



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO

**DETERMINACIÓN EN EQUINOS FINA SANGRE DE CARRERA
DE *Helicobacter pylori* EN MUCOSA GÁSTRICA POSITIVA A
LA PRUEBA DE UREASA MEDIANTE LA TÉCNICA DE PCR**

PABLO TEODORO SALAH JAAR

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGÍSTER EN CIENCIAS ANIMALES Y VETERINARIAS**

**Santiago-Chile
2012**



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS y PECUARIAS
ESCUELA DE POSTGRADO Y POSTÍTULO

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

SE INFORMA A LA DIRECCIÓN DE POSTGRADO Y POSTÍTULO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS, QUE LA TESIS DE MAGÍSTER PRESENTADA POR EL CANDIDATO

PABLO TEODORO SALAH JAAR

HA SIDO APROBADA POR LA COMISIÓN EVALUADORA DE TESIS COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS ANIMALES Y VETERINARIAS CON MENCIÓN EN PATOLOGÍA ANIMAL, EN EXAMEN DE DEFENSA DE TESIS RENDIDO EL DÍA 17 DE OCTUBRE DE 2012

DIRECTOR DE TESIS

DR. ADOLFO GODOY P.

COMISIÓN EVALUADORA E INFORMANTE DE TESIS

DR. LUIS IBARRA M.

DR. JULIO LARENAS H.

**Esta Tesis de Grado se realizó en el Laboratorio de Medicina Interna y Cirugía
Equina del Departamento de Ciencias Clínicas de la Facultad de Ciencias
Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile**



PABLO TEODORO SALAH JAAR

Nacido en Viña del Mar el 27 de marzo de 1971, hijo de Don Teodoro Salah Jaque y Rosemarie Jaar Brahim, primera generación de inmigrantes Palestinos nacida en Chile. Su infancia, adolescencia y juventud la vivió en la ciudad de Santiago. Casado el año 2002 con Silvia Madain Nahum y padre de dos hijos Tarek y Soher.

Su primera formación fue en el Colegio Británico Craighouse para luego finalizar su enseñanza media en el liceo Rafael Sotomayor. Cursó un año de Administración de Predios Agrícolas mención Ganadería en INACAP, para luego darse cuenta que su orientación vocacional hacia las ciencias veterinarias era más potente, por lo que decide estudiar Medicina Veterinaria pasando a formar parte de la historia de la Universidad Santo Tomás, siendo uno de los integrantes de la primera generación de Médicos Veterinarios que egresaba de una universidad privada.

Obteniendo el grado académico de Licenciado en Ciencias Veterinarias y obteniendo el título de Médico Veterinario de la universidad Santo Tomás. Diplomado en Formación Docente en Educación Superior (UST) y Diplomado en Desarrollo Gerencial en la Escuela de Ingeniería Comercial (PUCV). Y Finalmente obteniendo el grado académico de Magister en Ciencias Veterinarias (U. de Chile).

Ingresa el año 1996 como médico de planta de la clínica veterinaria del hipódromo Valparaíso Sporting Club, obligándolo a retornar a la ciudad que lo vio nacer y permaneciendo en este cargo por 7 años.

Luego de 2 años de práctica de la profesión en forma privada y siempre en la especialidad de clínica y medicina de equinos de deporte, la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Santo Tomás sede Viña del Mar, toma contacto para buscar un centro de práctica, a partir de lo cual se genera una alianza estratégica con el Hipódromo local, lugar en el que se construye el Hospital Clínico Veterinario pasando a ser el más grande de la V región y transformándose a poco andar en centro de referencia y derivación de la zona.

Director del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Santo Tomás y docente de asignaturas de carácter profesional como semiología, medicina, procedimientos médicos e internado de Equinos de la misma casa de estudios en la que se desempeña desde 2006.

Con una fuerte inclinación por el arte dramático ha realizado estudios de Actuación Teatral participado en diferentes compañías de teatro tanto en Santiago como en Valparaíso, actualmente siendo miembro de ATEVA (Agrupación Teatral Valparaíso).

A mi esposa Silvia y a mis hijos Tarek y Soher por su paciencia y comprensión.

A mi madre Rosemarie por su incondicional apoyo

.....y a mi padre Teodoro por haberme heredado su sabiduría.

INDICE DE CONTENIDOS

<i>Resumen</i>	6
<i>Summary</i>	7
<i>Introducción</i>	8
<i>Revisión bibliográfica</i>	9
<i>El Helicobacter</i>	9
<i>Factores de Virulencia</i>	11
<i>Motilidad y adhesión bacteriana</i>	11
<i>Actividad enzimática</i>	12
<i>Factores de Adherencia</i>	14
<i>Toxinas</i>	15
<i>Patogénesis</i>	16
<i>Transmisión</i>	17
<i>Colonización</i>	18
<i>Síndrome ulceroso gástrico en el equino</i>	21
<i>Métodos diagnósticos</i>	24
<i>Gastroscopía</i>	25
<i>Test de Ureasa</i>	26
<i>Reacción en Cadena de Polimerasa</i>	28
<i>Hipótesis</i>	34
<i>Objetivos</i>	34
<i>Objetivo general</i>	34
<i>Objetivos específicos</i>	34
<i>Material y métodos</i>	35

<i>Análisis estadístico</i>	38
<i>Resultados y discusión</i>	39
<i>Gastroscopía</i>	39
<i>Test de ureasa</i>	41
<i>Reacción en cadena de polimerasa</i>	42
<i>Conclusiones</i>	48
<i>Bibliografía</i>	49
<i>Anexos</i>	63

ÍNDICE DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro n° 1	
Metodología diagnóstica de infección por <i>Helicobacter pylori</i>	24
Cuadro n° 2	
Comparación de sensibilidad y especificidad de los métodos diagnósticos.....	25
Cuadro n°3	
Clasificación de lesiones en mucosa gástrica según Bertone (2004).....	26
Cuadro n° 4	
Oligonucleotidos utilizados como partidores para <i>Helicobacter pylori</i>	32
Cuadro n° 5	
Carga Bacteriana Según tiempo de reacción del Test de Ureasa.....	36
Cuadro n°6	
Distribución porcentual de lesiones en mucosa gástrica.....	39
Cuadro n° 7	
Carga bacteriana según tiempo de reacción del test de ureasa.....	41
Figura n° 1	
Cambio colorimétrico del test de ureasa.....	36
Figura n° 2	
Resultados de electroforesis posterior a PCR.....	43

RESUMEN

Introducción: El síndrome ulceroso gástrico en equinos FSC se asocia principalmente a factores de manejo y alimentación, sin embargo al igual que en otras especies se ha postulado el eventual rol que pudiese jugar la presencia de *Helicobacter pylori* en el desarrollo de esta enfermedad. El objetivo de este trabajo es evaluar en caballos que presenten la enfermedad la presencia de la bacteria y así contribuir al conocimiento de la etiopatogenia del cuadro.

Material y Métodos: En 45 equinos con diagnóstico gastroscópico de úlcera gástrica se obtuvo una muestra de la lesión por biopsia, la cual fue sometida a test rápido de ureasa HE-PY Test (BIOS Chile), se seleccionaron aquellas muestras positivas con mayor carga bacteriana, en total 13, las cuales se analizaron mediante técnica de PCR, con un par de partidores HP01 y HP02 de secuencias conocidas. Los resultados se expresaron mediante distribución de frecuencias de los valores cualitativos. En las muestras al test de ureasa se usó prueba de hipótesis para muestras asociadas mediante distribución de X^2 . En el caso de los elementos coincidentes se determinó la correlación de Spearman.

Resultados y discusión: Las lesiones de la mucosa gástrica se clasificaron en cuatro grados: 25,1% grado 1, 45%, 13,3% y 16,6% grados 2, 3 y 4 respectivamente. Los test de ureasa se clasificaron según tiempo que demoró en virar el color asociándolo a la carga bacteriana; 25% con ausencia de carga bacteriana, 38,3% carga bacteriana baja, 25 % moderada y 11,6% alta carga bacteriana. Aquellas muestras con alta carga bacteriana y el 50% de muestras con carga moderada fueron sometidas a PCR para *H. pylori*, lo que arrojó como resultado un 14,3% de muestras positivas a *H. pylori*, demostrando así una alta sensibilidad del test de ureasa, sin embargo una baja especificidad en el equino, debido al alto porcentaje de falsos positivos (85,7%).

Conclusiones: Existe presencia de *H. pylori* en el equino fina sangre de carrera asociado a lesión de mucosa gástrica. Un 48,8% de las muestras viraron antes de 24 hrs. lo que indica una moderada a alta carga bacteriana, asociada a grados 2, 3 y 4 de lesión en la mucosa gástrica.

SUMMARY

Introduction: The equine gastric ulcer syndrome is mainly associated with feeding and management factors, however, as in other species has been postulated the possible role that could play the presence of *Helicobacter pylori* in the development of this disease. The aim of this study is to assess horses presenting disease the presence of bacteria and thus contribute to the understanding the pathogenesis.

Material and Methods: In 45 horses with gastroscopic diagnosis of gastric ulcer was sampled by biopsy of the lesion, which underwent rapid urease test HE-PY Test (BIOS Chile), those positive samples were selected more bacterial load, a total of 13, which was analyzed by PCR with a pair of primers HP01 and HP02 known sequences. The results were expressed as frequency distribution of qualitative values. In samples with urease test was used for hypothesis testing samples associated with X^2 distribution. In the case of the matching elements are determined Spearman correlation.

Results and discussion: The mucosal gastric lesions were classified into four grades: grade 1 25.1%, 45%, 13.3% and 16.6% grade 2, 3 and 4 respectively. The urease test were classified as in turn delayed while associating color to bacterial load, 25% with no bacterial, low bacterial presence 38.3%, 25% moderate and 11.6% high bacterial presence. Those samples with high bacterial presence and 50% samples with moderate bacterial presence were subjected to PCR to *H. pylori*, showing results in 14.3% of samples positive for *H. pylori*, demonstrating high sensitivity of urease test, but low specificity in the horse, due to the high percentage of false positives (85.7%).

Conclusions: The presence of *H. pylori* in thoroughbred race horses associated with gastric mucosal lesion. A 48.8% of the samples within 24 hrs tacked. indicating a moderate to high bacterial counts associated with degrees 2, 3 and 4 of gastric mucosal injury.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es el principal agente causal de gastritis en el ser humano y participa en forma significativa en el desarrollo de úlceras pépticas y neoplasias gástricas. Actualmente se conocen muchas bacterias del género *Helicobacter* que son patógenos gástricos de humanos y animales domésticos y salvajes. Por otra parte la úlcera gástrica constituye una de las principales patologías que afectan tanto la mucosa gástrica como duodenal en la mayoría de los mamíferos, humanos y no humanos dentro de los cuales se encuentra el equino.

Las bacterias del género *Helicobacter* de ubicación gástrica exclusiva son organismos microaerófilos, de forma espiral, Gram negativos que producen la enzima ureasa (Fox y Lee, 1997), dicha característica le permite sobrevivir en el medio ambiente gástrico a diferencia de las especies no gástricas (intestinal y hepática) que no sobreviven al no poder sintetizar esta enzima (Dubois, 1995) (Fox *et al.*, 1996).

El síndrome de úlcera gástrica es una patología que frecuentemente afecta al equino fina sangre de carrera, con una prevalencia que oscila entre el 53% y el 90% dependiendo principalmente de la actividad del caballo (Bushman *et al.*, 2005). En el estudio de Bezdekova *et al.* (2005) se obtuvo un 62% de prevalencia de úlcera gástrica en caballos de carrera. Según Merritt en 2003 la incidencia de úlcera gástrica en equino fina sangre de carrera en entrenamiento excede el 90% y la presentación clínica varía de acuerdo con la magnitud de la lesión. Los signos clínicos van desde un proceso asintomático, pérdida de peso progresiva, debilidad anorexia, bruxismo, ptialismo, emaciación, perforación gástrica, peritonitis, abdomen agudo recurrente, bajo rendimiento deportivo, entre otros.

En el desarrollo de la úlcera gástrica en caballos existen varios factores predisponentes, tales como: la anatomía del estómago, dieta, restricción de alimentos, estrés y el uso de AINES (Bushman *et al.*, 2005). Se han sugerido en el hombre tres vías principales de transmisión para esta bacteria gastro-oral,

fecal-oral y oral-oral, ya que se ha evidenciado el aislamiento de la bacteria en heces y saliva (Fox *et al.*, 1996). En el equino en caso de participar esta bacteria en la etiopatogenia del cuadro ulceroso gástrico, podría darse una transmisión de tipo iatrogénica, por el uso frecuente de sondas naso-gástricas y endoscopios, de un animal a otro sin la higiene necesaria (Megraud, 1995; Tygat, 1995; Oshowo *et al.*, 1998).

Si bien es cierto la infección con *Helicobacter pylori* es de vital importancia en la etiología de úlcera gástrica en el hombre (Marshall y Warren, 1984), el rol de *Helicobacter sp.*, en equinos es aún desconocido.

Dada la alta prevalencia de úlceras gástricas en equinos fina sangre de carrera y las enormes pérdidas económicas que se producen en la industria ecuestre por esta causa, sumado al desconocimiento en relación al eventual rol que pudiese jugar la infección bacteriana por *Helicobacter sp.* en la génesis del cuadro, se hace necesario contribuir al estudio de esta patología evaluando la presencia de este microorganismo en mucosa gástrica de manera de atribuirle, al igual que en otras especies, un rol en la etiopatogenia de la enfermedad. Así mismo explicaría por qué los caballos que no presentan los factores predisponentes descritos anteriormente como; estrés fisiológico, inadecuado manejo alimentario y uso indiscriminado de AINES aún muestran, aunque en menor porcentaje, úlceras gástricas, de esta manera se podría conformar una explicación multifactorial en la génesis del cuadro en esta especie.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

EL HELICOBACTER

Más de 24 especies de *Helicobacter* se han identificado, colonizando tanto al hombre como a una amplia variedad de animales (Harper *et al.*, 2002). Sin embargo se ha visto la presencia de *Helicobacter sp.*, por medio de test rápido de ureasa en la mucosa gástrica de un equino. Al respecto, Valenzuela *et al.*(2004) en un estudio realizado en potrillos clínicamente sanos demostraron la presencia de bacterias de morfología curva o espiralada, ureasa positiva “concordantes” con *Helicobacter* en la mucosa del *fundus* gástrico de estos animales.

Diversas investigaciones han documentado los daños producidos en la mucosa gástrica de humanos por parte de este microorganismo, produciendo patologías como gastritis crónica, enfermedad gastroesofágica, úlcera péptica, adenocarcinoma gástrico y linfoma (Covacci *et al.*, 1999).

Se han descrito numerosas especies de *Helicobacter* que afectan a las diferentes especies animales, La patogenia resulta ser más compleja que en el hombre, ya que los animales domésticos pueden ser colonizados por varias especies de *Helicobacter* y a veces por múltiples especies bacterianas en forma simultánea (Happonen *et al.*, 1998).

Bacterias espiroidales Gram negativo infectan aproximadamente al 50% de la población humana, la mayoría desarrolla gastritis crónica activa la que puede persistir por décadas en forma asintomática y una minoría presentar signos clínicos y en todos los casos existe el riesgo de generar procesos gástricos malignos, adenocarcinoma y linfoma (Panthel *et al.*, 2003). Por otra parte Buchanan *et al.*, (2005) describe que entre el 60 a 90% de los animales domésticos cursan con patología gástrica generada por bacterias espiroidales Gram negativas.

Según estudios realizados por Cardona *et al.*, (2009) en caracterización histopatológica de gastritis asociada a *Helicobacter sp.* en estómago de equinos, el grupo con mayor presentación de bacterias de tipo *Helicobacter sp.* fue aquel con úlceras grado 3 y 4. Respecto al tipo de úlcera asociado a bacterias del género *Helicobacter sp.* se encontraron gastritis crónica, gastritis crónica activa y gastritis eosinofílica crónica, siendo la gastritis crónica activa la de mayor presentación.

Sin embargo, es necesario recordar la capacidad de la bacteria de estimular la producción de ureasa, la cual participa en la colonización de la mucosa gástrica y en la supervivencia del microorganismo en el PH ácido del estómago. Más aún, la ureasa por sí misma y el amonio como producto final del desdoblamiento, tiene una función importante en la respuesta inmune, ya que el amonio actúa como factor quimiotáctico que activa a los monocitos y leucocitos polimorfonucleares para liberar citoquinas, ocasionando una respuesta inflamatoria localizada con daño del tejido del epitelio gástrico (Cardona *et al.*, 2009).

Dada la importante asociación entre la infección por *H. pylori* con el cáncer gástrico y la úlcera péptica se hace importante eliminar este agente. Sin embargo, debido a que pocos individuos desarrollan sintomatología clínica se hace necesario conocer los marcadores de virulencia de cada uno de los genotipos, la tipificación de loci como *cag A*, *vac A* e *ice A*, es útil para definir cepas asociadas con úlcera péptica y cáncer gástrico, cada una de ellas presenta diferencias en la citotoxicidad e inducción de citoquinas pro-inflamatorias (Cittely *et al.*, 2002).

FACTORES DE VIRULENCIA

Motilidad y Adhesión Bacteriana

La morfología de *Helicobacter* le brinda su principal ventaja, al ser en espiral lo que le permite penetrar más fácilmente en ambientes viscosos como el mucus gástrico. Esto se ha demostrado con la especie *H. pylori* (Hazell *et al.*, 1986). Estudios en biopsias de mucosa gástrica de humanos revelaron que la

morfología en espiral de la bacteria era mucho más pronunciada en aquellos microorganismos que estaban libres en el mucus en lugar de los adheridos (Hazell *et al.*, 1986).

Este proceso de adhesión altera la morfología y fisiología de las células del epitelio gástrico, al mismo tiempo que activa ciertas funciones bacterianas; siendo tóxica para el tejido epitelial (Happonen, 1999).

Aunque el proceso de adhesión no se conoce completamente, tres proteínas han sido implicadas: HopS (BabA), HopP (SabA) y HopH (OipA). La primera, HopS (BabA) es la mejor conocida, una proteína externa de membrana de 78 kDa que se adhiere a antígenos glicosilados del grupo sanguíneo Lewis b (Le (b)) que corresponde a un sistema de antígenos solubles sintetizados en el sistema digestivo. La segunda, HopH además de intervenir en procesos de adhesión promueve la inflamación, incrementando los niveles de interleukina 8 (IL-8). La proteína HopP, interviene en la adhesión bacteriana a glicoconjugados que contienen ácido siálico (Suerbaum y Michetti, 2002; Ramírez y Sánchez, 2009).

Actividad Enzimática

Bacterias del género *Helicobacter* en especial *H. pylori*, liberan varias enzimas que pueden causar daño celular mediante mecanismos directos o indirectos. Dentro de las más importantes se encuentra la ureasa, catalasa, fosfolipasas, entre otras.

Ureasa:

El jugo gástrico normal posee un pH < 4, el cual le confiere un carácter bactericida y por tanto capaz de eliminar a muchas de las bacterias que llegan al estómago con la ingesta de agua y alimentos, por ello fisiopatológicamente se hace referencia al estómago como la “barrera ácida”. Por lo tanto, la colonización de la mucosa gástrica por *H. pylori*, implica la capacidad de esta bacteria para sobrevivir en ese ambiente ácido. Pero estudios posteriores demostraron que el pH óptimo para su cultivo está cercano a la neutralidad, por lo que aún no existía explicación para su tolerancia ante un pH tan ácido (Rivas y Hernández, 2000). La

ureasa es la respuesta a la adaptación de esta bacteria en el pH gástrico (Eaton *et al.*, 1991).

La mayoría de los *Helicobacter* gástricos hasta ahora aislados tienen una enzima similar, por lo que podría ser una importante característica en la colonización (Turbett *et al.*, 1992). La ureasa es una de las enzimas más importantes y características de *Helicobacter* gástricos especialmente de *H. pylori* representando un 5% de las proteínas solubles presentes (Hu y Mobley, 1990). Esta enzima tiene un peso molecular de 600 kDa y es codificada por siete genes denominados *ureA* a *ureG* (Mobley, 1996).

Esta enzima se encuentra en el citosol, pero también se puede localizar en la superficie, aunque esto puede ser un artefacto o tratarse de un mecanismo no específico para la exportación de la enzima. Esto último provocaría una intensa respuesta de inmunoglobulinas séricas en el huésped (Mobley, 1996).

La enzima ureasa (urea amidohidrolasa) cataliza la hidrólisis de urea para proporcionar amonio y carbamato, el cual se descompone para producir otra molécula de amonio y ácido carbónico, con lo cual neutraliza el microambiente de las glándulas gástricas colonizadas. El efecto neto de esas reacciones es un aumento del pH, proporcionando un medio adecuado para la bacteria (Rivas y Hernández, 2000). La actividad enzimática de *Helicobacter sp.*, es regulada por un canal de urea dependiente de pH (UreI) que se abre en medios con pH ácido y se cierra en medios con pH neutro (Ramírez y Sánchez, 2009).

Respecto a su rol en la patogénesis, los compuestos adicionales generados como el cloruro de amonio y la monocloramina ocasionarían un daño directo sobre las células epiteliales. El hidróxido de amonio generado durante la hidrólisis de urea contribuye significativamente al daño histológico; aunque debe enfatizarse que directamente el amonio no es tóxico, si no que el daño infringido es el resultado del ion hidróxido generado por el equilibrio del amonio con el agua (Rivas y Hernández, 2000).

Esta enzima es también antigénica, y activa el sistema inmunológico, produciendo un daño indirecto mediante el estímulo inflamatorio (Ramírez y Sánchez, 2009).

Fosfolipasas

La acción de las fosfolipasas altera la estructura e integridad de la mucosa gástrica, originando un cambio en su tensión superficial, hidrofobicidad y permeabilidad. La fosfolipasa A2 convierte la lecitina a lisolecitina (compuesto tóxico) produciendo injuria celular directa (Ramírez y Sánchez, 2009).

Catalasas

Particularmente *H. pylori* produce mayor cantidad de catalasa que la mayoría de bacterias. Esta enzima funciona como antioxidante y protege a la bacteria de los compuestos tóxicos de oxígeno, liberados por la activación de neutrófilos, permitiendo su supervivencia y proliferación en una mucosa dañada por la inflamación, además actividad enzimática proteolítica capaz de degradar el moco de la mucosa gástrica (Ramírez y Sánchez, 2009).

Factores de Adherencia

Un paso fundamental en la colonización es la capacidad de la bacteria de adherirse al epitelio gástrico (Logan, 1996). Esta adherencia ocurre mediante la interacción entre las adhesinas bacterianas y los receptores del hospedero que están representados por algunas proteínas de la matriz extracelular (Rivas y Hernández, 2000).

La adherencia puede inducir lesiones, estas son de tipo adhesión-esfacelación que corresponde a una adherencia densa con membranas necróticas que ocurre en la base de una úlcera y ultraestructuralmente son similares a las producidas por *E. coli* enteropatógena. Estas lesiones se caracterizan por la pérdida de las microvellosidades del epitelio gástrico en el sitio de adhesión, lo

que conduce a la formación de una estructura similar a un pedestal de unos 5 nm de diámetro, con uniones estrechas entre la bacteria y la superficie celular (Smoot *et al.*, 1993).

Helicobacter pylori infecta sólo mucosa de tipo gástrico, debido a la estrecha relación con la excreción de urea y posiblemente a la expresión de receptores en ese epitelio. En las lesiones duodenales, la colonización inicial se realiza en focos de metaplasia gástrica y nunca en epitelio intestinal, lo cual denota un alto grado de adaptación al nicho gástrico (Madsen *et al.*, 1991; O'Rourke *et al.*, 1992, Gold *et al.*, 1995).

La adhesión a la mucosa gástrica hace que la toxina se libere justo en el epitelio blanco. Además, estudios *in vitro* demuestran que la adherencia es necesaria para la inducción y liberación de citoquinas proinflamatorias; por lo tanto, la adherencia no debe ser considerada como un evento aislado sino más bien como parte de un proceso complejo que involucra quimiotaxis (Madsen *et al.*, 1991).

Toxinas:

Helicobacter pylori puede inducir la formación de vacuolas en una gran variedad de células eucariotas. Inicialmente se pensó que dicha acción no era de carácter tóxico, pues no era neutralizada por antitoxinas bacterianas; además, el amonio liberado por la actividad de la ureasa puede inducir un daño similar.

Posteriormente se logró purificar la toxina responsable de tal alteración, la cual debido a su acción ha sido denominada "toxina vacuolizante", ya que ella induce la formación de vacuolas en las células afectadas, hallazgo que también se ha constatado en biopsias de pacientes afectados (Leunk *et al.*, 1988; Rivas y Hernández, 2000). La identificación del gen responsable de esta toxigenicidad llevó a resultados incongruentes, puesto que la mayoría de las cepas contenían ese gen, ahora conocido como *vacA* ("vacuolization associated gen") (Rivas y Hernández, 2000).

Las cepas bacterianas *vacA* (+) expresan la citotoxina VacA, proteína de 87 kDa, capaz de causar injuria celular gástrica *in vitro* e *in vivo*. La virulencia de la toxina VacA parece estar relacionada a un receptor de tirosina fosfatasa en las células del epitelio gástrico. Cepas de *H. pylori* con diferente alelo de *VacA* tienen diferente toxicidad (Ramírez y Sánchez, 2009).

Debido a que aun no existía respuesta para la incongruencia entre la citotoxicidad y la presencia del gen *vacA*, se continuaron los estudios que llevaron al hallazgo del gen *cagA* ("cytotoxin associated gen") cuya presencia se relaciona con la expresión del gen *vacA* y por lo tanto con la toxigenicidad. Además, está presente sólo en las cepas aisladas de pacientes sintomáticos (Blaser, 1996; Oldani *et al.*, 2009).

Las cepas que expresan el gen *cagA* han sido asociados a un mayor grado de severidad de gastritis, daño epitelial superficial, úlcera duodenal, metaplasia intestinal y atrofia de la mucosa gástrica. La expresión del gen *cagA* también está asociada a una mayor frecuencia de lesiones precancerosas (Leunk *et al.*, 1988). Por lo tanto, la identificación de los genes *vacA* y *cagA* permite identificar las cepas con mayor virulencia y por tanto asociadas con cuadros clínicos más severos.

PATOGÉNESIS

La patogénesis de *H. pylori* puede describirse en 3 etapas (McGee y Mobley, 1999):

- a) Entrada y colonización en la mucosa gástrica, considerando algunos factores predisponentes (estrés, AINES, etc.), mucolisis, acción citotóxica y adhesividad.
- b) Evasión del sistema inmune específico y no específico.
- c) Multiplicación, generación de daño tisular y transmisión a un nuevo hospedero susceptible o diseminación a un tejido vecino (acción citotóxica, incremento de pH y estímulo constante en producción de gastrina y HCL) (Valdés y Astudillo, 2007).

Transmisión:

Se han propuesto tres alternativas de transmisión: oral-oral, gastro-oral y fecal-oral (Lee *et al.*, 1991; Axon, 1995).

Transmisión oral-oral:

Esta ruta ha sido propuesta debido al hallazgo de *Helicobacter* en placa dental humana (Scarano *et al.*, 2005; Sepúlveda *et al.*, 2008), canina (Recordati *et al.*, 2007), saliva de animales y humanos (Fox *et al.*, 1996; Recordati *et al.*, 2007) o la identificación de su genoma en saliva (Nguyen, *et al.*, 1993). La mayoría de estas detecciones se realizaron mediante la prueba de PCR convencional y PCR de tiempo real, que pueden detectar una carga bacteriana inferior (Axon, 1995).

Transmisión gastro-oral:

Esta ruta está más orientada a una vía de contagio iatrogénica, mediante las secreciones gástricas que quedan después de una deficiente desinfección de los equipos de uso gástrico (Endoscopios, pinzas de biopsias, etc.) (Langenberg *et al.*, 1990; Katoh *et al.*, 1992), otra alternativa sería la mala manipulación de muestras, principalmente por el no cumplimiento de medidas de bioseguridad durante procedimientos médicos (Mitchell *et al.*, 1989).

Transmisión fecal-oral

Esta vía está relacionada con el medio ambiente y los niveles socioculturales, debido a la diferencias en la prevalencia de *H. pylori* que existe en países en vías de desarrollo (80% a 90%) con países desarrollados (30% a 50%). Mediante examen PCR en equinos solo uno de 10 equinos tuvo una reacción positiva al PCR para *H. equorum* en heces, a pesar que ninguno de los equinos examinados fue positivo a la biopsia gástrica para la misma especie (Ghil *et al.*, 2009).

El *Helicobacter equorum* es Gram negativo, curvo, móvil y ureasa negativo (Moyaert *et al.*, 2007). En Venezuela estudios preliminares reportan la presencia de ADN de organismos similares a *Helicobacter* en mucosa gástrica del 65% de caballos Pura Sangre de Carrera (Morales *et al.*, 2006). En modelos experimentales *in vivo* *H. equorum* no parece ser potencialmente patógeno en caballos (Moyaert *et al.*, 2007). A pesar de los resultados reportados en modelos experimentales *in vivo*, es de capital importancia considerar la interacción de *H. equorum* con factores involucrados en el desarrollo del síndrome ulceroso gástrico equino, tal como el manejo, el estrés, la dieta, el uso de agentes terapéuticos como antiinflamatorios no esteroideos (AINES), entre otros; lo cual es un foco de investigación futura en el equino (Morales *et al.*, 2006).

Una forma en la cual podría ser importante esta vía de transmisión (fecal – oral) sería mediante la contaminación del agua y alimentos. Al respecto, se ha detectado ADN de *Helicobacter sp.* en agua de consumo y algunos estudios epidemiológicos muestran asociación entre las infecciones y el tipo de agua empleada para el consumo, así como la ingesta de vegetales crudos regados con aguas no tratadas (Macenlle *et al.*, 2006).

Colonización:

La colonización es el conjunto de mecanismos usados por el microorganismo para persistir en el estómago a diferencia de la patogénesis que no siempre se causara daño al colonizar un lugar (Hirsh y Cheng- Zee, 1999).

El lugar de colonización de *Helicobacter* parece ser diferente en animales a diferencia del humano, en estos últimos generalmente es en la zona del antro pilórico (González-Carbajal *et al.*, 2009). En equinos se obtuvo un 40% de muestras positivas en la región fúndica v/s un 22,5 % en la zona antral (Cardona *et al.*, 2009).

Luego del ingreso y ubicación del *Helicobacter* en el estómago, este libera enzimas extracelulares similares a la pepsina, que junto con el hidróxido de

amonio generado en la hidrólisis de la urea, desdoblan el mucus gástrico, volviéndolo más fluido y facilitando el movimiento en este medio (Rivas y Hernández, 2000). La mayoría de estos microorganismos nadan libremente dentro de la mucosidad que está en constante renovación. Para permanecer en el moco *H. pylori* utiliza sus flagelos polares adaptados al medio ácido para movilizarse. Tanto la capacidad de nadar con el movimiento flagelar y la habilidad de controlar la dirección del movimiento es debido a respuestas quimiotácticas que son esenciales para la colonización (El-Omar, 2000).

Si los cambios de pH que genera el *helicobacter* en el mucus gástrico se eliminan de forma experimental, *H. pylori* pierde su organización espacial, y, si la bacteria se expone a un pH de 4 o menor, pierde su motilidad en cuestión de minutos (Schreiber *et al.*, 2004). Como se mencionó anteriormente *H. pylori* tiene la capacidad de licuar la capa de mucus, perdiéndose la integridad de la barrera conocida como gradiente de bicarbonato, dejando expuesta la mucosa a la acción del HCL y la pepsina, colaborando con la génesis de la gastritis, por otra parte las células G de la mucosa estarán detectando un pH neutro, debido a la acción de la ureasa bacteriana, que promoverá la liberación de gastrina para estimular la producción de ácido, y mantener la barrera ácida. Pero mientras la bacteria persista seguirá neutralizando su microambiente. Esto último explica que los pacientes cursen con hipergastrinemia e hiperacidez gástrica lo que agrava el cuadro (Levi y Dollery, 1989; Hernández y Rivera, 1989; Rivas y Hernández, 2000; Ramírez y Sánchez, 2009).

Otros factores relacionados con inflamación y daño tisular son los siguientes:

Interleuquina-8: Péptido secretado por algunas células del organismo que actúa como un potente mediador inflamatorio reclutando y activando neutrófilos. Estudios han demostrado que el *H. pylori* es capaz de inducir la secreción de esta interleuquina (Crabtree *et al.*, 1995).

Adhesión de neutrófilos: *H. pylori* poseería una proteína denominada HP-PAN (*H. pylori*-proteína activadora de neutrófilos) capaz de aumentar la expresión de neutrófilos CD11b/CD18 y su adherencia a las células del endotelio (Evans *et al.*, 1995).

Factor activador de plaquetas (PAF): Es reconocido como un potente agente ulcerogénico, siendo capaz de estimular la secreción de ácido gástrico a través de receptores específicos de células parietales. LYSO-PAF es la molécula precursora de PAF que no causa daño en la mucosa gástrica, pero *H. pylori* sería capaz de metabolizarla a PAF. Siendo otro método por el cual se induciría lesión directamente a través de PAF o por medio de la secreción de ácido (Sobhani *et al.*, 1996).

Ureasa: Esta enzima es un potente estimulador de células mononucleares, activador de fagocitos y producción de citoquinas inflamatorias. Además activa el estallido respiratorio de neutrófilos, leucocitos y monocitos (Suzuki *et al.*, 1992). Por otra parte extractos acuosos con alta concentración de ureasa pueden activar monocitos mediante una vía LPS-independiente (Mai *et al.*, 1991).

Mucinasas: junto con la fosfolipasa contribuirían a la alteración de la barrera mucosa gástrica al modificar la capa de fosfolípidos en la membrana apical de las células mucosas (Dunn *et al.*, 1997).

SÍNDROME ULCEROSO GÁSTRICO EN EL EQUINO (SUGE)

La ulceración gástrica es la afección más común del estómago del equino y su prevalencia se ha incrementado considerablemente, este trastorno se puede poner de manifiesto de muchas maneras y produce compromiso variable, desde leve y sin consecuencias a grave y debilitante (Murray, 1994).

El estómago equino está recubierto por epitelio escamoso estratificado de la región dorsal y en la región ventral, por epitelio glandular; estos epitelios cumplen distintas funciones y tienen distinta susceptibilidad a la lesión péptica. La porción escamosa no cumple ningún papel absorbente ni secretor y actúa como reservorio de la ingesta. La mucosa escamosa equina no tiene barrera de superficie frente al ácido clorhídrico y el epitelio posee propiedades limitadas para prevenir la lesión péptica, por lo cual la protección frente a esta lesión depende de una exposición limitada a las secreciones gástricas ácidas (Mair *et al.*, 2003).

El epitelio glandular gástrico equino tiene similitud histológica y fisiológica con el de otros animales y humanos. Secreta ácido clorhídrico, agua y electrolitos y también produce una variedad de mediadores endocrinos. Esta mucosa glandular cuenta con mecanismos elaborados que la protegen de la lesión péptica como una barrera de moco/bicarbonato que previenen la retrodifusión del ácido clorhídrico, el flujo sanguíneo de la mucosa, los mecanismos de restitución celular y los factores de crecimiento que promueven la cicatrización de la mucosa. El flujo sanguíneo depende de la síntesis de prostaglandinas y óxido nítrico en la mucosa (Murray, 1994).

El ácido clorhídrico es secretado por las células parietales mediante la bomba de $H^+ - K^+$ ATPasa la que dependerá de la estimulación del nervio vago, la gastrina y la histamina; ésta última parece ser el estímulo más potente de la secreción ácida gástrica en el equino (Hojgaard *et al.*, 1996).

De acuerdo a Hojgaard *et al.* (1996) postulan que el equino secreta ácido clorhídrico en forma continua, incluso mientras el caballo no come. La acidez gástrica disminuye durante la ingesta debido a que se estimula la secreción de saliva rica en bicarbonato que neutraliza cierta cantidad de ácido gástrico y el forraje absorbe las secreciones gástricas evitando que contacten con la mucosa. En cuanto el caballo deja de comer la acidez gástrica se incrementa con rapidez, el pH gástrico cae a valores inferiores a 2, y la acidez se mantiene elevada mientras el caballo no ingiere alimento.

Una exposición excesiva al ácido clorhídrico y a la pepsina genera daño en la mucosa gástrica. Las lesiones escamosas se forman en el plazo de 24 - 48

horas en equinos que no ingieren alimento. El segmento glandular sufre lesiones cuando existe deterioro de la resistencia mucosa que permite la exposición al ácido clorhídrico y la pepsina. Esto puede ocurrir durante procesos patológicos o tras la administración excesiva de antiinflamatorios no esteroidales (AINES) (Mair *et al.*, 2003).

El síndrome ulceroso gástrico equino (SUGE) incluye la inflamación y ulceración de la mucosa gástrica (gastritis aguda, gastritis crónica, erosión ulceración péptica y gastropatía) (Murray, 1994; Merritt, 2003). De etiología multifactorial y asociada a factores de estrés como la liberación de catecolaminas y cortisol, ejercicio intenso generando una acidosis metabólica no compensada, manejo, dieta y calidad nutricional, enfermedades subyacentes y uso de fármacos como anti inflamatorios no esteroidales (Andrews *et al.*, 2005).

Otros estudios han evidenciado seroconversión y detección de ADN del género *Helicobacter* en caballos (Hepburn, 2004). Se ha logrado el aislamiento de *H. equorum*, una nueva especie de éste género desde las heces de equinos (Moyaert *et al.*, 2007).

El síndrome ulceroso gástrico ha sido bien documentado en varias disciplinas y grupos etarios. La incidencia de úlcera gástrica en equino fina sangre de carrera en entrenamiento excede el 90% y la presentación clínica varía de acuerdo con la magnitud de la lesión, los signos clínicos son anorexia, bruxismo, ptialismo, emaciación, perforación gástrica, peritonitis, abdomen agudo recurrente, bajo rendimiento deportivo, entre otras (Merritt, 2003).

Estudios recientes mostraron una prevalencia del 96% de gastritis y úlcera gástrica en equinos fina sangre de carrera en el hipódromo de “La Rinconada” en Venezuela (Morales *et al.*, 2006).

Sin embargo, los animales que pastan en praderas y desarrollan actividades leves, poseen estómagos normales o simplemente pueden presentar erosiones leves, mientras que en los caballos de alto rendimiento, que se encuentran en entrenamiento o estabulación presentan lesiones de mayor

gravedad como úlceras activas y la prevalencia puede llegar hasta un 90% (Murray, 2003).

La mayoría de los datos actuales incluyen a los caballos de alto rendimiento como los fina sangre de carrera, siendo la mucosa escamosa el sitio de mayor presentación de lesiones ulcerosas, con una prevalencia que oscila entre el 70% y el 94%, pudiendo alcanzar el 100% en la medida que aumenta el entrenamiento, sin embargo se ha encontrado prevalencias entre 10% y 40% en la mucosa glandular, siendo menos frecuente por su sistema intrínseco de defensa (Nadeau, 2000).

Alimentación de equinos basada en concentrados y granos presentan mayor prevalencia de úlceras gástricas frente a aquellos que en su dieta predomina el heno de alfalfa, ya que inducen mayor respuesta postprandial de gastrina, la cual es un estímulo potente para la secreción de ácido clorhídrico, mientras que en los animales con dietas con alto contenido de fibra y proteína presentan prevalencias menores, debido a que la fibra estimula la producción de saliva, la cual con su alto contenido de bicarbonato y factor de crecimiento epidermal, contrarresta la acidez gástrica, igualmente la proteína podría actuar como buffer (Nadeau *et al.*, 2000). También se reporta la presencia de úlceras subclínicas en la mucosa escamosa en animales clínicamente sanos (Vatistas *et al.*, 1999).

Con respecto a la relación entre el sexo y la presentación de úlceras gástricas, se ha encontrado que existe mayor riesgo en los machos castrados, pudiendo deberse a la disminución de la testosterona, la cual cumpliría su papel en la estimulación del factor de crecimiento epidermal salival, que bloquea las secreciones ácidas y estimula la migración epitelial de la mucosa gástrica, algo parecido ocurre en el caso de las hembras donde son las hormonas femeninas las que estimulan el factor de crecimiento epidermal, por lo que se explica que en yeguas el riesgo de úlceras es relativamente más bajo (Rabuffo *et al.*, 2002).

MÉTODO DIAGNÓSTICO

Generalidades

Métodos de diagnóstico de la infección por *Helicobacter sp.* se pueden clasificar en invasivos y no invasivos según El cuadro n° 1:

Cuadro n° 1: Métodos de diagnóstico de infección por *Helicobacter sp.* (Ramírez y Sánchez, 2009)

Métodos no invasivos	Métodos invasivos
Test de la urea en aliento	Test de la ureasa en mucosa gástrica
Serología	Histología
Detección de antígeno en heces	Citología
Reacción en cadena de la polimerasa	Cultivo

No existe un método estándar 100% efectivo para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter sp.* El método diagnóstico más apropiado, depende del contexto clínico del paciente, la necesidad de realizar o no la endoscopia gástrica, las fortalezas y debilidades de cada método y finalmente el costo (Chey y Wong, 2007).

Cuadro n° 2: Cuadro comparativo de sensibilidad y especificidad de cada método diagnóstico (Gisbert, 2006).

TEST	SENSIBILIDAD %	ESPECIFICIDAD %	COSTO
Biopsia	99	99	Alto
Serología	88	69	Bajo
Antígeno en heces	87	70	Medio
Urea en aliento	93	92	Alto

Si los medios permiten la gastroscopía, el método de elección son los invasivos y dentro de éstos el test de ureasa en el tejido biopsiado del antro pilórico es el indicado (Chey y Wong, 2007).

Gastroscopía

La muestra ideal es la biopsia gástrica a nivel de antro. La combinación de muestras de antro y cuerpo, y más aún, su maceración previa a la inoculación, aumenta las probabilidades de aislamiento (Goodwin *et al.*, 1985). Por otra parte, los raspados de mucosa gástrica o el jugo gástrico no son recomendables para el aislamiento de esta bacteria, pues su nicho ecológico son los espacios intercelulares, manteniéndose unida a las células en contacto muy íntimo (Hernández y Rivera, 1989). Si se requiere transportar las muestras un buen medio es la solución salina fisiológica (Coudron y Kirby, 1989).

El cuadro nº 3 muestra el sistema internacional de clasificación por asignación de puntajes de las úlceras gástricas en equinos descrito por Bertone (2004).

Cuadro nº 3: clasificación de lesiones en mucosa gástrica (Bertone, 2004).

Puntaje	Clasificación	Descripción
0	Mucosa normal	Epitelio intacto
1	Alteración no erosiva	Mucosa intacta, pero con áreas de enrojecimiento o hiperqueratosis.
2	Erosión pequeña leve	Lesiones pequeñas únicas o multifocales.
3	Erosiones extensas o leve ulceración	Lesiones únicas o multifocales de mayor tamaño, se presentan como úlcera superficiales con hiperemia y leve a moderada hiperqueratosis.
4	Moderada ulceración	Lesión extensa con áreas poco profundas y leve proliferación de la mucosa y puede haber alteración vascular.
5	Grave ulceración	Ulceración multifocal o generalizada de aspecto profundo con moderada proliferación de la mucosa y hemorragia activa leve.
6	Grave ulceración extensa	Área extensa de ulceración profunda, proliferación extensa de la mucosa y hemorragia marcada.

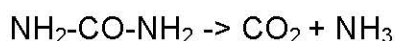
Test de ureasa

Las pruebas de ureasa se basan en la detección de la enzima de origen bacteriano, la cual es extremadamente activa. Esta es capaz de hidrolizar la urea tan rápidamente, que vira el caldo de urea de Christensen al momento de ser inoculado. Basándose en esta propiedad se han ideado varios métodos de diagnóstico presuntivo, en los cuales se inocula el tejido de la biopsia, intacto o macerado, en una solución de urea del 2 al 6 % conocido como caldo de

Christensen o en el medio "CLO test". Todos estos test se basan en el uso del rojo de fenol al 0,2 % como indicador de pH (Hernández y Rivera, 1989).

Existe una serie de diversas versiones del método, y en general se basan en que la hidrólisis de la urea provoca liberación de CO₂ y NH₄, con el consiguiente aumento del pH, lo que se pone de manifiesto por un cambio en el color de un indicador ácido-base. En el mercado se consiguen diversas pruebas comerciales como CLOtest ®, PyloriTek ® y Hpfast ®, cuya carta de presentación es una alta sensibilidad y especificidad y un tiempo de lectura corto (Rivas y Hernández, 2000).

El fundamento de la prueba rápida de la ureasa consiste en detectar la presencia de la enzima de la siguiente forma: *H. pylori* descompone la urea en anhídrido carbónico y amoníaco, lo cual genera un pH básico que va a ponerse en evidencia mediante el cambio de color del medio de naranja-amarillo a rosa fuerte debido a la acción del indicador de pH (Alarcón, 2004).



La prueba de la ureasa rápida se puede realizar directamente con la muestra de biopsia gástrica, obtenida mediante endoscopia digestiva alta. Se recomiendan dos biopsias, una de cuerpo y otra de antro para el diagnóstico. Las muestras pueden ser inoculadas en la misma sala de endoscopias por lo que no necesitan ningún medio de transporte (Alarcón, 2004).

La potencia de la ureasa es muy superior a la de otras bacterias, incluida *Proteus sp.* y *Pseudomona sp.*, estas representarían sólo el 5% de las bacterias del estómago equino productoras de ureasa, por lo que los falsos positivos del test son muy marginales (Valenzuela *et al.*, 2004).

Reacción en cadena de la Polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction* [PCR]) es una técnica biotecnológica que tiene como fin el amplificar o reproducir *in vitro* un número de copias de una región específica de ADN, con la finalidad de reproducir cantidad suficiente de un fragmento para su evaluación (Premoli *et al.*, 2004).

Los métodos de biología molecular, especialmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han aportado una ayuda considerable no solo en el campo del diagnóstico de la infección sino también en la tipificación bacteriana, en la detección de los factores genéticos responsables de la virulencia y en la resistencia a los antibióticos (Montserrat, 1999).

Es un método muy sensible y específico, que permite obtener resultados rápidos y a diferencia del cultivo las muestras no requieren de un método de transporte especial. Sin embargo, son técnicas laboriosas que requieren personal experimentado por no disponer de preparados comerciales y no están estandarizadas para su utilización como método de rutina en el diagnóstico de la infección (Montserrat, 1999).

El ADN del *Helicobacter pylori* consta de 1,65 millones de pares de bases que codifican alrededor de 1.500 proteínas. Este genoma cambia constantemente debido a la activación y supresión de genes, mediante el proceso de mutagénesis e importación de pequeñas piezas de ADN foráneo de otras cepas de *Helicobacter pylori* (Suerbaum y Michetti, 2002).

El genoma del *Helicobacter pylori* le confiere a este organismo la habilidad de colonizar, evadir y modular la respuesta inmune del huésped, alterar la expresión de ciertos genes en las células del epitelio, sobrevivir y adaptarse al medio gástrico (Suerbaum y Michetti, 2002, Ramírez y Sánchez, 2009).

Según Ramírez *et al.*, (2009) algunos de estos genes variables codifican enzimas que modifican la estructura antigénica de las moléculas de su superficie, controlan la entrada de ADN foráneo y regulan la motilidad bacteriana.

Se han diseñado diferentes iniciadores de secuencias de genes: fragmentos crípticos clonados del cromosoma de *Helicobacter pylori*, secuencias de nucleótidos de la subunidad A del gen que codifica la producción de la enzima ureasa, así como de sus subunidades B, C y D, secuencias altamente conservadas del gen 16S ARNr entre otros (Chao y Bello, 2005).

Los estudios de biología molecular demuestran que entre el 60 y el 70% de las cepas de *H. pylori* poseen el gen *cagA* y prácticamente todas expresan la proteína de alto peso molecular (128 kDa) codificada por este gen. Todas las cepas de *H. pylori* presentan el gen *cagA* pero solo alrededor del 50% producen la citotoxina (66 kDa), que induce la vacuolización de las células eucariotas (Atherton *et al.*, 1995).

La PCR permite identificar los genes característicos de *H. pylori*. El mayor interés radica en la detección del gen *CagA*, que identifica las células más virulentas relacionadas con la úlcera o en la investigación del gen *vacA* que se ha asociado con una mayor producción de citotoxinas. La búsqueda de estos genes se puede realizar directamente sobre la biopsia o a partir de la cepa aislada en el cultivo (Domingo *et al.*, 2002).

Se han realizado diferentes modificaciones sobre la metodología base de la PCR, como PCR anidada y PCR con transcriptasa inversa a partir de ARNr, que aumentan la sensibilidad de la técnica (Chao y Bello, 2005).

El 2004, Premoli *et al.*, postulan que el diagnóstico por PCR de *H. pylori* tiene una sensibilidad y especificidad de 95% y su principal ventaja es que se puede detectar el microorganismo sin importar la viabilidad de la bacteria en las muestras.

Chao y Bello en el 2005, han demostrado que la mayoría de estos métodos tienen 100% de sensibilidad y varios estudios sugieren que el PCR es tan sensible como el cultivo, para confirmar la erradicación del microorganismo.

También existe la técnica de PCR utilizando muestras de heces, sin embargo son técnicamente difíciles ya que la presencia de polisacáridos en las heces, procedentes de vegetales de la dieta, inhibe la polimerasa. La especificidad es buena, pero la sensibilidad es baja (73%) (Gramley *et al.*, 1999).

La mayoría de las técnicas se basan en la PCR, tanto clásica como a tiempo real (Agudo, 2010), utilizándose para los siguientes objetivos:

- Detección de genes específicos de la bacteria: Se han utilizado diversos protocolos como el estudio del gen de la ureasa, el gen de la glutamato racemasa (*glmA*) o el gen 16S RNAr, entre otros (Woo *et al.*, 2009).

- Detección de factores de virulencia: Se puede detectar la presencia de diferentes factores de virulencia, como los tipos del gen *vacA* (Yamazaki *et al.*, 2006).

- Detección de mecanismos de resistencia: La técnica de PCR, tanto clásica como en tiempo real, se ha utilizado con éxito para detectar la resistencia a claritromicina, puesto que son capaces de detectar mutaciones puntuales en el gen 23S RNAr, que confieren resistencia a este antimicrobiano. También se ha aplicado la PCR en tiempo real para detectar la resistencia a tetraciclina debida a mutaciones en el 16S DNAr en biopsias gástricas (Stone 1997, Doorn 2001, Owen y Xerry, 2002, Alarcón 2003).

- Como métodos de tipado: Para comparar aislamientos de *H. pylori* cultivados del mismo paciente o de familiares (Achtman *et al.*, 1999).

Para la obtención del DNA bacteriano en forma general se utiliza un protocolo establecido previamente, en el cual una suspensión bacteriana (5×10^8 bacterias/mL en agua deionizada) es llevada a ebullición por 10 min para liberar el DNA e inactivar las nucleasas presentes. Luego de centrifugar a 13.000 rpm, por 1 minuto, el sobrenadante libre de residuos se emplea como fuente de DNA (Gómez *et al.*, 1999)

Los genotipos de *vacA* (*s1/s2*, *s1a*, *s1b*, *m1* y *m2*), el gen *cagA* y los alelos *iceA1* e *iceA2*, se evalúan por PCR y se emplean iniciadores reportados previamente (cuadro nº 4) (Atherton *et al.*, 1995).

Para la amplificación de los alelos de los genes *vacA* e *iceA* se realizan 35 ciclos de denaturación a 94°C/min, hibridación a 52°C/min, extensión a 72°C/min, y una extensión final a 72°C/5 min, de acuerdo al protocolo reportado por Yamaoka (1999). Para la amplificación del gen *cagA* se realiza una denaturación inicial de 9 min a 94°C, seguida por 40 ciclos de denaturación a 95°C/30 s; hibridación a 50°C/45 s y extensión 72°C/45 s, con una extensión final a 72°C/5 min. Los productos de amplificación son separados en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio (0,5 ug/mL) y visualizados con luz ultravioleta.

Cuadro nº 4: Oligonucleotidos utilizado como partidores (“primers”) para tipificar alelos de *vacA* de *H.pylori* (Atherton *et al.*, 1995)

Región amplificada	Designación del partidador	Secuencia del partidador	Tamaño y localización del producto del PCR
Vac A m1	VA3-F	5' GGTCAAATGCGGTCATGG 3'	290 pb (2741 – 3030 ^a)
	VA3-R	5'CCATTGGTACCTGTAGAAAC 3'	
Vac A m2	VA4-F	5' GGAGCCCCAGGAAACATTG 3'	352 pb (976-1327 ^b)
	VA4-R	5'CATAACTAGCGCCTTGAC 3'	
Vac A s1/s2	VA1-F	5'ATGGAAATACAACAAACACAC 3'	359 pb (797 – 1025 ^c)
	VA1-R	5'CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3'	
Vac A s1a	SS1-F ^e	5'GTCAGCATCACACCGCAAC 3'	286 pb (284 – 569 ^c)
Vac A s1b	SS3- F ^e	5'AGCGCCATACCGCAAGAG 3'	190 pb (866 – 1055 ^a)
Cag A	Cag AF (+)	5'TTGACCAACAACCACAAACCGAAG 3'	183 pb ^f
	Cag AR (-)	5'CTTCCCTTAATTGCGAGATTCC 3'	
IceA1	iceA1 F (+)	5'GTGTTTTTAACCAAAGTATC 3'	246 pb ^g
	iceA 1 R (-)	5'CTATAGCCASPYTCTTTGCA 3'	
Ice A2	iceA2 F (+)	5'GTTGGGTATATCACAAATTTAT 3'	229 o 334 pb
	iceA 2 R (-)	5'TTRCCCTATTTTCTAGTAGGT 3'	

^a Posiciones nucleotídicas en gen *vac A* de *H. pylori* 60190 (m1)

^b Posiciones nucleotídicas en gen *vac A* de *H. pylori* 87-203 (m2)

^c Posición de los nucleótidos del gen *vaca* de *H. pylori* Tx 30^a (s2)

^d Conocido por ser específico pero no existe publicada coordenadas exactas.

^e Empleado junto con *va 1 R*

^f Posición de acuerdo al ORF *cag A* en banco de genes secuencia L11714

^g Número de acceso de secuencia del banco de genes U43917 (*h. pylori* 60190)

Debido a que pocos individuos desarrollan alguna sintomatología a la infección por *helicobacter pylori* y dada la alta prevalencia de úlceras gástricas en equinos fina sangre de carrera y las enormes pérdidas económicas que se producen en la industria ecuestre por esta causa, sumado al desconocimiento en relación al eventual rol que pudiese jugar la infección bacteriana por *Helicobacter sp.* en la génesis del cuadro, se hace necesario conocer los posibles marcadores de cepas que permitan definir la asociación con patologías severas y contribuir al estudio de esta patología evaluando la presencia de este microorganismo en mucosa gástrica de manera de atribuirle, al igual que en otras especies, un rol en la etiopatogenia de la enfermedad y así mismo explicaría por qué los caballos que

no presentan los factores predisponentes muestran, aunque en menor porcentaje, úlceras gástricas, de esta manera se podría conformar una explicación multifactorial en la génesis del cuadro en esta especie.

El siguiente estudio tienen como objetivo demostrar la presencia de *Helicobacter pylori* en mucosa gástrica de equinos y de esta forma dar un punto de partida para futuras investigaciones sobre los potenciales riesgos de esta bacteria para la salud animal como humana.

HIPÓTESIS

Existe presencia de microorganismos helicoidales del género y especie *Helicobacter pylori* en muestras de mucosa gástrica positivas a test de ureasa de equinos fina sangre de carreras.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar muestras de mucosa gástrica para determinar presencia o ausencia de *Helicobacter pilory* en equinos Fina Sangre de Carreras.

Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de gastritis y úlcera gástrica en la población de equinos fina sangre de carrera del recinto deportivo Valparaíso Sporting Club.
- Relacionar la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* con el resultado positivo o negativo a test de ureasa.
- Caracterizar la presencia de *Helicobacter pylori* con el grado de Síndrome Ulceroso Gástrico en el Equino (SUGE) detectado mediante endoscopía, según el sistema internacional de clasificación por asignación de puntaje de las úlcera gástrica en equino descrito por Bertone, 2004.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se consideró una población de 450 equinos Fina Sangre de carrera correspondiente a la población de equinos adscritos al Hipódromo Valparaíso Sporting Club.

Al considerar la gastritis y úlcera gástrica con una prevalencia del 90% (Merritt, 2003) se trabajó con el 10 % de la población, es decir 45 equinos que estuviesen cursando con alguna de las patologías antes mencionadas.

Se realizó una selección al azar de equinos los que fueron sometidos a gastroscopía hasta recolectar 45 individuos positivos a lesión de la mucosa de fondo gástrico.

Previo a la gastroscopía los equinos se sometieron a un ayuno de 12 a 24 horas para mejorar la visualización de estructuras. Se utilizó xilacina al 10% en dosis 0,5 mg/kg endovenosa, para realizar el examen con tranquilidad y sin perturbar al paciente. La gastroscopía se realizó con un gastroscopio modelo VFS-300 con una longitud de 275 cm y un diámetro de 9,9 mm flexible (VetVu®).

En 45 equinos con lesión en mucosa gástrica se obtuvo una muestra de aproximadamente 1 mm de mucosa de fondo gástrico, basado en que en esta especie el lugar de colonización de *Helicobacter sp.*, a diferencia del humano, ocurre en un 40% en la región fúndica v/s un 22,5 % en la zona antral (Cardona *et al.*, 2009). La obtención de la muestra fue con pinza de biopsia a través del endoscopio.

Una vez obtenida la muestra de tejido, fue inmediatamente dispuesta en placas para test rápido de ureasa HE-PY Test (BIOS Chile) e incubadas a temperatura ambiente, se realizaron 45 test ureasa. Las lecturas se realizaron cada 30 minutos las primeras 3 horas y luego cada 1 hora hasta completar las 12 horas. Para luego leerlas a las 24 y a las 48 hrs. Se evaluó el cambio del color del medio de naranja-amarillo (negativo) a rosa fuerte (positivo), debido a la acción del indicador de pH.

Se registró la positividad del test como el tiempo en que le tomó a la muestra en virar el color, asociando los resultados de la actividad de la ureasa con la carga bacteriana según el cuadro n° 5 (Otto *et al.*, 1994).

Cuadro n° 5 Tiempo de reacción del test rápido de ureasa

Acción	Tiempo
No reacciona (-)	Dentro de las 48 hrs.
Carga bacteriana ausente (+)	Reacción positiva entre 24 y < 48 hrs.
Carga bacteriana baja (++)	Reacción positiva entre 12 y < 24 hrs.
Carga bacteriana moderada (+++)	Reacción positiva en < de 12 hrs.

Carga bacteriana según tiempo en que demora en virar el test rápido de ureasa (Otto *et al.*, 1994)



Figura n° 1: la figura n° 1 muestra el cambio colorimétrico del test de ureasa donde la imagen superior muestra un test negativo y la inferior un test positivo.

Aquellas muestras ureasa positivo fueron analizadas en el Centro biotecnológico BIOVETEC del Departamento de Ciencias Biológicas Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Se realizaron controles positivos utilizando DNA de *Helicobacter pylori* y control negativo sin DNA y test de ureasa negativo que también fue sometido a PCR con los mismos partidores como control negativo del estudio.

Para a identificar *H. pylori* se debe ampliar una región específica del ADN ribosomal 16S de la bacteria. Para eso se utilizó un par de partidores (primers) denominados HP01 y HP02, cuyas secuencias serán HP01: CTG GAG AGA CTA AGC CCT CC, HP02: ATT ACT GAC GCT GAT TGT GC. Estos iniciadores amplifican un fragmento de bajo peso molecular (109 pares de bases). Para todas las muestras de ADN, provenientes de la mucosa gástrica, se preparó una mezcla que contenga cerca de 200 µg de ADN total, 50 kDa de peso molecular de cada iniciador, el tampón de la Taq polimerasa (Gibco, NY, USA).

Las amplificaciones se realizaron con el ciclador térmico MJ Research (NY, USA), utilizando un ciclaje de 30 ciclos con 1 minuto a 92° C, como paso de denaturación, 1 minuto a 57°C para unir el primer al ADN y 2 minutos a 72° C como paso de extensión. Tras el ciclaje, los productos amplificados se pasaron a un gel de agarosa al 2%, se sometieron a electroforesis con 100V, durante aproximadamente 1-2 horas en tampón Tris-Borato, a pH 8,0, en presencia de bromuro de etilo. Tras la electroforesis, el gel se analizó con luz ultravioleta, para visualizar las bandas cromosómicas amplificadas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La expresión de resultados se realizó mediante la distribución de frecuencias de los valores cualitativos por ejemplo grado de SUGE y presencia o ausencia de *Helicobacter pylori*.

El análisis del diagnóstico entre presencia de *Helicobacter pylori* con el test de ureasa se realizó mediante prueba de hipótesis para muestras asociadas utilizando la distribución de X^2 con un nivel de significancia igual al 0,05%.

Se determinó el índice de correlación de Spearman, para medir asociación entre las variables. Una vez obtenidos los resultados se evaluó mediante la correlación de Spearman las significancia estadística entre la Gastroscofia, test de ureasa y PCR, encontrándose una correlación positiva entre el grado de gastroscopía y la carga bacteriana, sin embargo la correlación entre carga bacteriana y PCR para *Helicobacter pylori* no fue significativa como también la correlación entre grado de gastroscopía y PCR para *Helicobacter pylori*.

La concordancia entre la carga bacteriana y el grado de gastroscopía mostró una asociación estadísticamente significativa utilizando el estadístico de X^2 de máxima verosimilitud lo que hace más potente y a su vez más exigente la asociación.

Estos resultados se explican dada las discordancias entre las 2 pruebas diagnósticas, (PCR y Test de Ureasa) ya que hubo individuos positivos al test de ureasa, pero negativos a la PCR, este error puede deberse a ausencia de *H. pylori*, falla en la aplicación de la técnica o bien falla en la obtención de la muestra, ya que la distribución de la bacteria no es uniforme, por el contrario se dispone en placas, por lo que pudo haberse tomado una muestra poco representativa con nula carga bacteriana, lo que se traduciría finalmente en una muestra negativa a la PCR, pero positiva para el test de ureasa, producto de otras bacterias productoras de ureasa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Gastroscoopia

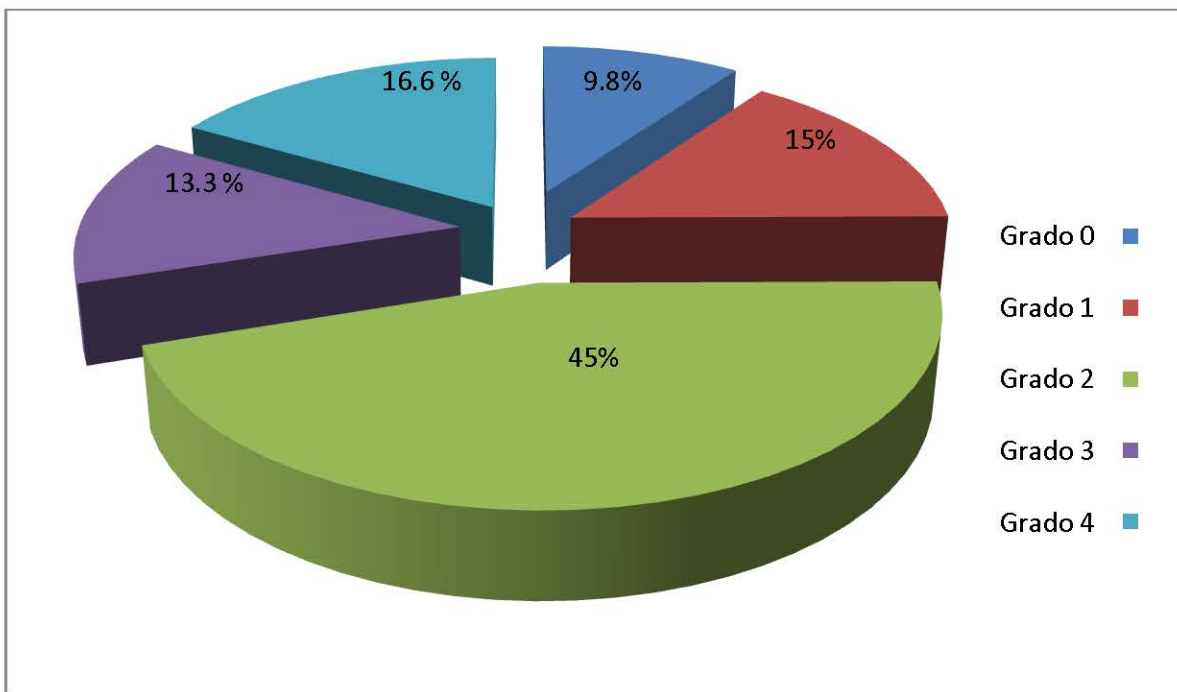
La evaluación mediante endoscopia mostró que solo 6 individuos de los 60 evaluados se encontraban sin lesiones en la mucosa gástrica, lo que concuerda con los estudios de Andrews *et al.*, el 2005 quienes hablan de una prevalencia de úlcera gástrica en el equino que varía entre el 53 y el 90% dependiendo de la población examinada y la actividad atlética del caballo. Sin embargo, hay que hacer una diferenciación según grado de la lesión en la mucosa gástrica, la cual se estandarizó según el grado de intensidad de las lesiones, establecida por el Consejo del Síndrome de Úlceras Gástricas en Equinos (Bertone, 2004).

Un 15 % de los equinos estudiados presentó lesión grado 1, un 45% lesión grado 2, un 13,3% grado 3 y un 16,6% grado 4, no encontrándose en este estudio equinos que estuviesen cursando con lesiones en la mucosa grado 5 o 6.

Cuadro n° 6 Distribución de lesiones en mucosa gástrica, en equinos fina sangre de carrera, según grado de SUGE

Grado	N°	%
0	6	9,8
1	9	15
2	27	45
3	8	13,3
4	10	16,6
Total	60	100

Gráfico n° 1 Distribución de lesiones en mucosa gástrica, en equinos fina sangre de carrera, según grado de SUGE



Como se observa en el gráfico nº 1 hay predominio de las lesiones grado 2, alcanzando prácticamente el 50 % de los equinos estudiados con erosiones en la mucosa gástrica. Los equinos que presentaron lesión de la mucosa grado 1 y 3 alcanzaron un 15 y 13,3 % respectivamente, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Zamora en 2011 quien obtuvo un comportamiento similar en equinos fina sangre de carrera. Es importante destacar que no se encontró ningún equino con lesiones superiores a grado 4, esto difiere de algunos estudios, como el de Cardona *et al.*, (2009) donde las úlceras gástricas de mayor presentación fueron grado 3 o 4, inclusive llegando a reportar individuos con úlceras grado 5 – 6 siendo estas las más severas. Esta diferencia puede deberse al manejo de los agentes que se apuntan como los generadores de úlcera alimentación, estabulación, estrés, uso de AINES.

La totalidad de las lesiones se ubicaron en la mucosa aglandular lo que concuerda con los estudios de Cardona *et al.*, 2009 quienes describieron un 40% de lesión en mucosa aglandular y solo un 20% de lesión en mucosa glandular.

Test de Ureasa

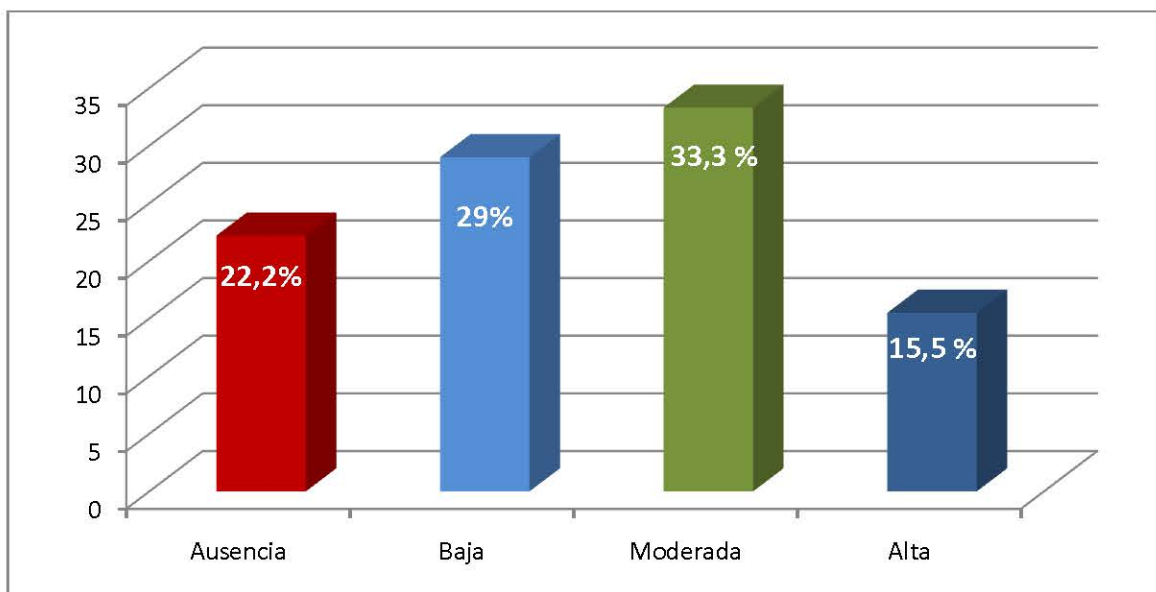
Los resultados obtenidos al realizar el test de ureasa fue que un 22,2 % de los diagnósticos, es decir 10 muestras presentaron ausencia de carga bacteriana y un 77,8 % presencia de bacterias que se distribuyó según su carga en alta, moderada y baja, mostrando un 29 % con baja carga bacteriana (viraje del test entre 24 y 48 hrs), un 33,3 % con moderada carga bacteriana (viraje del test entre 12 y 24 hrs) y solo un 15,5 % con alta carga bacteriana (viraje del test entre 0 y 12 hrs). Estos resultados son similares a los obtenidos por Cardona *et al.*, (2009) quienes obtuvieron un 62,5 % de test positivos y un 37,5 % de negativos, a diferencia de lo obtenido por Zamora (2011) donde un 53,84% de las muestras fue positiva y los obtenidos por Valenzuela *et al.*, 2004 que solo alcanzó a un 26 % de positivos, cabe destacar que los estudios de Valenzuela fueron realizados en potrillos a diferencia de todos los anteriores que se realizaron en equinos adultos.

Cuadro n° 7 Distribución de test de ureasa según carga bacteriana en mucosa gástrica de equinos fina sangre de carrera.

Tiempo de reacción al test de ureasa	Fondo gástrico N°	Fondo gástrico %	carga bacteriana
48 hrs.	10	22,2	Ausencia
24 - 48 hrs.	13	29	Baja
12 - 24 hrs.	15	33,3	Moderada
0 - 12 hrs.	7	15,5	Alta

Se debe considerar que la rapidez con la que se produce el cambio colorimétrico del test de ureasa, depende de la cantidad de ureasa que se produzca a partir del número de bacterias presentes en la muestra (Marshall y Warren, 1984).

Gráfico n° 2 Distribución de test de ureasa según carga bacteriana en mucosa gástrica de equinos fina sangre de carrera.



Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

El 100% de las biopsias con alta carga bacteriana mas el 50 % de las biopsias con moderada carga bacteriana fueron enviadas al laboratorio de microbiología de la Universidad de Chile para la realización del examen, cada muestra fue procesada para extracción de ADN, y amplificación por PCR. La presencia de infección con *H. pylori* se verificó mediante la aplicación de secuencia espaciadoras ribosomales características de esta especie.

De las muestras recibidas se extrajo el DNA mediante un método convencional que se basa en la precipitación del DNA utilizando alcoholes y la resuspensión en agua libre de nucleasas.

Este DNA purificado se utilizó para realizar un PCR punto final con partidores específicos para *Helicobacter pylori* utilizando como control positivo DNA de *Helicobacter pylori* purificado previamente.



Figura nº 2

En la Figura nº 2 se observa el resultado del PCR de los individuos en estudios, presentados en gel de agarosa.

Se analizaron 13 muestras, en donde los carriles del 1 al 10 y del 12 al 14 corresponden a las distintas muestras.

El carril 11 corresponde al estándar de peso de 1 kDa, los carriles 15 y 16 a controles positivos utilizando DNA de *Helicobacter pylori* y el carril 17 al control negativo sin DNA.

Las muestras que resultaron positivas presentaron un amplificado de aproximadamente 500 kDa y corresponden a los carriles 7 y 14.

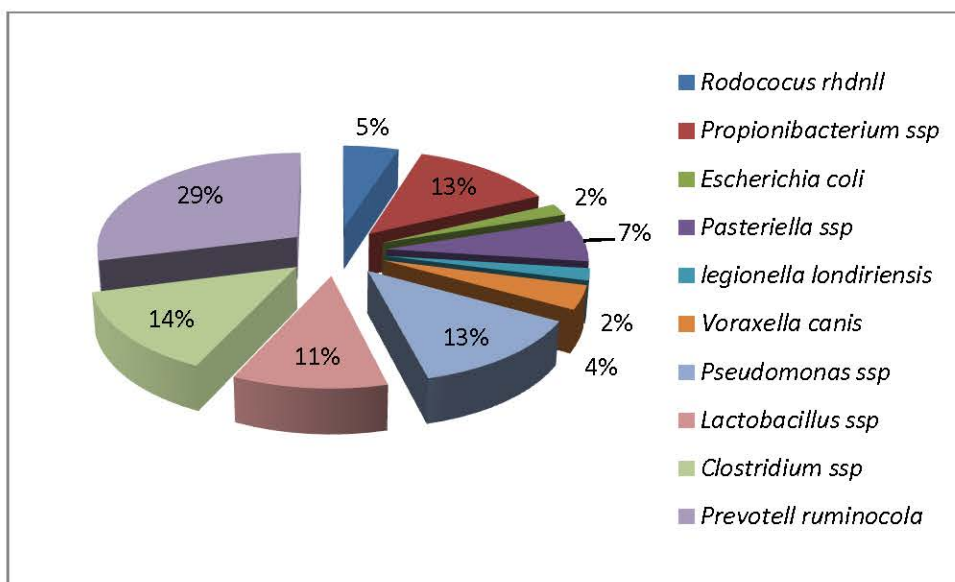
Los resultados obtenidos de la reacción en cadena de la polimerasa mostraron un 84% negativas y tan solo un 15% positivas a *Helicobacter pylori*. Se seleccionó la PCR como "Gold Standard", debido a su sensibilidad (>94%) y especificidad de un 100% que la hace ser superior a otros métodos (Sepúlveda, 2008). Resultados que concuerdan con los obtenidos por contreras donde se evaluaron 40 muestras *post mortem* encontrándose solo una muestra positiva a PCR para *Helicobacter pylori*.

Los negativos podrían explicarse según Sepúlveda (2008), por: baja sensibilidad del método, inóculo insuficiente para generar cantidad adecuada de ADN, ausencia de *H. pylori*, falla en la toma o traslado de la muestra o falla en la aplicación de la técnica. Esto discrepa con lo planteado por Premoli (2004), quién indica que la cantidad de material que hace falta para el inicio de la reacción es muy pequeña y solo es necesaria la cantidad de ADN bacteriano contenida en una sola célula.

Por otro lado está la microbiota del estómago equino contiene una gran variedad de bacterias en la mucosa gástrica, algunas de ellas productoras de ureasa, lo que podría generar un falso positivo en el test de ureasa y por ende una muestra negativa a la PCR.

En el estudio de Al Jassim *et al.*, (2008) en un grupo de equinos en Australia, determinó que la flora bacteriana residente estaba constituida por *Prevotella*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, *Legionella*, *Voraxella* y *Pasteurella*.

Gráfico n°: 3 Distribución de flora bacteriana según porcentaje en mucosa gástrica de equinos (Al Jassim *et al.*, 2008)



En el gráfico n° 3 se puede observar la diversidad de bacterias residentes en el estómago equino, dentro de las cuales *Escherichia coli* es ureasa (+) al igual que *Helicobacter pylori*.

La empresa Micron Bio-sistemas ha realizado estudios de población microbiana en estómago equino, obteniendo como resultado; que la población microbiana total se compone de *Clostridios*, *Estafilococos*, *Pseudomonas*, *Proteus* y levaduras del género *Candida*. Los cambios en este equilibrio de la composición microbiana a menudo se producen y representan una causa importante de trastornos digestivos. Esto es con frecuencia debido al desarrollo de las bacterias Gram negativas, en particular las cepas patógenas de *E. coli*.

En el estudio de Husted *et al.*, (2010), el objetivo era evaluar si las bacteria *Helicobacter* u otras, podrían estar involucrados en la etiología de las lesiones glandulares gástricas en equinos. Obtuvieron que en las muestras de las lesiones, así como en muestras normales se encontraron *Lactobacillus salivarius* y *Sarcina ventriculi*.

En erosiones focales se encontraron clones de *E. coli* y clones de *Enterococcus*, los cuales sobre la base de un árbol filogenético estos clones tenían 100% de similitud con *Escherichia coli* y *Enterococcus fergusonii*, donde *E. coli* se encontró colonizando la superficie de la mucosa, mientras que *E. fergusonii* se localizaron intraepitelialmente.

Por último Perkins *et al.*, (2012) caracterizaron la composición de la microbiota de la mucosa gástrica, por medio de la PCR, a través de biopsias de la mucosa escamosa, glandular, se obtuvieron a partir de 6 caballos sanos mediante gastroscopia y de 3 caballos de inmediato post-mortem, dividiéndose en 2 grupos. El grupo 1 compuestos de caballos que estaban estabulados, alimentados con heno, se tomaron muestras post-mortem y el grupo 2 de caballos que pastaban y eran además alimentados con heno realizándoles biopsia gástrica después de un ayuno de 12 horas.

Las bacterias dominantes en el grupo 1 fueron: *Streptococcus sp.*, *Lactobacillus sp.* y *Sarcina sp.* El grupo 2 fue más variado con predominio de *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Actinobacillus sp.*, *Moraxella sp.*, *Prevotella sp.*, y *Helicobacter sp.* El grupo 2 era el que estaba más expuesto al contagio ya que se alimentaban pastando, por esto se encontró más diversidad en los resultados.

Con lo expuesto anteriormente es posible apreciar la amplia gama de bacterias presentes en estómago equino, algunas con propiedades bioquímicas de ser productoras de ureasa, lo que podría efectivamente hacer virar el test de ureasa, sin embargo luego al ser sometido a PCR en busca de *Helicobacter pylori* arrojaría resultados negativos.

Si bien la factibilidad de aplicar la técnica de PCR a muestras tomadas para test de ureasa, como lo utilizado en el presente estudio, permite ampliar la información sobre la cepa infectante sin incrementar el número de biopsias (Kawaguchi, 2000). Hace imprescindible el cultivo de *H. pylori* en el estudio de su resistencia antibiótica. Además que la desventaja de las técnicas de PCR es que no define si el microorganismo detectado es o no viable, por lo que siempre debe ser guiado en paralelo con el cultivo de la biopsia gástrica (Sepúlveda, 2008).

Sería muy importante que estudios sobre la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* continúen con el fin de determinar el potencial zoonótico de dicha bacteria considerando los riesgos que implica tanto para animales como para seres humanos. La alta prevalencia de ulcera gástrica hace necesario determinar la génesis de esta, para dar un vuelco definitivo a los tratamiento habituales adicionando terapia antimicrobiana.

CONCLUSIONES

- Se encontró por primera vez *Helicobacter pylori* en la porción escamosa del estómago de equinos, sin embargo la presencia de éste no fue posible asociarla a un test de ureasa positivo ni a la presencia de gastritis o úlcera gástrica.
- La presencia de *Helicobacter pylori* se puede asociar a lesiones más severas de la mucosa gástrica.
- La obtención de un test de ureasa positivo, en el equino, solo indica presencia de bacterias productoras de ureasa, sin embargo no confirma presencia de *Helicobacter pylori*.
- La prevalencia de gastritis y/o úlcera gástrica está presente en un 90,2 % de los equinos Fina sangre de carrera adscritos al Hipódromo Valparaíso Sporting Club.

BIBLIOGRAFIA

Achtman M., Azuma T., Berg D., Ito Y. (1999). Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Molecular microbiology*,. 32 (3), pp.459-470

Agudo S. (2010). Estudio molecular de de los factores de virulencia de la resistencia a claritromicina en la infección por *Helicobacter pylori*. Tesis doctoral UCM.

Al Jassim R., McGowan T., McGowan C. (2008). Gastric Ulceration in Horses The role of bacteria and lactic acid. *Rural Industries Research and Development Corporation*. 1

Alarcón T., Baquero M., Domingo D., López M., Royo G. (2004). Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. 17.

Andrews F., Buchanan B., Elliot S., Clariday N., Edwards L. (2005). Equine Carbohydrate-Associated Disorders Symposium: Gastric ulcers in horses. *Journal of Animal Sciences* . 83 (E), pp.18-21

Atherton J., Cao P., Peek R., Tumururu M., Blaser M., Cover T. (1995). Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration.. *Journal of Biology and Chemistry*. 270 (1777), pp.1-7

Axon A. (1995). Review article: is *Helicobacter pylori* transmitted by the gastro-oral route?. *Alimentation and Pharmacology Threatment*. 9 (6), pp.585-588

Bertone, J. (2004). Equine gastric ulcer syndrome. . *10° congresso nazionale multisala sive. Perugia. Italia*.

Bezdekova B., Jahn P., Vysocil M., Plachy J. (2005). Prevalence of equine gastric ulceration in standardbred racehorses in Czech Republic. . *Scientific journal of the University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno*. 74, pp.59-65

Blaser M. (1996). *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *Journal of Infectious Diseases*. 161, pp.626-633

Buchanan F., Elliot B., Clariday S., Edwards N. (2005). Gastric ulcers in horses. *Journal of Animal Sciences* . 83 (E), pp.18-21

Cardona J., Paredes E., Fernández H. (2009). Caracterización histopatológica de gastritis asociada a la presencia de *Helicobacter sp.* en estómagos de caballos. *Revista MVZ Córdoba*. 14 (2), pp.1750-1755

Chao L., Bello M. (2005). Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. *Artículo Original*. 10, pp.201-219

Cittely D., Gutierrez O., Huertas M., Martínez J., Oliveros R., Posso H., Orozco O., Bravo M. (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*. 2, pp.130

Coudron P., Kirby D. (1989). Comparison of rapid urease test, staining techniques, and growth on different solid media for detection. *Journal of clinical microbiology*. 27 (7), pp.1527-1530

Covacci A., Telford J., Del Giudice G., Parsonnet J., Rappuoli R. (1999). *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. . *Science*. 284 pp.1328-1333

Crabtree, J., Covacci A., Farmery S., Xiang Z., Tompkins D., Perry S., Lindley I., and Rappuoli R. (1995). *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expression in

gastric epithelial cells is associated with cagA positive phenotype. *Journal of Clinical Pathology*. 48, pp.41-45

Chey W., Wong M. (2007). American College of Gastroenterology Guideline on the Management of *Helicobacter pylori* Infection. *The American Journal of Gastroenterology* . 102, pp.1808 – 1825

Contreras M., Morales A., García-Amado M. A., De Vera M., Bermúdez V., y Gueneadu P. (2007). Detection of Helicobacter - Like DNA in the gastric mucosa of thoroughbred horses. *Letters in Applied Microbiology*. (45), pp.553-557

Domingo D., Alarcon T., Vega A., García J., Martinez M., López-Brea M. (2002). Factores microbiológicos que afectan a la erradicación de *Helicobacter Pylori* de la población adulta y pediátrica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica* . 20 (9), pp.431-434

Dubois A. (1995). Spiral bacteria in the human stomach: the gastric *Helicobacters*. *Emerging Infectious Diseases*. 1 (3), pp.79-85

Dunn B., Cohen H., Blaser M. (1997). *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*. 10 (4), pp.720-741

Eaton K., Brooks C., Morgan D., Krakowka S. (1991). Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infection and Immunology*. 59, pp.2470-2475

Eaton K., Dewhirst F., Paster B., Tzellas N., Coleman B., Sherding R. (1996). Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. *Journal of clinical microbiology*. 34 pp.3165 - 3170

El-Omar E., Carrington M., Chow W. (2000). Interleukin-1 Polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 404, pp.398-402.

Evans, D., Jr., Evans D., Takemura T., Nakano H., Lampert H., Graham D., Granger D., Kvietys P. (1995). Characterization of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. *Infection and Immunology*. 63, pp.2213-2220.

Evans D., Evans D. Jr, Moulds J., Graham D. , (1988). N-acetylneuroaminylactose- binding Fibrillar haemagglutinin of *Campylobacter pylori*: a putative colonisation factor antigen. *Infection and Immunology*. 56, pp.2896-2906.

Fox J., Lee A. (1997). The role of *Helicobacter* species in newly recognized gastrointestinal tract diseases of animals. *Laboratory of Animal Sciences*. 47 pp.222-255

Fox J., Perkins S., Yan L., Shen Z., Attardo L., Pappo J. (1996). Local immune response in *Helicobacter pylori*-infected cats and identification of *H. pylori* in saliva, gastric fluid and faeces. *Immunology*. 88 (3), pp.400 – 406

Ghil H., Jong-Hyeon Y., Woo-Sung J., Tae-Ho Ch., Hwa-Young Y., Cheol-Yong H. (2009). Survey of *Helicobacter* infection in domestic and feral cats in Korea. *. Journal of Veterinary sciences*. 10 (1), pp.67-72

Gisbert J., De la Morena F. (2006). Systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 23, pp.35 – 44

Gold B., Dytoc A., Huesca M. (1995). Comparison of *Helicobacter mustelae* and *Helicobacter pylori* adhesion to eukaryotic cells in vitro. *Gastroenterology*. 109, pp.692-700.

Gómez J., Elizalde I., Marco F., Bordas J., Pique J., Jiménez de Anta M. (1999). Tipificación de cepas de *Helicobacter pylori* mediante la detección del gen *cagA* y subtipos del *vacA*. *. Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*. 17, pp.171-175

González-Carbajal M., Martínez L., Montero T., Cañete R. (2009). Diagnóstico mediante histología y test de ureasa de la infección por *Helicobacter pylori* en el Instituto Cubano de Gastroenterología. *Revista Panamericana de Infectología*. 11 (11), pp.7-10

Goodwin C., Worsley B. (1993). Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clinical of North America*. 22 (1), pp.5-19

Goodwin C., McCulloch R., Armstrong J., Wee H. (1985). Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in an new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *Journal of Medical Microbiology*. 19, pp.257-268

Gramley W., Asghar A., Frierson H., Powell S. (1999). Detection of *Helicobacter pylori* DNA in Fecal Samples from Infected Individuals. *Journal of clinical microbiology*. 37 (7), pp.2236-2240

Happonen I. (1999). Feline Gastric Helicobacters: Diagnosis and Significance in Chronic Gastritis. *Disertación Académica, Universidad de Helsinki, Facultad de Medicina Veterinaria* . pp.6-69

Happonen I., Jalava K., Stephen L., Peter A., Vandamme A., Marja-Liisa H. (1998). Isolation and Identification of *Helicobacter spp.* From Canine and Feline Gastric Mucosa. *Applied and Environmental Microbiology*. pp.3998-4006.

Harper C., Feng Y., Xu S., Taylor N., Kinsel M., Dewhirst F., Paster B., Greenwell M., Levine G., Rogers A., Fox J. (2002). *Helicobacter cetorum* sp., a Urease-Positive Helicobacter Species Isolated from Dolphins and Whales. *Journal of clinical microbiology*. 40, pp.4536-4543

Hazell S., Lee A., Brady L., Hennessy W. (1986). *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *Journal of Infection Disorders*. 153 (4), pp.658-663.

Hernandez F., Rivera P. (1989). *Helicobacter pylori* (*Campylobacter Pylori*): I. Un nuevo agente infeccioso asociado con gastritis y úlceras pépticas. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*. 10 (3), pp.47 – 56

Hepburn R. , (2004). Investigation into the Presence of Helicobacter in the Equine Stomach by Urease Testing and Polymerase Chain Reaction and Further Investigation into the Application of the 13C-Urea Blood Test to the Horse. *Master's Thesis, Title page for ETD*.

Hirsh D. y Cheng Zee Y. (1999). *Veterinary Microbiology. EEUU.Blackwell Science*. pp.479

Hojgaard I., Mertz N., Rune S. (1996). Peptic ulcer pathophysiology: acid, bicarbonate, and mucosal function.. *Scandinavian Journal of gastroenterology Supplement* . 21, pp.10-15

Hu L., Mobley H. (1990). Purification and N-terminal analysis of urease from *Helicobacter pylori*.. *Infection and Immunology*. 58, pp.992-998

Katoh M., Saito D., Noda T., Yoshida S., Oguro Y., Yazaki Y., Sugimura T., and Terada M. (1992). *Helicobacter pylori* may be transmitted through gastrofiberscope even after manual hyamine washing. *Japan Journal Cancer research*. 84, pp.117-119

Kawaguchi R., Yoshida H., Ogura K., Yamaji Y. (2000). Assessment of gastric carcinoma risk associated with *Helicobacter pylori* may vary depending on the antigen used. *Cancer*. 88 (7), pp.1530-1535

Langenberg W., Rauws E., Oudbier J., (1990). Tytgat GNPatient-to-patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiberoptic gastroduodenoscopy and biopsy. *Journal of Infection Disorders*. 161 (3), pp.507-511

Lee A., Fox J., Otto G., Hegedus D. y Krakowka S, (1991). Transmission of *Helicobacter Sp.* A Challenge to the Dogma of Faecal-Oral Spread .*Epidemiology and Infection* . 107 (1), pp.99-109

Leunk R., Johnson P., David B. (1988). Cytotoxic activity inbroth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *Journal of Medical Microbiology*. 26, pp.93-99

Levi S., Dollery C. (1989). *Campylobacter pylori*, duodenal ulcer disease and gastrin. *British Medical Journal*. 299 , pp.1003-1004

Logan R. (1996). Adherence of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacology therapy supplement*. 10, pp.3-15

Macenlle R., Gayoso P., Sueiro R., Fernández J. (2006). Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the general adult population of the province of Ourense. *Revista española de enfermedades digestivas*. 98 (4), pp.241-248

Madsen J., Vetvik S. (1991). Helicobacter-associated duodenitis and gastric metaplasia in duodenal ulcer patients. *APMIS*. 99 , pp.997-1000

Mai U., Pérez-Pérez G., Wahl L., Wahl S., Blaser M., Smith P. (1991). Soluble surface proteins from *Helicobacter pylori* activate monocytes/macrophages by lipopolysaccharide-independent mechanism. *Journal of Clinical Investigations*. 87, pp.894-900

Mair T., Divers T., Ducharme N. (2003). "Enfermedades del Estomago". inter-medica (ed), *Manual de gastroenterología equina*. 1st ed. Buenos Aires, Argentina: pp.283-288.

Marshall B., Warren J. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1 (8390), pp.1311-1315

McGee D., Mobley H. (1999). Mechanisms of *Helicobacter pylori* infection: bacterial factors. *Currents Topics in Microbiology and Immunology*. 241, pp.

Mégraud F. (1995). Transmission of *Helicobacter pylori*: faecal – oral versus oral – oral route. *Alimentary and Pharmacology Therapy*. 9, pp.85-91

Merritt A. (2003). The equine stomach: a personal perspective .*Conference paper. Proceedings of the 49th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, New Orleans, Louisiana, USA*. pp.75-102

Mitchell H., Lee A., Carrick J. (1989). Increased incidence of *Campylobacter pylori* infection in gastroenterologists: further evidence to support person-to-person transmission. *Scandinavian Journal of gastroenterology Supplement* . 24 , pp.396

Mobley H. (1996). The Role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. *Aliment Pharmacology therapy supplement*. 10, pp.57-64

Montserrat A., Elizalde J., Viver J., Gali M., Domínguez N., Calvet J., Feu X., Forne F. (1999). . Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in stool samples. *Gastroenterología y hepatología*. 22 (6), pp.270-272

Morales A., Bermúdez V., De Vera M., Contreras M., García M., Gueneau P. (2006). Multidisciplinary study of gastric ulcer in Thoroughbreds of Venezuela. *Veterinary pathology*. 45 (5), pp.

Morales A, Bermúdez V. (2008). Modelos animales para el estudio de la infección por el género *Helicobacter* en humanos. *Revista Sociedad Medica y quirúrgica Hospital de Emergencia Pérez de León*. 1, pp.0-33

Moyaert H., Decostere A., Vandamme P., Debruyne L., Mast J., Baele M., Ceelen L., Ducatelle R., Haesebrouck F. (2007). *Helicobacter equorum*, an urease-negative *Helicobacter* species isolated from horse feces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* . 57, pp.213-218

Murray M. (1992). Suppression of gastric acidity in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 211, pp.37-41

Murray M. (1994). The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian agris. *FAO.org Gastriculcers in adult horses*.

Murray M. (2003). 'Enfermedades del Estómago'. In: inter-médica (ed), *Manual de Gastroenterología Equina*. Mair, T. Divers, T. Ducharme, N . 1st ed. Buenos Aires , Argentina: pp.283-290.

Nadeau J., Andrews F. (2000). Equine gastric ulcer syndrome. . *The continuing conundrum Equine Veterinary Journal*. 41 (7), pp.611-615

Nguyen A., Engstrand L., Genta R., Graham D., Zaatari F. (1993). Detection of *H pylori* in dental plaque by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*. 31, pp.783-787

O'Rourke J., Lee A., Fox J. (1992). Helicobacter infection in animals: A clue to the role of adhesion in the pathogenesis of gastroduodenal disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 4, pp.31-37

Oldani A., Cormont M., Hofman V., Chiozzi V., Oregioni A., Canonici A., Sciullo A., Sommi P., Fabbri A., Ricci V., Boquet P. (2009). *Helicobacter pylori* counteracts the apoptotic action of its VacA toxin by injecting the CagA protein into gastric epithelial cells. *Plos Pathogens*. 5 (10), pp.1-15

Oshowo, A., D. Gillam, A. Botha, M. Tunio, J. Holton, P. Boulus, M. Hobsley. (1998). *Helicobacter pylori*: The mouth, stomach, and gut axis. *Annuary of periodontal* . 3, pp.276280

Otto G.; Hazell S., Fox J., Howelett C. O'rourke J., Lee A. (1994). Animal and public health implications of gastric colonization of cats by *Helicobacter*- like organisms. *Journal of clinical microbiology*. 32 (4), pp.1043-1049

Owen R., Xerry J. (2003). Tracing clonality of *Helicobacter pylori* infecting family members from analysis of DNA sequences of three housekeeping genes (urel, atpA and ahpC), deduced amino acid sequences, and pathogenicity-associated markers (cagA and vacA). *Journal of Medical Microbiology*. 52 (6), pp.515-524

Pantheil K., Faller G., Haas R. (2003). Colonization of C57BL/6 and BALB/c Wild-Type and Knockout Mice with *Helicobacter pylori*: Effect of Vaccination and Implications for Innate and Acquired Immunity. *Infection and Immunology*. pp.794-800

Premoli G., González A., Millán-Mendoza B., Percoco T., Vielma A. (2004). Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa Centro de Investigaciones Odontológicas, Mérida-Venezuela. *Revista Cubana de Medicina Tropical* . 56 (2), 85- 90pp.

Rabuffo T., Orsini J., Sullivan E., Engiles J., Norman T., Boston R. (2002). Associations between age or sex and prevalence of gastric ulceration in Standardbred racehorses in training . *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 221 (8), pp.1156-1159

Ramírez R., Sánchez A. (2009). *Helicobacter Pylori* 25 años después (1983 - 2008):epidemiología, microbiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento. . *Revista de Gastroenterología del Perú*. 29 (2), pp.158-170

Recordati C., Tosi S., Vailati R., Pengo G., Luini M., Simpsons K., Sacaziani E. (2007). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico . *Revista biomédica* . 11, pp.187-205

Rivas F. y Hernández F. (2000). *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. *Revista Biomédica*. 11, pp.187-205

Scarano P., Correia A., Marques M., Chimenos E., Castro R., Perdomo M. (2005). Detección de *Helicobacter pylori* en placa dental y en mucosa gástrica de pacientes sometidos a endoscopia digestiva. *Acta Odontológica Venezolana*. 43 (2), pp.

Schreiber S., Konradt M., Groll C. (2004). The spatial orientation of *Helicobacter pylori* in the gastric mucus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 101, pp.5024-5029

Sepúlveda E., Briceño C., Spencer L., Quilodrán S., Brethauer U., Moreno J. García A. (2008). Detección de *Helicobacter pylori* en mucosa gástrica y cavidad oral. *Acta de Gastroenteroogial Latinoamericana*. 19 (2), pp.73-79

Sobhani, I., A. Bado, Y. Cherifi, L. Moizo, J. P. Laigneau, D. Pospai, M. Mignon, and M. J. Lewin. (1996). *Helicobacter pylori* stimulates gastric acid secretion via platelet activating factor. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 47, pp.177-185

Smoot D., Resau J., Naab T. (1993). *Helicobacter pylori* stimulates gastric acid secretion via platelet activating factor.. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 47, pp.177-185

Suerbaum S., Michetti P. (2002). *Helicobacter pylori* Infection. Medical Progress. *The New England Journal of Medicine*. 347 (15), pp.1175-1186

Stone G., Shortridge D., Versalovic J., Beyer J., Flamm R., Graham D., Ghoneim A., Tanaka S. (1997). A PCR-oligonucleotide ligation assay to determine the prevalence of 23S rRNA gene mutations in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 41 (3), pp.712-714

Suerbaum S., Michetti P. (2002). *Helicobacter pylori* Infection. Medical Progress. *The New England Journal of Medicine*. 347 (15), pp.1175 – 1186

Suerbaum S., Josenhans C. (1999). Virulence factors of *Helicobacter pylori*: implications for vaccine development.. *Molecular Medicine Today*. 5, pp.32-39

Suzuki M., Miura S., Soematsu M. (1992). *Helicobacter pylori* associated ammonia production enhances neutrophil-dependent gastric mucosal cell injury. *American Journal of Physiology*. 263 (G7), pp.19-25

Turbett G., Høj P., Horne R., Mee B. (1992). Purification and characterization of the urease enzymes of *Helicobacter species* from humans and animals. *Infection and Immunity*. 60 (12), pp.5259-5266

Tytgat G. (1995). Endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 9, pp.105-110

Valenzuela O, Luzio A, Muñoz L, Urrutia P, García A. (2004). Detección de organismos espiroidales gástricos en estómago de potrillos clínicamente sanos. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 19, pp.40-45

Valdés A. Astudillo M. (2007). *Helicobacter pylori* y organismos *Helicobacter heilmannii*-like: ¿Qué rol juegan en perros y gatos? *Avances en Ciencias Veterinarias*. 22, pp.72-83

Vatistas N., Snyder J., Carlson G., Johnson B., Arthur M., Thurmond M., Zhouh., Lloyd L. (1999). Cross-sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal* . 31 (29), pp.34-39

Woo H., Park D., Park H., Kim M., Dong H., In-Suk K., Young J. (2009). Dual-Priming Oligonucleotide-Based Multiplex PCR for the Detection of *Helicobacter pylori* and Determination of Clarithromycin Resistance with Gastric Biopsy Specimens. *The Authors. Journal compilation* . 14 (1), pp.22-28

Yamazaki E., Wada A., Kumatori A. (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. . *The Journal of Biological Chemistry*. 281, pp.11250-11259

Yamako Y., Sawai N., Kita M., Tanahashi T., Iwakura Y., Imanishi J., Kodama T., Tagawa Y. (1999). Role of Gamma Interferon in *Heicobacter pylori* induced Gastric Inflammatory Responses in a Mouse Model. *Infection and Immunity*. 67 (1), pp.279-285

Zamora P. (2011). Prevalencia de organismos productores de ureasa tipo *Helicobacter sp.* en mucosa gástrica de equinos fina sangre de carrera mediante test de ureasa en el Valparaíso Sporting Club mediante test de ureasa *Tesis pregrado Universidad Santo Tomas Viña del Mar.*

Anexo nº 1

FICHA

DATOS DEL PACIENTE

Nombre:

GASTROSCOPIA (GRADO DE LESIÓN)

	Puntaje	Clasificación
	0	Mucosa normal
	1	Alteración no erosiva
	2	Erosión pequeña leve
	3	Erosiones extensas o leve ulceración
	4	Ulceración moderada
	5	Ulceración grave
	6	Ulceración grave extensa

RESULTADO DE TEST DE UREASA

	Tiempo de reacción al test de ureasa	carga bacteriana
	48 hrs.	Ausencia
	24 - 48 hrs.	Baja
	12 - 24 hrs.	Moderada
	0 - 12 hrs.	Alta