



Nuevas tecnologías para la detección de la bacteria en el agua de consumo

La Transmisión de “*Helicobacter pylori*” y su incidencia en la salud humana

M. Barberá, M. Adela Yáñez,
Vicente Catalán
LABAQUA S.A.

H*elicobacter pylori* está implicado en la etiología de diversas patologías graves, principalmente digestivas como gastritis crónica, úlceras gástricas y duodenales, linfoma MALT (Mucosal-Associated-Lymphoid-Type) y cáncer gástrico. La prevalencia de la infección es alta aunque no afecta por igual a todos los países y sectores socioeconómicos. La detección de *Helicobacter pylori* en medios acuáticos naturales, así como en redes de distribución para consumo humano de varios países de diferente nivel socio-sanitario, pone en evidencia la necesidad de desarrollar métodos, preferentemente moleculares basados en PCR cuantitativa, que permitan identificar con mayor precisión, los reservorios ambientales de la bacteria a fin de un mejor control y prevención de su transmisión.

Helicobacter pylori es un bacilo gram-negativo, microaerófilo y de forma espiralada, que presenta una gran motilidad, incluso en ambientes viscosos como la capa de mucus que recubre la mucosa gástrica, por la acción de sus múltiples flagelos polares. Es un microorganismo de crecimiento lento que coloniza la mucosa gástrica humana produciendo una infección crónica, gracias a una potente actividad ureasa que neutraliza la acidez del medio gástrico mediante la hidrólisis de urea en amonio, lo que proporciona un pH neutro a su alrededor.

Esta bacteria fue aislada por primera vez en 1982 por Warren y Marshall a partir de pacientes que sufrían gastritis. Originalmente fue incluida en el género *Campylobacter*, pero posteriormente diferentes características morfológicas, estructurales y genéticas indicaban que pertenecía al género

Helicobacter, en el que se encuentra incluida actualmente.

La infección por *Helicobacter pylori* es considerada un agente etiológico de gastritis crónica, úlceras pépticas gástricas y duodenales y un factor de riesgo de linfoma MALT (Mucosal-Associated-Lymphoid-Type) y de cáncer gástrico. Las patologías inducidas por *Helicobacter pylori* muestran una gran variabilidad en los aspectos clínicos lo que hace pensar en un proceso multifactorial, que implica una compleja interrelación entre factores asociados a la respuesta inmunológica del hospedador, factores de virulencia de la propia bacteria, así como características del nicho ecológico. Desde el punto de vista genético existe una considerable diversidad de cepas de *Helicobacter pylori*, que se demuestra en el potencial patogénico de cepas observado en diferentes partes del mundo o diferentes grupos étnicos.

Epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*

La infección por *Helicobacter pylori* es un fenómeno muy común a escala mundial, ya que se ha estimado que la mitad de la población puede estar infectada por este microorganismo, aunque la prevalencia es muy variable según la distribución geográfica, siendo más alta en los países en vías de desarrollo (alrededor del 80%), que en los países desarrollados (20-50%). También es variable entre los diferentes grupos poblacionales dentro del mismo país, y se correlaciona inversamente con el estatus socioeconómico. La infección se adquiere



Los análisis demuestran la presencia de *Helicobacter pylori* en el agua de consumo. Foto: Roberto Anguita. Naturmedia.

normalmente a una edad muy temprana y, a menos que se trate con antibióticos específicos, persiste toda la vida, aunque la mayoría de los infectados son asintomáticos.

Las vías mejor caracterizadas de transmisión de *Helicobacter pylori* son, de persona a persona, oral-oral, habiéndose detectado *Helicobacter pylori* en saliva y en la placa dental. También se ha aislado *Helicobacter pylori* de heces humanas, por lo que la vía fecal-oral parece ser la más probable en los países no desarrollados y en las comunidades con ambientes socio-sanitarios deficientes, con incorrectas infraestructuras higiénico-sanitarias. La vía gastro-oral también se ha demostrado como posible implicada en la transmisión de la infección especialmente en niños de corta edad y bebés, por vómito y regurgitación. Otra posible vía de transmisión es mediante material médico contaminado durante la realización de exploraciones y endoscopias. En España, los datos de un estudio reciente indican que la prevalencia de la infección entre la población adulta está decreciendo.

Presencia de *Helicobacter pylori* en el medio ambiente

Diferentes estudios sobre la transmisión de *Helicobacter pylori* muestran que los factores ambientales tienen un papel fundamental.

Se ha descrito que en los reservorios medioambientales, como agua y alimentos, las células de *Helicobacter pylori* pueden transformarse desde una morfología espiral cultivable a una morfología más condensada de aspecto cocoide, viable pero no cultivable. Estos cambios morfológicos son acompañados de cambios metabólicos y fisiológicos. Este hecho supone un problema importante para el aislamiento de este microorganismo con los métodos de aislamiento en cultivo tradicionales, y es probablemente la razón por la que no se ha conseguido aislar *Helicobacter pylori* de muestras ambientales aunque se ha detectado por técnicas basadas en el análisis de ácidos nucleicos.

Aunque las vías de adquisición de la infección por *Helicobacter pylori* no se conocen en profundidad, se ha demostrado que *Helicobacter pylori* sobrevive bastante bien en el medio acuático. Estudios publicados recientemente realizados por técnicas de DNA, detectan fundamentalmente *Helicobacter pylori* en ambientes marinos, aguas superficiales y subterráneas en Estados Unidos, así como en agua para el consumo humano en países con diferentes niveles socioeconómicos como Perú, Japón, Gambia, México y Suecia. Un estudio reciente describe que *Helicobacter pylori* es ligeramente más resistente que *Escherichia coli* a los desinfectantes

utilizados en los sistemas de distribución y abastecimiento de agua. Estos datos sugieren que el agua es un reservorio natural para este microorganismo y una posible fuente de infección, lo que también plantea un problema en las poblaciones rurales donde con frecuencia la población se abastece de pozos de poca profundidad con un tratamiento de desinfección mínimo o inexistente, aunque son necesarios estudios de detección en estos ambientes para confirmar este punto.

Métodos de detección clínica y diagnóstico de la infección

En la actualidad, existen numerosas técnicas para la detección de *Helicobacter pylori* en el ámbito clínico, que se pueden agrupar en 2 categorías, métodos directos (invasivos) o indirectos (no invasivos). Las primeras se basan en la obtención de biopsia mediante endoscopia, y a partir de la biopsia se realizan pruebas como la actividad ureasa que presenta una sensibilidad entre el 90 y 95% y una especificidad también muy alta, con un tiempo de procesamiento inferior a tres horas. Otro método directo es el aislamiento en cultivo de *Helicobacter pylori* del material de la biopsia endoscópica, pero resulta menos atractivo ya que, aunque la especificidad es del 100%, la sensibilidad es bastante



La bacteria, que puede estar presente en el agua de consumo, produce diversas dolencias en las personas, que van desde la gastritis hasta incluso cáncer de estómago.

Foto: Roberto Anguita. Naturmedia.

menor, alrededor de un 60-90% y además el crecimiento es lento, especialmente cuando hay mucha flora acompañante. El estudio histológico y tinción con hematoxilina y eosina es una técnica muy utilizada por su simplicidad, rapidez y bajo costo. Además, proporciona una sensibilidad y especificidad superior al 90%. Recientemente, se han comenzado a utilizar métodos de diagnóstico molecular basados en la amplificación enzimática de DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con cebadores para genes específicos de este microorganismo como la ureasa o el DNA ribosomal 16S, resultando ser una técnica muy sensible y específica.

Entre los métodos indirectos (no invasivos) tenemos la serología que detecta la presencia de anticuerpos producidos como consecuencia de la infección por *Helicobacter pylori* mediante enzimo-inmunoanálisis (ELISA) o mediante aglutinación en látex en líquidos internos como sangre, suero y orina. Los sistemas comerciales de ELISA tienen una sensibilidad superior al 90% y una especificidad de entre 80 y 85%. Otro método indirecto es la determinación de la hidrólisis de urea marcada con isótopos de ^{13}C ó ^{14}C en el aliento, que tiene una sensibilidad y especificidad superior al 95%, además de distinguir entre una infección pasada o reciente.

Métodos de Detección de *Helicobacter pylori* en el medio ambiente

En el campo de la detección ambiental habitualmente se aplican métodos previamente desarrollados en la microbiología clínica adaptados a los requerimientos de las muestras de carácter ambiental. En este caso, la principal muestra a analizar es el agua por lo que el primer paso suele ser la concentración a partir de grandes volúmenes de agua, así como la eliminación, en la medida de lo posible, de inhibidores enzimáticos, como los ácidos húmicos y fúlvicos y cationes divalentes de metales pesados, que puedan interferir con la DNA polimerasa empleada, inhibiendo su actividad durante el proceso de amplificación enzimática del DNA por PCR.

La detección de *Helicobacter pylori*, en el medio ambiente además de los inconvenientes genéricos que presentan todas las muestras de esta naturaleza, como son inhibidores enzimáticos, baja concentración del patógeno, etc, presenta el inconveniente anteriormente mencionado, de la presencia de la forma cocoide no cultivable asociada a condiciones adversas. Este hecho ha obligado al desarrollo de métodos de detección alternativos a los cultivos, basados principalmente en las técnicas de detección molecular, como la reacción de PCR o hibridación fluores-

cente in situ (FISH).

La reacción de PCR se está convirtiendo en uno de los métodos de detección específica de patógenos más utilizado en el medio ambiente. Las principales ventajas que presenta son su elevada sensibilidad y especificidad, así como un menor tiempo para la obtención de los resultados del análisis. En el caso concreto de *Helicobacter pylori*, se han propuesto diversos genes diana para su detección por PCR, siendo los más utilizados glmM (ureC) phosphoglucosamine mutase, y los genes de patogenicidad cagA (cytotoxin-associated gene A) y vacA (vacuolating cytotoxin). Se han propuesto diferentes sistemas de PCR, como un ensayo multiplex para detección y genotipado de muestras clínicas, y un sistema para detección de ambas formas de *Helicobacter pylori*, helicoide y cocoide a partir de muestras ambientales.

Recientemente, la tecnología de PCR cuantitativa a tiempo real (Real-Time PCR) basada en la detección con sondas fluorescentes, está ganando terreno a la PCR convencional y se está implantando en la detección molecular, en virtud de que permite simultáneamente detectar y cuantificar de una forma muy precisa el patógeno o microorganismo diana. Actualmente, se han descrito métodos basados en esta tecnología para la detección y cuantificación de *Helicobacter pylori* en muestras de origen clínico. En el caso de las muestras de origen ambiental, el desarrollo y validación de métodos con esta tecnología contribuirá a un mejor conocimiento de los reservorios de *H. pylori* en el ambiente y por consiguiente al control de la infección.