

Investigación

Determinación de la presencia de *Helicobacter pylori* mediante un dispositivo cromatográfico específico, en cerdos sacrificados en el Frigorífico Vijagual.

Ana P. González Gómez, Mvz;*

Elena J. Rodríguez Suárez, Mvz;*

Joaquín Gómez-Celis, Mv Esp.**

Resumen. En las unidades de producción porcina se han presentado patologías de etiología incierta que indican la presencia de lesiones gástricas compatibles con infección por *Helicobacter* sp. Ante la necesidad de determinar la asociación entre los hallazgos clínicos y la infección con *Helicobacter* sp., el trabajo se propuso confirmar por serología la presencia de la bacteria. El desarrollo de la investigación utilizó una muestra de 100 cerdos de sacrificio del Frigorífico Vijagual, de la ciudad de Bucaramanga, realizando el muestreo sanguíneo y de tejido gástrico que fue procesado histopatológicamente con hematoxilina-eosina y warthin-starry para correlacionar la presencia de bacterias espiraladas con lesiones gástricas, y serológicamente confirmando la presencia de *Helicobacter pylori* mediante un dispositivo cromatográfico específico o inmunoensayo (ACONá) en cerdos positivos al examen histopatológico. El análisis de resultados se basó en un modelo experimental que describe el número de cerdos positivos y negativos a

Abstract. Pathologies of uncertain etiology manifested by gastric ulcers have been observed in pig. This research paper shows the association of *Helicobacter* sp. as the main causing agent of this disorder by studying a sample of 100 pigs slaughtered at the Vijagual abattoir in the Bucaramanga city. Sera samples were analyzed and samples of gastric tissue were processed by histopathological methods using Hematoxiline-Eosine and Warthin-Starry to confirm the correlation between spiral bacteria and gastric lesions. Blood sera of positive pigs in the histopathological examination were examined by a specific chromatographic device or immunoassay (ACON®). Analysis of results was based on a experimental model describing the number of positive and negative pigs to *Helicobacter* sp. bacteria. Histopathologically, 53% of the animals were positive and 47% were negative. The species of bacteria associated were *Helicobacter pylori* (60,3%) and *Helicobacter hellmanii* (39,6%). For the serological procedure, 25 positive

* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

** Centro de Investigaciones en Ciencias Animales (CICA)

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia. A.A. 2019 Bucaramanga, Colombia. Correo electrónico: dec_mvz_bga@correoucc.edu.co

bacterias del género *Helicobacter* sp., donde histopatológicamente se hallaron 53% positivos y 47% negativos; se identificaron 60,3% compatibles a *Helicobacter pylori* y 39,6% a *Helicobacter hellmanii*. Para el procedimiento serológico se tomaron 25 sueros positivos y 25 negativos a *Helicobacter* sp., lo que expresó un 92% de confiabilidad con la prueba específica y un 76% que confirma la seronegatividad. Estos resultados utilizaron la prueba estadística de chi cuadrada para evaluar la asociación de la presencia de *Helicobacter* sp. y lesiones gástricas mediante la estandarización del dispositivo cromatográfico específico ACONâ.

Esta prueba está diseñada para la detección de anticuerpos IgG contra *Helicobacter pylori* en suero humano para el diagnóstico de enfermedades gastrointestinales. Apoyados en esto hemos demostrado la confiabilidad y especificidad de la prueba para la determinar la presencia de *Helicobacter pylori* en suero de cerdos con lesiones gástricas, proporcionando la ayuda precisa para el manejo de cuadros clínicos gástricos, muy comunes en las actuales explotaciones porcinas.

Palabras clave: gastritis, histopatología, inmunoensayo, lesiones, serología.

and 25 negative samples to *Helicobacter* sp. were analyzed. A reliability of 92% with the specific test and 75% of negative confirmation was found. The statistical test of Chi Square was utilized to evaluate the association of *Helicobacter* sp. to gastric lesions. Standardization was carried out by the ACON® specific chromatographic device.

This test is designed for the detection of IgG antibodies against *Helicobacter pylori* in human serum for the diagnosis of gastrointestinal diseases. Based on this method, reliability and specificity of the test was demonstrated for the determination of *Helicobacter pylori* in sera of pigs with gastric lesions. This technique represents a precise aid for the management of gastric clinical malfunctions that are frequent in porcine exploitations nowadays.

Key words: Gastritis, histopathology, immunoassay, pig farming, serology.

Introducción

A principios de junio de 1979, el patólogo Robin Warren observó por primera vez *Helicobacter pylori* en una biopsia gástrica de un paciente con gastritis crónica activa, asociando la presencia del microorganismo con esta patología. En 1981, el gastroenterólogo Barry Marshall, se une a la investigación realizada por Warren y confirma lo reportado por este último. La bacteria morfológicamente semejaba a un *Campylobacter* sp., razón por la cual fue llamada *Campylobacter pyloridis*, y por tanto se emplearon los mismos medios específicos y las condiciones de su crecimiento para aislar esta bacteria. Sin embargo, fue hasta 1982 que *H. pylori* fue aislado por primera vez. Finalmente, en 1984 se publicó en la revista Lancet la asociación de *H. pylori* con la gastritis crónica y por primera vez se sugirió que la úlcera péptica pudiera ser de etiología infecciosa (1,2,3). En 1994, durante la conferencia "Consensos por los Institutos Nacionales de Salud", *H. pylori* es declarado la principal causa de úlcera péptica y en este mismo año la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer de la Organización Mun-

dial de la Salud declara que *H. pylori* es un cancerígeno en seres humanos (4).

H. pylori es un microorganismo gram-negativo, curvo, espiralado, que mide aproximadamente 3,5 X 0,5 micrómetros, posee múltiples flagelos (5 a 6) en uno de sus polos, lo que lo hace muy móvil. Es un microorganismo de crecimiento lento cuyas colonias sólo se aprecian en medios sólidos luego de 5 a 7 días. Su crecimiento en laboratorio requiere de condiciones de microaerofilia (10% de CO₂) y medios artificiales ricos en nutrientes como: peptona, triptona, extracto de levadura, glucosa, sales (cloruro de sodio y bisulfito de sodio), suplementos con sangre de caballo, polienriquecimiento, suero fetal bovino (SFB) o ambos. Su característica bioquímica más sobresaliente es la abundante producción de la enzima ureasa, que cataliza la hidrólisis de la urea en amonio y bióxido de carbono; la producción de amonio es un mecanismo importante para la supervivencia de la bacteria en un ambiente con pH tan ácido debido al jugo gástrico.

Se conocen otras especies de *H. pylori* asociadas con la mucosa gástrica (5) y mucosa intestinal de dife-

rentes hospederos (6): *H. Acinonyx*, aislada de mucosa gástrica de chitas; *H. mustelae*, de hurones; *H. nemestrinae*, de monos macaco, y *H. suis*, de cerdos; sin embargo, la única especie involucrada con el ser humano y la enfermedad es *Helicobacter pylori* (7).

El *Helicobacter* sp., se encuentra en forma natural en diferentes especies animales. La presencia de lesiones en la mucosa gástrica de los cerdos al momento del sacrificio y faenado ha generado dudas en cuanto a su origen, lo que llevó a considerar entre las posibles causas algunos patógenos reconocidos en otras especies, tales como el *Helicobacter pylori* asociado al desarrollo de úlceras gastrointestinales en caninos y seres humanos.

Existen varios factores que influyen en el desarrollo de úlceras gástricas, pero algunos tienen más importancia que otros. La enfermedad no está relacionada con la edad del cerdo, ya que puede presentarse en todas las fases de producción. Tampoco se ha determinado alguna relación de ésta con las diferentes líneas genéticas, ni tampoco ningún carácter hereditario de las mismas, ni intra, ni entre granjas.

Dentro del gran número de enfermedades infecciosas sistémicas en el cerdo se cuentan las úlceras gástricas, que no siempre se localizan en el área no glandular esofágica, pero que son lesiones típicas encontradas en las necropsias, cuya causa ha sido un proceso infeccioso. Las úlceras se manifiestan como problemas secundarios a patologías específicas; sin embargo, numerosos autores han encontrado a *H. pylori* como agente infeccioso responsable primario de dicho proceso (3), teoría que se encuentra en minoría científica si se compara con la gran cantidad de trabajos que se centran en etiologías múltiples. Así, por ejemplo, la mayoría de los trabajos daneses, ingleses y norteamericanos se basan exclusivamente en la etiología nutricional y de manejo.

Durante mucho tiempo el primer origen de los procesos de úlcera gástrica fueron atribuidos a factores que provocaban estrés en los cerdos, tales como transporte, ayunos, mezclas, densidades elevadas, etc. Se destaca que las úlceras aparecen en los cerdos de rango social medio, y esto hace pensar que una especie animal altamente jerárquica, donde el orden social está presente en cada una de las actividades diarias de los cerdos. De esta manera, ni los dominantes ni los sometidos

son los que padecen dicha enfermedad, sino los más estresados, en los que aumenta el nivel de histamina en el plasma sanguíneo, la secreción de ácido clorhídrico y de enzimas digestivas. En la experiencia, el estrés agudo contribuye reproducir úlceras gastroesofágicas (ayuno severo); pero no se alcanza con estrés crónico como bien se demuestra en la literatura científica. De esta misma forma se encuentran fácilmente procesos de úlceras gastroesofágicas (UGE) posteriores a todos aquellos problemas que conllevan una reducción en el consumo voluntario de alimento (8,9,10).

Los problemas de UGE en porcinos no se deben orientar a la dieta. Por ejemplo, es frecuente observar cómo con un mismo alimento distribuido entre cerdos de la misma línea genética y alojados en similares condiciones dentro de la misma área, unos presentan el problema y otros ni la más mínima lesión. Esto indica que la nutrición es otro factor más predisponente y/o agravante de las úlceras, siempre y cuando existan paralelamente otra serie de los factores enumerados. No obstante, el grado de la alteración nutricional tiene relación directa con la problemática de úlceras, y aún más si este exceso o defecto está mantenido en el tiempo (9). Dentro de los factores nutricionales se debe considerar que los lotes de pienso cambian con mucha más frecuencia que la epidemiología o el manejo de una granja, por lo que tampoco es de rigor mantenerse en la idea de que los procesos de úlceras crónicas como etiología única tengan origen alimentario (8,9).

Existen varias técnicas de diagnóstico disponibles. Los métodos empleados para el diagnóstico involucran pruebas invasivas y no-invasivas, de alta especificidad y sensibilidad.

Los métodos invasivos incluyen: biopsias gástricas tomadas en endoscopia para realizar pruebas histológicas y de cultivo bacteriano, además la prueba rápida de ureasa (9,11).

La endoscopia con una biopsia del revestimiento del estómago es el método más directo. Un endoscopio es un tubo delgado y flexible con una cámara diminuta. Se inserta por la boca hacia el tracto digestivo superior y se puede observar estómago e intestino superior para ver indicios de gastritis o úlceras, retirando pequeñas piezas de tejido estomacal (biopsias) a través del tubo. Si *H. pylori* está presente, sus efectos en el

revestimiento del estómago pueden verse en las muestras de tejido (12,13).

Para la evaluación de biopsias gástricas a fin de detectar *Helicobacter* sp., estas generalmente se someten a pruebas de ureasa, examen de improntas, cultivo microbiológico y evaluación histológica con H&E (hematoxilina-eosina) o tinción plata (14).

La histopatología utilizando H&E permite la tinción con tono violáceo de estructuras ácidas como núcleos, ribosomas y retículo endoplásmico o rugoso, debido a su alto contenido en ADN y ARN (Hematoxilina) y tinción con tono rojo-rosado de estructuras básicas como proteínas citoplasmáticas (Eosina).

Las tinciones con plata (Warthin Starry) permiten detectar menos bacterias que la H&E y distinguir las más fácilmente de la mucosa, demostrando estructuras delicadas del tipo de las prolongaciones celulares especialmente en las glándulas y células parietales (las bacterias aparecen como espirales negras sobre un fondo marrón claro, pardo o dorado) (15). Para especificar el tipo de *H. pylori* también pueden hacerse tinciones con plata (5,16,17).

Dentro de los métodos no invasivos se utiliza la radiografía gastrointestinal superior para buscar úlceras en estómago o intestino delgado.

El dispositivo cromatográfico específico ACONa es una prueba de análisis en sangre que busca detectar anticuerpos para *Helicobacter pylori*; es menos costoso y aproximadamente 90% eficaz para su diagnóstico (18).

Otras pruebas usan métodos de fijación del complemento, aglutinación bacteriana, inmunofluorescencia, pruebas inmunoenzimáticas (ELISA) o citometría de flujo para descubrir IgG específica para *H. pylori* en suero. Por su bajo costo, sensibilidad y carácter no-invasivo, la serología es muy útil (19,20).

El análisis de aliento de urea, que detecta subproductos de la bacteria *H. pylori*, no es de fácil disponibilidad como el de sangre, pero tiene precisión. Para este análisis se ingiere una cápsula que contiene urea y si hay infección por *H. pylori* la bacteria descompone la urea. Los subproductos de la urea pueden medirse en el aliento 10 minutos después de ingerir la cápsula (3,21).

El microscopio electrónico sirve usarse para una determinación específica y definitiva de *Helicobacter* sp. en biopsias de perros y gatos (basado en la pre-

sencia o ausencia de espirales o flagelos polares). La reacción en cadena de polimerasa (PCR) y la hibridación in situ son herramientas que se descubrieron para permitir la identificación específica de los organismos en las biopsias gástricas (22).

Eventualmente en algunas granjas de Santander se han observado manifestaciones clínicas como emaciación, caquexia, inapetencia, vómito y diarrea que ocasionan muerte súbita. Estas no establecen una etiología acertada que confirme el diagnóstico de una patología gástrica, y que usualmente se atribuyen a procesos infecciosos o alimenticios que pueden no ser la verdadera causa del cuadro clínico, por lo que se hace necesario identificar el agente patógeno de dicha problemática, tomando como base estudios recientes que determinan a *Helicobacter pylori* como el principal factor en el desarrollo de úlceras gástricas.

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en la planta de sacrificio Vijagual, ubicada en el kilómetro 20 vía al mar, durante 3 semanas aproximadamente.

Se tomó una muestra de 100 cerdos, seleccionando al azar 10 animales diarios para facilitar el procesamiento de las muestras y evitar algunas limitantes como: hemólisis, humedad, temperaturas inadecuadas y tiempos prolongados.

Antes de la obtención de las muestras sanguíneas se rotuló cada tubo de ensayo con el número asignado al cerdo por el frigorífico en el momento de la recepción. Luego se tomaron las muestras en el área del sangrado yugular y fueron llevadas a la cava de refrigeración; posteriormente se centrifugaron y se conservaron en viales para serología bajo congelación (-20 °C).

Luego se observó cada uno de los animales muestreados en el proceso de evisceración, determinando hallazgos anatomopatológicos como la presencia de ulceraciones, hemorragias, hiperemia, vasodilatación de la mucosa, escoriación, erosión de la mucosa gástrica y aumento en el tamaño del órgano; y se tomó la biopsia de tejido gástrico, conservándola en recipientes de plástico en formalina al 10%.

Estas muestras fueron enviadas al Laboratorio de Patología Animal de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de Antioquia, donde se procesa-

ron mediante histopatología a través de la coloración hematoxilina-eosina y Warthin-Starry o tinción de plata, para determinar la presencia de *Helicobacter* sp. a través de microscopía.

De estos resultados se tomaron las muestras que fueron positivas histopatológicamente a *Helicobacter* sp. para realizar la prueba específica con el dispositivo cromatográfico (ACON®), que detectó cualitativamente anticuerpos (IgG) contra *Helicobacter pylori* en suero, confirmando así la sensibilidad de la prueba rápida.

Para este procedimiento fue necesario hacer la estandarización de la prueba, utilizando el suero de las muestras sanguíneas obtenidas de los cerdos mediante centrifugación; se tomaron 25 sueros de los positivos histopatológicamente a *Helicobacter pylori* y 25 sueros de los negativos histopatológicamente a *Helicobacter* sp., ya que esta prueba es utilizada para el diagnóstico de úlceras gástricas por *Helicobacter pylori* en seres humanos.

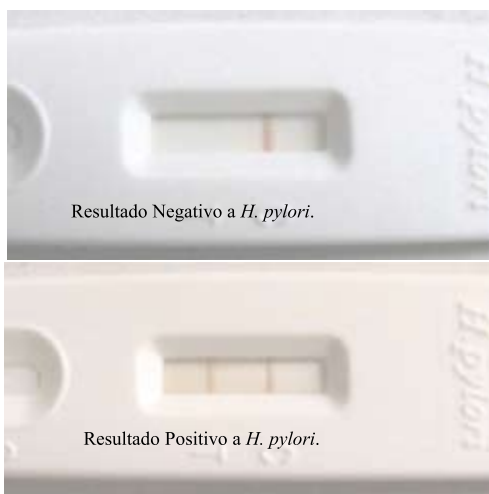


Figura 1. Dispositivo cromatográfico ACON®.

El ACON® (dispositivo de prueba de paso) es un inmunoensayo cromatográfico rápido en el descubrimiento cualitativo de anticuerpos de *H. pylori* en suero para ayudar al diagnóstico de la infección. Es una tira de membrana cualitativa, a la cual se le agrega el suero obtenido de la muestra (3 gotas) que reacciona cubriendo las partículas de *H. pylori* (antígeno) que se encuentran en el dispositivo. Esta mezcla emigra cromatográficamente a lo largo de la tira de la prueba y actúa recíprocamente con la IgG anti-humano inmovilizado.

Para la interpretación de los resultados existe un tiempo máximo de una hora, pero es adecuado leer el resultado en 10 minutos. Si el suero de la muestra sanguínea del cerdo contiene los anticuerpos de *H. pylori*, una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de la prueba indicando un resultado positivo. Si no contiene los anticuerpos de *H. pylori*, la línea coloreada no aparecerá en la región de la prueba, indicando un resultado negativo. Si la prueba se ha realizado bien, una línea coloreada aparecerá siempre en la región de la línea de mando.

Interpretación resultado positivo: dos líneas rojas distintas aparecen, una en la región del mando y otra en la región de la prueba. Se debe tener en cuenta que la intensidad del color rojo en la línea de prueba variará dependiendo de la concentración de anticuerpos de rojo en la región de la prueba debe ser considerada positivo.

Interpretación resultado negativo: una línea roja aparece en la región del mando. Ninguna línea roja o rosa clara aparece en la región de la prueba.

Interpretación resultado invalido: la línea del mando no aparece, el volumen del suero es insuficiente o las técnicas procesales incorrectas.

Estas pruebas se hicieron en el Laboratorio Clínico del Centro Médico Quirúrgico de la Universidad Cooperativa de Colombia, bajo la asesoría de la bacterióloga Vilma Castellanos Torres.

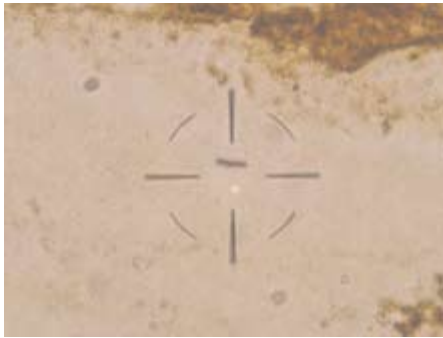
La estadística del estudio se basó en un modelo observacional descriptivo, donde se interpretó detalladamente lo observado en la muestra.

Las variables medidas fueron el porcentaje de presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en las muestras histopatológicas y serológicas tomadas en los cerdos que manifestaron hallazgos compatibles con lesiones gástricas en el proceso de evisceración durante el sacrificio.

El análisis estadístico para la detección de *Helicobacter* sp. por histopatología y serología manejó la prueba de chi cuadrada para determinar diferencias entre los dos procedimientos: identificación de *Helicobacter* sp. mediante histopatología y la prueba específica o inmunoensayo (ACON®)(23).

Resultados

De 100 muestras enviadas a histopatología al Departamento de Patología de la Universidad de Antioquia, analizadas mediante la coloración Warthin-Starry, el resultado arrojó los siguientes datos: 53 casos positivos a *Helicobacter* sp. (53%), mientras que 47 resultaron negativos a *Helicobacter* sp. (47%). Mediante la tinción hematoxilina-eosina se observaron lesiones como: paraqueratosis severa, inflamación subaguda y leve, úlcera crónica activa y aguda severa o moderada, gastritis catarla moderada, inflamación piógena crónica, erosión moderada, gastritis crónica superficial cardial, degeneración hidrópica severa difusa, espongirosis y degeneración hialina.



A. Tinción de Warthin-starry. Muestra una estructura alargada espiral que indica la positividad a *Helicobacter pylori*.

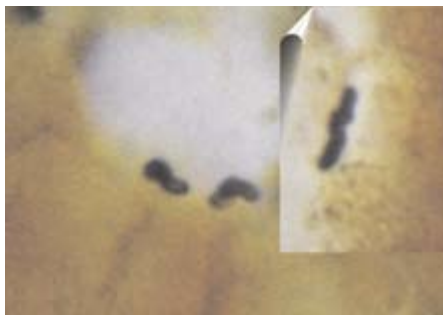


Figura 2. Identificación histopatológica de *Helicobacter pylori*.

De las 53 muestras positivas a helicobacterias, según la evaluación patológica, se confirmaron por histopatología (Figura 2) 32 muestras positivas a *Helicobacter pylori* (60,3%) y 21 muestras positivas a *Helicobacter hellmanii* (39,6%). De las 32 muestras positivas histopatológicamente a *Helicobacter pylori* se tomaron 25, de las cuales 23 resultaron positivas a la prueba serológica específica ACONa (92%) y 2 negativas (8%).

De la misma manera, de las 47 muestras negativas a histopatología se tomaron 25 sueros para la realización del inmunoensayo, dando 19 negativos a la prueba específica (76%) y 6 positivos (24%).

El análisis estadístico por medio de la prueba de chi cuadrada, determinó que no se encontraban diferencias significativas ($p \leq 0,01$) entre los resultados diagnósticos obtenidos por ambas pruebas (histopatología vs. inmunoensayo).

Discusión

Los resultados de este estudio demuestran la existencia de *Helicobacter* sp. en el 53% de los cerdos sacrificados del Frigorífico Vijagual, objeto del presente estudio, y que se determinaron mediante el diagnóstico del examen histopatológico de biopsias gástricas, lo cual corresponde a descripciones realizadas por otros investigadores en recientes estudios, donde reportan una alta prevalencia de la infección y su grado de asociación con lesiones gástricas, así como la frecuencia de presentación de la bacteria en las diferentes regiones del estómago (24).

El descubrimiento de la presencia de *Helicobacter* sp. con características morfológicas similares al *Helicobacter pylori*, a través de hallazgos anatomopatológicos en los cerdos, fue demostrado por la observación microscópica mediante la coloración de hematoxilina-eosina y Warthin-Starry, por lo que dichas muestras fueron sometidas al diagnóstico serológico específico del dispositivo cromatográfico o inmunoensayo ACONa, utilizado para la detección cualitativa rápida de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en suero humano.

El análisis serológico demostró un 92% de positividad frente al 100% de casos positivos al diagnóstico histopatológico. El 8% de los positivos histopatológicamente no presentaron títulos suficientes de anticuerpos que reaccionaran a la prueba específica ACONa, posiblemente debido a infecciones tempranas, como lo reporta el laboratorio fabricante de este dispositivo, ya que es una prueba cualitativa y no cuantitativa. Otra explicación de dicho resultado podría ser un error de diagnóstico histopatológico al clasificar morfológicamente esta helicobacteria como *Helicobacter pylori*, cuando realmente corresponde a otra especie (*Helicobacter suis*, *Helicobacter*

hellmanni, *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter mustelae*, *Helicobacter acinonyx*, *Helicobacter nemes-trinae*), por tanto se consideran falsos positivos al diagnóstico histopatológico.

En cuanto al número de casos negativos histopatológicamente que fueron sometidos a la prueba específica ACONâ, se confirmó según resultados un 76% de seronegatividad y un 24% de seropositividad frente al 100%. Lo que puede indicar la posibilidad de dar importancia a algunos factores en la toma de muestras, como la observación de lesiones atípicas o incipientes, así como infecciones tempranas con un escaso número de *Helicobacter* sp. que no son detectables a la inspección microscópica, pero fueron suficientes para generar una respuesta inmune que reaccionó con el antígeno específico del dispositivo; por lo tanto fueron falsos negativos al diagnóstico histopatológico. Otra explicación es un error en la clasificación histopatológica de las helicobacterias observadas, las cuales verdaderamente correspondían a *Helicobacter pylori* y no fueron clasificadas como tal. El dispositivo cromatográfico específico ACONâ demostró ser confiable y efectivo en la valoración serológica de los cerdos, a través del análisis estadístico de la prueba de chi cuadrada (X^2), donde el valor esperado fue del 92% el cual no representa diferencias estadísticas entre los dos procedimientos. Esto corrobora la confiabilidad de la prueba, como lo demuestran los resultados de la investigación realizada por laboratorios ACONâ donde se detecta una alta sensibilidad (97%) y especificidad (95%) de esta (18).

El desarrollo de esta investigación proporciona un valor eurístico importante que crea la posibilidad de plantear nuevos estudios enfocados hacia la epidemiología y el potencial zoonótico que representa *Helicobacter pylori*, tomando como reseña cada una de las variables que se tuvieron en cuenta para la realización de la presente.

Referencias

- (1) Morales MR, Castillo G, López Y, Cravioto A. *Helicobacter pylori*. URL: www.biblioweb.dgsc.unam.mx/libros/microbios/Cap11/
- (2) Holston K. *Helicobacter pylori*: An Emerging Pathogen. URL: www.bact.wisc.edu/Bact330/lecturehelico2.
- (3) Murray PR, Koba GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Microbiología Médica. Segunda edición. Editorial Harcourt Brace, cap. 26. pp. 247 a 252.
- (4) ILADIBA. Nuevos conceptos acerca de la erradicación de *H. pylori*, 1999; Vol. XII, 7:50.
- (5) Goldman, H. *Biology of Gastrointestinal Disorders*. Parte IV, cap. 23. pp. 525-557.
- (6) Sierra AF. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín Colombia, cap.8. pp. 52-53.
- (7) Vadillo S, Piriz S, Mateos E, Alonso JM. *Manual de microbiología veterinaria*. Editorial McGraw Hill. Parte II, cap. 17. p. 259. www.methodisthealth.com/spanish/digest/helicoba.htm
- (8) Herreras JM, Delgado JD, Casas M. Infección por *Helicobacter pylori* y cáncer gástrico. www.gastrohvm.arrakis.es/hpylori.htm
- (9) PHYSICAN Forum. *Helicobacter pylori*. www.acg.org/physicianforum/gifocus/gif_hpy.html
- (10) SI-CHUN Hing- Hirota Teruyuki. *Biology Gastrointestinal Disorders*, cap. 27, pp. 607-647.
- (11) DeJawetz M, *Microbiología médica*, Quinta edición. Manual Moderno. 1996; pp. 278-279.
- (12) Mckesson Clinical Reference Systems: Adult Health Advisor 2002.1, *Helicobacter pylori*. URL: www.med.umich.edu/1libr/aha/aha_hepylori_spa.htm
- (13) ILADIBA. Utilidad de prueba no invasiva de infección por *H. pylori* y terapia triconjugada de erradicación en dispepsia. 2000; vol. XIX, 9:34.
- (14) ILADIBA. *Helicobacter pylori*: un nuevo consenso, 2000; vol.XIV, 5:59-60.
- (15) Burkitt HG, Young B, Healt JW. *Histología. Funcional texto y atlas en color*. Editorial Harcourt Brace, 2001. Notas sobre técnicas de tinción. p. 406.
- (16) ILADIBA. Lansoprazol para el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*, 1998; vol. XII, 11:24.
- (17) ILADIBA. La erradicación de *Helicobacter pylori* no alivia los síntomas de dispepsia funcional, 1999; vol. XII, 5.
- (18) Dispositivo de prueba de paso de *H. pylori* (serum/plasma). Número del Catálogo: IHP-302. info@aconlabs.com
- (19) Barua R, Recavarren JM. *Gastroenterología y Hepatología*, Editorial Mediterráneo, vol. 1, cap. 31, pp. 209-213.

- (20) Koneman EW, Allen SD, Janda WM. Diagnostico Microbiológico. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana, 1999; cap. 6. pp. 317-355.
- (21) Davidson MG, Else RW, Lumdsen JH. (Eds), Simpson JW. Manual de patología clínica en pequeñas especies; cap. 8, pp. 208-209.
- (22) Kenneth WS. *Helicobacter* sp.: ¿provocan enfermedad en perros y gatos? URL: www.portalveterinaria.com/print.php?artid=76
- (23) Martínez Bencardino C. Capítulo X. Otras pruebas de hipótesis. Estadística de muestreo. 8ª. edición. 1997.
- (24) Rodríguez BJ, Aranzazu DA, Lopera JA, Valencia F, Álvarez LC, et al. Caracterización histopatológica de la úlcera gástrica porcina y su asociación con *Helicobacter pylori* en cerdos de Antioquia, Colombia.