



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**GRANULOMA ULCERATIVO TRAUMÁTICO CON  
EOSINOFILIA ESTROMAL (TUGSE)**

**REVISIÓN DE LA LITERATURA**

T E S I S A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A :

**MAURA ELENA GONZÁLEZ ARISTA**

**DIRECTOR: C.D. FERNANDO TENORIO ROCHA**

MÉXICO D. F.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A la UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO.  
A la FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
GRACIAS ... por haberme acogido.  
Al C.D. Fernando Tenorio Rocha.  
Por el apoyo, la orientación y por ayudarme a cerrar  
esta etapa de mi vida.  
A todos mis maestros por compartir conmigo su sabiduría.

A DIOS.

Por cuidar de mi y de los que quiero.  
y por haber hecho de mi lo que soy.

A MIS PADRES: Concepción Arista y Emiliano González,  
por el amor y los sacrificios.

A MIS HERMANOS: Verónica, Jesús , Angie y Fito,  
por ser mis cómplices, por darme su apoyo y cariño.

A MIS SOBRINOS: Mali, Atzin, Cuauhtli, Ixchel, Quitze,  
Ixtli, Balam, Celic.  
Por compartir conmigo sus sonrisas.

## ÍNDICE

1.-Antecedentes.....	5
2.-Úlceras.....	6
- Clasificación de las lesiones ulcerativas.....	7
-Úlcera traumática.....	8
3.-TUGSE.....	11
-prevalencia y localización del TUGSE.....	12
-Enfermedad de Riga-Fede.....	14
-Histopatología.....	15
-Diagnóstico diferencial.....	18
-Pronóstico.....	18
-Tratamiento.....	19
4.- Helicobacter pylori.....	21
- Diagnóstico de la infección por Helicobacter pylori.....	23
-Métodos directos.....	23
-Métodos indirectos.....	28
5.-Conclusiones.....	32
6.- Referencias.....	33

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Úlcera traumática.....	6
Figura 2. Úlcera traumática H y E 40X.....	6
Figura 3. Úlcera traumática.....	9
Figura 4. TUGSE.....	11
Figura 5. TUGSE.....	12
Figura 6. TUGSE.....	13
Figura 7. TUGSE.....	13
Figura 8. Enfermedad de Riga-Fede.....	14
Figura 9. Enfermedad de Riga-Fede.....	14
Figura 10. H y E 100X.....	15
Figura 11. H y E 400 X.....	15
Figura 12. H y E 1000X.....	16
Figura 13. H y E 400X.....	16
Figura 14. H y E 400X.....	17
Figura 15. Enfermedad de Riga-Fede.....	19
Figura 16. Enfermedad de Riga-fede.....	20
Figura 17. Warren y Marshall.....	21
Figura 18. Helicobacter pylori.....	22

Figura 19. Helicobacter pylori.....	22
Figura 20. Tinción Whartin Starry y H y E 100X.....	24
Figura 21. Tinción Whartin Starry 100X.....	24
Figura 22. Tinción de Giemsa 100X.....	25
Figura 23. Prueba de la ureasa.....	27

## 1. ANTECEDENTES

En 1857 Carderelli, describió por primera vez esta condición llamándola afta cachettica, posteriormente en 1881, Antonio Riga, médico italiano señaló algunos de sus aspectos más importantes; en 1890 Fede describió el primer caso con un estudio histológico y propuso el término a esta lesión como Enfermedad de Riga - Fede <sup>[1,2,3,4]</sup>

En 1961 Hjorting-Hansen y Schmidt describieron tres casos de úlcera en la lengua con características similares a la úlcera eosinofílica y utilizaron el término de granuloma eosinófilo ulcerado diutinum y en 1964 Baskar y Lilly informaron siete casos de la entidad con el mismo patrón histológico, y la denominaron granuloma traumático lo que ha dado motivo a confusión. <sup>[1,3]</sup>

La primera vez que fueron descritos en adultos fue por Popoff en 1956. <sup>[5]</sup>

Otros nombres con los que ha sido designada la lesión para el caso de los adultos son: úlcera eosinofílica de la mucosa oral (UEMO), granuloma eosinofílico ulcerado diutinum, granuloma eosinofílico <sup>[4]</sup>, granuloma traumático ulcerado <sup>[2]</sup>, granuloma traumático, úlcera eosinofílica, granuloma ulcerativo traumático con estroma eosinofílico, Granuloma Eosinofílico Traumático, granuloma ulcerativo traumático con eosinofilia estromal,(TUGSE) <sup>[3]</sup>; úlcera traumática, úlcera eosinofílica de la lengua granuloma traumático de la lengua, granuloma eosinófilo de la lengua <sup>[4]</sup>

En el caso de los niños se le denomina Enfermedad de Infantes, Enfermedad de Riga-Fede, Granuloma Eosinófilo de Riga-Fede del tejido fino suave, enfermedad de Riga, Granuloma Sublingual, Lesión reparativa de la lengua, Crecimiento sublingual en infantes <sup>[1,3]</sup>.Fibrogranuloma sublingual, Ulceración traumática lingual, glositis atrófica traumática <sup>[6]</sup>

Debido a la gran variedad de términos utilizados para esta lesión se ha creado una gran confusión en el diagnóstico clínico e histológico de lesión <sup>[1]</sup>.



## 2. ÚLCERAS

Una úlcera es definida como una solución de continuidad de la superficie epitelial que llega a comprometer todos los estratos epiteliales, (a diferencia de la erosión en que no llega al corion.) Las lesiones ulcerativas presentan una dificultad en la mucosa oral, principalmente en el diagnóstico diferencial <sup>[9]</sup>.



Fig 1. úlcera traumática.  
(<http://www.medicompu.com>)

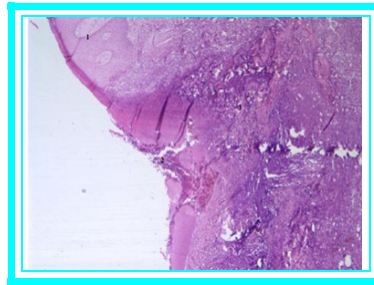


Fig 2. úlcera traumática, H y E 40X  
(<http://www.fafica.br/odontologia/>)

Una de las lesiones más frecuentes en la boca, después de las caries y enfermedades periodontales, son las úlceras de la mucosa bucal, siendo de etiología multifactorial y por lo tanto su tratamiento difiere ampliamente entre un caso y otro. Por ello determinar con precisión el origen de tal lesión es básico para su adecuado tratamiento. <sup>[9,10]</sup>

Muchas causas pueden dar como resultado una úlcera en la mucosa. Ante este problema debemos considerar de importancia: <sup>[1, 2, 4, 7,8]</sup>

- La historia de la lesión.
- Su asociación con otros procesos locales o sistémicos.
- Características clínicas.
- Trauma físico, químico, térmico.
- Prótesis mal ajustadas.
- Aparatología ortodóncica.
- Dientes fracturados.
- Agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos, parásitos).
- Reacciones alérgicas.
- Neoplasias malignas.
- Enfermedades sistémicas (enfermedades auto inmunes).
- Origen desconocido o idiopáticas

## CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES ULCERATIVAS.

Las lesiones ulcerativas se pueden clasificar desde dos puntos de vista: <sup>[9]</sup>

- **Si anteceden o no a una lesión previa:**

1. **Úlcera primaria:** Es aquella que aparece como tal sin otra lesión como antecesora. Ejem: úlcera traumática.
2. **Úlcera secundaria:** Es aquella que resulta del rompimiento de una vesícula, dejando un área ya sea erosionada o francamente ulcerada. Ejem: herpes, pénfigo, penfigoide.

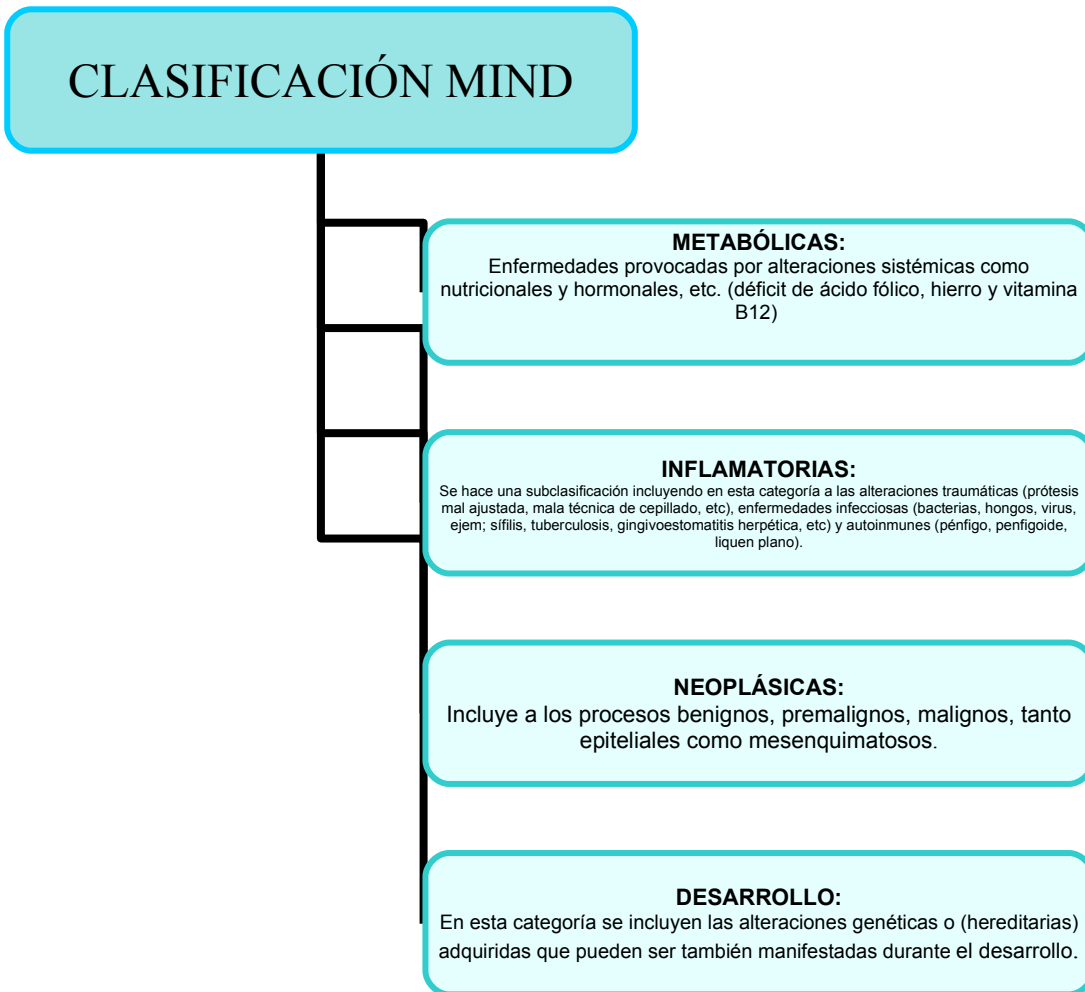
- **Según su etiología:**

Esta clasificación es más útil, ya que plantea la causa de la lesión y por ende orienta en el tratamiento. Así tenemos:

1. **Úlcera traumática:** radiaciones, sustancias cáusticas, medicamentos, quemaduras, galvanismo, prótesis mal ajustada, incorrecta técnica de cepillado, infiltración de líquidos a presión (anestesia), úlcera pterigoide y enfermedad de Riga-Fede.
2. **Neoplásica:** Neoplasias malignas como carcinoma epidermoide, adenocarcinoma, sarcomas, linfomas; en neoplasias benignas es raro observarla, pero puede estar presente como secundaria a traumatismo del mismo.
3. **Infeciosa:** gingivitis ulceronecrosante, sífilis, tuberculosis, gingivoestomatitis herpética primaria y herpes recurrente intraoral, herpes-zoster, varicela, herpangina, mononucleosis infecciosa, candidiasis eritematosa, blastomicosis, histoplasmosis, etc.
4. **Autoinmune:** liquen plano erosivo, pénfigo, penfigoide, eritema multiforme, síndrome de Behcet, síndrome de Reiter, lupus eritematoso.
5. **Manifestación de enfermedades metabólicas:** déficit de ácido fólico, hierro y vitamina B12, diabetes.<sup>[9]</sup>

## Clasificación MIND

La clasificación de las lesiones de la mucosa bucal según Carpenter W, quien se basa primero en la etiopatogenia de la lesión y en segundo lugar se basa en la característica clínica; dicha clasificación de la etiopatogenia es la siguiente: <sup>[11]</sup>



## ÚLCERA TRAUMÁTICA.

La úlcera traumática de la mucosa oral es una lesión causada por alguna forma de trauma, pueden ser morderse la mejilla o el labio, irritación por prótesis, cepillado inadecuado, borde cortantes de un diente fracturado o cariado e incluso a través de irritantes externos (medicamentos, ácidos, alcalinos). La úlcera provocada por rollo de algodón es iatrogénica y se produce al retirarlo rápidamente de una mucosa seca. Los sitios más frecuentes de localización de una úlcera traumática son: borde lateral de lengua (Fig 3), cara interna del carrillo; labios y ocasionalmente en el paladar. Aunque la mayor parte de las veces la reparación de estas lesiones es rápida y sin contratiempos, eventualmente existen úlceras que persisten largo tiempo sin cicatrizar y el dolor es característico hasta no eliminar el factor causal <sup>[12, 13]</sup>.



Fig . 3. Úlcera traumática (<http://www.infocompu.com>)

Las lesiones autoinducidas son aquellas producidas sobre la base de un hábito e incluyen el morderse el labio (morsicato labiarum), el morderse el carrillo (morsicato buccarum), etc. Estas lesiones por hábito de mordida se han denominado Patonimia mucosae oris. Dentro de este grupo correspondería agrupar aquellas lesiones producidas durante las crisis epilépticas, siendo la lengua y/o labios los sitios más afectados durante la crisis <sup>[12]</sup>.

Los agentes externos tales como medicamentos: Carbamacepina, <sup>[2]</sup> esteroides anabólicos, <sup>[14]</sup>, Ticlopidina, <sup>[15]</sup>, Rofecoxib, <sup>[16]</sup>, Penicilamina, Piroxicam, Rifampicina, Zalcitabina, <sup>[17]</sup>, colutorios con alto contenido de alcohol, también producen erosiones o úlceras cuando son aplicadas directamente sobre la mucosa.

La úlcera traumática causada por irritación protésica es una lesión, originada por daño físico. Se desarrolla generalmente pocos días después del uso de prótesis nuevas o después de haberlas usado durante mucho tiempo, en ocasiones asociada a espículas óseas remanentes.

Su tamaño varía dependiendo del tiempo de evolución, del tipo de prótesis, siendo estas dolorosas, irregulares o alargadas siguiendo la forma del borde protésico; usualmente cubiertas por una delgada membrana gris necrótica y rodeadas por un halo eritematoso.

El tratamiento para la úlcera traumática consiste en corregir la causa subyacente: alivio de flancos protésicos, eliminación de bordes cortantes en dientes, eliminación de espículas óseas, etc. Controlar al paciente y si al cabo de dos semanas, después de eliminado el agente asociado con la úlcera, esta persiste sería altamente aconsejable tomar una biopsia <sup>[9]</sup>.

### 3. TUGSE

Elsay, propone el término de TUGSE (Traumatic Ulcerative Granuloma with Stromal Eosinophilia), para describir a todas las lesiones reportadas como enfermedad de Riga-Fede, granuloma eosinófilo traumático, granuloma eosinófilo, úlcera eosinofílica de la mucosa oral, la razón fue basada en la historia de trauma de la mayoría de los casos y en su similar histomorfología. Además este nombre se considera más apropiado por que disminuye la confusión con el granuloma eosinofílico de histiocitosis de células langerhans (histiocitosis X) [18 - 20].

En la mayoría de los estudios se postula al trauma como un agente etiológico y de alguna forma esto es respaldado por Bashkar y Lilly, quienes produjeron úlceras eosinofílicas en forma experimental induciendo trauma con forceps en lenguas de ratas. Los cambios histológicos encontrados en el trabajo de estos investigadores fueron similares a las úlceras eosinofílicas descritas en la lengua de humanos. [1,3, 5, 18, 21].

El TUGSE, es una lesión poco frecuente, de carácter benigno, solitaria, autolimitante, de etiología desconocida, sin embargo, se menciona que pudiera existir una relación entre el depósito de partículas bacterianas (*Helicobacter pylori*), víricas o sustancias tóxicas que puedan dar lugar a una hipersensibilidad o a una reacción alérgica o bien como resultado de una inmunorespuesta T-célula-mediada en la zona donde se ha sufrido un daño tisular.) [4, 6, 20] (Fig. 4).



Fig. 4. TUGSE localizado en el dorso de la lengua.

En los adultos se asocia con:

- Trauma físico, químico, térmico.

Esta úlcera cuenta con un tiempo de evolución variable puede tener un inicio repentino y cicatrizar dentro de algunos días o semanas, a menudo sin intervención clínica, o puede persistir por un tiempo extendido.

Su tiempo de evolución puede ir desde 1 semana hasta 12 meses o más <sup>[4]</sup>.

El rango de edad en la que se presenta oscila entre los primeros 3 días de vida y los 92 años de edad, con una media de aparición a los 34 años <sup>[3,18]</sup>.

## PREVALENCIA Y LOCALIZACIÓN DEL TUGSE.

La prevalencia en género varía de estudio a estudio, sin embargo, no existe una aparente predilección <sup>[4]</sup>.

El TUGSE puede variar de tamaño desde unos cuantos milímetros hasta 7 u 8 centímetros en la dimensión más grande reportada <sup>[4]</sup>.

Esta claro que debido a un diagnóstico y tratamiento inadecuado puede inducir a la deformidad y mutilación de la lengua y a la deshidratación e inadecuada nutrición del infante. <sup>[6,24, 25]</sup>.

Cualquier superficie mucosa puede ser afectada, sin embargo, la lengua es el área donde se localiza más frecuentemente en sus superficies dorsales y laterales (Fig. 5 y 6) aproximadamente en un 60% de los casos reportados <sup>[3,24, 25]</sup>.



Fig. 5 TUGSE localizado en el dorso de la lengua.



Fig. 6 TUGSE localizado en el borde lateral de la lengua (<http://www.emedicine.com>).

Otras áreas donde se puede presentar son la mucosa bucal y el doble mucobucal en un 24% y en un orden decreciente se presentan en los labios, la encía, el paladar, el piso de boca (Fig. 7) y el área retromolar <sup>[4]</sup>.

Clínicamente el TUGSE se presenta como una úlcera dolorosa, moderadamente dolorosa o asintomática cuyo tamaño varía desde unos cuantos milímetros hasta varios centímetros, de bordes bien definidos, limitada por un halo blanquecino e indurada a la palpación <sup>[1]</sup>.

En ocasiones suele presentarse como un nódulo ulcerado en la cavidad oral, esto al principio es alarmante ya que es frecuentemente confundido con carcinoma epidermoide <sup>[23]</sup>.



Fig 7. TUGSE localizado en el piso de boca (<http://www.infocompu.com>).



## ENFERMEDAD DE RIGA-FEDE.

Las lesiones denominadas como enfermedad de Riga-Fede ocurren exclusivamente en infantes y tienen una predilección por el área sublingual, esto asociado a la presencia de dientes natales y neonatales [2, 4, 6, 9, 13, 22-25].

Se conocen como dientes natales a los que están presentes en el momento de nacer y dientes neonatales a los que erupcionan durante los primeros 30 días de edad, independientemente de que el diente sea supernumerario o un diente temporal precoz, las definiciones solamente se basan en el momento de la erupción dental<sup>[2]</sup> (Fig. 8 y 9).



Fig 8. Enfermedad de Riga-Fede



Fig 9. Enfermedad de Riga -Fede

## HISTOPATOLOGÍA.

Histológicamente presenta epitelio escamoso estratificado que muestra solución de continuidad sustituida por fibrina y dentritus celular, acompañado por infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos (Inmunofenotipo T y B, histiocitos, polimorfonucleares eosinófilos, que puede extenderse hacia zonas profundas como, la submucosa, músculo y las glándulas salivales (Fig. 10 y 11).

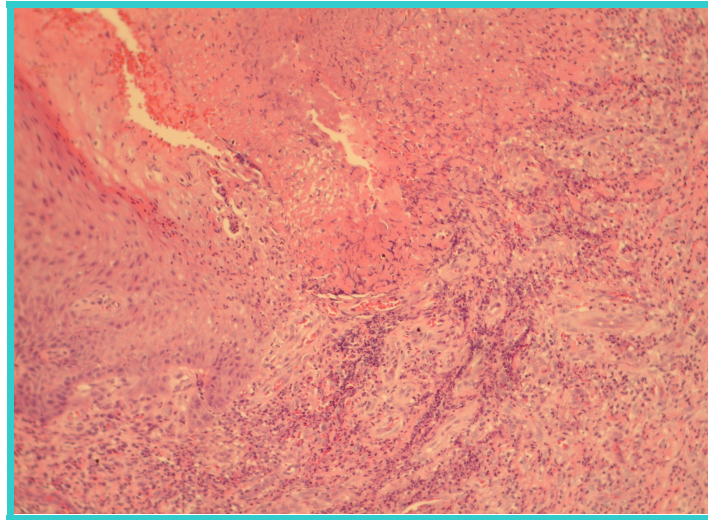


Fig 10. Zona de úlcera 100X.

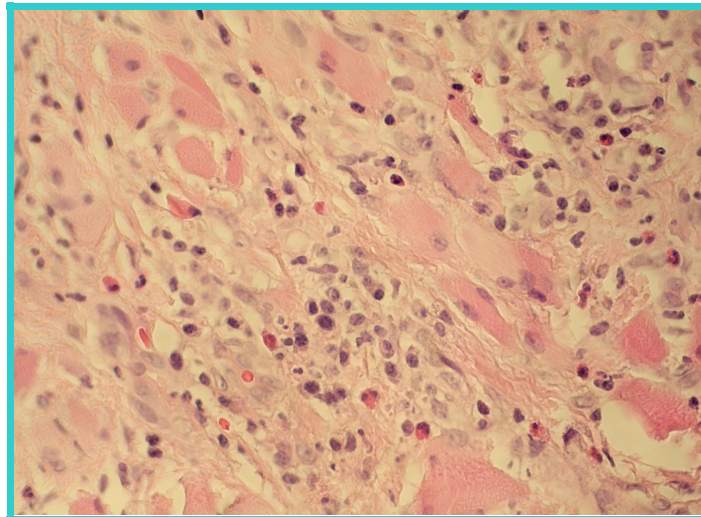


Fig 11. Infiltración en músculo 400X.

El segundo de los componentes del TUGSE lo ocupan: las células mononucleares grandes con un núcleo pálido redondo a ovoide, estos son interpretados como histiocitos o macrófagos, sin embargo el origen permanece oscuro <sup>[26]</sup> (Fig.12).

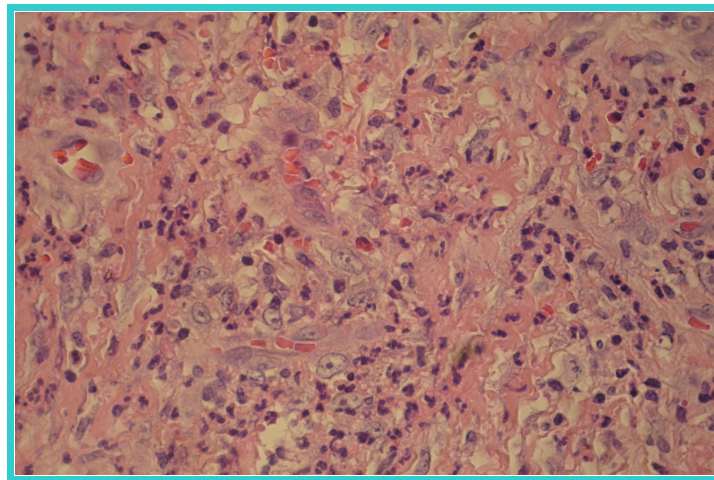


Fig 12. amonocitos y polimorfonucleares 1000X

Recientes reportes muestran que estas células son positivas para el antígeno CD30 y esto sugiere que el conjunto de TUGSE puede comprender dentro del espectro de CD30+ desordenes lipoproliferativos <sup>[2, 4, 5]</sup>

El papel que los eosinófilos (Fig. 13) tienen en este tipo de úlceras no está establecido. Por estudios en animales de experimentación se ha propuesto que los eosinófilos pueden contribuir a la regulación de muchos procesos biológicos que son críticos para una apropiada reparación de las heridas debido a que estas células expresan dos citoquinas multifuncionales transformantes del crecimiento, el factor-alfa (TGF-alfa) y el factor beta1 (TGF-beta1).

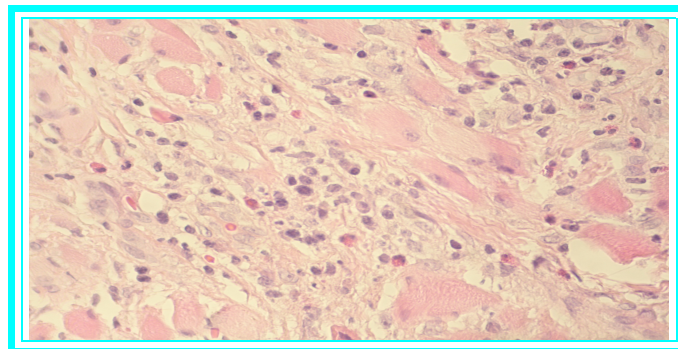


Fig 13 . polimorfonucleares y eosinófilos 400X.

El TGF-alfa promueve la migración y proliferación epitelial, además de ser un potente inductor de la angiogénesis. El TGF-beta1 ha sido asociado con la inhibición de la proliferación epitelial, la regulación de la inflamación y la producción de matriz extracelular y remodelado de tejido [1, 3, 27].

Elovic y Gallagher, en un trabajo realizado para determinar si los eosinófilos (Fig. 14) presentes en úlceras eosinofílicas producían los factores de transformación de crecimiento mencionados se encontró que en 11 de 12 casos estudiados los eosinófilos mostraban muy poca o ninguna expresión de estos factores, lo que sugiere que el retardo en la curación de estas heridas probablemente está relacionada con la falta de síntesis de estos factores por los eosinófilos [3,27].

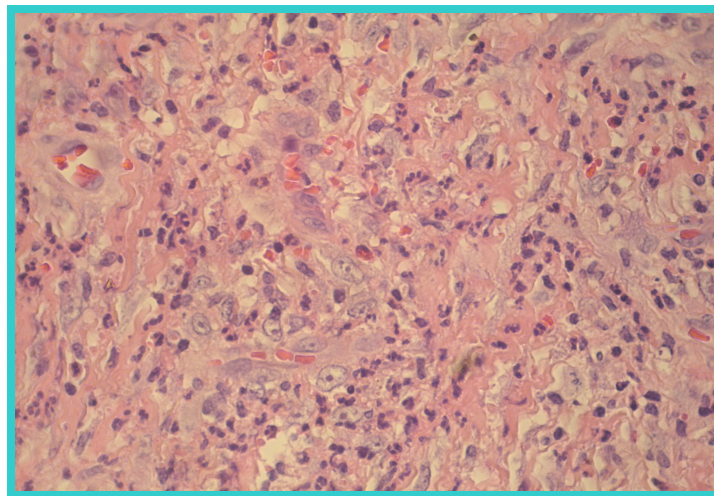


Fig. 14. Eosinófilos e histiocitos 400x

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.

Por el aspecto clínico pueden ser confundidas con: carcinoma epidermoide, úlcera tuberculosa, histoplasmosis, blastomicosis, sialometaplasia necrotizante, estomatitis aftosa mayor, chancro sifilítico, infiltración leucémica, lupus eritematoso discoide, linfoma no Hodgkin, histiocitosis de células langerhans (histiocitosis X) <sup>[1- 5 ,20 ,28]</sup>.

## PRONÓSTICO.

El pronóstico es bueno ya que estas lesiones son benignas y usualmente solitarias <sup>[1]</sup>. pueden cicatrizar espontáneamente después de realizada una biopsia incisional o excisional, la cicatrización espontánea mencionada por Wilson A. Delgado, Halo Funes, es por que posiblemente la respuesta positiva en la reparación de la úlcera que se observó después de la toma de la biopsia favorece la teoría vascular en la regeneración de la lesión, ya que el acto quirúrgico para obtener una biopsia trae como resultado una respuesta inflamatoria, donde destacan los fenómenos hemodinámicos que conducen a establecer el proceso de reparación . Esta propuesta explica de alguna forma el fenómeno tisular pero no identifica al agente etiológico, el cual probablemente esté relacionado con algún tipo de antígeno bacteriano<sup>[3]</sup> (Helicobacter Pylori). También cicatrizan por la eliminación del agente causal del traumatismo<sup>[4]</sup>.

La recurrencia suele ser poco frecuente, sin embargo se han reportado casos en los que aparece en diferentes zonas de la cavidad oral pero en el mismo paciente, lo que sugiere que el paciente puede tener alguna tendencia a desarrollar esta lesión. <sup>[4]</sup>



## TRATAMIENTO.

El tratamiento consiste en la eliminación del factor que esta traumatizando la lengua o la mucosa <sup>[29]</sup>.

En el caso de la enfermedad de Riga-Fede, si el diente es supernumerario se recomienda dejarlos que evolucionen naturalmente hacia la caída y evitar la extracción por el riesgo de tener hemorragia. Se han reportado casos con éxito donde se realiza un recubrimiento con resina fotocurable al diente natal o neonatal, proporcionándole una superficie lisa y redondeada, sin embargo muchos de estos dientes muestran evidencia de hipomineralización y esto limita el área de unión entre el esmalte y la resina (Fig. 15).



Fig. 15. Diente natal. Se observa característica de normalidad en mesial del diente, mientras que en distal ausencia estructural del esmalte. ([http://www.revistavisiondental.net/articulo\\_dientes\\_natales\\_%20y\\_neonatales.htm](http://www.revistavisiondental.net/articulo_dientes_natales_%20y_neonatales.htm))

Estos factores combinados con la dificultad de acceso a la cavidad oral, la falta de control de la humedad y el gravado de la superficie del esmalte, pueden influir en una inadecuada restauración, lo que puede provocar que la resina pueda ser deglutida o inhalada.<sup>[22]</sup>

Otra opción es pulir los bordes cortantes (mamelones) de los dientes natales o neonatales para así evitar el trauma repetido de estos contra la lengua (Fig. 16) <sup>[6]</sup>.

Otra alternativa es utilizar un material flexible de acetato de vinil etileno como guarda para evitar el roce constante de la lengua con los dientes natales y neonatales <sup>[22]</sup>.



Fig. 16. Pulido de la superficie dentaria con discos esféricos para resinas.  
([http://www.revistavisiondental.net/articulo\\_dientes\\_natales\\_%20y\\_neonatales.htm](http://www.revistavisiondental.net/articulo_dientes_natales_%20y_neonatales.htm))

En los adultos el abordaje de la lesión puede ser mediante biopsia excisional o incisional con fines de diagnóstico, en un gran número de casos la lesión resuelve después de la excisión [3,30]. La eliminación de un diente causante del trauma o la eliminación de alguna prótesis o algún tipo de aparatología ortodóncica, pero el tratamiento definitivo se menciona que pudiera ser la eliminación del factor traumático y la rehabilitación bucal [2,20].

Existen modalidades de tratamiento como el cuidado paliativo con antiinflamatorios no esteroideos o anestésicos tópicos como la lidocaína, benzocaina, estos pueden ser utilizados temporalmente para disminuir la sintomatología, al igual que los colutorios de dexametasona [4].

Se recomienda a los pacientes que presentan úlceras dolorosas, no ingerir alimentos ácidos ni muy condimentados para prevenir un mayor malestar durante su alimentación. Los analgésicos sugeridos son: ibuprofeno, acetaminofén, etc, antiinflamatorios, corticoesteroides: dexametasona, prednisolona. colutorios que funcionan como capa entérica: hidróxido de aluminio, carbonato de magnesio (enjuagues bucales) [4].

## 4. HELICOBACTER PYLORI.

La presencia de bacterias espirales en el estómago fue descrita por primera vez por Kreinite en 1906 <sup>[31]</sup>.

El Patólogo Robin Warren a principios de junio de 1979, observó por primera vez al *Helicobacter pylori* en una biopsia gástrica proveniente de un paciente con gastritis crónica activa. Sus observaciones en estudios histopatológicos, continuaron por un par de años, asociando la presencia del microorganismo con esta patología. Durante este tiempo hubo muchos intentos de aislar a la bacteria pero sin ningún éxito. En 1981, un médico gastroenterólogo Barry Marshall, se une a la investigación realizada por Warren (Fig. 17) y confirma lo reportado por este último.

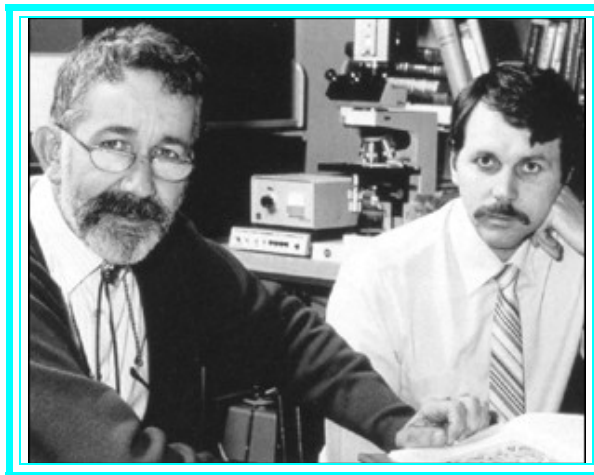


Fig 17. Robin Warren (izquierda) y Barry Marshall en su laboratorio de Perth, Australia a mediados de los años 80 ([http://www.aegastro.es/Info\\_Paciente](http://www.aegastro.es/Info_Paciente))

La bacteria morfológicamente semejaba a un *Campylobacter* razón por la cual fue llamada *Campylobacter pyloridis*, después *Campylobacter pylori* <sup>[32]</sup>, hasta denominarse desde 1989 por Goodwin, *Helicobacter pylori*.

Esta bacteria, *Helicobacter*, toma su nombre del latín hélice, atendiendo a que el cuerpo de esta bacteria rota sobre sí mismo como si fueran las aspas de un ventilador y de pylori (píloro), que es la parte final de estómago que precede al intestino.



El *Helicobacter pylori* es un bacilo gram negativo flagelado, curvado en forma de S y microaerófilo, presenta unas dimensiones aproximadas de 0,5 a 1,0 micrómetros de ancho y de 3 micrómetros de largo, tiene de 4 a 8 flagelos polares fundamentales para su movilidad. Su característica bioquímica más importante es la ureasa (Fig. 18 y 19) <sup>[33]</sup>.



Fig. 18. *Helicobacter Pylori* visto mediante microscopia electrónica ([http://www.aegastro.es/Info\\_Paciente](http://www.aegastro.es/Info_Paciente))



Fig. 19. Fotografía de microscopia electrónica  
*Helicobacter pylori*  
([http://www.aegastro.es/Info\\_Paciente](http://www.aegastro.es/Info_Paciente))

Las bacterias, *Helicobacter pylori*, se han asociado con gastritis, úlceras pépticas, adenocarcinoma gástrico y linfoma de células B del tejido linfoide asociado a la mucosa gástrica <sup>[34]</sup>.

La tasa más alta de portadores se encuentra en los países en desarrollo. Los humanos son el principal reservorio de *Helicobacter pylori*, y la transmisión probablemente siga una vía fecal-oral, oral-oral, dificultades en la desinfección de los endoscopios, además fueron encontradas formas de cocos en el agua de las unidades dentales por lo cual hay que prestar atención en su desinfección <sup>[35]</sup>.

El *Helicobacter pylori*, puede estar presente en la cavidad oral como consecuencia del reflujo gástrico.

La placa dental es un reservorio permanente de *Helicobacter pylori* <sup>[34]</sup>.

## **DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI.**

Los métodos diagnósticos de la infección por *Helicobacter pylori* se dividen tradicionalmente en métodos directos y métodos indirectos <sup>[36]</sup>.

*Los métodos directos* se basan en la demostración directa del microorganismo por el estudio de muestras obtenidas mediante biopsia gástrica. Son por lo tanto técnicas que precisan de una endoscopia y suelen ser agresivas para el paciente.

*Los métodos indirectos* se basan en el estudio y detección de ciertas características de la bacteria (por ejemplo: la capacidad de hidrolizar la urea a través de la producción de ureasa) o la respuesta del sistema inmune del hospedero frente a su infección (detección de anticuerpos específicos).

Este tipo de técnicas no necesitan la realización de una endoscopia y, por lo tanto, pueden considerarse como poco agresivas para el paciente.

### **MÉTODOS DIRECTOS.**

La observación de microorganismos de morfología espirilar en los cortes histológicos de las biopsias es un método de diagnóstico sencillo de la infección por *Helicobacter pylori*.

Las muestras obtenidas para el estudio histológico pueden ser conservadas hasta el momento de su procesamiento en formaldehído y no precisan ningún medio de transporte especial. No existe ninguna tinción específica para el *Helicobacter pylori*. Entre los métodos de tinción utilizados, unos son simples y por lo tanto, de fácil manejo, y otros son más complejos de utilizar.

La elección del método depende más de la experiencia, preferencia y posibilidades de cada laboratorio que de una clara ventaja de una técnica de tinción en particular. Entre estas tinciones destacan la tinción de plata de Whartin Starry y la tinción con hematoxilina y eosina (Fig.20).

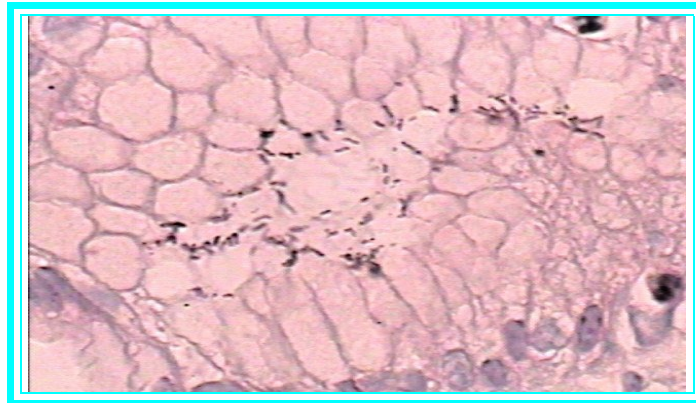


Fig.20. Tinción de plata Whartin Starry en contraste con Hematoxilina y eosina 100X (<http://www.gastrointestinalatlas.com/Espanol>).

La tinción de Whartin Starry, descrita en 1922, es la utilizada habitualmente para la identificación de espiroquetas. Esta técnica es muy buena para visualizar el microorganismo (Fig.21), pero es relativamente complicada de realizar, es laboriosa y tiene un elevado coste por el tipo de reactivos utilizados.



Fig 21. Tinción Whartin Starry 100X (<http://www.gastrointestinalatlas.com/Espanol>).

Además en ocasiones pueden producirse falsos positivos al ser difícil distinguir al microorganismo de los precipitados de plata en la capa mucosa. Ello hace que habitualmente no se utilice como técnica de rutina, reservándose para aquellos casos en que existan dudas diagnósticas.

permite el diagnóstico y graduación de la lesión histológica asociada, además de ser una técnica fácil de realizar, utilizada de forma rutinaria en los laboratorios de anatomía patológica, por lo que no añade costes ni tiempo al procesamiento habitual de las biopsias.

Tiene como inconveniente el que requiere una experiencia superior a otras técnicas para establecer un correcto diagnóstico de la presencia o no de *Helicobacter pylori*, por lo que se le considera una tinción para histopatólogos experimentados.

Otra técnica ampliamente utilizada es la tinción de Giemsa (Fig.22), que a diferencia de la anterior, permite una fácil identificación de *Helicobacter pylori* que aparece teñido de azul intenso sobre el fondo azul luminoso, por su simplicidad, rapidez y bajo costo, se considera al Giemsa como la tinción de elección.

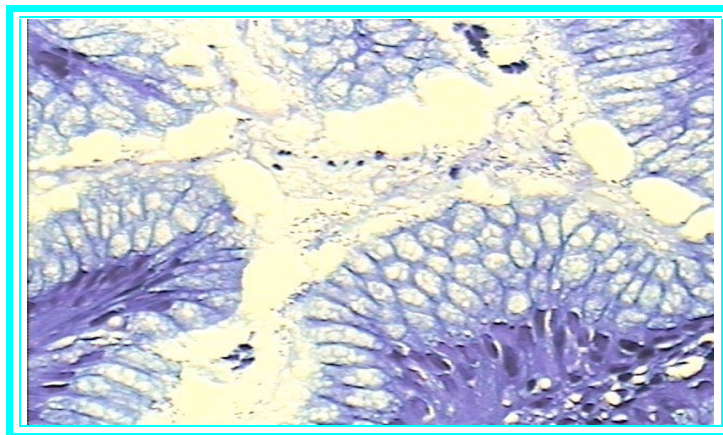


Fig. 22. Tinción de Giemsa 100X  
(<http://www.gastrointestinalatlas.com/Espanol>).

## **CULTIVO.**

El aislamiento de *Helicobacter pylori*, de una muestra de biopsia habitualmente se le considera una técnica difícil y tediosa. El cultivo, además de método diagnóstico, tiene la ventaja de tipificar el organismo y determinar su sensibilidad frente a los agentes antimicrobianos, lo cual tiene importancia desde el punto de vista epidemiológico y para conocer posibles resistencias frente a regímenes terapéuticos previamente ensayados.

Dado que el *Helicobacter pylori*, es muy sensible a la desecación y a las condiciones atmosféricas habituales, es de suma importancia transportar las muestras de modo adecuado y en el espacio de tiempo más breve posible.

Las muestras destinadas a cultivo permanecen viables durante aproximadamente 5 horas cuando son conservadas en suero salino a 4°C, o durante más de 24 horas si se conserva a 4 °C en un medio de transporte específico para *Helicobacter pylori*. Si las muestras se almacenan a -70°C o en nitrógeno líquido pueden ser conservadas prácticamente durante tiempo indefinido.

El medio de transporte más utilizado y con buenos resultados es el suero salino fisiológico al 0.9 %, sin embargo, el *Helicobacter pylori* pierde en él la viabilidad a temperatura ambiente en menos de 2 horas. Por ello se a propuesto otros medios de transporte, como la solución de glucosa al 20 % entre otras.

Se han descrito una gran cantidad de medios de cultivo para el *Helicobacter pylori*, de los cuales el medio de Skirrow, es el más utilizado. Para obtener un buen crecimiento debe añadirse al medio, sangre total o suero (1 por ciento-5 por ciento). La mayoría de los suplementos que se añaden a los medios de cultivo (heminas, catalasas, albúmina y carbón activado entre otros) no tiene valor nutritivo por si, pero probablemente ejercen un efecto benéfico sobre la bacteria al neutralizar o fijar factores tóxicos (tales como: aniones superóxido, radicales hidroxilo y otros) que se producen en el medio.

También puede cultivarse el *Helicobacter pylori*, en un medio simple con agar y 6% de sangre de carnero.

Para evitar el sobre crecimiento bacteriano, relativamente frecuente tanto por contaminantes exógenos como por endógenos presentes en la muestra de biopsia, se recomienda la utilización de medios de cultivo selectivos (como el Skirrow), que añaden al medio nutritivo un suplemento antibiótico. Se han propuesto diversos antibióticos para incluir en el medio de cultivo, siendo los más utilizados, cefsulodina, trimetropim, vancomicina y amfotericina. El pH básico favorece el sobrecrecimiento bacteriano.

La temperatura óptima a la que deben colocarse las placas de cultivo es de 35°C a 37°C, debiéndose examinar las muestras diariamente a fin de identificar las colonias de *Helicobacter pylori*, que tienen un diámetro de 1-2 mm, son traslúcidas, producen poca hemólisis y adoptan un color grisáceo.

## Tinción de Gram

La tinción de Gram y visualización en el microscopio de un frotis de una muestra en fresco es una técnica rápida y certera en manos expertas. Se han descrito sensibilidades del 90% y especificidades cercanas al 100%.

## Prueba rápida de la Ureasa.

La capacidad de *Helicobacter pylori*, para producir grandes cantidades de ureasa a servido para desarrollar un método rápido y sencillo de diagnóstico.

Para su realización se coloca una muestra de biopsia gástrica en un tubo con urea y un indicador que cambia de coloración del medio al variar el pH. Si la muestra contiene ureasa (y por lo tanto *Helicobacter pylori*), se hidroliza la urea formándose iones amonio, los cuales aumentan el pH de la solución, produciéndose un cambio de color.

Actualmente se disponen de varias pruebas de la ureasa. Las más utilizadas son el CLO-test (Fig.23), la urea de Christensen y soluciones de urea a concentraciones variables. Se recomienda realizar la prueba de la ureasa siempre junto con, al menos otro método diagnóstico (cultivo o histología). La sensibilidad y especificidad de todas ellas es en general mayor del 90% y 100% respectivamente variando fundamentalmente en la rapidez de la obtención del resultado.



Fig. 23. Prueba de la ureasa.  
([http://www.aegastro.es/Info\\_Paciente](http://www.aegastro.es/Info_Paciente))



## MÉTODOS INDIRECTOS.

Prueba del aliento con urea marcada con carbono C13 o C14 (Urea Breath Test).

La prueba del aliento se basa en la capacidad de la ureasa producida por el *Helicobacter pylori* para hidrolizar con rapidez una solución de urea previamente marcada., bien con C13 o C14, el anhídrido carbónico marcado se absorbe, difunde a la sangre, es transportado a los pulmones y de allí excretado a través del aliento espirado. La cantidad de CO<sub>2</sub> marcado excretado esta en relación directa con la intensidad de la hidrólisis de la urea

y , por lo tanto, con la presencia del *Helicobacter pylori*. La prueba es fácil de realizar ya que, tras un ayuno nocturno, se recoge una muestra basal de aire espirado, después de administrar una comida rica en calorías y triglicéridos de cadena larga con el fin de retrasar el vaciamiento gástrico, seguida de la ingesta de una solución acuosa con la urea marcada. Posteriormente se recogen muestras de aire espirado tras determinados periodos de tiempo.

Las mayores ventajas que presenta la utilización de C13 es que se trata de un hisopo natural estable y no reactivo, por lo que se puede repetir la prueba tantas veces como sea necesaria, incluso en niños y en mujeres embarazadas.

La prueba del aliento posee una alta sensibilidad (90-100%) y especificidad (78-100%), al compararla con las pruebas histológicas.

La prueba de aliento es capaz de detectar infecciones en las que la cantidad de *Helicobacter pylori*, es pequeña. Identifica bien y de modo rápido la erradicación del *Helicobacter pylori*, tras el tratamiento, por lo que es la técnica de elección para hacer el seguimiento de pacientes sometidos a tratamiento erradicador.

# SEROLOGÍA.

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, se basan en estudiar la presencia o no de anticuerpos específicos frente a antígenos de este microorganismo, que aparecen como consecuencia de la respuesta inmune, tanto local como sistémica, que se produce tras la infección por *Helicobacter pylori*.

Preparaciones antigénicas.

La elección de los antígenos es esencial para obtener buenos resultados mediante las pruebas serológicas.

Los requisitos que debe cumplir una preparación antigénica son:

1. Tener una alta proporción de componentes microbianos con buena antigenicidad.
2. Ser comunes a todas las cepas.
3. Tener pocas reacciones cruzadas con otros microorganismos
4. Ser fácil de aislar y purificar
5. Unirse bien al soporte sólido

Técnicas Serológicas.

La gran variedad de técnicas y preparaciones antigénicas utilizadas, la diversidad en la evaluación de resultados y la gran variabilidad en los grupos poblacionales estudiados hacen compleja la revisión de estas técnicas. De entre las técnicas serológicas ensayadas para detectar al *Helicobacter pylori* destacan dos: El Inmunoblot y la Técnica de ELISA.

Inmunoblot.

La técnica de inmunoblot es la mejor para identificar y caracterizar bioquímicamente las preparaciones antigénicas y sus variaciones. Por ejemplo: los análisis comparativos de los perfiles proteicos de las diferentes cepas de *Helicobacter pylori*, ayudan a decidir si se debe utilizar una o varias cepas como antígenos. Esta técnica nos permite conocer también si existen o no proteínas como reacción cruzada en las diferentes preparaciones antigénicas. Es decir, el Inmunoblot es una técnica excelente para el control de una preparación antigénica.

La técnica de Inmunoblot, tiene el inconveniente de que es muy laboriosa, requiere de personal experimentado y tiene problemas técnicos para su automatización, por lo



tanto no es aplicable a un gran número de sueros. Además, solo permite una interpretación semicuantitativa de los resultados. En definitiva, el inmunoblot en la mayoría de los estudios sirve como método de referencia o para identificar la composición antigénica más adecuada para el ELISA.

Enzimoimmunoensayo (ELISA).

Las ventajas del ELISA son que permiten obtener resultados cuantitativos, la técnica no es compleja y por tanto, puede ser realizada por personal relativamente inexperto, se puede automatizar, y puede utilizarse como método de screening con un número limitado de diluciones séricas. Además, permite conocer la respuesta inmunológica de las diferentes clases de Ig (inmunoglobulina).

La comercialización de diferentes equipos de ELISA permite que la técnica sea asequible tanto a investigadores como a los diferentes centros sanitarios.

Tiene como problemas-inconvenientes: la difícil selección del antígeno más adecuado para la prueba, la definición del "punto de corte", la verificación diaria de la fiabilidad de la prueba y también la reducción de los costos, relativamente elevados, del equipo necesario.

Tipos de anticuerpos

Si bien la gran mayoría de los estudios serológicos detectan anticuerpos del tipo IgG, dado que es la principal respuesta sistémica inmunológica frente al *Helicobacter pylori*, en ocasiones se observan enfermos con infección demostrada por *Helicobacter pylori*, que presentan títulos no diagnosticados de IgG y sí en cambio de IgA, aunque los niveles de IgA suelen ser inferiores a los de IgG en las diferentes entidades clínicas estudiadas. Además, se ha demostrado en algún estudio que la determinación de IgA es más específica que la IgG.

Los anticuerpos de tipo IgM se detectan en menos del 10% de los pacientes infectados por *Helicobacter pylori*. A diferencia de lo que ocurre con la IgG y la IgA, la IgM no permite discernir entre pacientes infectados por *Helicobacter pylori* y no infectados. Son numerosos los trabajos que muestran la poca utilidad del análisis de esta Ig, que ofrece títulos bajos y similares en grupos de pacientes *Helicobacter pylori*, positivos y negativos.

Existirían únicamente títulos de IgM elevados en la fase inicial de la infección dada la vida media corta de esta Ig, pero mientras persiste la colonización, la respuesta de IgM desciende e incluso en una posterior recolonización o recrudescencia de la infección, no aumentaría la respuesta de esta Ig.

Se ha demostrado útil la monitorización de los títulos de anticuerpos frente a *Helicobacter pylori* para evaluar la respuesta al tratamiento de esta infección en diversos estudios se ha observado un descenso de la IgG y de la IgA séricas a las pocas semanas en pacientes sometidos a tratamiento y en los que se ha erradicado la bacteria, la mayoría de los trabajos refieren un descenso más rápido para la IgA y una caída más gradual de la IgG.

No obstante, el descenso de IgG e IgA no ocurre en todos los pacientes en los que se ha conseguido erradicar al *Helicobacter pylori*. En la mayoría de los estudios realizados a largo plazo se observa durante las primeras semanas de seguimiento a veces hasta 7- 10 semanas, un descenso en los títulos de anticuerpos en un gran número de pacientes independientemente de cual fuera el resultado bacteriológico final. A partir de entonces, los títulos se estabilizan o aumentan de nuevo en el grupo de pacientes no erradicados y disminuyen en los erradicados. Los títulos de anticuerpos disminuyen hasta un 50% o menos de su valor inicial, en los pacientes en los que se logra erradicar el microorganismo, generalmente a partir del sexto mes de seguimiento. Una reducción en el 20% del valor inicial de anticuerpos séricos de tipo IgG al año de administrar el tratamiento tiene una sensibilidad del 93% para determinar la erradicación del *Helicobacter pylori*.

La recurrencia de la infección por *Helicobacter pylori* en los pacientes en los que previamente se había logrado erradicar el microorganismo se acompaña de aumentos rápidos de los títulos de IgG y de IgA específicas.

Las pruebas serológicas con las que disponemos en la actualidad indican únicamente una exposición previa al *Helicobacter pylori*. Sin embargo, estas pruebas no discriminan entre personas con infección activa y enfermedad, personas infectadas pero asintomáticas y personas sanas previamente expuestas a la infección <sup>[31,37- 40]</sup>.

## **5. CONCLUSIONES.**

La importancia de este trabajo radica en que será la base para llevar a cabo la siguiente fase de investigación, la cual consistirá en la identificación del *Helicobacter pylori*, en las lesiones diagnosticadas como TUGSE, ya que en foros de discusión se ha puesto de manifiesto la presencia de este microorganismo como posible factor causal o factor asociado en nuestra población, lo cual constituirá un aporte en este tema.

## 6. REFERENCIAS.

1. <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2003>
2. <http://www.dplat.org/journals/2005vol103>
3. <http://www.upch.pe/faest/publica/2003/vol13>
4. <http://www.emedicine.com/derm/topic666.htm>
5. Segura S, Romero D, J . Mascaró M Jr, Colomo L, \* Ferrando J and Estrach T. eosinophilic ulcer of the oral mucosa:another histological Simulator of CD30+ lymphoproliferative disorders,Br J Dermatol 2006, Aug;155,460-463.
6. Baroni A ,MD, Capristo C,MD, Rosello L,MD, Facceda F,MD, and Satriano R, A,MD. Lingual Traumatic Ulceration (Riga-Fede disease). Int J of dermatology 2006.45;1096-97.
7. Riggio M. P, Lennon A, D. Wray. Detection of Helicobacter pylori DNA in recurrent aphthous stomatitis tissue by PCR.J Oral Pathol and Med 2000;29 (10)507-613.
8. Netto J, M. Victoria, E. Kalapothakis, Correia J. F, R. Helicobacter pylori in recurrent aphthous stomatitis. J Oral Pathol and Med 2003;32 (4)219-223.
9. <http://patoral.umayor.cl/ulcerat/ulcerat.html>
10. <http://www.clinicaeuroden.com/aftas-bucales.htm>
11. Carpenter W. Two approaches to diagnosis of lesions of the bucal mucosa, CDA Journal, 1999; vol. 27 (8), 619 – 623.
12. Shafer W. G, Maynard K. Hine, Barnet M. Levy, C. E. Tomich. Tratado de Patología Bucal. Cuarta edición. Ed. Interamericana, 1986,567-570 pp.
13. Regezi J, A. DDS,MS, Sciubba J, DM; Ph.D. Patología Bucal Correlaciones Clinicopatológicas . Tercera edición.Ed.McGraw-Hill Interamericana 2000,31-35 pp
14. <http://www.consejodedrogas.gov>

15. <http://www.medynet.com/elmedico/aula/>
16. <http://onephat.uthscsa.edu>
17. Rodríguez Carranza R. Vademecum Académico de Medicamentos VAM. Tercera edición. Ed. Mc graw-Hill Interamericana 2001, 745,781, 826,977 pp.
18. Elzay R. P. Traumatic ulcerative granuloma with stromal eosinophilia (Riga-Fede's disease and traumatic eosinophilic granuloma). Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1983 May;55(5):497-506.
19. Sklavounou A; DDS, M.S,\* and Laskaris G, DDS; MD, \*\*Athens, Greece. Eosinophilic Ulcer of the oral mucosa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1984 oct,58(4), 431-6.
20. Littiefield, P. D.M C. Quiz case 3. Traumatic Ulcerative Granuloma with Stromal Eosinophilia (TUGSE). Arch Otolaryngol Head Neck Surg.2000 May;126(5):678,682-3.
21. Movassagui K, Goodman ML, Keith D. Ulcerative eosinophilic granuloma: a report of five new cases. Br J Oral Maxillofac Surg.1996 Feb;34(1);115-7
22. Buchanan, S, B D S c (Melb ), MDS (Sad), FRALDS\* C. R. Jenkins, BDS (Syd)+. Riga-Fedes Syndrome. Natal or neonatal teeth associated with tongue ulceration, Case report. Australian Dental Journal 1997;42(4), 225-7.
23. <http://www.dermatology.cdlib.org/>
24. Terzioglu A. Bingul Ferruh MD, Aslan Gürcan MD. Lingual Traumatic Ulceration (Riga-Fede Disease) .Br J Oral Maxillofac Surg 2003 Jun;41(3)201
25. Terzioglu A. Bingul Ferruh MD, Aslan Gürcan MD. Lingual Traumatic Ulceration (Riga-Fede disease).J. Oral Maxillofac Surg.2002 Apr.60(4)478.
26. el- Mofly SK, Swanson PE, Wick MR, Miller As. Eosinophilic ulcer of the oral mucosa. Report of 38 new cases with immunohistochemical observations. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993 Jun;75 (6):716-22

27. Elovic AE, Gallagher GT, Kabani S, Galli, SJ, Weller PF, Wong DT. Lack of TGF-alpha and TGF-beta 1 synthesis by human eosinophils in chronic oral ulcers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Endod.* 1996 Jun;81(6):672-81.
28. Doyle J, L, DDS, MSCJ\* Walter Geary, MS, DMD, Tandernest Baden, DDS, MD+. Eosinophilic Ulcer. *J Oral Maxillofac Surg* 1989 47:349-352
29. Miti Yasui E, Kimura R, Kawamura K, S. Akiyama, DDS, PhD, and Morisaki I, DDS, PhD, Sao Paulo, Brazil and Osaka, Japan. A modified oral screen appliance to prevent self-inflicted oral trauma in a infant with cerebral palsy: A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2004 april, 97 (4), 471-75
30. Lombardi T, Kuffer R, Samson J. Eosinophilic ulceration of the oral mucosa. A case report. *Int. J. Oral Maxillofac Surg* 1993 Dec; 22 (6):366-367
31. [http://www.aegastro.es/Info\\_Paciente/HP\\_y\\_UP.htm](http://www.aegastro.es/Info_Paciente/HP_y_UP.htm)
32. [http://www.medspain.com/ant/n11\\_abr00/revision.htm](http://www.medspain.com/ant/n11_abr00/revision.htm)
33. Murria P, R, PhD, Rosenthal K, S, PhD, Kobayashi G, S., PhD, Faller M, A, P., MD. *Microbiología Médica*, cuarta edición, Ed. Elsevier, Mosby. 2003, 287-291pp
34. Avcu N, DDS, Avcu F, MD, C. Beyan, MD, A. Ural U, MD. The relationship between gastri-oral *Helicobacter pylori* and oral hygiene in patients with vitamin B<sub>12</sub>- deficiency anemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92:166-9.
35. Madinier I, M \*, Thierry M. Fosse, and Monteil R, A, \*. Oral carriage of *Helicobacter Pylori*: A review. *J Periodontal* 1997;68 : 2-6
36. <http://www.ejournal.unam.mx/revfacmed/09.2>
37. <http://www.scielosp.org/scielo.php>
38. <http://www.granma.cubasi.cu/2004>
39. <http://www.hpylori.comn.au/>
40. <http://www.gastrointestinalatlas.com/Espanol>