
Evaluación de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes VIH positivos mediante ensayos inmunoenzimáticos y amplificación específica de ADN.

Sandra Gutiérrez¹, María Chacón-Petrola², María Flores^{2,3}, Ángela Pinto⁴ y Mariela Pacheco⁴.

¹Postgrado de Medicina Interna, ²Unidad de Investigaciones en Inmunología Clínica y

³Unidad de Inmunología Clínica. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera. INSALUD y ⁴Gastroenterología, Centro Médico Rafael Guerra Méndez. Valencia, Venezuela. Correo electrónico: mchacon@postgrado.uc.edu.ve; Petrola49@cantv.net

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, Virus de la Inmunodeficiencia Humana, anticuerpos anti *Helicobacter pylori*; serología; Reacción en Cadena de Polimerasa.

Resumen. El objetivo del presente trabajo fue valorar la eficacia de la detección de anticuerpos específicos anti *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) vs técnicas de amplificación de ADN (PCR) como métodos diagnósticos de infección por *H. pylori* en pacientes VIH positivos. Se estudiaron 22 pacientes con infección por VIH, de 26 a 35 años, 17 masculinos, 55% con síntomas gastrointestinales, controlados en la Unidad de Inmunología de la CHET. Criterios de inclusión: mayores de 18 años, diagnóstico confirmado de infección por VIH (ELISA y WB), fenotipo celular, buenas condiciones generales. Se exigió consentimiento informado por escrito. Criterios de exclusión: diagnóstico previo de infección por *H. pylori* o tratamiento con antibióticos en los tres meses previos a su inclusión. La cuantificación de IgG anti *H. pylori* se realizó por métodos inmunoenzimáticos (ELISA). La muestra de mucosa gástrica se obtuvo por endoscopia digestiva superior. La amplificación del ADN del *H. pylori* por PCR (Ensayo comercial Wizard SV Genomik y PCR Ready-Promega). En el procesamiento estadístico se utilizó como prueba de significación estadística el test exacto de Fisher, con un nivel de significación del 5% (0,05). En 15 pacientes del grupo total se confirmó la presencia de anticuerpos anti *H. pylori*, sin asociación estadística con la presencia o no de sintomatología digestiva, ni con el número de linfocitos CD4 + en sangre periférica. También 15 pacientes fueron PCR positivos para el ADN del *H. pylori*, de los cuales, el 73,3% presentaron niveles de CD4+ por encima de 200 células. No se encontró asociación

estadística entre la positividad de este método y los niveles de linfocitos CD4+. En 12 de los 15 pacientes con resultados positivos por PCR, se evidenciaron anticuerpos anti *H. pylori*, y entre los 7 pacientes con serología negativa para *H. pylori*, la PCR fue positiva en tres de ellos. En conclusión, la serología es un método diagnóstico eficaz de infección por *H. pylori* en pacientes VIH+, pero su negatividad no descarta la presencia de infección por este bacilo.

Evaluation of infection by *Helicobacter pylori* in HIV positive patients through enzyme immunoassay and specific amplification of DNA.

Invest Clin 2005; 46(1): 43 - 52

Key words: *Helicobacter pylori*, VIH, antibodies, anti *Helicobacter pylori*, serology, PCR.

Abstract. The objective of this work was to assess the effectiveness of detection of specific antibodies anti-*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) by ELISA and amplification of specific DNA by polymerase chain reaction (PCR) as diagnostic methods of infection of *H. pylori* in HIV positive patients. Twenty two patients with HIV infection were studied, with ages between 26 to 35 years, 17 masculine, 55% with gastrointestinal symptoms, controlled in the Unit of Immunology, CHET. Inclusion approaches: older than 18 years, with confirmed diagnosis of HIV infection (ELISA and WB), lymphocyte subpopulation and good general conditions. Consent in writing was obtained. Exclusion approaches: previous diagnosis of *H. pylori* infection or treatment with antibiotics in the three previous months to their inclusion. The quantification of IgG anti *H. pylori* was carried out by Enzyme Immunoassay methods (ELISA). Biopsy of gastric mucosa was obtained by superior endoscopic study. The amplification of DNA for *H. pylori* was performed by PCR (Wizard SV Genomik and PCR Ready-Promega). In the statistical analysis was used the test of Fisher, with a level of significance of 5% (0.05). In 15 patients of the total group, antibodies anti *H. pylori* were confirmed, without statistical association with the presence or not of digestive symptoms, neither with the number of lymphocytes CD4 + in peripheral blood. Also 15 patients were positives by PCR for *H. pylori* DNA, 73.3% of them presented levels of CD4+ above 200 cells. There was not statistical association between the positivity of this method and levels of lymphocytes CD4+. In 12 of the 15 patients with positive results by PCR, antibodies anti *H. pylori* were evidenced, and among the 7 patients with negative serology to *H.pylori*, PCR was positive in three of them. In conclusion, serology is an effective method for the diagnose of *H. pylori* infection in VIH+ patients, but its negativity doesn't discard the infection for this bacillus.

Recibido: 03-02-2004. Aceptado: 29-07-2004.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones bacterianas son responsables de un porcentaje importante de los síntomas gastrointestinales referidos por los pacientes afectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), y constituyen una causa significativa de morbilidad a lo largo de la historia natural de esta enfermedad (1-4). La infección por *Helicobacter pylori* podría ser motivo de morbilidad en pacientes VIH positivos y, aunque los resultados publicados al respecto son controversiales y no definitivos (5-8), la mayoría de los estudios realizados indican que en este grupo, su prevalencia es menor que en la población seronegativa (60% de casos positivos entre la sexta y séptima década de la vida) (9). En este sentido, se ha publicado que esta infección en pacientes VIH positivos podría estar relacionada con los niveles de linfocitos CD4+, sugiriendo que dichos linfocitos jugarían un papel fundamental para la permanencia del bacilo en la mucosa gástrica (8, 10-12).

Desde la reseña inicial del *Helicobacter pylori* por Marshall y Warren en 1982 (13, 14), se han descrito numerosos procedimientos para su diagnóstico, tanto de carácter invasivo como no invasivo; entre los no invasivos, los serológicos, basados en la demostración de anticuerpos específicos anti *Helicobacter pylori*, constituyen uno de los más difundidos tanto por su fácil realización como por su bajo costo y alta especificidad y sensibilidad (15, 16). Sin embargo, en pacientes con compromiso del sistema inmune, como es el caso de los pacientes VIH positivos, los resultados deben ser objeto de un delicado análisis antes de llegar a un diagnóstico definitivo. Por ende, en los pacientes infectados por el VIH es importante comparar la eficacia de dichos ensayos con otros métodos que detectan directamente la presencia del bacilo, como son aquellos capaces de amplificar el ADN

bacteriano a través de la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) para determinar si realmente la infección por *Helicobacter pylori* es menor entre pacientes VIH positivos, o simplemente se trata de una falla para la producción de anticuerpos específicos. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de *Helicobacter pylori* en muestras de mucosa gástrica de pacientes VIH positivos, obtenidas por endoscopia digestiva superior y relacionar los resultados con la detección de anticuerpos séricos específicos anti *Helicobacter pylori*.

Por otra parte, muchas cepas citotóxicas producen una proteína altamente inmunogénica llamada CagA, codificada por el gen ligado a la citotoxicidad del mismo nombre, cuya presencia ha sido relacionada con el desarrollo de úlcera duodenal, gastritis atrófica y carcinoma gástrico (17). En cultivos *in vitro* provenientes de muestras de biopsias gástricas de pacientes infectados por el *Helicobacter* se ha evidenciado la capacidad del bacilo para incrementar la secreción de citoquinas proinflamatorias (IL-6, FNT-alfa, IL-8), sobre todo en cepas CagA positivas (18, 19); sin embargo, el incremento en la producción de estas citocinas podría estar más bien relacionado con la densidad de colonización del bacilo y su capacidad de adherencia al epitelio gástrico, que con la presencia o no de cepas CagA+ (20, 21). En el presente trabajo se estudió el porcentaje de la presencia de cepas CagA+ y se relacionó con el compromiso inmune del paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se trata de una investigación descriptiva comparativa de campo, de carácter transaccional. Se estudiaron 22 pacientes, 17 de sexo masculino, con edades comprendidas entre 17 y 56 años (promedio 32.8), con diagnóstico de infección por VIH, controlados en la Unidad de

Inmunología de la Ciudad Hospitalaria Enrique Tejera, Valencia, Venezuela, quienes cumplieron los siguientes criterios de inclusión: 1.- Diagnóstico confirmado de infección por VIH (ELISA y Western Blot). 2.- Fenotipo celular determinado en el momento de su inclusión. 3.- Condiciones generales que permitieran estudio endoscópico de vías digestivas superiores. 4.- Mayoría de edad. 5.- Consentimiento del paciente informado por escrito. Se excluyeron los pacientes con diagnóstico previo de infección por *Helicobacter pylori* o que hubiesen recibido antibioticoterapia en los tres meses previos al estudio. A cada paciente se le realizó una historia clínica completa. La población en estudio se clasificó en dos grupos, dependiendo de la presencia o no de síntomas relacionados con las vías digestivas: Grupo A: Asintomáticos; Grupo B: Sintomáticos. En relación con el fenotipo celular, se establecieron dos categorías: aquellos pacientes con cuenta de linfocitos T CD4+ por encima de 200 células por μL , y aquellos con cifras inferiores, considerándose los primeros con un nivel de inmunocompetencia adecuado y los segundos inadecuado. En el momento de su inclusión en el estudio se obtuvo una muestra de sangre de la vena del pliegue del codo y el suero correspondiente fue almacenado a -70°C , para su procesamiento posterior, en un período no mayor de tres meses. La detección de inmunoglobulinas G anti *Helicobacter pylori* se realizó por métodos inmunoenzimáticos (ELISA) a través de la prueba Platelia *Helicobacter pylori*, utilizando microplacas sensibilizadas con un extracto antigénico semipurificado. Para la interpretación de los resultados se utilizó la escala siguiente: Positivo: $> 1,10$; Intermedio (no significativo): $0,90 - 1,10$; Negativo: $< 0,90$.

El estudio endoscópico se realizó en un lapso no mayor de diez días. Se utilizó un Endoscopio Olympus y previa sedación del paciente con Midazolam, bajo anestesia

local con Xilocaina en aerosol en la cavidad oral, al visualizarse la mucosa del antro gástrico, se procedió a tomar una muestra de la misma, se preservó en formol y se trasladó al laboratorio para el posterior procesamiento por PCR. Para la detección del ADN del *Helicobacter pylori* por la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa, se utilizó ensayo comercial Wizard SV Cenomik y PCR Ready (Promega). Para el *Helicobacter pylori* es un seminestad con tallas de 314 pb y 204 pb, una región del gen de UraA; el primer utilizado fue: HPA-1 ATATTATGGAA GAAGCGAGAC – HPA-2 CATGAAGTGGG TATTGAAG – HPA-3 ATGGAAGTGTGAG CCGATTT. Para CagA se utilizó un fragmento de 400pb que codifica para la proteína 96-138 KD asociada a la producción de toxina vacuolante (Primer CagA1: AATAC ACCAACGCCTCCAAG; Cag2: TTGTTGCCG CTTTTGCTCTC). Una vez obtenidas las bandas en esta nueva corrida, se compararon con patrones conocidos para tipificar las cepas presentes en la muestra (22, 23).

El análisis de la información obtenida se realizó mediante el programa estadístico SPSS ver. 7.5 (win). Debido a lo reducido del grupo estudiado, para establecer la existencia o no de asociación entre las variables investigadas, se utilizó como prueba de significación estadística el test exacto de Fisher, con un nivel de significación menor al 5% (0,05).

RESULTADOS

El 55% de los pacientes refirieron síntomas asociados con las vías digestivas, siendo los reportados con mayor frecuencia diarrea, diarrea con acidez, náuseas y vómitos, acidez y dolor abdominal. En 15 individuos del grupo total estudiado se confirmó la presencia de anticuerpos específicos anti *Helicobacter pylori*, sin asociación estadística con la presencia o no de síntomas gastrointestinales (90 y 50% de serología posi-

tiva para los grupos A y B respectivamente). En el estudio endoscópico, la patología más frecuentemente reportada fue la Gastritis Antral Moderada (36%), con serología anti *Helicobacter pylori* positiva en el 64,28%, seguida de Pangastritis y Gastritis Severa (14% para cada una) y con anticuerpos anti *Helicobacter pylori* en el 66,6% de ambas patologías; solamente en un paciente el estudio fue reportado normal y no se demostró la presencia de anticuerpos. La serología fue positiva en el 85,72% de los casos restantes (Pangastritis Severa y Moderada, Gastritis, Pangastritis-Duodenitis, Gastritis Moderada, Gastritis Antral y Gastritis Antral Leve). En relación con el compromiso inmune, la presencia de anticuerpos anti *Helicobacter pylori* no presentó asociación estadísticamente significativa con el nivel de linfocitos CD4+ en sangre periférica (Tabla I).

La PCR para la detección del ADN del *Helicobacter pylori* fue positiva en el 68,1% del grupo total estudiado (15 de 22 pacientes), de ellos, el 73,3% (11 pacientes) pre-

sentó niveles de linfocitos CD4+ superiores a 200 células. (Tabla II). El 80% de los casos con PCR + (12 del total de 15 pacientes PCR +), fueron serológicamente positivos; en 3 de los 7 pacientes con PCR negativa, se evidenciaron anticuerpos anti *Helicobacter pylori* y entre los 7 pacientes con serología negativa, la PCR fue positiva en 3 de ellos. No se encontró asociación significativa entre la positividad de estos métodos diagnósticos y el estado de inmunocompetencia del paciente, evaluado a través de la cuantificación de las células CD4+ en sangre periférica (Tabla III).

El gen CagA fue detectado en aproximadamente la mitad de los pacientes con PCR positiva (8 de los 15), sin asociación estadísticamente significativa con el grado de inmunosupresión (Tabla IV).

DISCUSIÓN

Se ha establecido que la respuesta inmunológica a nivel de la mucosa gastrointestinal está alterada en los pacientes infec-

TABLA I
DISTRIBUCIÓN SEGÚN LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Ig G ANTI *H. pylori*
EN RELACIÓN CON LA CUENTA DE LINFOCITOS T CD4+SEROLOGÍA -IgG-

Linfocitos T CD4+ (cél/ μ L)	Positiva F (%)	Negativa F (%)	Total f (%)
< 200	3 (42,9)	4 (57,1)	7 (31,9)
\geq 200	12 (80,0)	3 (20,0)	15 (68,1)
Total	15 (68,1)	7 (31,9)	22 (100,0)

TABLA II
DISTRIBUCIÓN SEGÚN MÉTODO DE PCR-*Helicobacter pylori*
EN RELACIÓN CON CUENTA DE LINFOCITOS T CD4+PCR - *Helicobacter pylori*

Linfocitos T CD4+ (Cél/ μ L)	Positiva F (%)	Negativa F (%)	Total F (%)
< 200	4 (57,1)	3 (42,9)	7 (31,9)
\geq 200	11 (73,3)	4 (26,7)	15 (68,1)
Total	15 (68,1)	7 (31,9)	22 (100,0)

TABLA III
DISTRIBUCIÓN SEGÚN LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS Ig G ANTI *Helicobacter pylori*
EN RELACIÓN CON EL MÉTODO PCR PCR anti *Helicobacter pylori*

Anticuerpos Ig G	Positiva F (%)	Negativo F (%)	Total F (%)
Positivo	12 (80,0)	3 (20,0)	15 (68,1)
Negativo	3 (42,9)	4 (57,1)	7 (31,9)
Total	15 (68,1)	7 (31,9)	22 (100,0)

TABLA IV
DISTRIBUCIÓN SEGÚN PRESENCIA DE CagA EN RELACION CON LA CUENTA DE LINFOCITOS T
CD4+ EN PACIENTES POSITIVOS PARA *Helicobacter pylori* POR MÉTODO DE PCR

CD4+	Presencia de CagA		
	Positiva F (%)	Negativa F (%)	Total F (%)
<200	3 (75,0)	1 (25,0)	4 (26,7)
≥ 200	5 (45,5)	6 (54,5)	11 (73,3)
Total	8 (53,3)	7 (46,7)	15 (100,0)

tados por el VIH (10, 24), y aunque es importante reconocer que dicha perturbación puede ser el reflejo de múltiples variables asociadas a la infección, sumadas o no a la acción aislada y directa del virus, no hay duda de su relación con gran parte de la sintomatología referida por los pacientes (25, 26); por otra parte, se ha demostrado plenamente la vinculación existente entre la infección por *Helicobacter pylori* y la aparición de determinados síntomas como pirosis, náuseas y disfagia, sin que la población VIH positiva escape de esta asociación. En el presente trabajo en 15 pacientes del grupo total se estableció la presencia de anticuerpos anti *Helicobacter pylori*, con resultados similares por PCR, cifras equivalentes a las reportadas entre la población HIV negativa (27); en relación con la aparición de sintomatología digestiva asociada a la presencia del *Helicobacter pylori*, es importante anotar que el comportamiento de esta infección en el presente grupo, tampoco difiere significativamente de lo reporta-

do entre poblaciones VIH negativas (28), pues un número importante de los pacientes era asintomático desde el punto de vista gastrointestinal (40% de los PCR+).

El número de casos con infección por *Helicobacter pylori* fue menor entre los pacientes con menos de 200 linfocitos CD4+ por μL en sangre periférica, que entre aquellos con niveles superiores, aunque esta asociación no fue estadísticamente significativa (15 pacientes con serología positiva para *Helicobacter pylori*, 12 con CD4+ > 200; 15 casos positivos por PCR, 11 con CD4+ > 200) (Tablas I y II). Estudios similares al presente han arrojado resultados idénticos: la prevalencia de *Helicobacter pylori* entre pacientes con VIH es similar a la de la población seronegativa, excepto cuando existe una grave inmunosupresión, pues, en la medida que la cuenta de células CD4+ en sangre periférica disminuye, lo mismo sucede con la infección por *Helicobacter pylori* (9, 29-31); se ha sugerido que la presencia de un porcentaje importante

de estos linfocitos en la mucosa gástrica es, de alguna manera, fundamental para la colonización y permanencia del bacilo (11); previamente se ha publicado que en los pacientes infectados por el VIH, el número de linfocitos CD4+ de la lámina propia en la mucosa intestinal, disminuye desde las etapas iniciales de la enfermedad (32), y es probable que se suceda un evento similar en la mucosa gástrica. En los pacientes con VIH, es posible que el descenso de las células CD4+ sea responsable de la disminución en la prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori*, sobre todo cuando la cuenta de linfocitos CD4+ esté por debajo de 100 células por μL .

Sin embargo, la interpretación de los métodos diagnósticos basados en la detección de anticuerpos anti *Helicobacter pylori*, debe ser cuidadosa y es importante comprobar si la ausencia de infección en los mismos está relacionada realmente con un fracaso en la colonización o se debe a una falla del sistema inmune para reconocer los antígenos del *Helicobacter pylori* (28); las investigaciones apuntan hacia la existencia de una estrecha relación entre la capacidad del *Helicobacter pylori* para colonizar y persistir en la mucosa gástrica, y los fenómenos inflamatorios que se suceden, ya sean inducidos directamente por el bacilo (producción de IL-8 por las células gástricas epiteliales) (33,34) o bien a través de respuestas mediadas por los linfocitos CD4+ (35); en este sentido, se ha demostrado la vinculación que existe entre la activación y proliferación de las células CD4+ a través de respuestas tipo Th1 y las lesiones promovidas por el *Helicobacter pylori* (36), por lo que niveles adecuados de linfocitos CD4+ son aparentemente fundamentales para asegurar la permanencia del *Helicobacter*. Sin embargo, es importante continuar el estudio de la relación entre la patología gástrica y la infección por *Helicobacter pylori* en los pacientes infectados por el VIH, iden-

pendientemente del estadio de la enfermedad, pues existen trabajos en donde su prevalencia entre los pacientes con SIDA, es decir con grave compromiso del sistema inmune, es idéntica a la de la población sana (27).

En el presente estudio, en tres pacientes con serología negativa para *Helicobacter pylori* se confirmó la presencia de este bacilo por PCR (sólo uno de ellos con menos de 200 linfocitos CD4 en sangre periférica), por lo tanto, en estos pacientes, la ausencia de niveles detectables de anticuerpos específicos, no descarta la infección por *Helicobacter pylori*, siendo indispensable cuando lo requiera el caso, el empleo de técnicas diagnósticas invasivas. La ausencia de anticuerpos podría ser explicada por falla en el clono de células inmunocompetentes específicas para el *Helicobacter pylori*, consecuencia o no de la infección por el VIH. En contraste, también se encontraron tres casos con serología positiva y PCR negativa (2 pacientes con cuentas de CD4 =200), en este punto es importante recordar que la colonización de la mucosa gástrica por el *Helicobacter pylori* está asociada a la persistencia de un proceso inflamatorio, el cual puede ser modificado por la infección por el VIH, lo que influiría negativamente en la permanencia del *Helicobacter*, persistiendo niveles séricos de anticuerpos detectables, pues los títulos de anticuerpos pueden persistir hasta 4 y 6 meses después de la erradicación de la infección (37), lo cual también se puede presentar entre los pacientes VIH positivos, sobre todo cuando no ha habido un descenso crítico de linfocitos CD4+. Por lo tanto, no es de extrañar que en estudios de prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* realizados entre la población VIH negativa, se reporten cifras superiores cuando el estudio se basa en la detección de anticuerpos anti *Helicobacter pylori* que cuando se basa en métodos invasivos, en donde se comprueba la presencia

del bacilo por cultivo o PCR (5). Por otra parte, una serología positiva para *Helicobacter pylori* en ausencia del bacilo en los pacientes infectados por el VIH, podría deberse a la presencia de anticuerpos con reactividad cruzada, inducidos por la activación policlonal que se produce en determinadas etapas de la infección por VIH. Adicionalmente, actualmente se plantea la capacidad del *Helicobacter pylori* de inducir lesiones autoinmunes en la mucosa gástrica de los pacientes infectados, pues, anticuerpos dirigidos contra antígenos de la cubierta lipopolisacárida del *Helicobacter pylori*, son capaces de reconocer componentes antigénicos específicos sobre las células productoras de gastrina del antro gástrico (35), los cuales pueden perpetuar el proceso inflamatorio sobre la mucosa gástrica en ausencia del bacilo, y adicionalmente podrían dar lugar a pruebas serológicas positivas, posteriores a la erradicación del bacilo.

En resumen, muy probablemente, la prevalencia de *Helicobacter pylori* en individuos infectados con VIH está relacionada con el grado de inmunosupresión del paciente y disminuiría en la medida en que disminuyen los linfocitos CD4+ en sangre periférica, pero, a pesar del desorden inmunológico que presentan estos pacientes, la serología continúa siendo un método diagnóstico eficaz de fácil realización, aunque en el caso de infección por VIH, su negatividad no descarta completamente la infección por *Helicobacter pylori*.

Se puede plantear la posibilidad de que en individuos inmunocomprometidos por el VIH, las cepas CagA positivas sean las causantes de la infección por *Helicobacter pylori*, por su asociación con una capacidad patogénica mayor, que favorecería su persistencia a pesar de la disminución de la cuenta de linfocitos CD4+; sin embargo, en el presente estudio el mayor porcentaje de cepas CagA positivas se encontró entre los pacientes con más de 200 linfocitos CD4+

en sangre periférica. Si realmente las cepas CagA positivas tienen la facultad de promover una mayor producción de IL-8 que las negativas, (18, 19, 21), y por ende una inflamación local más intensa, la presencia de una respuesta inmune íntegra, fundamentalmente tipo Th1, parecería ser un requisito importante para la persistencia del bacilo: eso explicaría el mayor número de casos CagA positivos entre los pacientes con niveles de linfocitos CD4+ adecuados a pesar de la infección por VIH (33).

REFERENCIAS

1. **Chiodo F, Manfredi R.** Effects induced by the introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) on disseminated bacterial infection during HIV disease. *Infez Med* 2002; 10: 107-114.
2. **Megowan I, Allason-Jones E.** Symptomatic management of HIV associated gastrointestinal disease. *Cancer Surv* 1994; 21:157-177.
3. **Okome-Nkoumou M, Mbounja-Lo clo ME, Kombila M.** Spectrum of opportunistic infections in subjects infected with HIV at Libreville, Gabon. *Sante* 2000; 10:329-337.
4. **Pedro-Botet ML, Modol JM, Valles X, Romeu J, Sopena N, Gimenez M, Tor J, Clotet B, Sabria M.** Changes in bloodstream infections in HIV-positive patients in a university hospital in Spain (1995-1997). *Int J Infect Dis* 2002; 6:17-22.
5. **Feldman RA, Eccersley AJ, Hardie J.** Epidemiology of *Helicobacter pylori*: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio. *Br Med Bull* 1998; 54: 39-53.
6. **Marano BJ, Smith F, Bonnano CA.** *Helicobacter pylori* prevalence in acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:687-690.
7. **Varsky CG, Correa MC, Sarmiento N, Bonfanti M, Peluffo G, Dutack O, Capece P, Valentinuzzi G, Weinstock D.** Prevalence and etiology of gastroduodenal ulcer in HIV-positive patients: a comparative study of 497 symptomatic subjects evalu-

- ated by endoscopy. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:935-940.
8. **Alimohamed F, Lule GU, Nyong'O A, Bwayo J, Rana FS.** Prevalence of *Helicobacter pylori* and endoscopic findings in HIV seropositive patients with upper gastrointestinal tract symptoms at Kenyatta National Hospital, Nairobi. *East Afr Med J* 2002; 79:226-231.
 9. **Luthra GK, Dinuzzo AR, Gourley WK, Crowe SE.** Comparison of biopsy and serological methods of diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the potential role of antibiotics. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1291-1296.
 10. **Fabris P, Pilotto A, Bozzola L, Tesitti G, Soffiati G, Manfrin V, De Lalla F.** Serum pepsinogen and gastrin levels in HIV-positive patients: relationship with CD4+ cell count and *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 807-811.
 11. **Cacciarell A, Marano B, Gualtiere N, Zuretti A, Torres R, Starpoli A, Robilotti J.** Lower *Helicobacter pylori* Infection and Peptic Ulcer Disease Prevalence in Patients with AIDS and Suppressed CD4 Counts. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:1783-1784.
 12. **Valdes-Alonso LJ, González-Carvajal Pascual, M; Ruiz-Perez A, Arteaga-Hernandez E, Borbolla-Busquets E, Ricardo-Fonseca ME.** Infección por *Helicobacter pylori* en un grupo de pacientes VIH/SIDA. *Rev Cubana Med Trop* 2001; 53: 199-203.
 13. **Fakuda Y, Tomita T, Hori K, Tamura K, Shimoyama T, Nishigami T.** The history of *Helicobacter pylori*. *Rinsho Byori* 2001; 49:109-115.
 14. **Marshall I, Warren J.** Unidentified Curved Bacilli in the Stomach of Patients with Gastritis and Peptic Ulceration. *Lancet* 1994; 1311-1315.
 15. **Griño P, Pascual S, Such J, Casellas JA, Niveiro M, Andreu M, Saez J, Griño E, Palazón JM, Carnicer F, Perez-Mateo M.** Comparison of diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding. *Scand J Gastroenterol* 2001, 36:1254-1258.
 16. **Malaty HM, Logan ND, Graham DY, Ramchatesingh JE, Reddy S.** *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic children: comparison of diagnostic tests. *Helicobacter* 2000; 5:155-159.
 17. **Martin-Guerrero JM, Jergueta-Delgado P, Esteban-Carretero J, Romero-Castro R, Pellicer-Bautista FJ, Herrerias-Gutierrez JM.** Clinical relevance of *Helicobacter pylori* CagA-positive strains: gastroduodenal peptic lesions marker. *Rev Esp Enferm Dig* 2000; 92:160-173.
 18. **Bodger K, Bromelow K, Wyatt Ji, Heatley RV.** Interleukin 10 in *Helicobacter pylori* associated gastritis: immunohistochemical localisation and in vitro effects on cytokine secretion. *J Clin Pathol* 2001; 54:285-292.
 19. **Konturek SJ, Starzynska T, Konturek PC, Karczewska E, Marlicz K, Lawniczak M, Jaroszewicz-Heigelmman H, Bielanski W, Hartwich A, Ziemniak A, Hahn EG.** *Helicobacter pylori* and CagA status, serum gastrin, interleukin-8 and gastric acid secretion in gastric cancer. *Scand J Gastroenrol* 2002; 36:891-898.
 20. **Nozawa Y, Nishihara K, Peek RM, Nakano M, Uji T, Ajioka H, Matsuura N, Miyake H.** Identification of a signaling cascade for interleukin-8 production by *Helicobacter pylori* in human gastric epithelial cells. *Biochem Pharmacol* 2002; 64:21-30.
 21. **Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, Graham DY.** Relation between clinical presentation, *Helicobacter pylori* density, interleukin 1 beta and 8 production and cagA status. *Gut* 2000; 46:584.
 22. **Kawamata O, Yoshida H, Hirota K, Yoshida A, Kawaguchi R, Shiratori Y, Omata M.** Nested-polymerase chain reaction for the detection of *Helicobacter pylori* infection with novel primers designed by sequence analysis of urease A gene in clinically isolated bacterial strains. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 219:266-272.
 23. **Lage Ap, Godfroid E, Fauconnier A, Burtte A, Butzler JP, Bollen A, Glupczynski Y.** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of CagA gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 2752-2756.

24. **Kotler D, Gaetz H, Lange M, Klein EB, Holt PR.** Enteropathy associated with the AIDS. *Ann Intern Med* 1994; 101: 421-428.
25. **Lake-Bakar G, Quadros E, Beidas S, Elsakar M, Tom W, Wilson DE, Dinesoy HP, Cohen P, Straus EW.** Gastric secretory failure in patients with AIDS. *Ann Intern Med.* 1988; 109: 502-504.
26. **Ullrich R, Heise W, Bergs C, L'Age M, Riecken EO, Zeitz M.** Effects of Zidovudine treatment on the small intestinal mucosa in patients infected with the Human Immunodeficiency Virus. *Gastroenterol* 1992; 102: 1483-1492.
27. **Sud A, Ray P, Bhasin DK, Wanchu A, Bambery P, Singh S.** *Helicobacter pylori* in Indian HIV infected patients. *Trp Gastroenterol* 2002; 23:79-61.
28. **Fernando N, Holton J, Zulu I, Vaira D, Mwaba P, Kelly P.** *Helicobacter pylori* infection in an urban African population. *J Clin Microb* 2001; 39:1323-1327.
29. **Fabris P, Buzzola L, Benedetti P, Scagnelli M, Nicolin R, Manfrin V, Scarparo C, De Lalla F.** *Helicobacter pylori* infection in HIV-positive patients. A serological study. *Dig Dis Sci* 1997; 42: 289-292.
30. **Francis N, Longan R, Walker M, Polson RJ, Boyistan AW, Harris JRW, Baron JH.** *Campilobacter pylori* in the upper gastrointestinal tract of the patients with HIV - 1 infection. *J Clin Pathol* 1997; 43: 60-62.
31. **Lichterfeld M, Lorenz C, Nischalke HD, Scheurten C, Sauerbruch T, Rockstroh JK.** Decreased prevalence of *Helicobacter pylori* infection in HIV patients with AIDS defining diseases. *Z Gastroenterol* 2002; 40:11-14.
32. **Kotler D.** Characterization of intestinal disease associated with Immunodeficiency Virus infection and response to antiretroviral therapy. *J Inf Dis* 1999; 179: S454-S456.
33. **Rad R, Gerhard M, Lang R, Schöniger M, Rösh T, Schepp W, Becker I, Wagner H, Prinz C.** The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesion facilitates bacterial colonization and augments a non-specific immune response. *J Immunol* 2002; 168: 3033-3041.
34. **Kaji T, Ishihara S, Ashizawa N, Hamamoto N, Endo H, Fukuda R, Adachi K, Watanabe M, Nakao M, Kinoshita Y.** Adherence of *Helicobacter pylori* to gastric epithelial cells and mucosal inflammation. *J Lab Clin Med* 2002; 139:244-250.
35. **Stenson WF, Newberry RD, Lorenz RG.** Immunologic diseases of the gastrointestinal tract en Frank Austen, K; Frank, MM; Atkinson, JP; Cantor, H. Eds. *Samter's Immunologic Diseases.* Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins. 2001. p: 693.
36. **Mattapallil JJ, Dandekar S, Canfield R, Solnick V.** A predominant Th1 type of immune response is induced early during acute *Helicobacter.pylori* infection in rhesus macaques. *Gastroenterology* 2000; 118: 307-315.
37. **Goodwin C, Stewart-Mendall M.** *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1997. 349: 265-270.