Granos)					
TUBÉRCULOS					
HABAS					
<b>FRUTAS</b>					
FRUTAS CÍTRICAS (Naranja, maracuyá, guayaba, etc.)					
FRUTAS NO CÍTRICAS (Aguacate, banano, kiwi, etc.)					
FRUTOS DEL BOSQUE (Mora, fresa, uvas)					
FRUTOS SECOS (Almendras, nueces, pasas)					
<b>GRASAS</b>					
MANTECA ANIMAL					
MANTECA VEGETAL					
MARGARINA (Vegetal)					
MANTEQUILLA (Animal)					
ACEITE VEGETAL					
<b>CONDIMENTOS</b>					
AJÍ					
PIMIENTA NEGRA					
PIMENTÓN					
AZAFRÁN o ACHOTE					
HIERBAS AROMÁTICAS					
CONDIMENTO EN CUBO					
<b>BEBIDAS</b>					
CAFÉ					
TE NEGRO					
CHOCOLATE					
GASEOSAS					

**SECCIÓN F. FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN**

**F1. CONVIVE CON PERSONAS INFECTADAS CON *H. pylori*?**

1. SI  3. NO SABE   
 2. NO  4. QUIEN? \_\_\_\_\_

**F2. CONVIVE CON NIÑOS MENORES DE 10 AÑOS?**

1. SI  3. CUANTOS? \_\_\_\_\_  
 2. NO

**F3. CONVIVE CON MASCOTAS EN SU CASA?**

1. GATOS  2. PERROS   
 3. GATOS/PERROS  4. OTROS \_\_\_\_\_

**F4. HA SIDO HOSPITALIZADO POR LARGO TIEMPO?**

1. SI  3. CUANTOS DÍAS? \_\_\_\_\_  
 2. NO  4. EN QUE AÑO? \_\_\_\_\_

**F5. VISITA SU ODONTÓLOGO CON REGULARIDAD?**

1. SI   
 2. NO   
 3. CUANTAS VECES AL AÑO? \_\_\_\_\_

**F6. CUANTAS VECES/DÍA CEPILLA SUS DIENTES? \_\_\_\_\_**

**F7. COMPARTE SU CEPILLO DE DIENTES?**

1. SI  2. NO

**F8. LAVA SUS MANOS ANTES DE CONSUMIR ALIMENTOS?**

1. SI  2. NO  3. ALGUNAS VECES

**F9. LAVA SUS MANOS DESPUÉS DE IR AL BAÑO?**

1. SI  2. NO  3. ALGUNAS VECES

**SECCIÓN G. ANTECEDENTES FAMILIARES**

**G1. ALGUNO DE SUS PARIENTES CERCANOS HA TENIDO ALGUNA DE LAS SIGUIENTES ENFERMEDADES?**

1. SI  2. NO  3. NO SABE

ENFERMEDAD	MAMA (1)	PAPA (2)	HERMANOS (3)	HIJOS (4)	CÓNYUGUE (5)
ULCERA GÁSTRICA (1)	11	12	13	14	15
GASTRITIS (2)	21	22	23	24	25
CÁNCER DE ESTOMAGO (3)	31	32	33	34	35
OTRO CÁNCER (4)	41	42	43	44	45

**SECCIÓN H. ANTECEDENTES CLÍNICOS**

**H1. SE HACE USTED CHEQUEOS MÉDICOS PERIÓDICOS?**

1. SI  2. NO

**H2. HA SUFRIDO UD. ALGUNA DE ESTAS ENFERMEDADES?**

	SI (1)	NO (2)
DIABETES		
INSUFICIENCIA RENAL		
CIRROSIS HEPÁTICA		
ETS		

**H3. HA CONSUMIDO ALGUNO DE ESTOS MEDICAMENTOS?**

	SI (1)	NO (2)	HACE CUANTO?
ALKA-SELTZER			
AINES			
ESTEROIDES			
ANTIACIDOS SUSP			

**H4. HA TENIDO ENDOSCOPIAS PREVIAS?**

1. SI  3. HACE CUANTO? \_\_\_\_\_  
 2. NO  4. DIAGNOSTICO? \_\_\_\_\_

**H5. SE DETECTÓ *H. pylori*?**

1. SI  2. NO  3. HACE CUANTO? \_\_\_\_\_

**H6. HA SUFRIDO DE LOS SIGUIENTES SÍNTOMAS?**

	SI (1)	NO (2)	HACE CUANTO?
ARDOR			
DOLOR EPIGÁSTRICO			
VOMITO – NAUSEAS			
LLENURA			
ANEMIA			
PERDIDA DE PESO			
ANOREXIA			
SANGRADO			
DISFAGIA			
REGURGITACIÓN			

**SECCIÓN I. ANTECEDENTES DE TRATAMIENTO**

**I1. HA RECIBIDO TRATAMIENTO DE ERRADICACIÓN PARA *H. pylori*?**

1. SI  2. NO  3. NO SABE

HACE CUANTO? \_\_\_\_\_

**I2. CUANTAS VECES HA SIDO TRATADO? \_\_\_\_\_**

**I3. CON CUAL ESQUEMA HA SIDO TRATADO?**

- 1.  METRONIDAZOL+AMOXICILINA+IBP
- 2.  CLARITROMICINA+AMOXICILINA+IBP
- 3.  OTRO ESQUEMA DIFERENTE:

CUAL? \_\_\_\_\_

4.  NO SABE

**I4. HA CONSUMIDO ANTIBIÓTICOS PARA EL TRATAMIENTO DE OTRAS INFECCIONES (AMOXICILINA, CLARITROMICINA, METRONIDAZOL):**

0. NO  1. SI  3. NS

CUAL: \_\_\_\_\_

HACE CUANTO? \_\_\_\_\_

**I5. HA CONSUMIDO INHIBIDORES DE LA BOMBA DE PROTONES?**

0. NO  1. SI  3. NS

**I6. CUAL?**

- 0.  OMEPRAZOL
- 1.  ESOMEPRAZOL
- 2.  PANTOPRAZOL
- 3.  RABEPRAZOL
- 4.  OTRO: \_\_\_\_\_

HACE CUANTO? \_\_\_\_\_