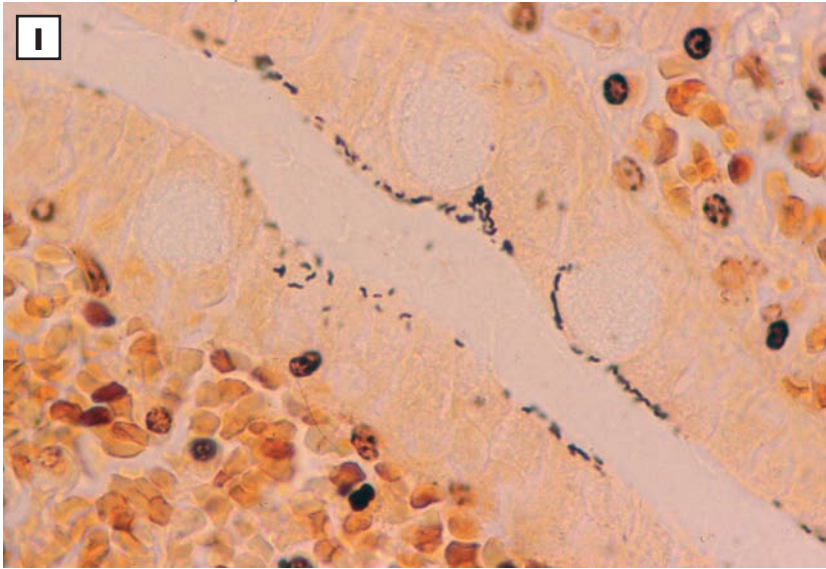


Helicobacterias en el estómago del cerdo

G. Ramis, J. J. Quereda, A. Muñoz • Dpto. de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia

S. Gómez, F. J. Pallarés • Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Univ. de Murcia



H. pylori en una biopsia gástrica humana teñida con la técnica de Warthin-Starry

Introducción

El descubrimiento en la década de los 80 de unas bacterias curvadas que estaban relacionadas con ciertas enfermedades gástricas humanas como la úlcera péptica o ciertos tipos de cánceres (Marshall y Warren, 1984) determinó un punto de inflexión en la gastroenterología en esta especie. En un principio esta bacteria se encuadró en el género *Campylobacter* siendo denominada *Campylobacter pylori*, pero pocos años después se determinó que no pertenecía a dicho género y se creó uno nuevo, pasando a denominarse *Helicobacter pylori* en

clara referencia a su morfología. Desde los años 80 alrededor de esta bacteria se ha producido una cantidad ingente de investigación y publicaciones, y los motivos son claros: está relacionada con enfermedades muy prevalentes en el mundo occidental y además —en base a diversos estudios epidemiológicos en todo el mundo— se ha determinado que es la infección bacteriana más extendida en el ser humano: la mitad de la población mundial está infectada. Aunque también se sabe que no cumple estrictamente los postulados de Koch (Marshall, 1995) y muchos

pacientes con úlcera péptica no tienen la bacteria, del mismo modo que los casos de autoinfección experimental documentados (entre ellos el Dr. Marshall) no han desarrollado una úlcera ni cáncer gástrico. Sin embargo la erradicación del germen mejora el 60% de los pacientes con úlcera y el 100% de los enfermos con linfoma MALT.

Rápidamente se establecieron líneas de investigación en diversas especies animales con dos fines concretos: obtener un modelo animal para experimentación en medicina humana y estudiar la influencia de estas bacterias en la salud gástrica de dichas especies. Además, también se estableció la hipótesis de una posible transmisión zoonótica desde ciertos animales domésticos a sus propietarios.

En este artículo vamos a esbozar brevemente el conocimiento actual sobre las helicobacterias en el cerdo.

Helicobacterias en otras especies

Como ya mencionamos, desde principio de los años 90 del siglo XX se ha estudiado la presencia de bacterias del género *Helicobacter* en distintas especies. En la **tabla 1** aparecen algunas de las especies bacterianas asociadas al género en distintas especies domésticas y salvajes:

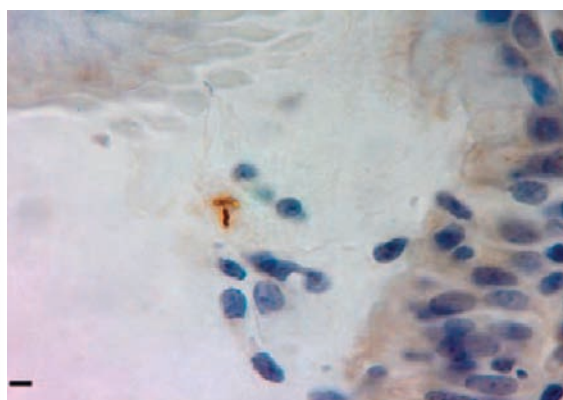
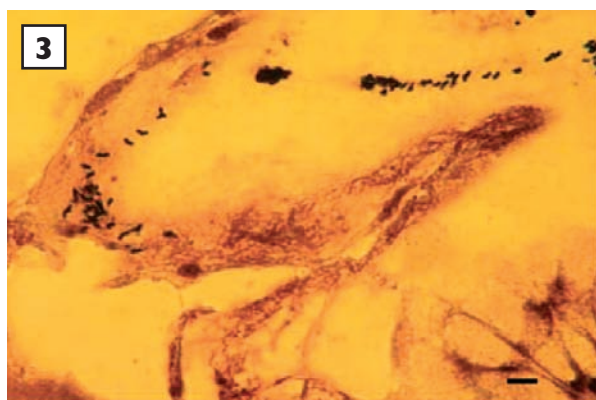
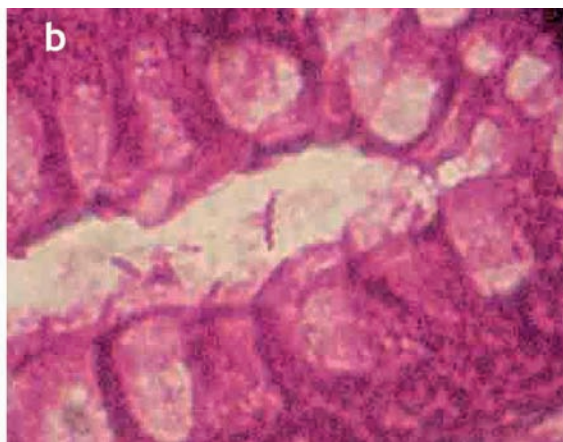
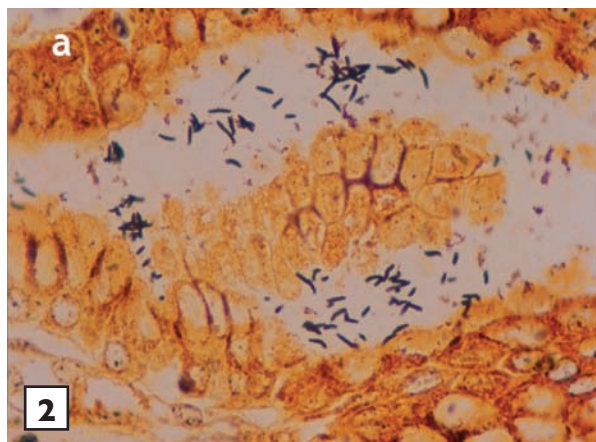
Tabla 1

Número de explotaciones encuestadas y tamaño medio del rebaño

Especie	Helicobacterias asociadas
Humano	<i>H. pylori</i> , <i>H. heilmanii</i> , <i>H. canis</i> , <i>H. felis</i> , <i>H. cinaedi</i> , <i>H. fennelliae</i> , <i>H. westmeadii</i>
Gato	<i>H. felis</i> , <i>H. colifelis</i> , <i>H. heilmanii</i>
Perro	<i>Flexispira rapinii</i> , <i>H. canis</i> , <i>H. felis</i> , <i>H. bizozeronii</i> , <i>H. cynogastricus</i>
Oveja	<i>F. rapinii</i>
Ratón	<i>F. rapinii</i> , <i>H. salomonis</i>
Pájaros	<i>H. bird-B</i> , <i>H. bird-C</i>
Pollos	<i>H. pullorum</i>
Lémur	<i>Gastrospirillum lemur</i>
Macaco	<i>H. nemestrinae</i>
Hurón	<i>H. mustelae</i>

En esta tabla se ha hecho un pequeño resumen, puesto que actualmente se han descrito más de 25 helicobacterias y el número de especies animales infectadas por ellas descrito aumenta cada día.

Dos fines concretos son obtener un modelo animal para experimentación en medicina humana y estudiar la influencia de estas bacterias en la salud gástrica de dichas especies



Candidatus Helicobacter suis teñido mediante las técnicas de Warthin-Starry (a) y carbolfucsina (b). Fuente: el autor.

Helicobacter-like organism strain 2662. Ha demostrado ser patógeno en el cerdo. Fuente: Krakowka S, Ringler SS, Flores J, Kearns RJ, Eaton KA, Ellis JA. 2005. Isolation and preliminary characterization of a novel Helicobacter species from swine. Am J Vet Res. Jun;66(6):938-44.

Helicobacterias en el cerdo

En 1991 un equipo brasileño de médicos determina la presencia de bacterias espiritadas en el estómago del cerdo y lo denominan *Gastrospirillum suis* por su similitud con *Gastrospirillum hominis* (Mendes et al., 1991) que luego pasó a denominarse *H. heilmannii* tipo 1. Estos mismos investigadores, posteriormente, corroboran que hay una similitud genética del 99,5% entre ambas bacterias y llegan a la conclusión de que se trata de la misma especie. Sin embargo, algunos años más tarde un grupo holandés mediante análisis genético determina que son especies distintas aunque procedentes de un tronco común –lo que explicaría su similitud genética- y proponen el nombre de *Candidatus Helicobacter suis*, aunque aún no ha sido aceptado por la taxonomía internacional (De groote et al., 1999).

Sin embargo, en 2005 un equipo norteamericano encuentra dos cepas de helicobacterias en el estómago del cerdo, que denomina *Helicobacter-like organism* aislado 1268 y *Helicobacter-like organism* aislado 2662 (Krakowka et al., 2005). Haciendo pruebas experimentales de inoculación determinan que la cepa 2662 es patógena y produce lesiones en la mucosa aglandular del estómago del cerdo en un alto porcentaje de los animales inoculados (Krakowka et al., 2005).

Detección de helicobacterias

En el cerdo se han validado diversos métodos para determinar la presencia de estas bacterias en la mucosa gástrica:

- Tinciones histológicas: la más eficaz de ellas es la tinción argéntica mediante el método Warthin- Starry (**figuras 2 y 3**), la técnica de carbolfucsina descrita por Rocha et al. (1989)(**figura 2**) y otras como el Giemsa.
 - Inmunohistoquímica: tinción basada en el uso de anticuerpos específicos frente al patógeno (**figura 3**).
 - Test de ureasa: una de las principales características de estas bacterias es que tienen ureasa y son capaces de degradar la urea produciendo una variación en el pH del medio. Esta característica se ha usado para determinar su presencia mediante test de urea, que pueden ser de dos tipos:
 - Test de ureasa *in situ*: se rocía la mucosa con un reactivo conteniendo urea y un indicador de viraje de color. Tienen unos resultados aceptables y sobre todo son fáciles de realizar (**figura 4a**)
 - Test rápidos de ureasa: se toma una muestra de tejido y se siembra en un agar que vira de color. Los usados en humanos tienen muy buenos resultados en el porcino (Gómez et al., 1999)(**figura 4b**).
- Ambos métodos se basan en un cambio de color del reactivo en presencia de bacterias degradadoras de la urea.
- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): permite determinar la presencia de genoma de las bacterias usando cebadores específicos

Relación de las helicobacterias con la úlcera gastroesofágica porcina (UGP)

Se han publicado diversos estudios tratando de relacionar estas bacterias con las lesiones en el estómago aglan-

Detección de helicobacterias mediante tests de ureasa: *in situ* (a) y mediante test rápidos de ureasa (b)



dular del cerdo. En la **tabla 2** aparecen algunos de estos estudios, incluyendo nuestra experiencia propia:

Como se desprende de esta tabla no hay consenso en cuanto a la responsabilidad de las bacterias en la patogénesis de la UGP. Pero para poder comparar los datos hay que tener en cuenta diversos factores:

- La mayoría de estos estudios son observaciones al sacrificio, correlacionando las lesiones observadas en matadero con la presencia de las bacterias. Durante las últimas horas de vida del animal, el manejo pre-mortem puede agravar las lesiones existentes en el estómago, por lo que se relacionarían lesiones *de novo* que no existieron durante la mayor parte de la vida del animal.
- La elección de las muestras no es homogénea en todos los estudios: en algunos se han seleccionado los estómagos dependiendo de las lesiones que presentaban y en otros las muestras de tejido se han tomado haciendo una determinación previa de la actividad ureasa.
- Se han utilizado diversos métodos de determinación de la presencia de bacterias: PCR, tinciones histológicas (Warthis-Starry, carbolfucsina y Gram) e inmunohistoquímica.

Además en la práctica totalidad de estos estudios se ha tratado de correlacionar las lesiones con la presencia de *Candidatus Helicobacter suis* o *Helicobacter heilmannii* tipo 1, que hoy se sabe que no son patogénicos en el cerdo (Krakowka et al., 1998).

Nuestro equipo en 1998, desarrolló un estudio de matadero en el que tratamos de correlacionar la presencia de *Candidatus Helicobacter suis* o *Helicobacter heilmannii* tipo 1 con la mortalidad por UGP: se seleccionaron aleatoriamente estómagos en el matadero procedentes de dos lotes de animales que se habían criado en las mismas condiciones, pero mientras que uno de los lotes tuvo, durante el cebo, una mortalidad de 2,33% (46,15% del total de bajas) por UGP aguda o hiperaguda el otro tuvo un 0,24% (6,66% del total de las bajas). Sobre estas muestras se realizaron tinciones mediante carbolfucsina y se determinó tanto la prevalencia como la densidad de infección, valorando de 0 a 3 la cantidad de bacterias presentes en las tres regiones glandulares del estómago (cardias, fondo y píloro) y obteniendo un índice de infección producto de la suma de los valores obtenidos en las tres regiones de cada estómago. Los resultados indicaron que en el primer grupo un 51,72% de los estómagos estaba infectado por la bacteria mientras que en el segundo grupo era del 65,38% (Ramis, 2002). No se observó ninguna relación significativa entre la presencia de bacterias o la densidad de infección con el grado lesional observado, lo que confirma que esta especie no es patogénica en el cerdo.

En 2000 se tomaron muestras de animales de razas puras: ibérico, Landrace y Duroc al objeto de observar si había diferencias en la susceptibilidad a la infección por esta bacteria entre razas. Los resultados, comparados con los obtenidos en el año 1998 aparecen en la **tabla 3**.

No se observaron diferencias entre razas, pero sí se observó un aumento en la prevalencia bastante notable (57,14% de los estómagos infectados en el año 1998 frente a 82,66% en el año 2000). La principal diferencia que hubo entre ambos grupos fue que los animales criados en el año 1998 tomaron antibióticos como promotores de crecimiento mientras que los del año 2000 no (la mayoría de estos antibióticos se prohibieron –en su uso para promoción de crecimiento– en el año 1998), aunque esto necesita más investigación futura.

Respecto a el *Helicobacter-like* organism strain 2662, el año pasado el equipo del doctor Krakowka demostró que 9 de 13 animales gnotobióticos inoculados con esta bacte-

Tabla 2
Estudios que relacionan las helicobacterias con la UGP

Autor	N	% estómagos positivos	Relación con úlcera
Mendes et al. (1991)	120	Fondo: 5%, Píloro: 10,8%	Sí, bacteria-gastritis
Barbosa et al. (1995)	64	Estómagos: 62,5%	Sí, bacteria-úlcera y cambios preulcerosos
Queiroz et al. (1996)	70	Estómagos: 77,14%	Sí, bacteria-úlcera
Grasso et al. (1996)	85	Estómagos: 9,4%	Sí, bacteria-gastritis
Krakowka et al. (1998)	37	--	No
Ramis G (1998, publicados en 2002)	56	Estómagos: 57,14%	No
Melnichouk et al. (1999)	199	Estómagos: 32,66% (0-87%)	No
Phillips et al. (2000)	118	Estómagos: 57,62%	No
Roseendaal et al. (2000)	41	Estómagos: 53,65%	Sí, bacteria-úlcera
Kelly and Friendship (2001)	126	Estómagos: 0%	No
Choi et al. (2001)	160	Estómagos: 63,8%	Sí, bacteria-gravedad de las lesiones
Krakowka et al. (2005)	13	--	Sí, con la cepa 2662

Tabla 3
Comparación de la prevalencia y densidad de infección entre muestras tomadas en 1998 y 2000 (Ramis, 2002).

		AÑO				
		1.998	2.000			
		Cruce comercial N= 56	Iberico N= 27	Landrace N= 21	Duroc N= 27	TOTAL N= 75
Porción de mucosa gástrica	Cardias	N(%) GI 10 (17,86) 0,196	4 (15,38) 0,148	9 (47,36) 0,196	14 (51,85) 0,630	27 (36) 0,453
	Fondo	N(%) GI 18 (32,14) 0,429	11 (40,74) 0,519	11 (57,89) 0,905	17 (62,96) 1,074	39 (52) 0,827
	Píloro	N(%) GI 24 (42,86) 0,518	20 (74,07) 1,741	17 (89,47) 1,381	19 (70,37) 1,519	53 (74,66) 1,560
Estómagos	N(%) II 32 (57,14) 1,143	22 (81,48) 2,407	19 (90,47) 2,905	21 (77,77) 3,222	64 (82,66) 2,84	

ria desarrollaron un UGP macroscópicamente evidenciable. Aún se sigue investigando, pero hay fuertes indicios de la responsabilidad de esta bacteria en la petogénesis de la enfermedad.

Transmisión zoonótica de las helicobacterias

Tras el descubrimiento de Marshall y Warren (1984) rápidamente se estableció una hipótesis: ¿puede haber una transmisión entre especies domésticas y la especie humana? Se han hecho numerosas investigaciones al respecto. Ya en 1991 se determinó que los trabajadores de mataderos tienen una seroprevalencia significativamente mayor que la población comparativa y con títulos más altos frente a helicobacterias (Husson et al., 1991). Posteriormente, en Polonia y Cerdeña, se ha demostrado que los pastores de ovino y sus familias también tienen una prevalencia de estas bacterias superior al resto de la población (Papiez et al., 2003).

Sin embargo, una de las transmisiones zoonóticas mejor conocidas es la que se produce entre las mascotas domésticas (perros y gatos) y sus propietarios y existe abundante literatura al respecto, aunque en muchos casos no queda claro el sentido de la transmisión: de la mascota al propietario o viceversa (Otto et al., 1994; Dieterich et al., 1998; Jalava et al., 2001).

También se ha determinado la capacidad potencial de transmisiones zoonóticas desde aves a humanos (Waldeström et al., 2003).

Implicaciones

Hoy sabemos que ciertas especies de helicobacterias tienen capacidad para producir alteraciones de la mucosa aglandular del cerdo. Pero al igual que el humano, posiblemente la mera presencia de estos patógenos no sea suficiente para producir una alteración patológica. En el cerdo se han descrito numerosos factores que favorecen la aparición de una UGP, y parece lógico que cuantos más factores concomitantes haya alrededor del animal más posibilidades habrá de que las helicobacterias tengan oportunidad de colonizar y agredir la mucosa. Sin embargo, aún

quedan incógnitas por resolver, como por ejemplo, ¿por qué unas bacterias que viven en la mucosa glandular del estómago pueden alterar tan gravemente la mucosa aglandular? Hay diversos grupos de investigación tratando de arrojar más luz sobre estas cuestiones.

Bibliografía

De Groote D, Van Doorn LJ, Ducatelle R, Verschuur A, Haesebrouck S, Quint WG, Jalava K, Vandamme P. (1999). "Candidatus *Helicobacter suis*", a gastric helicobacter from pigs, and its phylogenetic relatedness to other gastrospirilla. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 1769-1777.

Dieterich C, Wiesel P, Neiger R, Blum A, Cort-hésy-Theulaz I. 1998. Presence of multiple *Helicobacter heilmannii* strains in an individual suffering from ulcer and his two cats. *J Clin Microb.* 36: 1366-1370.

Gómez S; Ramis G, Pallarés FJ, Muñoz A. 1999. Detección de *Gastrospillum* sp. en la mucosa gástrica porcina. Estudio comparativo. *Med. Vet.* 16: 260-263.

Husson MO, Vincent P, Grabaud MH, Furon D, Leclerc H. 1991. Anti-*Helicobacter pylori* IgG levels in abattoir workers. *Gastroenterol Clin Biol.* 15(10):723-6.

Jalava K, On SLW, Harrington CS, Andeersen LP, Hänninen ML, Vandamme P. 2001. A Cultured Strain of "*Helicobacter heilmannii*," a Human Gastric Pathogen, Identified as *H. bizzozeronii*: Evidence for Zoonotic Potential of *Helicobacter*. *Emerging Infectious Diseases.* 7: 1036-1038.

Krakovka S, Eaton KA, Rings DM, Argenzio RA. 1998. Production of gastroesophageal erosions and ulcers (GEU) in gnotobiotic swine mono-infected with fermentative commensal bacteria and fed high-carbohydrate diet. *Vet. Pathol.* 35: 274-282.

Krakovka S, Ringler SS, Flores J, Kearns RJ, Eaton KA, Ellis JA. 2005. Isolation and preliminary characterization of a novel *Helicobacter* species from swine. *Am J Vet Res.* Jun;66(6):938-44.

Krakovka S, Ring DM, Ellis JA. 2005. Experimental induction of bacterial gastritis and gastric ulcer disease in gnotobiotic swine inoculated with porcine *Helicobacter*-like species. *Am J Vet Res.* Jun;66(6):945-952.

Marshall BJ, Warren JR. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet.* 1311-5.

Marshall BJ. 1995. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer: have Koch's postulates been fulfilled?. *Ann Med.* 27: 565-568.

Mendes EN, Queiroz DMM, Rocha G, Nogueira AMMF, Carvalho ACT, Lage AP, Barbosa AJA. 1991. Histopathological study of porcine gastric mucosa with and without a spiral bacteria ("*Gastrospillum suis*") *J. Med. Microbiol.* 35: 345-348.

Otto G, Hazell SH, Fox JG, Howlett CR, Murphy JC, O'Rourke JL, Lee A. 1994. Animal and Public Health Implications of Gastric Colonization of Cats by *Helicobacter*-Like Organisms. *J Clin Microbiol.* 32: 1043-1049.

Papiez D, Konturek PC, Bielanski W, Plonka M, Dobrzanska M, Kaminska A, Szczyrk U, Bochenek A, Wierzchos E. 2003. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Polish shepherds and their families. *Dig Liver Dis.* 35(1):10-5.

Ramis G. 2002. Estudio multifactorial de la úlcera gastroesofágica porcina: aspectos genéticos, nutricionales, de manejo y sanitarios. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.

Waldeström J, On SLW, Ottvall R, Hasselquist D, Harrington CS, Olsen B. 2003. Avian Reservoirs and Zoonotic Potential of the Emerging Human Pathogen *Helicobacter Canadensis*. *Applied and environmental microbiology,* 69: 7523-7526.