Detección histológica y molecular de *Helicobacter pylori* y genotipificación con base en los genes de virulencia *babA2* e *iceA* en pacientes con patología gástrica benigna

M. Camila Montealegre O., Carlos Alberto Jaramillo H., Gustavo Montealegre L., Giovanna Parra G., M. Magdalena Echeverry de P. y M. del Pilar Delgado P.

Universidad de los Andes,
Bogotá-Colombia (MCMO,
CAJH, MdelPDP).
Universidad del Tolima,
Ibagué-Colombia (GML, GPG,
MME de P).

MCMO trabaja actualmente en el
Centro Internacional de Entrena-
miento e Investigaciones Médicas.

Institución donde se realizó el
trabajo: Laboratorio de Diagnóstico
Molecular y Bioinformática, Univer-
sidad de los Andes. Carrera 1ª N°
18A-10, Bogotá, DC., Colombia.

Conflicto de interés. Los autores
manifiestan que no existe conflicto
de interés alguno.

Recibido: 16 de junio de 2009
Aceptado: 5 de octubre de 2009

Correspondencia a:

M. del Pilar Delgado P.
mdelgado@uniandes.edu.co.

Molecular and histological detection of *Helicobacter pylori* and genotyping based on *babA2* and *iceA* in patients with benign gastric pathologies

Objective: To investigate the presence of *Helicobacter pylori* in a Colombian population. **Material and Methods:** Gastric biopsies from 60 patients with benign gastric pathologies were submitted to histopathological examination and genotyped by PCR through amplification of *babA2* and *iceA* genes. **Results:** The presence of *H. pylori* was demonstrated in 78.3%, 63.3% and 66.7% of the samples after Giemsa staining, and *H. pylori* 16S DNA *r* and *iceA* gene amplification, respectively. In addition, *H. pylori* *babA2* positive was found infecting 7 patients. Among the *iceA* positive samples, 35% were identified as *iceA1*, 47.5% as *iceA2* and 17.5% contained *iceA1* and *iceA2* or different *iceA2* types. This work allowed detection and genotyping of *H. pylori*, demonstrating a low proportion of patients carrying strains *babA2* positive and an *iceA* genotype distribution according to previous reports. No association was found between the presence of *babA2* and *iceA* genes and ulcer disease.

Key words: *Helicobacter pylori*, detection, genotyping, PCR, virulence factors, gastritis.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, detección, genotipificación, reacción de polimerasa en cadena, factores de virulencia, gastritis.

Introducción

Helicobacter pylori es un bacilo gramnegativo microaerófilo que coloniza de manera persistente la mucosa gástrica de humanos^{1,2}. La infección con esta bacteria ocurre en todo el mundo y la prevalencia varía según la región geográfica, lo que se ha asociado con el nivel socio-económico de la población³. En los países en vías de desarrollo, la prevalencia de la infección alcanza ~80% y la mayoría de las personas adquiere la infección a temprana edad^{4,5}.

El curso clínico de la infección es altamente variable y depende de las circunstancias ambientales, factores del hospedero, así como de factores de virulencia de la bacteria, los cuales pueden llegar a ser importantes en el desarrollo diferencial de las patologías^{3,6,7}. Inicialmente la infección aguda puede inducir gastritis crónica no atrófica que eventualmente progresa hacia gastritis crónica atrófica, úlcera péptica, metaplasia intestinal, displasia y carcinoma gástrico o hacia linfoma tipo MALT^{3,4}.

Se ha postulado que algunos genes de *H. pylori*, expresados diferencialmente entre cepas, pueden ser usados como marcadores de virulencia^{8,9}. Varios estudios sugieren que los factores de adherencia de la bacteria

pueden contribuir a su tropismo específico y patogenicidad en el epitelio gástrico humano^{6,10}. La adhesina BabA de *H. pylori* codificada por el gen *babA2* le permite unirse a antígenos de grupo sanguíneo Lewis b presentes en las células epiteliales gástricas humanas^{11,12}. Se ha reportado que la presencia del gen *babA2* está correlacionada significativamente con el desarrollo de úlcera duodenal y adenocarcinoma gástrico^{6,10,13-15}.

Otro gen que ha sido implicado en la virulencia de la bacteria es el gen *iceA* (inducido por contacto con el epitelio)¹⁶, del que se conocen dos variantes, *iceA1* e *iceA2*, las cuales no están relacionadas entre sí, pero se encuentran ocupando el mismo locus en el genoma bacteriano¹⁷. El gen *iceA1* presenta homología con el gen *nlaIIIIR* de *Neisseria lactamica* que codifica para una endonucleasa de restricción¹⁷; no obstante, no se conoce si este gen es funcional o si su producto está involucrado en la colonización del estómago por parte de *H. pylori*¹⁸. Únicamente se observa la inducción de *iceA1* por contacto de la bacteria con el epitelio gástrico, y en algunas poblaciones el genotipo *iceA1* se ha asociado con la presentación de úlcera péptica^{16,19,20}.

Teniendo en cuenta que en la población colombiana la infección por *H. pylori* es muy frecuente y que la

presencia de determinados factores de virulencia ha sido relacionada con el desarrollo diferencial de patologías gastro-duodenales; el presente estudio, tuvo como objetivo aportar datos sobre la prevalencia de *H. pylori* y su caracterización en base a los genes de virulencia *babA2* e *iceA* en pacientes colombianos con patología gastro-duodenal benigna.

Pacientes y Métodos

Se incluyeron en el estudio 60 pacientes que asistieron a la unidad de endoscopia de un consultorio de gastroenterología de la ciudad de Ibagué, Colombia, entre los meses de febrero de 2006 y marzo de 2007. Todos los individuos que participaron, presentaban un cuadro de dispepsia, se les había indicado la realización de una endoscopia alta y firmaron el formato establecido para la consecución del consentimiento informado. Se excluyeron pacientes con enfermedades cardiovasculares y respiratorias, y aquellos que hubieran recibido antiácido 12 horas antes del procedimiento, bloqueadores de la bomba de protones y H₂ quince días antes de la endoscopia y antimicrobianos durante los tres meses previos a la toma de la muestra. El protocolo de trabajo fue aprobado por los Comités de Ética de las instituciones participantes.

Durante el procedimiento endoscópico, el médico gastroenterólogo tomó una biopsia del antro gástrico, destinado a la realización de las pruebas moleculares y 4 a 6 biopsias para la realización del estudio histopatológico. El análisis histopatológico de las muestras fue realizado en cortes histológicos coloreados con hematoxilina-eosina, de acuerdo con los criterios del sistema Sydney modificado²¹ y la tinción de Giemsa para la visualización de bacilos tipo *H. pylori*.

Extracción de ADN. Se realizó la extracción de ADN a partir de la biopsia de antro gástrico, usando el kit Aqua Pure Genomic DNA de (Bio-Rad®) de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

RPC Duplex para la amplificación del gen 16S ADNr y *babA2* de *H. pylori*. Para establecer la presencia del microorganismo en biopsias de tejido gástrico y realizar la detección del factor de virulencia BabA, se llevó a cabo la amplificación simultánea de un fragmento de 537 pb del gen 16S ADNr y uno de 831 pb del gen *babA2* de *H. pylori*, utilizando los partidores ACT-1 (5'-CTTGCTAGAGTGCTGATTA-3') y ACT-2 (5'-TCCCACACTCTAGAATAGT-3')²² y babA2F (5'-AATCCAAAAAGGAGAAAAAGTATGAAA-3') y babA2R (5'-TGTTAGTGATTTCGGTGTAGGACA-3')⁶, respectivamente. Como control positivo de la amplificación se usó ADN extraído a partir de la cepa de referencia NCTC 11637 de *H. pylori* y como blanco de

reacción se usó agua ultrapura en lugar de ADN. Cada mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 25 µL que contenía 50 mM de KCl, 20 mM de Tris HCl pH (8,4), 3,0 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada desoxinucleótido trifosfato (dNTPs), 1 pmol/µL de cada partidor 1,25 U de Taq polimerasa (Invitrogen®), y 60 ng/µL de ADN. El perfil térmico consistió en una denaturación inicial a 94 °C por 4 minutos; seguida de 37 ciclos de denaturación, anillaje y elongación a 94 °C (1 min), 56 °C (1 min) y 72 °C (1 min), respectivamente, y 10 minutos a 72 °C para la elongación final. Las reacciones de amplificación se realizaron usando un termociclador modelo iCycler Thermal Cycler de Bio-Rad.

RPC para la amplificación de los genes *iceA1* e *iceA2* de *H. pylori*. Para la amplificación de los genes *iceA1* e *iceA2* de *H. pylori* se usaron los partidores IceA1F5 (5'-GTGTTTAAACCAAAGTATC-3') - IceA1R4 (5'-CTATAGCCASTYTCTTTGCA-3') e IceA2F6 (5'-GTTGGGTATATCACAATTTAT-3') - IceA2R5 (5'-TTRCCCTATTTCTAGTAGGT-3') respectivamente¹⁷. La reacción se realizó en un volumen final de 25 µL, que contenía 50 mM de KCl, 20 mM de Tris HCl pH (8,4), 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada desoxinucleótido trifosfato (dNTPs), 1 pmol/µL de cada partidor, 1,25 U de Taq polimerasa (Invitrogen®), y 60 ng/µL de ADN. El perfil térmico consistió en una denaturación inicial a 94 °C por 9 minutos, seguida de 40 ciclos de: 30 segundos a 94 °C, 45 segundos a 56 °C y 45 segundos a 72 °C, con un paso de extensión final a 72 °C por 5 minutos.

RPC para la amplificación del gen de la IL-1β humana. Con el fin de descartar falsos negativos por inhibición de la reacción de RPC, se realizó la amplificación de un fragmento del gen de la IL-1β humana en las muestras con resultados negativos para la amplificación de los genes 16S ADNr e *iceA* de *H. pylori*. Se emplearon los partidores (5'-AGAAGCTTCCACCAATACTC-3') y (5'-ACCACCTAGTTGTAAGGAAG-3')²³ y la reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 µL, que contenía 50 mM de KCl, 20 mM de Tris HCl pH (8,4), 3,0 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada desoxinucleótido trifosfato (dNTPs), 1 pmol/µL de cada partidor, 1,25 U de Taq polimerasa (Invitrogen®), y 60 ng/µL de ADN. El perfil térmico consistió en una denaturación inicial a 94 °C por 10 minutos, seguida de 5 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 65 °C por 30 segundos y 72 °C por 30 segundos, continuando con 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 60 °C y 30 segundos a 72 °C, y 5 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 55 °C por 30 segundos y 72 °C por 30 segundos, con un paso de extensión final a 72 °C por 7 minutos.

Visualización y análisis de los productos de amplificación. Los productos de amplificación fueron separados

mediante electroforesis en geles de agarosa. La detección y visualización se realizó con bromuro de etidio bajo luz UV, en un sistema de documentación de geles ChemiDoc system XRS de BioRad®. Para el procesamiento y análisis de las imágenes se utilizó el programa Quantity One de BioRad®.

Análisis estadísticos. Para el análisis estadístico se empleó el programa SPSS versión 17.0. Se utilizó un modelo de regresión multinomial para establecer si la presencia de los genes estudiados permitía predecir alguno de los estados de la enfermedad gástrica. Se consideró estadísticamente significativa una probabilidad (p) < 0,05.

Resultados

Se analizaron biopsias gástricas provenientes de 60 pacientes, 28 hombres y 32 mujeres, con edad promedio de $54,2 \pm 15,5$ años. La evaluación histopatológica reveló que dos pacientes (3%) no presentaban alteraciones de la mucosa gástrica y se diagnosticó gastritis no atrófica en 58 pacientes (97%). Los hallazgos endoscópicos indicaron que 10 de los 58 pacientes con gastritis no atrófica presentaron diagnóstico de úlcera (Tabla 1).

La presencia de *H. pylori* se detectó en 38 de las 60 muestras analizadas (63,3%) por medio de la amplificación de un fragmento de 537 pb del gen *16S ADNr* especie-específico (Figura 1A). Acoplada a esta reacción de RPC, se realizó la detección del factor de virulencia BabA, mediante la amplificación de un fragmento del gen *babA2*. El producto esperado de esta reacción corresponde a un fragmento de 831 pb (Figura 1A), el cual fue observado en 7 de las 38 muestras *H. pylori* positivas. No se observó amplificación del gen *babA2* en las biopsias con resultados negativos para la amplificación del gen *16S ADNr* (Tabla 1).

La presencia de los genes *iceA1* e *iceA2* fue evaluada en todas las muestras incluidas en este estudio. El producto esperado de estas reacciones corresponde a un fragmento de 246 pb para el gen *iceA1* y 124, 229, 334 o 439 pb para el gen *iceA2*. En 40 de las 60 muestras evaluadas (66,6%), se observó amplificación de uno o ambos alelos del gen *iceA*. De estos 40 casos, 14 pacientes eran portadores de cepas con genotipo *iceA1* y 19 pacientes portaban cepas *iceA2*, las cuales se distribuyeron, según el tamaño del producto de amplificación, de la siguiente forma: (1/19) 124 pb, (9/19) 229 pb y (9/19) 334 pb (Figura 1B). En 7 pacientes se observó la amplificación de ambos genes (*iceA1* e *iceA2*) o la de variantes del gen *iceA2*, lo cual

Figura 1. A) Detección del gen *16S ADNr* (537 pb) y el gen de virulencia *babA2* (831 pb) de *H. pylori*, en muestras de biopsia gástrica. M: Marcador de peso molecular de 100 pb, 1: blanco de reacción, 2: cepa NCTC 11637 de *H. pylori*, 3: muestra positiva para *16S ADNr* y *babA2*, 4-6: muestras positivas para *16S ADNr*. B) Detección de los genes *iceA1* (246 pb) e *iceA2* (124, 229 o 334 pb) de *H. pylori* en muestras de biopsia gástrica. M: Marcador de peso molecular de 100 pb, 1: blanco de reacción, 2 muestra positiva para *iceA1*, 3-5: muestras positivas para *iceA2* y 6: cepa NCTC 11637 de *H. pylori*.

Tabla 1. Frecuencia de los genes *16S ADNr*, *iceA* y *babA2* de *H. pylori* en la población de estudio, según el diagnóstico histológico

Diagnóstico histológico	n /%	<i>16S ADNr</i>	<i>iceA1</i>	<i>iceA2</i>	Coinfección	<i>babA2</i>
Ausencia de patología	2 (3)	2	2	0	0	0
Gastritis	48 (80)	29	10	16	4	6
Gastritis y úlcera	10 (17)	7	2	3	3	1
Total	60 (100)	38	14	19	7	7

es un indicativo de la presencia de más de una cepa de *H. pylori* en la muestra de biopsia. En 20 de las 60 muestras analizadas no se observó amplificación de *iceA* (Tabla 1).

Es importante resaltar que al comparar los resultados obtenidos para la detección de *H. pylori* por medio de la identificación del bacilo en tinciones histológicas con los de las pruebas moleculares de amplificación del gen *16S ADNr* y la tipificación del locus *iceA*, se observó concordancia entre los tres métodos en 45 de las 60 muestras. En las 15 muestras restantes se observa concordancia entre dos de los tres métodos (Figura 2).

Teniendo en cuenta que se ha reportado la existencia de factores inhibidores de la RPC en biopsias gástricas²⁴, se realizó la amplificación del gen de la IL-1 β humana con el fin de descartar falsos negativos. El producto esperado de esta reacción se encontró presente en todas las muestras analizadas, lo que indica la ausencia de factores inhibidores.

Se procedió a determinar si los genes *babA2* e *iceA* de *H. pylori* podían estar relacionados con la presentación de alguna de las patologías gástricas. Los valores de p siempre fueron mayores a 0,05 (datos no mostrados), lo que indica que no se encontró relación estadísticamente significativa entre la presencia de estos factores de virulencia y la presentación de úlcera en la población analizada.

Discusión

El diagnóstico de la infección por *H. pylori* es de gran importancia, dado que su presencia ha sido asociada con el desarrollo de algunas enfermedades gastro-duodenales^{3,4,25}. Existen diferentes pruebas para diagnosticar la infección por *H. pylori*, cada una de ellas con ventajas y desventajas⁵. Los métodos de detección se han dividido tradicionalmente en métodos invasores y no invasores, según si requieren o no de una endoscopia con toma de biopsia^{4,25}. En nuestro medio, el diagnóstico se basa principalmente en la detección del microorganismo en preparados histológicos y en la prueba de ureasa en especímenes de biopsia. El cultivo de *H. pylori* no se realiza habitualmente en el diagnóstico inicial de la infección; sin embargo, se recomienda su uso cuando ha ocurrido una falla terapéutica y no se ha logrado su erradicación^{3,5,25}.

La reacción de RPC permite confirmar el diagnóstico de la infección, mediante la detección y amplificación de un fragmento de ADN específico de *H. pylori*^{4,25}. Dada la especificidad de los partidores y la capacidad de la técnica de amplificar exponencialmente el ADN blanco presente en una muestra, se ha reportado que presenta una alta especificidad y sensibilidad, ofreciendo un diagnóstico rápido y confiable de la infección, que es de gran utilidad en la detección de microorganismos de difícil cultivo como es el caso del *H. pylori*. Adicionalmente, la aplicación de esta técnica se extiende a la detección

Figura 2. Resultados de la detección de *H. pylori* por medio de la identificación del bacilo en tinciones histológicas y las pruebas moleculares de amplificación del gen *16S ADNr* y tipificación del locus *iceA*.

de factores genéticos responsables de la virulencia y en la evaluación de mutaciones específicas asociadas a la resistencia a antimicrobianos^{26,27}.

En este estudio se observó una prevalencia de la infección de 78,3% por medio de la detección de bacilos tipo *Helicobacter* y 63,3% mediante la aplicación de la técnica de RPC para la amplificación de un fragmento del gen *16S ADNr* de *H. pylori* (Figura 2). Bravo y cols, analizaron reportes histológicos de hospitales de diferentes ciudades capitales de Colombia durante 1997, y encontraron una prevalencia de la infección por *H. pylori* en biopsias de estómago de 69,1%, reportando una prevalencia para la ciudad de Ibagué de 59,5%²⁸. Estudios similares han reportado una alta prevalencia de la infección en Colombia²⁹ y en otros países de Latinoamérica^{8,30}.

Al comparar la detección de *H. pylori* a través de la identificación del bacilo con la detección molecular a través de la amplificación de un fragmento del gen *16S ADNr* especie-específico, se observan algunas discrepancias en cuanto a que en 12 pacientes se detectó la presencia del bacilo por medio de la tinción histológica de Giemsa pero el resultado de la amplificación del gen *16S ADNr* fue negativo; y en dos pacientes se realizó la detección del gen *16S ADNr* pero la identificación del bacilo fue negativa (Figura 2). El índice *kappa* entre estas dos pruebas fue de 0,41 lo cual indica una concordancia moderada. Otros estudios también han reportado mediante tinción histológica la presencia de bacilos en muestras con resultados negativos de la RPC específica de *H. pylori*³⁰.

Teniendo en cuenta que el locus *iceA*, está siempre presente en *H. pylori*, la detección del mismo, a través de la amplificación de los genes *iceA1* e *iceA2* puede

ser usada para la detección de este microorganismo. Al calcular el índice de concordancia *kappa* entre la detección de *H. pylori* a través de la tipificación del locus *iceA* y la detección del gen *16S ADNr*, se obtuvo un valor de 0,94, indicativo de una concordancia excelente entre los blancos moleculares. Únicamente se presentó discrepancia en dos pacientes, en quienes se observó la presencia del gen *iceA2*, pero no hubo amplificación del gen *16S ADNr*. En estas dos muestras la identificación del bacilo a través de la tinción de Giemsa fue positiva (Figura 2). Asimismo se evaluó la concordancia entre la detección de *H. pylori* a través de la detección del locus *iceA* y la identificación microscópica del bacilo. En este último caso en índice *kappa* fue de 0,51 indicativo de una concordancia moderada entre los dos métodos.

Es posible que la discrepancia entre la detección molecular (*16S ADNr* e *iceA*) y la identificación del bacilo en cortes histológicos, se deba a diferencias en el lugar de toma de la biopsia y a que los humanos pueden estar colonizados por otras especies de *Helicobacter* v.gr., *H. pullorum* y *H. heilmannii*. Teniendo en cuenta que la colonización de la mucosa gástrica por parte de *H. pylori* es en forma de "parches"³¹ y que en las pruebas moleculares se trabajó siempre con una biopsia de antro gástrico (zona de colonización preferencial del microorganismo debido a la ausencia de células parietales³²) y para la realización del estudio histopatológico se obtuvieron de 4 a 6 biopsias según criterio médico; las muestras no necesariamente provenían de la misma región del estómago, motivo que podría explicar al menos en parte la discrepancia entre la detección molecular y la histología. Adicionalmente, aunque la histología ha sido considerada por algunos autores el estándar de oro para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*²⁵, es importante resaltar que *H. pylori* y *H. heilmannii* (microorganismo que puede infectar la mucosa gástrica de humanos) presentan características morfológicas altamente similares³, hecho que dificulta la diferenciación entre estas dos especies de *Helicobacter*. La caracterización de las cepas de *H. pylori* reveló que sólo 7 pacientes eran portadores de cepas *babA2* positivo. Estudios en otras poblaciones muestran variaciones significativas en la frecuencia de presentación del genotipo *babA2*. En Japón³³ y China¹⁰ se ha encontrado una alta frecuencia de cepas *babA2* positivas (84,9 y 79,8% respectivamente), por el contrario los resultados en poblaciones de Italia (36%)¹⁵, Corea (36,1%)³⁴, Brasil (46,1%)¹³ y Bogotá-Colombia (48%)⁷ revelan una proporción más baja de cepas *babA2* positivas. Es posible que la baja proporción de cepas *babA2* positivas se deba a que la población de estudio corresponde a pacientes con patología gástrica benigna y BabA es un factor de virulencia que se ha asociado con la presentación de patologías gástricas graves.

Los genotipos *iceA1* e *iceA2* fueron detectados en 35

y 47,5% de las cepas positivas para la presencia del locus *iceA*, respectivamente. Adicionalmente, en 17,5% de los casos, se encontró infección por más de una cepa de *H. pylori*, lo cual fue evidenciado por la amplificación de ambos genes (*iceA1* e *iceA2*) o variantes del gen *iceA2*. Estos resultados son muy similares a los reportados anteriormente para cepas colombianas (*iceA1*= 40,9%, *iceA2*= 42,6%, infección múltiple= 16,5%)³⁵; sin embargo, la caracterización de este locus en otras regiones geográficas muestra variación en la distribución de los genotipos^{23, 36, 37}.

Diversas líneas de evidencia sugieren que los genes *babA2* e *iceA1* de *H. pylori*, expresados diferencialmente entre cepas, pueden ser usados como marcadores de virulencia de la bacteria y pueden jugar un papel importante en el desarrollo diferencial de las patologías gástricas. En este estudio, la presencia del gen *babA2* no se relacionó con la presentación de úlcera. Estos resultados son similares a los reportados en poblaciones de Colombia⁷, Japón³³, Corea³⁴, y Taiwán³⁸, donde no se encontró asociación entre la presencia del gen *babA2* y el resultado clínico de la infección. Asimismo, la presencia del gen *iceA1* ha sido asociada con la presentación de úlcera péptica y cáncer gástrico^{16,19,20}. Los resultados de este estudio no indican relación entre la presencia de los genes *iceA1* o *iceA2* y el resultado clínico de la infección.

Teniendo en cuenta que diferentes estudios no han encontrado correlación entre la presencia de estos genes y la gravedad de las manifestaciones clínicas, se hace necesario determinar en nuestro medio la utilidad de estos genes como marcadores de virulencia de la bacteria. En este sentido, estudios de genotipificación del microorganismo, así como la caracterización de factores genéticos del hospedero, en pacientes con patologías gástricas leves e infección activa por *H. pylori* son de gran importancia dado que un porcentaje significativo podría desarrollar alguna patología de mayor gravedad.

Agradecimientos. A la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes, por haber financiado este proyecto. A los estudiantes de medicina de la Universidad del Tolima que participaron en la consecución de las muestras. Al laboratorio de Inmunología del Instituto Nacional de Cancerología por suministrar la cepa de referencia de *H. pylori* usada como control en el presente estudio.

Resumen

Objetivo: El presente estudio investiga la presencia de *Helicobacter pylori* en pacientes de una población colombiana con enfermedad gastro-duodenal benigna y realiza su genotipificación usando como blanco los genes *babA2* e *iceA*. **Pacientes y Métodos:** Se analizaron

biopsias gástricas de 60 pacientes usando histopatología y RPC. **Resultados:** La presencia de *H. pylori* se demostró en 78,3%, 63,3% y 66,7% de los pacientes, mediante tinción de Giemsa, amplificación del gen *16S ADNr* y del locus *iceA*, respectivamente. *Helicobacter pylori* *babA2* positivo se encontró infectando 7 pacientes y de las 40 muestras positivas para la presencia del locus *iceA*,

35% eran *iceA1*, 47,5% *iceA2* y en 17,5% se evidenció infección múltiple. Se aportan datos sobre la prevalencia de *H. pylori* encontrando una baja proporción de casos *babA2* positivos y una distribución de los genotipos *iceA* acorde con datos reportados previamente. La presencia de los genes *babA2* e *iceA* no se encontró asociada con la presentación de úlcera.

Referencias

- 1.- Marshall B J, Warren J R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-5.
- 2.- Blaser M J, Atherton J C. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; 113: 321-33.
- 3.- Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* Infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-86.
- 4.- Rivas-Traverso F, Hernández F. *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. *Rev Biomed* 2000; 11: 187-205.
- 5.- Logan R P, Walker M M. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Br Med J* 2001; 323: 920-2.
- 6.- Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W, et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 12778-83.
- 7.- Quiroga A, Cittelly D, Bravo M. Frecuencia de los genotipos *babA2*, *oipA* y *cagE* de *Helicobacter pylori* en pacientes colombianos con enfermedades gastroduodenales. *Biomédica* 2005; 25: 325-34.
- 8.- Castillo G, Mazarí M, López Y. *Helicobacter pylori*: Focus on CagA and VacA major virulence factors. *Salud Publica Mex* 2004; 46: 538-48.
- 9.- Boren T, Normark S, Falk P. *Helicobacter pylori*: molecular basis for host recognition and bacterial adherence. *Trends Microbiol* 1994; 2: 221-8.
- 10.- Yu J, Leung W K, Go M Y, Chan M C, To K F, Ng E K, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* *babA2* status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. *Gut* 2002; 51: 480-4.
- 11.- Falk P G, Roth K A, Boren T, Westblom U, Gordon J I, Normark S. An *in vitro* adherence assay reveals that *Helicobacter pylori* exhibits cell lineage-specific tropism in the human gastric epithelium. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 2035-9.
- 12.- Falk P G, Bry L, Holgersson J, Gordon J I. Expression of a human alpha-1,3/4-fucosyl-transferase in the pit cell lineage of FVB/N mouse stomach results in production of Leb-containing glycoconjugates: a potential transgenic mouse model for studying *Helicobacter pylori* infection. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92: 1515-9.
- 13.- Oliveira A G, Santos A, Guerra J B, Rocha G A, Rocha A M, Oliveira C A, et al. *babA2*- and *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains are associated with duodenal ulcer and gastric carcinoma in Brazil. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3964-6.
- 14.- Yamaoka Y, Soucek J, Odenbreit S, Haas R, Arnqvist A, Boren T, et al. Discrimination between cases of duodenal ulcer and gastritis on the basis of putative virulence factors of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2244-6.
- 15.- Zamboni C F, Navaglia F, Basso D, Rugge M, Plebani M. *Helicobacter pylori* *babA2*, *cagA*, and *s1 vacA* genes work synergistically in causing intestinal metaplasia. *J Clin Pathol* 2003; 56: 287-91.
- 16.- Peek R M, Thompson S A, Donahue J P, Tham K T, Atherton J C, Blaser M J, et al. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a *Helicobacter pylori* gene, *iceA*, that is associated with clinical outcome. *Proc Assoc Am Physicians* 1998; 110: 531-44.
- 17.- Figueiredo C, Quint W G, Sanna R, Sablon E, Donahue J P, Xu Q, et al. Genetic organization and heterogeneity of the *iceA* locus of *Helicobacter pylori*. *Gene* 2000; 246: 59-68.
- 18.- Xu Q, Morgan R D, Roberts R J, Xu S Y, van Doorn L J, Donahue J P, et al. Functional analysis of *iceA1*, a CATG-recognizing restriction endonuclease gene in *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 3839-47.
- 19.- van Doorn L J, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, et al. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998; 115: 58-66.
- 20.- Wu C C, Chou P Y, Hu C T, Liu Z C, Lin C Y, Tseng Y H, et al. Clinical relevance of the *vacA*, *iceA*, *cagA*, and *flaA* genes of *Helicobacter pylori* strains isolated in Eastern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2913-15.
- 21.- Dixon M F, Genta R M, Yardley J H. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-81.
- 22.- Thoreson A C, Borre M B, Andersen L P, Elsborg L, Holck S, Conway P, et al. Development of a PCR-based technique for detection of *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1995; 10: 325-33.
- 23.- Zeng Z, Hu J, Hu S, Pang R, Chen M, Sung J. Association of interleukin 1B gene polymorphism and gastric cancers in high and low prevalence regions in China. *Gut* 2003; 52: 1684-9.
- 24.- Thoreson A C E, Borre M L P, Andersen F, Jorgensen S, Kiilerich J, Scheibel, et al. *Helicobacter pylori* detection in human biopsies: a competitive PCR assay with internal control reveals false results. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 24: 201-8.
- 25.- Hardin F J, Wright R A. *Helicobacter pylori*: Review and update. *Hosp Physician* 2002; 38: 23-31.
- 26.- Premoli G, González A, Millán-Mendoza, Percoco T, Vielmas A. Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Rev Cubana Med Trop* 2004; 56: 85-90.
- 27.- Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 280-322.
- 28.- Bravo L E, Cortés A, Carrascal E, Jaramillo R, García L S, Bravo P E, et al. *Helicobacter pylori*: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. *Colomb Med* 2003; 34: 124-31.
- 29.- Martínez J D, Henao S C, Granados C. La gastritis crónica atrófica corporal y la edad. *Rev Col Gastroenterol* 2007; 22: 17-22.
- 30.- Araya J C, Anabalón L, Roa I, Bravo M, Villaseca M A, Guzmán P, et al. Relación de la genotipificación de *Helicobacter pylori* con la forma e intensidad de la gastritis en población adulta portadora de patología gástrica benigna. *Rev Méd Chile* 2004; 132: 1345-54.
- 31.- Bayerdörffer E, Oertel H, Lehn N, Kasper G, Mannes G A, Sauerbruch T, et al. Topographic association between active gastritis and *Cam-pylobacter pylori* colonization. *J Clin Pathol* 1989; 42: 834-9.
- 32.- Lundin A, Björkholm B, Kupersmidt I, Unemo M, Nilsson P, Andersson D I, et al. Slow genetic divergence of *Helicobacter pylori* strains during long-term colonization. *Infect Immun* 2005; 73: 4818-22.
- 33.- Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y,

- Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the *babA2* genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 2463-5.
- 34.- Kim S Y, Woo C W, Lee Y M, Son B R, Kim J W, Chae H B, et al. Genotyping CagA, VacA subtype, IceA1, and BabA of *Helicobacter pylori* isolates from Korean patients, and their association with gastroduodenal diseases. *J Korean Med Sci* 2001; 16: 579-84.
- 35.- Cittelly D M, Huertas M G, Martínez J D, Oliveros R, Posso H, Bravo M M, et al. Los genotipos de *Helicobacter pylori* en gastritis no atrófica difieren de los encontrados en úlcera péptica, lesiones premalignas y cáncer gástrico en Colombia. *Rev Méd Chile* 2002; 130: 143-51.
- 36.- Ashour A A, Birchal G, Nogueira E, Ribeiro V, Queiroz D M, Prazeres P, et al. *iceA* Genotypes of *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian children and adults. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1746-50.
37. Nimri L F, Matalaka I, Hani K B, Ibrahim M. *Helicobacter pylori* genotypes identified in gastric biopsy specimens from Jordanian patients. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 27.
38. Lai C H, Kuo C H, Chen Y C, Chao F Y, Poon S K, Chang C S, et al. High prevalence of *cagA*- and *babA2*-positive *Helicobacter pylori* clinical isolates in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3860-62.