



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

*FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN*

**“FRECUENCIA DE *Helicobacter pylori* EN
CAVIDAD BUCAL EN UNA MUESTRA DE
POBLACION MEXICANA”**

TESIS

Para obtener el título de:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

Presenta:

EVELINA SANCHEZ QUEZADA

Asesora:

Dra. María del Rosario Morales Espinosa

Cuautitlán Izcalli, Edo. De México, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos
comunicar a usted que revisamos la Tesis :

" Frecuencia de Helicobacter pylori en cavidad bucal
en una muestra de población mexicana"

que presenta la pasante: Q.F.B Evelina Sánchez Quezada
con número de cuenta: 402022228 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en
el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 9 de Enero de 2009

PRESIDENTE M.V.Z Gerardo Cruz Jiménez

VOCAL MC. Andrea A. Becerril Osnaya

SECRETARIO Dra. María del Rosario Morales Espinosa

PRIMER SUPLENTE Dr. Víctor M. Zendejas Ruitrón

SEGUNDO SUPLENTE MC. Ana Laura Vázquez Martínez

AGRADECIMIENTOS.

Esta tesis representa un parteaguas entre una etapa muy enriquecedora y el camino que el tiempo obliga. En toda la experiencia universitaria y la conclusión del trabajo de tesis, ha habido personas que merecen las gracias porque sin su valiosa aportación no hubiera sido posible este trabajo y también hay quienes las merecen por haber plasmado su huella en mi camino.

Agradezco primeramente a Dios por ser mi mejor amigo, mi fortaleza, darme todo lo que tengo y no dejarme caer nunca.

A mi madre Gloria a quien agradezco de todo corazón, por su amor, apoyo, cariño y comprensión, que en todo momento los llevo conmigo. Soy afortunada por contar siempre con su guía, confianza y ejemplo. Esta tesis es suya.

A mis hermanos por la compañía y el apoyo que me brindan, se que cuento con ellos siempre.

Gracias a mi amor Antonio por tu apoyo, comprensión y amor que me permite sentir poder lograr lo que me proponga. Gracias por escucharme y por tus consejos (eso es algo que lo haces muy bien). Gracias por ser parte de mi vida; eres lo mejor que me ha pasado.

Agradezco a la Dra. María del Rosario Morales Espinosa por asesorarme a lo largo de la tesis y acompañarme en este camino que hoy culmina en el presente proyecto, por compartir sus conocimientos conmigo e inspirar en mí mucha admiración. Sus consejos, paciencia y opiniones sirvieron para que me sienta satisfecha en mi participación dentro del proyecto de investigación.

A todas las personas que trabajan en laboratorio de genómica bacteriana, en la torre de investigación de la facultad de Medicina, les agradezco por su apoyo, motivación, amistad y consejos, principalmente a la M. en C. Gabriela Delgado Sapién y al Biólogo José Luis Méndez Sánchez, que además de compartir conmigo sus conocimientos, experiencia y asesoría técnica en el laboratorio, me brindaron su amistad, confianza y me contagiaron ese amor que tiene hacia la investigación en el área de microbiología.

A la Dra. Ana María Fernández del Dpto. de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina por ser una gran profesora y amiga.

A Laurita por brindarme su apoyo y amistad en el laboratorio, gracias por confiar en mí.

A todos mis profesores que participaron a lo largo de mi formación universitaria en la facultad de estudios superiores Cuautitlán, sin su ayuda y conocimientos no estaría en donde me encuentro ahora.

.A mis amigos Yaneli, Rubén, Mónica, Jacobo, Alberto, Sonia, Carlitos, Karina y Omar porque gracias a ellos sé lo que es la amistad verdadera, valor importante en mi vida, gracias por estar conmigo estos 7 años, por aconsejarme, regañarme, compartir risas y llantos en todo este tiempo.

A todos mis amigos de la Universidad, que estuvieron conmigo y compartimos tantas aventuras, experiencias y desveladas. Aunque la lista es muy grande gracias a cada uno por hacer que mi estancia en el FESC fuera súper divertida. Gracias a todos por su apoyo, por su confianza y por dejarme entrar en sus vidas los quiero mucho.

A mis Exjefes Edgar y Carlos que me brindaron su amistad, confianza y apoyo para concluir mi tesis.

A La Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de formar parte de ella y generar en mí todos los valores, virtudes y conocimientos que me servirán toda mi vida.

INDICE

Índice.....	1
Índice de imágenes.....	3
Índice de tablas.....	5
Índice de gráficos.....	7
Resumen.....	9
1. Introducción.....	10
1.1 Antecedentes Históricos.....	12
1.2 Epidemiología.....	20
1.3 Reservorios.....	24
1.4 Vías de transmisión.....	26
1.5 Taxonomía.....	30
1.6 Características microbiológicas.....	34
1.7 Factores de virulencia.....	37
1.7.1 Flagelos.....	37
1.7.2 Adhesinas.....	38
1.7.3 NPA (proteína Activadora de Neutrofilos).....	39
1.7.4 Ureasa.....	40
1.7.5 Lipopolisacarido y antígeno de Lewis.....	42
1.7.6 Citotoxina vacuolizante (Vac A).....	43
1.7.7 Gen asociado a citotoxina (Cag A).....	48
1.8 Patogénesis.....	50
1.9 Manifestaciones clínicas asociadas a <i>Helicobacter pylori</i>	52
1.10 Métodos de diagnóstico.....	58
2 Justificación.....	67
3 Objetivo general.....	68
3.1 Objetivos Particulares.....	68
4 Planteamiento del problema.....	69
5 Hipótesis.....	69

6	Metodología.....	70
7	Resultados.....	78
8	Discusión.....	94
9	Conclusiones.....	106
10	Glosario.....	110
11	Anexo1 (Materiales, Reactivos y Medios).....	115
12	Anexo 2 (Tablas Estadísticas).....	117
13	Bibliografía.....	123

Índice de Imágenes.

Imagen 1. Imagen de <i>Helicobacter pylori</i> tomada por microscopia electrónica.....	14
Imagen 2. Citación de la carta en la primera pagina del Lancet , 4 de junio de 1983.....	17
Imagen 3. Morfología de las bacterias teñidas con el método de Warthin-Starry, obtenida en la muestra de la mucosa gástrica tomada por biopsia endoscópica en el décimo día de la inoculación de Marshall.....	18
Imagen 4. Mecanismo de transmisión de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	28
Imagen 5. Fotografía obtenida en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias durante la realización de un estudio de endoscopia.....	29
Imagen 6. Tinción de Gram a partir de un cultivo en placa de agar. Se observa de color rosa debido a su estructura de bacilo gram negativo....	34
Imagen 7. Forma bacilar o espiral de <i>Helicobacter pylori</i>	35
Imagen 8. En cultivos a partir de biopsias y siembras en agar sangre a 37°C y bajo condiciones microaeróbicas las colonias <i>Helicobacter pylori</i> tardan entre 5-7 días en aparecer. Las colonias son circulares, con una apariencia convexa y translúcida y con un diámetro de 1-2 mm.....	36
Imagen 9. Imagen ultraestructural de <i>Helicobacter pylori</i> en primeras fases de adhesión (flechas en 2b muestran afimbrias entre <i>Helicobacter pylori</i> y microvellosidades de la célula mucosa).....	39

Imagen 10. Gracias a la acción de la ureasa, <i>H. pylori</i> degrada la urea a amoníaco y agua, mecanismo que le permite mantener un medio alcalino a su alrededor y evitar la acción bactericida del ácido clorhídrico.....	41
Imagen 11. Regiones variables del gen <i>vac A</i>	44
Imagen 12. Esquema del modelo de vacuolización generado por <i>VacA</i>	45
Imagen 13. Alteraciones celulares inducidos por la toxina <i>VacA</i> del <i>Helicobacter pylori</i> que conducen a la formación de úlcera.....	47
Imagen 14. Diagrama que muestra la respuesta inmune del huésped frente a una infección por <i>H. pylori</i>	49
Imagen 15. Imagen endoscópica de una úlcera duodenal.....	52
Imagen 16. Corte histológico a bajo aumento de mucosa gástrica. La lámina propia en la porción interfoveolar está ensanchada por un denso infiltrado inflamatorio. No se observa infiltración inflamatoria entre las glándulas.....	54
Imagen 17. Corte histológico a bajo aumento de mucosa gástrica adelgazada, con su arquitectura simplificada, sin división clara entre la porción foveolar y la porción glandular. Muy escasas glándulas. Lámina propia difusamente ensanchada, con infiltración inflamatoria.....	55
Imagen 18: Esquema de la reacción de amplificación mediante PCR.....	62
Imagen 19: Preparación del corrido electroforético.....	63
Imagen 20: Electroforesis en gel de agarosa, sobre luz ultravioleta.....	63
Imagen 21: Termociclador.....	64

Índice de Tablas.

Tabla 1. Se observa el porcentaje de infección por <i>Helicobacter pylori</i> en distintos países del mundo, observándose las diferencias en base a la zona geográfica.....	21
Tabla 2. Variables que influyen en la sero-prevalencia de <i>H. pylori</i> en personas de 1-39 años en México.....	23
Tabla 3. Especies del género <i>Helicobacter pylori</i> descritas hasta la actualidad.....	32
Tabla 4. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en saliva asociados a la edad, procedentes del INER.....	80
Tabla 5. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociados a la edad, procedentes del INER.....	81
Tabla 6. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociados con el sexo, procedentes del INER.....	82
Tabla 7. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociados con el sexo, procedentes del INER.....	83
Tabla 8. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociados al diagnostico clínico, procedentes del INER.....	84
Tabla 9. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Placa Dental asociados al diagnostico clínico, procedentes del INER.....	85

Tabla 10. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en saliva asociados a la edad, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).....	87
Tabla 11. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociados a la edad, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).....	88
Tabla 12. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociados con el sexo, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).....	89
Tabla 13. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociados con el sexo, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).....	90
Tabla 14. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociados al diagnostico clínico, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).....	91
Tabla 15. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Placa Dental asociados al diagnostico clínico, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).....	92

Índice de Gráficas.

Grafico 1. Seroprevalencia y la magnitud de IgG <i>anti-H.pylori</i> en la respuesta de México a 11605 sujetos por edad.....	22
Grafico 2. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en las diferentes muestras obtenidas de cavidad bucal procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	79
Grafico 3. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en saliva asociado con la edad en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	80
Grafico 4. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con la edad en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	81
Grafico 5. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociado con el sexo en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	82
Grafico 6. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con el sexo en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	83
Grafico 7. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociado con el Diagnostico clínico de pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	84
Grafico 8. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con el Diagnostico clínico de pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.....	85

Grafico 9. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en las diferentes muestras obtenidas de cavidad bucal procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	86
Grafico 10. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en saliva asociado con la edad en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	87
Grafico 11. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con la edad en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	88
Grafico 12. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociado con el sexo en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	89
Grafico 13. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con el sexo en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	90
Grafico 14. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con el Diagnostico clínico de pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	92
Grafico 15. Frecuencia de <i>Helicobacter pylori</i> en Placa dental asociado con el Diagnostico clínico de pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.....	93

RESUMEN

El descubrimiento del *Helicobacter pylori*, y el progresivo conocimiento de su relación con distintas enfermedades clásicamente consideradas de origen "péptico", ha estimulado un gran esfuerzo en investigación clínica y básica.

Desde que este microorganismo fue exitosamente aislado mediante cultivo de la placa dental de algunos pacientes, la cavidad bucal ha recibido especial interés como un posible reservorio para el mismo.

Este trabajo tiene como objetivo general determinar la frecuencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal en una muestra de población mexicana. El grupo de estudio fue constituido por 131 pacientes los cuales se dividieron en 2 grupos: 66 pacientes pertenecientes al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) y 65 pacientes de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, cada uno con/sin patologías gastrointestinales, de los cuales se analizaron muestras de saliva, placa dental y dorso de lengua por el método de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Identificándose la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal únicamente en muestras de placa dental y saliva, donde la mayor frecuencia se mostro en pacientes con patologías gastrointestinales principalmente provenientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), con lo que podemos concluir que *Helicobacter pylori* por lo general se encuentra en boca de individuos infectados a nivel gastrointestinal o como consecuencia del reflujo esofagástrico, por lo que es posible que la cavidad bucal pueda ser el sitio inicial de la infección, y así mismo ser un factor de riesgo para la re-infección gastrointestinal después de la terapia antibiótica

1. INTRODUCCION

Los estudios sobre la presencia de microorganismos en la mucosa gástrica se han visto impulsados por el descubrimiento de *Helicobacter pylori*. Su capacidad de colonización y adaptación a ambientes hostiles le ha permitido sobrevivir y crecer en las condiciones adversas que ofrece el estómago².

Aunque los primeros trabajos comunican la presencia de bacterias espirales en estómagos humanos datan hace más de un siglo,²⁸ no es hasta inicios de la década de los 80's cuando acontece el hecho que revolucionaría los conceptos etiopatogénicos y terapéuticos dirigidos a la gastritis y úlceras pépticas.³³

Robín Warren y Barry Marshall son los primeros en comunicar la presencia de bacterias curvadas en biopsias gástricas de pacientes con gastritis y úlcera péptica.⁵⁵

Una vez que el microorganismo fue aislado por primera vez en cultivo, comenzó a generarse una gran cantidad de información acerca de *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori es una bacteria Gram negativa de difícil cultivo *in Vitro* cuyo diagnostico es de suma importancia debido a que su presencia por largos periodos está asociada de manera concluyente a distintas formas de gastritis, úlceras pépticas de estómago y duodeno, adenocarcinoma gástrico y linfoma gástrico de bajo grado originado en tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT)^{1,2}.

La vigilancia epidemiológica del *H. pylori* se justifica por la evolución crónica de esta enfermedad, la posibilidad de continuar con su transmisión y por comprometer la calidad de vida.

Los estudios de prevalencia de la infección causada por *Helicobacter pylori* muestran importantes diferencias según se analicen poblaciones de diferentes zonas geográficas, así tenemos una tasa del 40-50% en los países desarrollados y cerca del 90% en aquellos en vías de desarrollo. También, varían según la edad, diferencias étnicas o raciales, estado socioeconómico, condiciones higiénicas y calidad de vida de la población a analizar.

La exposición a *Helicobacter pylori* comienza en la primera infancia en escolares y adolescentes², y la seroprevalencia aumenta en el transcurso de la vida.³

Existe mucha controversia sobre el modo de transmisión de *Helicobacter pylori*, hasta hace relativamente poco tiempo se reconocía como su único nicho el estómago humano. Investigaciones más recientes han permitido detectar la bacteria por métodos moleculares en placa dental y saliva, lo que sugiere que quizás el ambiente bucal puede constituir un ambiente de transición o permanencia dentro del hospedador.

La posibilidad de transmisión de *Helicobacter pylori* por vía oral ha traído como consecuencia el surgimiento de diversas investigaciones con el objetivo de identificar la bacteria en cavidad bucal en muestras de saliva, surco gingival, mucosa yugal y placa dental.

Esto abre la posibilidad de considerar a la cavidad oral como reservorio para este microorganismo, pero la hipótesis de que la microflora bucal pueda ser un nicho permanente para la bacteria es muy controversial.

Diversos autores también han considerado a la cavidad oral como un segundo reservorio natural para *Helicobacter pylori* y tratan de explicar las recaídas de la enfermedad ulcero-péptica, posteriores al tratamiento de erradicación, mediante un mecanismo de re-infección proponiendo como reservorio a la placa dental.

Se menciona que existen condiciones que pueden facilitar la colonización oral de *Helicobacter pylori*, tales como el reflujo gastroesofágico, los malos hábitos de higiene, entre otros, la infección intrafamiliar ha cobrado posicionamiento en la transmisión de este microorganismo.³

Es por ello que la detección de *Helicobacter pylori* en placa dental y saliva sugiere que la cavidad oral podría ser un importante reservorio para este microorganismo.³ Basándonos en lo anteriormente expuesto resulta obvia la importancia de aplicar métodos de detección sensibles y específicos para la determinación *Helicobacter pylori* en placa dental y saliva, con lo cual se evitaría recurrir al uso de métodos invasivos como la endoscopia para la detección de la infección por este microorganismo. Igualmente existe mucho interés en determinar los reservorios naturales de este microorganismo, además del estómago, con la intención de contribuir al esclarecimiento de si la placa dental y la saliva son un reservorio bucal de la referida bacteria.

Debido a que no se conocen específicamente los mecanismos de transmisión, el objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de la infección en cavidad oral ya que podría arrojar una importante información epidemiológica en la identificación de una de las diferentes rutas de transmisión, así mismo de las posibles causas de re-infección después del tratamiento.

1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

Existen descripciones histológicas de organismos espirales localizados en la cavidad gástrica de seres humanos realizados por autores alemanes desde 1874.²⁷

Helicobacter pylori ocupa una interesante posición en la historia de la medicina e investigación biomédica ya que su descubrimiento en 1983

cambió radicalmente los conceptos sobre las enfermedades gastroduodenales, su epidemiología y el tratamiento.

Ello implicó un cambio de actitud drástico que incluso se oponía a uno de los paradigmas más fuertes relacionados con la epidemiología de las enfermedades gastrointestinales; pues el estómago representa la denominada "barrera ácida", responsable de la eliminación de muchos de los posibles agentes infecciosos que se ingieren con los alimentos; un ejemplo indirecto de ese poder inhibitorio es el sobrecrecimiento bacteriano en duodeno y yeyuno que experimentan los pacientes post-gastrectomía. Por lo tanto, aceptar que en ese ambiente ácido del estómago existiesen microorganismos adaptados, implicaba un cambio importante en el conocimiento de esa época.

El hallazgo de las primeras observaciones de *Helicobacter pylori* se remontan a más de un siglo de antigüedad, cuando *Guilio Bizzozero* en Turín en 1893 en sus observaciones anatómicas de la mucosa gástrica de perros, reporto espiroquetas habitando las glándulas gástricas al igual que en los canalículos de las células parietales.^{3,15,27}

En 1906, *Balfour* demuestra la existencia de espiroquetas localizadas en las úlceras gástricas e intestinales de perros y monos. En este mismo año *Krientts* realiza la primera descripción de este tipo de microorganismos en estómagos de pacientes con cáncer gástrico.^{3,27}

En 1938, *Doengues* realizó el primer estudio sistemático sobre la presencia de bacterias helicoidales en el estomago.³ Además de detectar espiroquetas en macacos, este autor describió posteriormente organismos similares, asociados a gastritis en el 43% de 242 estómagos humanos obtenidos mediante necropsias.²⁷

En 1951, un médico español, *Solano*, recomendaba la administración de suero y penicilina a los pacientes convalecientes de úlcera duodenal o

gástrica, e insistía, en la necesidad de una buena higiene dental, por considerar los focos sépticos dentales responsables de recidivas ulcerosas.²⁷

Algunos autores, sugirieron que las bacterias vistas por algunos investigadores en las biopsias gástricas eran secundarias a la contaminación bacteriana proveniente de la cavidad oral, la cual llegaba al estomago a través de la comida.²⁷

En Australia, Robin Warren, un patólogo australiano de Perth, en una preparación de mucosa gástrica con gastritis crónica activa, observa una **línea azul** en la superficie del epitelio gástrico que nunca había visto. Con mayor aumento pudo distinguir numerosos **pequeños bacilos** que componían la línea azul, firmemente adheridos a la superficie del epitelio.^{15,27,73}

Como patólogo tenía claro que la presencia de bacterias en cualquier tejido inflamado debía ser considerada agentes causales.

Para identificar los componentes de la "línea azul" previamente mencionada probó la coloración de Gram y la de Warthin-Starry (con preparados argénticos). Con ambas tinciones, pero especialmente con esta última, consiguió teñir las bacterias y diferenciarlas de las células epiteliales. Posteriormente, examinó con el microscopio electrónico, observando los cuerpos bacterianos adheridos con firmeza a la superficie del epitelio.^{3,15}

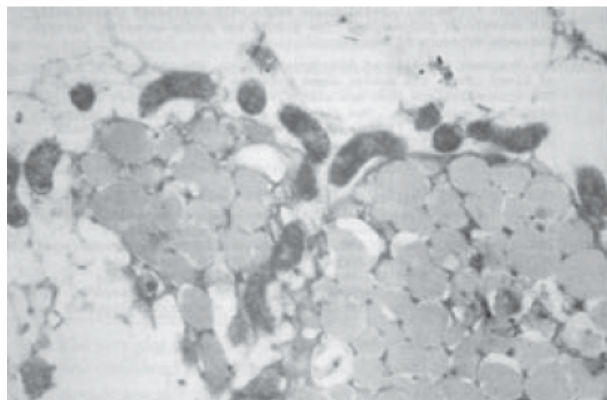


Imagen 1. Imagen de *Helicobacter pylori* tomada por microscopía electrónica.

Comenzó a notificar una bacteria curvada a menudo presente en biopsias gástricas sometidas a exámenes histológicos. *Warren* descubrió que la mayoría de los microorganismos similares encontrados y descritos en Europa en el siglo XIX habían sido ignorados por imposibilidad de aislamiento.

Datan los hechos de 1983, donde *J. Robin Warren* escribió una publicación inédita a "*The Lancet*" donde exponía múltiples casos clínicos en los que aparecía una bacteria bacilar con forma espiral. Se le asociaba con gastritis crónica, gastritis activa crónica, inflamación y en cualquier caso acompañada de infiltración de polimorfonucleares en el *antrum* gástrico.^{14,15,73}

Estos hallazgos dejaron perplejos a muchos investigadores, entre otras razones, porque era admitido que las bacterias eran destruidas en el medio ácido del estomago antes de que pudieran colonizar la mucosa gástrica y establecerse allí.

Un profesor de medicina interna llamado Barry Marshall estuvo interesado en las observaciones de Warren se apasionó por el proyecto, ambos investigadores diseñaron un ensayo clínico sobre cien pacientes consecutivos.^{3,15,73}

Elaboraron un minucioso protocolo, en el que constaba un detallado cuestionario clínico y metodológico de las zonas de la mucosa gástrica, donde deberían recogerse biopsias para estudio histopatológico y para cultivo microbiológico.



Por su parecido a *Campylobacter* eligieron el medio y el tiempo de incubación utilizado para este género. El cultivo inicial de 30 pacientes fue negativo porque *Campylobacter* crecía a las 48 hrs y a los tres días tiraban las placas, sin embargo el azar y la fortuna, facilito el éxito de su descubrimiento ya que una placa de cultivo de la biopsia 35, fue olvidada en la cámara de cultivo, provocando que el periodo de incubación de la misma tuviera un periodo mayor y se observaran minúsculas colonias transparentes, que al ser extendidas y teñidas se identificaban como bacterias similares a las ya antes encontradas en preparaciones histológicas.¹⁵

En 1983, y al no llegar a un acuerdo de redacción final de una carta aparecen en *Lancet* dos cartas, una escrita por *Warren* y otra por *Marshall*, quienes describen la presencia de bacterias curvas y espirales en 135 biopsias gástricas, en estrecha unión con células del epitelio y con áreas de inflamación de la mucosa gástrica; con distribución continua, focal o en parche, y más abundante en el antro gástrico. La infiltración superficial bacteriana se acompañaba de un gran número de polimorfonucleares. Por sus características morfológicas recordaba a *Campylobacter jejuni* mas que a las espiroquetas, *Warren* denominó a estos microorganismos presentes en la mucosa gástrica *Campylobacter like*. *Marshall*, en su carta describe el cultivo de la bacteria procedente de biopsias gástricas, después de 3-4 días de incubación utilizando técnicas de aislamiento para *Campylobacter*, así como sus características microbiológicas y bioquímicas, considerando que no se adaptaban claramente al género *Campylobacter* y que podría corresponder al género *Spirillum*. Este autor menciona que el microorganismo debe desempeñar un importante papel en la patogenia de la gastritis y úlcera péptica.^{15,55,73}

<h1>THE LANCET</h1>		
No 8336	BOSTON, MASS. AND LONDON · SATURDAY 4 JUNE 1983	VOL 1 FOR 1983
LETTERS TO THE EDITOR		
1262	Influence of Sedation on Mortality in Critically Ill Multiple Trauma Patients Prof I. McA. Ledingham, Mr Ian Watt, FRCS	1270
	Potential Hazards of Prolonged Steroid Anaesthesia Dr P. G. P. Lawler and others	1270
1264	Detection of Dengue Virus by Immunofluorescence Following Inoculation of Mosquito Larvae Dr T. Pang and others	1271
	Maternal Chloroquine Prophylaxis and Sickle-cell Anaemia Dr G. T. Nurse	1271
1268	Tetracycline for Chloroquine-resistant Malaria Dr Nicholas White	1271
	Stability of Human Diploid Cell Rabies Vaccines Dr Chantapong Wasi and others	1272
1269	Hepatitis Vaccination Policy for Hospital Staff Prof C. J. Oon and others	1272
1289	Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis Dr J. Warren;	1273
1289	Vasodilator Prostanoids and ACTH-Dependent Hypertension	1275

Imagen 2. Citación de la carta en la primera pagina del *Lancet*, 4 de junio de 1983

Se da el primer nombre de la nueva bacteria en los *Proceedings of the second International Workshop Campylobacter Infections*, Martin Skirrow sugiere que estas bacterias deben recibir la denominación *Campylobacter pyloridis* por su localización preferente próxima al piloro.⁵⁵ Nomenclatura que fue revisada más tarde, para adaptarse a las normas de gramática latina, sustituyéndose por la de *pylori*.

Posteriormente, varios grupos de investigadores publicaron resultados parecidos en otras revistas científicas. Los clínicos pasaron del rechazo a la duda. Para aceptar al *Campylobacter* como agente causal de gastritis y ulcera péptica, precisaba cumplir uno de los postulados de Koch: la producción de

la inflamación de la mucosa gástrica por la inoculación de la bacteria en un animal de experimentación.

En 1985 frente a la incredulidad del ambiente médico, *Marshall* ingirió estos microorganismos y controlarse mediante repetidas endoscopias, en un intento de demostrar los postulados de Koch. Se produjo un cuadro de gastritis con toda la sintomatología acompañante, así como los datos anatomopatológicos, microbiológicos y terapéuticos, demostrando el efecto patogénico de esta bacteria^{1,22,55,64,73}.

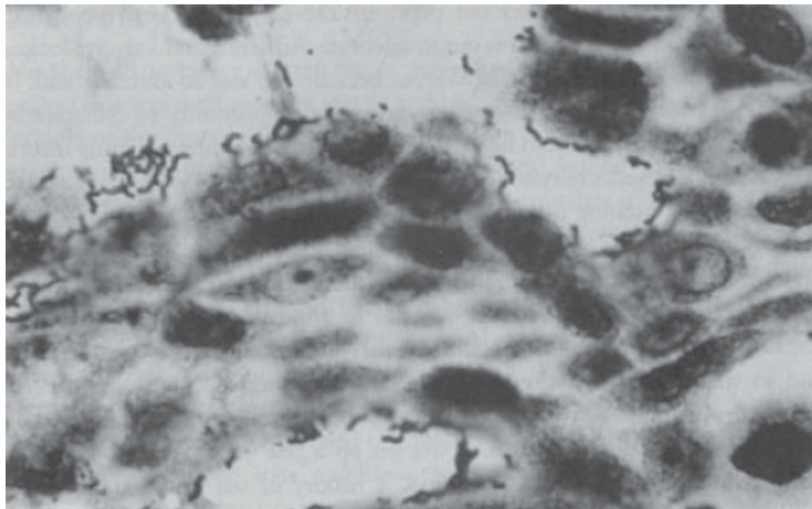


Imagen 3. Morfología de las bacterias teñidas con el método de Warthin-Starry, obtenida en la muestra de la mucosa gástrica tomada por biopsia endoscópica en el décimo día de la inoculación de Marshall.

La nueva bacteria había sido incluida en la especie *Campylobacter* provisionalmente.¹² Con los miembros del grupo compartía la morfología espiral, la capacidad de microaerofilia, el crecimiento en el mismo medio de cultivo y otras características bioquímicas. Diferían, sin embargo, en dos rasgos esenciales: la presencia de múltiples flagelos en uno de los extremos y su gran contenido de la enzima ureasa.

Fue en 1989, cuando *Goodwin* estudiando la ultra estructura de la bacteria encuentran características, fundamentalmente en relación con los ácidos grasos celulares. Utilizando el método de medición del contenido de ácidos grasos por cromatografía líquida de gas (GLC) aplicado en la taxonomía de las bacterias, permitió completar la clasificación de la especie *Campylobacter*. Lo aplicaron al estudio del contenido de ácidos grasos del *Campylobacter pylori* con otros *Campylobacter*, y obtuvieron resultados diferentes.³

Con este estudio y el análisis de secuencias de ácido ribonucleico ribosomal 16S (RNAr) permitió demostrar la diferencia de las bacterias del género *Campylobacter*, sugiriendo el nombre ***Helicobacter*** (del griego, “bacteria espiral”) ***pylori***, denominación con la que se conoce hasta la actualidad, creándose además un nuevo género bacteriano.

Esta infección se ha convertido en un serio problema de salud pública. En 1994, una conferencia consenso de los Institutos Nacionales de Salud concluyó que *Helicobacter pylori* era la causa de la enfermedad de úlcera péptica. Ese mismo año, la Agencia Internacional en Investigación del Cáncer declaró a *Helicobacter pylori* como carcinógeno del tipo I en humanos. Asimismo, a últimas fechas también se la ha relacionado con algunos padecimientos extragástricos.

Por el descubrimiento de *Helicobacter Pylori* y la magnitud del efecto potencial que tiene sobre la población humana, el *Dr. Barry Marshall* y el *Dr. Robin Warren* recibieron el Premio Nobel de Medicina en 2005.^{1,64} Ellos dieron una lección muy importante al mundo científico: ningún dato se puede tomar como dogma de fe, la naturaleza nos sorprende con su versatilidad en muchas de sus formas... Si se le subestima, nos toma por sorpresa.

1.2 EPIDEMIOLOGIA.

La infección con *Helicobacter pylori* continua siendo una de las enfermedades crónicas más extensas en el mundo. Ha sido encontrada en estómagos humanos en todas partes del mundo es ubicua e infecta igualmente a hombres como a mujeres³ y no parece existir reservorios de *Helicobacter pylori* fuera de estos, salvo en primates y gatos como excepciones particulares.¹⁵

A pesar de que, al igual que ocurre con otras enfermedades de tan alta incidencia, es difícil establecer cifras exactas. Se estima que la infección por *Helicobacter pylori* afecta a más de la mitad de la población mundial^{2,7,16,19,28}, pero sólo una proporción baja de aquellos que albergan la bacteria desarrollan en algún momento patología gastroduodenal severa, que incluye a las úlceras gástricas o duodenales y a los adenocarcinomas y linfomas.³ Registrándose una mayor probabilidad de infección durante la infancia donde la transmisión se produce fundamentalmente dentro de las familias y su prevalencia va aumentando con la edad.^{3,6,7,12,16,21,22}

Se ha documentado en todo el mundo, una prevalencia de 10 a 90% la cual va a depender de la edad, la zona geográfica y la condición socioeconómica de los individuos.^{16,22,23,27} Las tasas más altas de infección están asociadas a los bajos estatus socioeconómicos que generan factores que intervienen en la infección como el nivel de higiene, el agua contaminada, saneamiento, densidad de vivienda, las oportunidades educacionales y determinadas profesiones como veterinario o gastroenterólogo.^{3,14,15,21,30}

En general existen dos patrones epidemiológicos básicos que definen su extensión:

1. Países de tipo I: Está formado por países en vías de desarrollo como es América central y del sur, África y Asia, en los que el individuo

suelen contraer la infección por *H. pylori* durante la infancia²³ y va a continuar de forma crónica durante la vida.^{7,8,14,16,27,28}

2. Países de tipo II: El cual está conformado por países desarrollados que componen el norte y oeste de Europa, Estados Unidos, Japón y Australia, muestran una prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori*, relativamente baja durante la niñez.^{1,7,8,12,14,16,27,28,41}

EPIDEMIOLOGIA MUNDIAL DE LA INFECCION POR <i>Helicobacter pylori</i>			
	País	% de infección por H. pylori	
		Niños	Adultos
AFRICA	Nigeria, India, Sudáfrica ⁴⁶	60-80	ND
	Etiopia	48-80	>95
	Gambia	95	>95
	Nigeria	82	91
ASIA	Bangladesh	58-82	>90
	India	22-87	88
	Siberia	30-63	85
	Sri Lanka	67	72
MEDIO ORIENTE	China	41	55
	Jordania	ND	82
	Libia	50-84	94
	Arabia Saudita	40	80
	Turquía	64	80
AMERICA CENTRAL	Guatemala	51	65
	México ^{3,7,12,57}	20-50	80
AMERICA DEL SUR	Bolivia	54	ND
	Brasil ⁵¹	30-78	82
	Chile	36	72
	Perú	52	ND
AMERICA DEL NORTE	E.U.A ¹²⁻¹⁶	0.5-1	40-50
EUROPA	Inglaterra, Noruega y Alemania ⁴⁶	8-20%	ND
	Lituania ³⁰	ND	80

^xBasado sobre referencia; **ND** Información no disponible

Tabla 1. Se observa el porcentaje de infección por *Helicobacter pylori* en distintos países del mundo, observándose las diferencias en base a la zona geográfica.

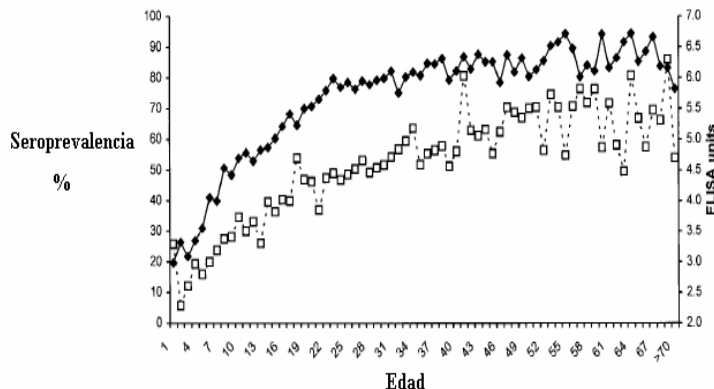
La infección se encuentra en un rápido declive en la mayoría de los países occidentales, debido principalmente al éxito de los regímenes terapéuticos y la mejora de la higiene personal y comunitaria que impide volver a la infección².

En algunos países como en México se han observado regiones de mayor riesgo, como es la parte sureste de México en especial las zonas altas del estado de Chiapas donde existen grupos indígenas que presentan una alta incidencia de cáncer gástrico asociado al microorganismo.^{14,63}

En un estudio seroepidemiológico realizado en 1997, se trabajó con un banco de sueros representativo de la población de todos los estados de la República Mexicana (11,605 sueros) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años.¹⁴

Los resultados mostraron que el 20% de los niños de 1 año de edad presentaban anticuerpos contra *H. pylori* y que la seropositividad aumentó hasta un 50% en los niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección por el microorganismo en nuestro país se adquiere a edades tempranas y alcanza un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad.^{6, 14}

Grafico 1.
Seroprevalencia y la magnitud de IgG anti-*H.pylori* en la respuesta de México a 11605 sujetos por edad.



Los estudios anteriores sugieren que los mecanismos de transmisión son más comunes en la niñez, o que el niño es más susceptible de ser colonizado por

esta bacteria que el adulto; y quizá también sea más vulnerable a la re-infección.

En contraste con otros estudios, Torres Javier y colaboradores, encuentran que en México, la geografía tuvo poca influencia en la infección por *H. pylori*. Las regiones con diferentes niveles de desarrollo las tasas de infección fueron similares. Por otra parte, no se mostró ninguna diferencia en la infección entre las comunidades urbanas y rurales. Es así, que por ejemplo la prevalencia de *H. pylori* en pacientes sintomáticos en el noreste de México es tan alta como la prevalencia reportadas para todo el país.¹⁰

Variable	No. % seropositivos	CI 95%
Género		
1. Masculino	5342 (59.8)	
2. Femenino	3774 (62.7)	1.02-1.23
Hacinamiento (personas por habitación)		
<1.5	1922 (58.6)	
1.6-3.5	2515 (61.7)	1.12-1.46
> 3.6	4679 (62.4)	1.23-1.60
Índice socioeconómico		
1. Alto	3562 (58.6)	
2. Medio	2337 (62.5)	1.13-1.43
3. Bajo	3217 (63.6)	1.26-1.63
Nivel de educación		
1. Universidad	787 (63.7)	
2. Preparatoria	1414 (70.2)	1.20-1.78
3. Básica	2304 (79.5)	1.60-2.43
4. Analfabetos	381 (83.7)	1.71-3.44
Nivel económico		
1. Alto	2337 (64.1)	
2. Medio-alto	2353 (62.0)	0.81-1.03
3. Medio-bajo	2171 (57.9)	0.68-0.87
4. Bajo	2253 (61.7)	0.80-1.02
Región		
1. Rural	3770 (61.4)	
2. Urbana	5346 (61.6)	0.87-1.05

CI= Intervalo de confianza

Tabla 2. Variables que influyen en la sero-prevalencia de *H. pylori* en personas de 1-39 años en México

Esta observación es de extrañar, porque en México, las comunidades rurales rara vez tienen aguas municipales; y generalmente, el agua la obtienen de los pozos o ríos. Aunque el abastecimiento de agua ha sido considerado una fuente importante de infección por *H. pylori* en algunos países esto puede no ser cierto en México.

En países como México, donde de acuerdo con estudios realizados la prevalencia de la infección es alta, la re-infección también podría ser frecuente. De esta última los escasos trabajos sobre el tema de los que se tienen conocimiento se han realizado sólo en adultos; en tanto que en niños se desconoce la tasa de re-infección, después de la terapia de erradicación que en raras ocasiones reciben.

1.3 RESERVORIOS.

Se sabe que el ser humano es el reservorio de este patógeno,²² pero diferentes estudios sobre la transmisión de *H. pylori* muestran que los factores ambientales tienen un papel fundamental.

Se ha descrito que en reservorios ambientales, como el agua y alimentos^{23,28}, las células de *H. pylori* pueden transformarse desde una morfología espiral cultivable a una morfología más condensada de aspecto cocoide, viable pero no cultivable. Estos cambios morfológicos son acompañados de cambios metabólicos y fisiológicos.¹⁴

Este hecho resulta un problema importante para el aislamiento de este microorganismo con los métodos de aislamiento en cultivo tradicionales, y es la razón por la que no se ha conseguido aislar *H. pylori* de muestras ambientales aunque se ha detectado por técnicas basadas en el análisis de ácidos nucleicos.

Estudios publicados recientemente realizados por técnicas de DNA, detectan *H. pylori* en ambientes marinos, aguas superficiales y subterráneas en Estados Unidos, así como en agua para el consumo humano en países con diferentes niveles socioeconómicos como Perú, Japón, Gambia, México y Suecia.²³ Estos datos sugieren que el agua es un reservorio natural para este microorganismo y una posible fuente de infección, sobre todo en zonas rurales donde con frecuencia los habitantes se abastecen de pozos de poca profundidad con un tratamiento de desinfección mínimo o inexistente, aunque son necesarios estudios de detección en estos ambientes para confirmar este punto.

No hay reservorios animales de la bacteria aunque se habla de hallazgos de la misma en gatos domésticos (*H. heilmanii*) por lo que se piensa que puede tener comportamiento zoonótico.^{15,23,29}

El hábitat específico del *H. pylori* es la mucosa gástrica del hombre,¹⁴ pero desde que *H. pylori* fue exitosamente aislado mediante cultivo de la placa dental de algunos pacientes, la cavidad bucal comenzó a recibir especial interés como un posible reservorio del microorganismo. Sin embargo, la tasa de recuperación del microorganismo en la cavidad bucal es muy controversial; mientras que *H. pylori* ha podido ser aislado de la cavidad bucal en algunos casos, otros esfuerzos para cultivar el organismo han fallado.²¹

Algunas consideraciones han sido propuestas, entre ellas se ha referido que *H. pylori* puede estar presente en la cavidad bucal como consecuencia del reflujo gástrico, y que quizás éste se encuentre más como una parte de la microbiota transitoria, que un residente normal. Igualmente se ha reportado que en algunos pacientes la colonización bucal de la bacteria, podría representar un factor de riesgo para las recaídas de las enfermedades gastrointestinales, posterior a la terapia antibiótica de erradicación.

1.4 VÍAS DE TRANSMISIÓN.

El área más estudiada y ciertamente más controversial de la investigación epidemiológica de *Helicobacter pylori* es la ruta de transmisión ya que el mecanismo por el cual el microorganismo es transmitido, no se conoce con certeza.^{8,14,19,21,22,23,24,30}

Dada la localización de la infección y la necesidad básica de esta bacteria por la mucosa del tipo gástrico para su proliferación in vivo, la ingestión parece ser el medio más probable de adquirir *Helicobacter pylori*.^{14,30}

Aunque *H. pylori* está en el estómago de la mitad de la población mundial todavía no se conoce perfectamente cómo se transmite. Se han propuesto tres distintas rutas de transmisión que puede seguir la infección: oral-oral, fecal-oral, oro-gástrica o a partir de una fuente ambiental.^{3,14,15,21,22,28,35}

Transmisión oral-oral

Varios autores han reportado la presencia de *H. pylori* en la cavidad oral y han propuesto que ésta podría ser la fuente de la infección y de la re-infección del estómago después de la terapia, así como de la transmisión a otras personas, destacándose la transmisión por los miembros de la familia y por vectores, como las moscas, que abundan especialmente cuando hay malas condiciones higiénicas y socioeconómicas.^{21,29,43}

La transmisión se puede producir a través de la saliva, por la presencia de *H. pylori* en lesiones de la cavidad oral y en la placa dental. Es por ello que se ha sugerido que la cavidad bucal puede ser un sitio de colonización del *H. pylori* y puede actuar como importante reservorio manteniendo la infección, así como perpetuando el ciclo infeccioso de la bacteria.^{8,35}

De esta forma tanto la saliva como la placa dental han sido implicadas como posibles vías de adquisición de la infección por *H. pylori*.^{15,23,28,43} Algunos

investigadores han sugerido que posiblemente formas cocoides, no cultivables del organismo puedan sobrevivir en la boca.^{8,16,19,22}

Aunque la presencia de *H. pylori* en placa dental de pacientes con gastritis podría sugerir a la vía oral como una importante fuente de transmisión, su aislamiento a partir de muestras bucales ha sido muy dificultoso, quizás porque su tasa de recuperación es muy controversial.^{16,21,22,23,35,43}

Se piensa que podría ocurrir una colonización transitoria de la cavidad oral²¹ (es decir que forme parte de la microbiota transitoria, que como un residente normal) en casos de reflujo gástrico o en pacientes sometidos a endoscopia, lo cual podría representar un factor de riesgo para la re-infección gastrointestinal posterior a la terapia antibiótica.³⁵

Utilizando la técnica de PCR para la detección de la bacteria, los resultados de prevalencia en este tipo de muestras fluctúan desde valores elevados, hasta resultados próximos a cero y en algunos casos, las cifras son difícilmente correlacionables con la prevalencia, que por el mismo método, se obtenía en esos estudios cuando se analizaban muestras de mucosa gástrica.^{8,23,35}

Transmisión fecal-oral

La transmisión fecal-oral está dada por la contaminación del agua y alimentos por parte de la materia fecal que contiene *Helicobacter pylori*.^{15,23,28}

La transmisión a través del agua ha demostrado ser tres veces más frecuentes en los personas de hogares con bajos ingresos económicos y en especial los que tienen sus fuentes de agua bebibile externas a sus hogares, que las personas con altos ingresos que tienen un aporte de agua de fuentes internas en sus casas. En familias con iguales condiciones económicas, los que reciben agua de dudosa potabilidad tienen mucha más posibilidad de

infección por *Helicobacter pylori*, que los que tienen agua con seguridad higiénica. La infección a través de los alimentos es más factible por la ingesta de vegetales no cocinados, por la posibilidad de contaminación con aguas cloacales que se utilizan para el riego de las plantaciones.²⁸

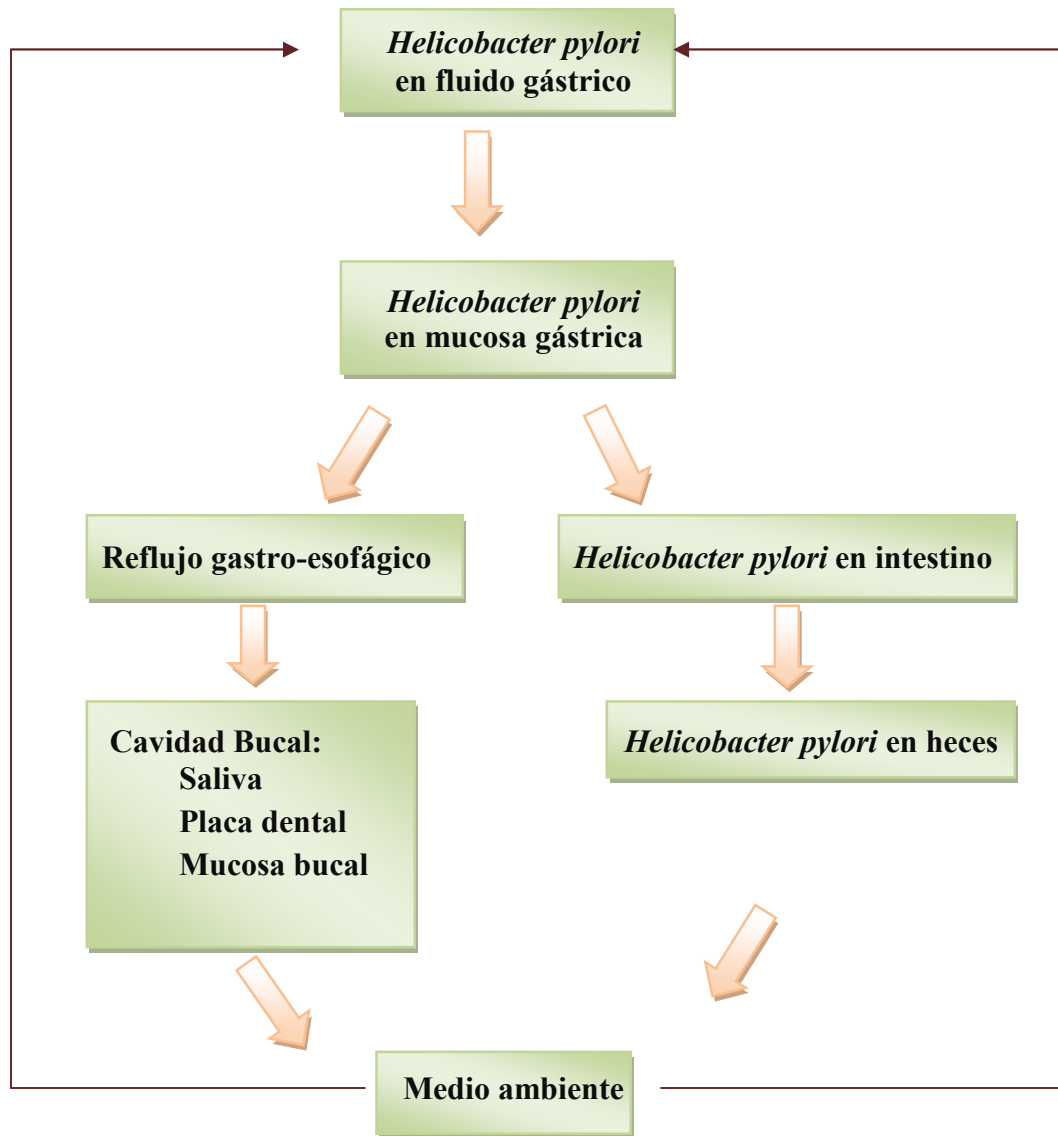


Imagen 4. Mecanismo de transmisión de la infección por *Helicobacter pylori*

El cultivo de formas viables de la bacteria en muestras de heces, apoya la hipótesis de esta vía de transmisión.^{22,23} Sin embargo, los resultados de los diferentes trabajos son poco coherentes, lo que podría justificarse aludiendo a la presencia en la muestra de sustancias capaces de disminuir o inhibir el crecimiento bacteriano (sales biliares, polisacáridos), o bien, por la existencia de características ambientales (deprivación de nitrógeno y carbono) que hacen que la bacteria adopte su forma resistente cocoide de difícil replicación en cultivo. Utilizando PCR como método de detección, los problemas aparecen como consecuencia de la presencia en la muestra de interferentes para esta técnica, por lo que los resultados dependen en gran medida del método de obtención del DNA desde las heces.²²

Transmisión oral-gástrica (iatrogénica).

Se puede producir transmisión de la bacteria por vía endoscópica, demostrándose que los gastroenterólogos, especialmente los endoscopistas, tienen un riesgo cinco veces mayor de infección por *Helicobacter pylori*. El uso de guantes no previene la adquisición de la infección, pero disminuye el riesgo de infección.^{15,23,28}



Imagen 5. Fotografía obtenida en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias durante la realización de un estudio de endoscopia.

Esta posibilidad se apoya en la ocurrencia de algunos brotes asociados con manejo y desinfección inadecuada de gastroscopios. Tal posibilidad llevaría también a relacionarle con el vómito, lo que en cierta medida podría explicar las altas tasas de infección en niños, ya que estos vomitan más frecuentemente que los adultos, además de que frecuentemente se llevan objetos a la boca. En saliva la presencia del *Helicobacter pylori* puede ser intermitente, como resultado del reflujo gastroesofágico. La ruta oral gástrica se puede producir por regurgitación del contenido gástrico a la boca y por transmisión iatrogénica por sondas y endoscopios, calculándose que esto sucede en alrededor del 1%.²⁸

1.5 TAXONOMIA.

El descubrimiento de *Helicobacter* en humanos hizo sospechar que podrían haber otras especies colonizando el estómago en otros animales y fue así como se descubrió la primera especie diferente de *H. pylori* en urones, la cual inicialmente se describió como una subespecie y luego como *H. mustelae*. Rápidamente apareció una serie de informes que narraban el hallazgo de *Helicobacter* en una serie de mamíferos que incluyen desde leopardos hasta ratones; la mayoría de esas especies se alojan en el estómago; sin embargo, hay dos grupos que se separan de esa localización; por una parte, están las especies que se localizan en vías biliares en el hígado de ratones como *H. bilis*, *H. rodentum*, *H. hepaticus* y *H. colecystus*. El otro grupo, corresponde a especies adaptadas al colon, entre ellas figuran las primeras especies descritas en humanos y se relacionaron con cuadros de diarrea en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, estas fueron *H. fennelliae* y *H. cinaedi* ; posteriormente se descubrieron otras especies en intestino de otros animales, incluyendo a *H. muridarum*, *H. bizzoeronii* y "*H. flexispira*" descritas desde la década de 1970 como bacterias que exhiben una morfología característica por la presencia de fibras periplásmicas; la primera de éstas fue hallada en válvula ileocecal de ratones y las otras dos, en el intestino de perros. Actualmente, *H. bilis*, *H.*

trogontum y *H. felis* presentan fibras periplásmicas las cuales constituyen una de las características morfológicas incluidas en los cuadros de identificación de este género. Desde la descripción del género, el número de especies incluidas en él ha aumentado espectacularmente. En la actualidad al menos 24 especies de *Helicobacter* han sido descritas de una forma válida.

Las especies del genero *Helicobacter* se han dividido en las que colonizan el estomago y las que se localizan en el intestino tanto de hombres como animales.²⁷

Tabla 3. Especies del género <i>Helicobacter pylori</i> descritas hasta la actualidad.													
Taxonomía	Produc. de Catalasa	Reduccion de nitritos	Hidrólisis de fofatasa alcalina	Ureasa	Hidrólisis de Indoxil acetato	Glutamil Transfe – rasa	Crecimiento a 42°C	Susceptibilidad a:		Fibras periplasmicas	No. de Flagelos	Distribución de Flagelos	G+C contén do (mol%)
								Acido Nalixico (30 µg)	Cephalothin (30 µg)				
Gástricas													
<i>H. acinonychis</i>	+	-	+	+	-	+	-	R	S	-	2-5	Bipolar	30
<i>H. bizzozeronii</i>	+	+	+	+	+	+	+	R	S	-	10-20	Bipolar	ND
<i>H. felis</i>	+	+	+	+	-	+	+	R	S	+	14-20	Bipolar	42
<i>H. mustelae</i>	+	+	+	+	+	+	+	S	R	-	4-8	Peritricos	36
<i>H. nemestrinae</i>	+	-	+	+	-	ND	+	R	S	-	4-8	Bipolar	24
<i>H. pylori</i>	+	-	+	+	-	+	-	R	S	-	4-8	Bipolar	39
<i>H. Salomonis</i>	+	+	+	+	+	ND	-	R	S	-	10-23	Bipolar	ND
<i>“H. Suncus”</i>	+	+	+	+	-	-	ND	R	S	-	2	Bipolar	ND
Intestinales													
<i>H. bilis</i>	+	+	ND	+	-	ND	+	R	R	+	3-14	Bipolar	ND
<i>“H. canadensis”</i>	+	V	-	-	+	-	+	R	R	-	1-2	Bipolar	ND
<i>H. canis</i>	-	-	+	-	+	ND	+	S	I	-	2	Bipolar	48
<i>H. cholecystus</i>	+	+	+	-	-	-	+	I	R	-	1-3	Monopolar	ND
<i>H. cinaedi</i>	+	+	-	-	-	-	-	S	I	-	1-2	Bipolar	37-38
<i>Helicobacter sp. cotton-top</i>	+	+	+	+	-	+	+	S	R	-	2	Bipolar	31
<i>H. fennelliae</i>	+	-	+	-	+	-	-	S	S	-	2	Bipolar	35
<i>H. ganmani</i>	V	+	-	-	-	ND	-	S	R	-	2	Bipolar	ND
<i>H. Hepaticus</i>	+	+	ND	+	+	ND	-	R	R	-	2	Bipolar	ND
<i>“H. mesocricetorum”</i>	+	+	+	-	ND	-	+	S	R	-	1	Bipolar	ND
<i>H. muridarum</i>	+	-	+	+	+	+	-	R	R	+	10-14	Bipolar	34
<i>H. pamentesis</i>	+	+	+	-	-	-	+	S	S	-	2	Bipolar	38

Taxonomia	Produc. de Catalasa	Reduccion de nitritos	Hidrólisis de fofatasa alcalina	Ureasa	Hidrólisis de Indoxil acetato	Glutamil Transferasa	Crecimiento a 42°C	Suceptibilidad a:		Fibras periplasmicas	No. de Flagelos	Distribución de Flagelos	G+C contenido (mol%)
								Acido Nalixico (30 µg)	Cephalothin (30 µg)				
<i>H. pullorum</i>	+	+	-	-	-	ND	+	R	S	-	1	Monopolar	34-35
<i>Helicobacter sp. Flexispira</i>	+	-	-	+	ND	+	+	R	R	+	10-20	Bipolar	34
<i>H. rodentium</i>	+	+	-	-	-	-	+	R	R	-	2	Bipolar	ND
<i>H. trogontum</i>	+	+	-	+	ND	+	+	R	R	+	5-7	Bipolar	ND
<i>"H. typhlonicus"</i>	+	+	-	-	-	-	-	ND	ND	-	2	Bipolar	ND

Reacción Positivo, (-) reacción negativo, (S) susceptible, (R) Resistente, (I) Intermedio, (ND) no determinado, (V) variable.

1.6 CARACTERISITICAS MICROBIOLÓGICAS.

a) Morfología

H. pylori es un bacilo Gram negativo, corto (2, 4-5 μ m de longitud), con forma de espiral, de coma o de “S”.^{3,15,16,27,29,35}

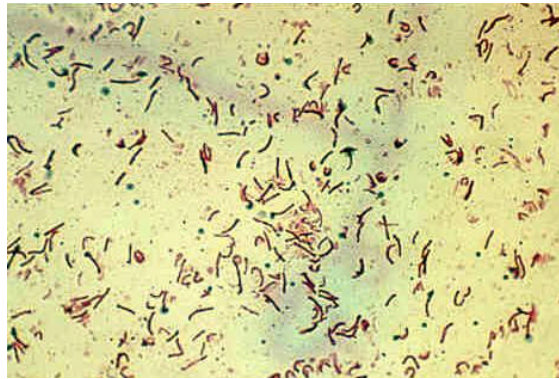


Imagen 6. Tinción de Gram a partir de un cultivo en placa de agar. Se observa de color rosa debido a su estructura de bacilo gram negativo.

La superficie celular de *Helicobacter pylori* es lisa, posee 4-6 flagelos envainados unipolares; cada flagelo está cubierto por una vaina rica en proteínas y lipopolisacridos, y están compuestos por tres componentes: filamentos, cuerpo basal y punta.^{14,29}

Miden aproximadamente 30 μ m de largo y tiene un bulbo terminal el cual es una extensión de su cubierta o envoltura, el cual protege el filamento flagelar de la despolimerización. El núcleo del flagelo está constituido por un filamento, que en su extremo proximal aparece fijo a una matriz de naturaleza desconocida. Las células bacterianas en su mayoría son móviles.

El filamento flagelar compuesto primariamente de unidades repetidas de 2 polipéptidos FlaA y FlaB, está conectado directamente con la punta flagelar (la cual está compuesta por una proteína FlaE), la cual a la vez conecta al

filamento flagelar con el cuerpo basal que es una estructura de multi-proteínas que sirve para motivar o impulsar y conducir su rotación y movimiento.^{14,15,71}

Helicobacter pylori tiene dos formas: una bacilar o espiral (**Imagen 7**) que son las formas jóvenes cultivables y una forma cocoide, que se considera como cultivo viejo. Ambas, pueden encontrarse en el estomago y en el duodeno, aunque la mayoría presentan la forma bacilar y es más patente cuando se observa la bacteria en las propias biopsias. Cuando se observan tras cultivo su morfología es más recta y llegan a desaparecer las formas helicoidales.^{15,27}

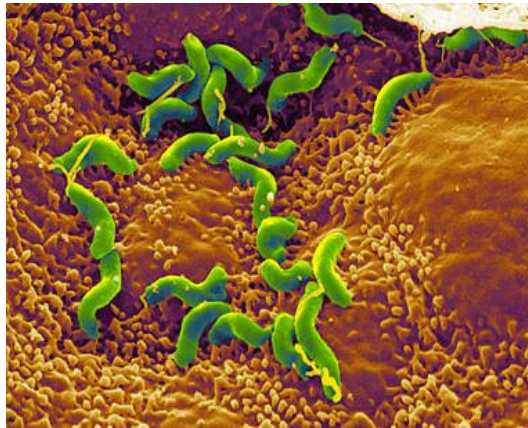


Imagen 7. Forma bacilar o espiral de *Helicobacter pylori*

La forma cocoide prácticamente no se adhiere a las células epiteliales y, además, tampoco es capaz de inducir la producción de interleucina. La conversión morfológica de la forma espiral a la forma cocoide se ha descrito en *Helicobacter pylori* cultivado bajo diversas condiciones adversas: aerobiosis, pH alcalino, alta temperatura, incubación prolongada, o tras exposición a altas concentraciones de oxígeno, tratamiento con inhibidor de la bomba de protones, o antibiótico, óxido nítrico, etc. Como el modo de transmisión todavía no está aclarado, se especula con la posibilidad de que la forma cocoide sea una forma de resistencia, capaz de soportar condiciones

adversas que encuentra en el medio ambiente, y reversible a la forma espiral en el momento en que se vuelvan a dar las condiciones optimas.^{15,27}

Como bacilo Gram negativo que es, presenta las características estructurales de éstos, es decir consta de membrana externa aparte de la membrana plasmática. La composición interna de la bacteria, se parece a la de otras bacterias Gram negativas, con un complejo constituido por elementos fibrilares nucleares y ribosomas que se entremezclan entre sí, pudiéndose observar ocasionalmente bacteriófagos.

Es catalasa, ureasa y oxidasa positiva, la hidrólisis del hipurato y la reducción de los nitratos son negativas. Se trata de un bacilo microaerofílico que requiere de una concentración óptima entre el 2-8% de O², 10% de CO₂ y 85% de nitrógeno para su desarrollo.^{14,29}

Helicobacter pylori y otra *helicobacterias* son microorganismos de crecimiento lento que requieren de medios artificiales ricos en nutrientes como: peptona, triptona, extracto de levadura, glucosa, y sales como: cloruro de sodio y bisulfito de sodio y de medios complejos suplementados con: sangre de caballo, polienriquecimiento, suero fetal bovino (SFB) o ambos, yema de huevo y crece a un rango de temperatura que va de los 30° C a 37°C.^{14,27,29}

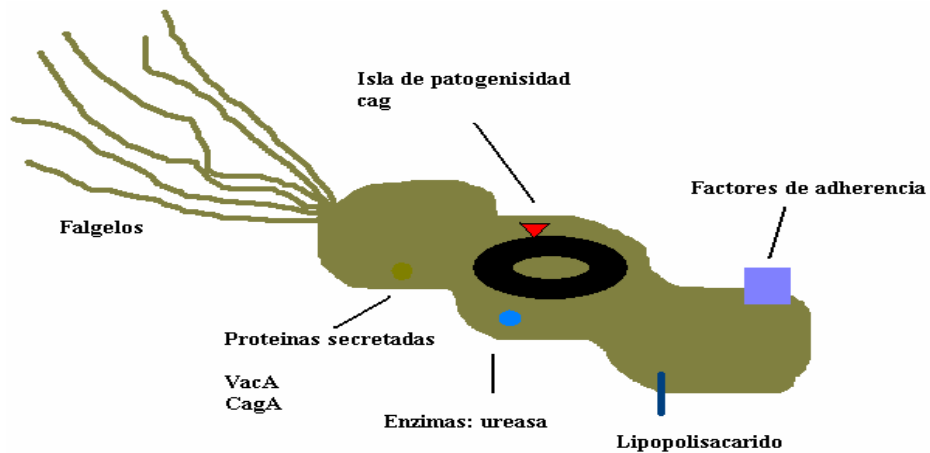
Imagen 8. En cultivos a partir de biopsias y siembras en agar sangre a 37°C y bajo condiciones microaeróbicas las colonias *Helicobacter pylori* tardan entre 5-7 días en aparecer. Las colonias son circulares, con una apariencia convexa y translúcida y con un diámetro de 1-2 mm



1.7 FACTORES DE VIRULENCIA.

El papel de *Helicobacter pylori* en la patogénesis de las lesiones gástricas, está basado en su capacidad para sobrevivir dentro del mucus, que cubre y protege al epitelio gastrointestinal, atravesarlo y luego adherirse al epitelio, venciendo todas las barreras del estomago (pH, mucus, bicarbonato, IgA secretora). Cabe resaltar su capacidad de estimular el crecimiento de células parietales, células G y células principales gástricas en el estomago y en localizaciones diferentes del duodeno denominadas Metaplasia.

Los Factores que permiten la patogenicidad del microorganismo son:



1.7.1 Flagelos.

La forma y los movimientos espirales le confieren al bacilo motilidad, permitiéndole atravesar la barrera mucosa y alojarse en el epitelio gástrico, de manera que no pueda ser barrido por los movimientos de peristalsis del estomago.^{3,7,14,27,28,29,71}

Actualmente se han sugerido que el flagelo es determinante como sensor de cambios de pH entre la luz gástrica y la capa de moco.

1.7.2 Adhesinas.

El proceso de adquisición de la infección por *Helicobacter pylori* se puede dividir en dos fases: a) la adhesión a la capa celular epitelial; y b) la inducción de citocinas pro-inflamatorias.^{28,29,71}

La colonización de este microorganismo se da al haber primero una adhesión a la mucosa gástrica^{3,28}, mediada por diferentes adhesinas.¹⁵

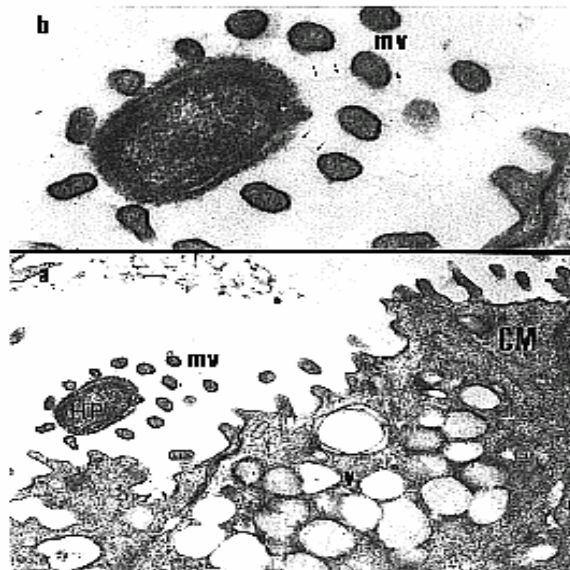
Las adhesinas son proteínas glicoconjugadas o lípidos presentes en la pared exterior del bacilo que le permiten el alojamiento en el endotelio gástrico por una unión al factor XII.^{14,71}

Las adhesinas de *Helicobacter pylori* están constituidas por una hemaglutinina radiante desde la superficie de la bacteria con estructura de tipo afimbrial y un diámetro de 2 nm y perteneciente al grupo de los sialoconjugados: la adhesión es ventajosa para la supervivencia del patógeno.

La hemaglutinina de *Helicobacter pylori* se une preferentemente a un componente (N-acetil-neuraminil-lactosa), ampliamente representado por las sialoproteínas, tanto de las células epiteliales como de las células sanguíneas. Se han señalado cambios cualitativos y cuantitativos en el moco intracelular, en relación con la adherencia de *Helicobacter pylori*; depleción de gránulos o vacuolas de moco; descenso de carbohidratos neutros e incremento de glicoproteínas ricas en ácido sialico, en la región apical del citoplasma de las células de la mucosa.¹⁵

Una vez que *Helicobacter pylori* alcanza la capa epitelial, la bacteria se adhiere a través de varias adhesinas como Bab A, SabA, A1pA, A1pB, Hopo, hpA e iceA.^{58,70,71}

Imagen 9. Imagen ultraestructural de *Helicobacter pylori* en primeras fases de adhesión (flechas en 2b muestran afimbrias entre *Helicobacter pylori* y microvellosidades de la célula mucosa)



La adherencia de la bacteria a los receptores de las células del huésped induce cambios celulares, los cuales incluyen una señal de transducción, permitiendo la infiltración de células inflamatorias como los neutrofilos y los monocitos. La adhesina BabA facilita la unión del microorganismo a los antígenos de Lewis b del huésped^{44,70}. La adhesina BabA contiene dos copias del gen *babA* denominados como *babA1* y *babA2*. La cepa que contiene el gen *babA2* codifica para una proteína funcional de la membrana externa, la cual se une al antígeno de Lewis b. Se ha observado que la presencia de *babA2* se correlaciona con la de otros genes patógenos (*cagA* y los alelos *s1* y *m1* de *vacA*).^{14,58,70}

La adhesión es ventajosa para la supervivencia del patógeno y para favorecer la liberación de las toxinas directamente sobre las células epiteliales.⁷⁰

1.7.3 Proteína Activadora de Neutrófilos (NPA)

Otra proteína implicada en la adhesión es la proteína NAP (Proteína activadora de neutrófilos), codificada por el gen *napA* y presente en la membrana externa de *Helicobacter pylori*. Sin embargo, tiene funciones muy diferentes cuando es secreta o cuando se presenta en la superficie bacteriana,

como bacterioferritina, participa en la captación de hierro y como adhesina tiene afinidad por las ceramidas presentes en las membranas plasmáticas celulares. La proteína NAP también tiene una alta afinidad por ceramidas sulfatadas, por el grupo antigénico sanguíneo $\text{SO}_3\text{-Lewis}^a$ y en menor medida por los Lewis^x y $\text{SO}_3\text{-Lewis}^x$, lo que demuestra que NAP funciona como una adhesina.^{29,71}

1.7.4 Ureasa

La ureasa es un factor esencial de la colonización, puesto que permite que *Helicobacter pylori* sobreviva en el ambiente altamente ácido y hostil del lumen del estómago antes de que alcance la capa del moco.^{7,15,29}

La ureasa es una proteína que se expresa en grandes cantidades en *Helicobacter pylori* representando el 6% de su peso seco. Es una de las proteínas más abundantes secretadas por el microorganismo, la cual se localiza en el espacio periplasmático y en la membrana más externa de la bacteria, tiene un peso molecular de 550 kDa y un punto isoeléctrico de 5.93, características fundamentales para su adaptación al estómago.⁵⁸ Está formada por dos subunidades denominadas UreA (6 subunidades) y UreB (6 subunidades), organizadas en un anillo doble de 13 nm de diámetro, la biosíntesis de la ureasa es controlada por un grupo de siete genes contiguos (ureABIEFGH), incluyen los genes que codifican para ureasa (ureAB) y cinco genes accesorios responsables de la recepción e inserción de iones de níquel (Ni^{2+}) en el sitio activo de la apoenzima.¹⁴

La ureasa permite a *Helicobacter pylori* utilizar urea como fuente de nitrógeno para la regulación de su metabolismo. La degradación de la urea, genera altas concentraciones locales de amonio que es capaz de amortiguar el citosol y el periplasma, lo que crea un microambiente fácil para colonizar la mucosa gástrica.^{7,15,27,28,71}

La reacción catalizada por la ureasa es la siguiente.



Donde se lleva a cabo la hidrólisis de la urea por esta enzima generando amoníaco que es capaz de amortiguar el citosol y el periplasma creando una capa neutra (aumenta el pH de 6 a 7) alrededor de la superficie de la bacteria, protegiéndola del ambiente ácido del estómago. El papel fundamental de la ureasa como factor de virulencia se demuestra por el hecho de que los *H. pylori* mutantes que no sintetizan ureasa no pueden colonizar el estómago. También se sabe que la ureasa puede ser causante de daño directo a las células de la mucosa a través de la producción del amonio, un agente tóxico conocido.^{7.27}

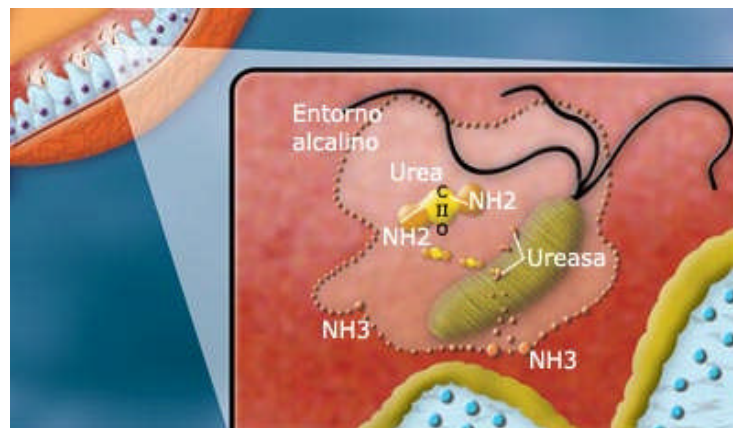


Imagen 10. Gracias a la acción de la ureasa, *H. pylori* degrada la urea a amoníaco y agua, mecanismo que le permite mantener un medio alcalino a su alrededor y evitar la acción bactericida del ácido clorhídrico.

El amoníaco puede producir directamente daño celular, también se ha reportado que aumenta la retro-difusión de los iones H⁺, e inactiva al complemento.

En el intestino, el amoníaco presenta diversos efectos tóxicos, como alteraciones en la síntesis de DNA, incremento del riesgo de infecciones virales y carcinogenesis.⁷¹

La generación de amoníaco por estos mecanismos constituye la base fundamental de una de las pruebas clásicas para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* pudiéndose medir esta molécula en el aire espirado.

1.7.5 Lipopolisacárido y Antígenos de Lewis

El lipopolisacárido (LPS) de *Helicobacter pylori* también ha sido implicado en la interacción entre la bacteria y su huésped.^{14,28,29}

El LPS está compuesto por tres partes: el lípido A hidrofóbico, el cual se encuentra embebido en la membrana interna del microorganismo; la región antigénica “O” polisacarídica e hidrofílica que posee los carbohidratos de Lewis “x” o Lewis “y” o ambos y se encuentra expuesto al medio extracelular; y el núcleo polisacarídico que representa la región central del LPS y se encuentra entre el antígeno O y el lípido A.^{58,71}

El lípido A es el componente responsable de las propiedades inmunológicas y endotóxicas del LPS.²⁸ El LPS de *Helicobacter pylori* presenta una baja toxicidad comparada con el que posee *Salmonella* o *Escherichia coli*. Esta baja actividad biológica podría contribuir a la prolongación de la infección y a la inflamación crónica del mucus.⁷¹

La estructura antigénica del LPS es similar a la de los antígenos de los grupos sanguíneos Lewis “x” y Lewis “y” del huésped, lo que puede explicar la presencia de autoanticuerpos inducidos por *H. pylori*, que contribuirían al desarrollo de gastritis atrófica. Además, se ha observado que la bomba H+/K+ tiene epítomos Lewis “y”, que podría ser un objetivo del sistema inmune en casos de gastritis crónica.^{14,28}

Estos antígenos de Lewis son glicoconjugados con diferente número de residuos de fucosa, los cuales pueden ser de 4 tipos Le_a , Le_b , Le_x y Le_y los cuales participan en la patogénesis ayudando al microorganismo a evadir la respuesta inmune durante la colonización en el estómago, favoreciendo a la bacteria su permanencia en el nicho gástrico, y por otro lado induce una respuesta autoinmune contra los antígenos de Lewis que expresa *H. pylori* y que son compartidos por las células eucariotas contribuyendo a un daño directo o indirecto.^{28,58}

También se ha constatado que los antígenos de *H. pylori* similares a los de Lewis se expresan más frecuentemente en cepas *cagA*+ comparadas con cepas *cagA*-, lo que estimularía una respuesta autoinmune más intensa en las bacterias portadoras de gen *cagA*.

1.7.6 Citotoxina vacuolizante (Vac A)

Las cepas de *Helicobacter pylori* presentan gran variabilidad genética, por lo que pueden llegar a generar respuestas diferentes que influyen en un resultado clínico. Un gen que presenta variabilidad es *vacA*, que codifica para la citotoxina vacuolizante.⁵⁸

La citotoxina vacuolizante (Vac A) se encuentra expresada en aproximadamente el 50% y 65% de las cepas de *Helicobacter pylori* de aislamientos clínicos, es un factor de virulencia importante en la producción de la enfermedad, ya que induce la vacuolización citoplásmica en los cultivos celulares y muerte de las células epiteliales.^{28,29,58,71}

Esta citotoxina vacuolizante esta codificada por el gen *vacA* que tiene aproximadamente 3.864 a 3.933 pbs y presenta 5 marcos de lectura abierta, de los cuales solo uno es funcional para codificar la citotoxina vacuolizante.

El gen *vac A* presenta dos regiones variables: a) una de ellas es una región localizada en el extremo 5' del gen, que codifica para el péptido señal de la

citotoxina, esta región puede ser caracterizada en cuatro subtipos **s1a**, **s1b**, **s1c** y **s2**; b) la otra región es la parte media del gen. La cual ha sido caracterizada en dos familias m1 y m2⁴⁴, la combinación de alelos de ambas regiones permite múltiples combinaciones alélicas (s1a-m1, s1a-m2, s1b-m1, s1b-m2, s1c-m1, s2-m1, s2-m2) que se asocian a diferencias en la producción de la citotoxina.^{28,59,71}

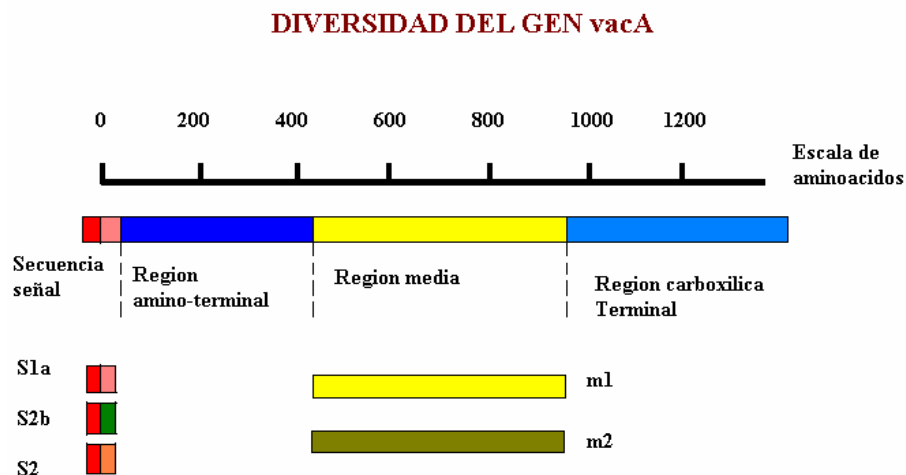


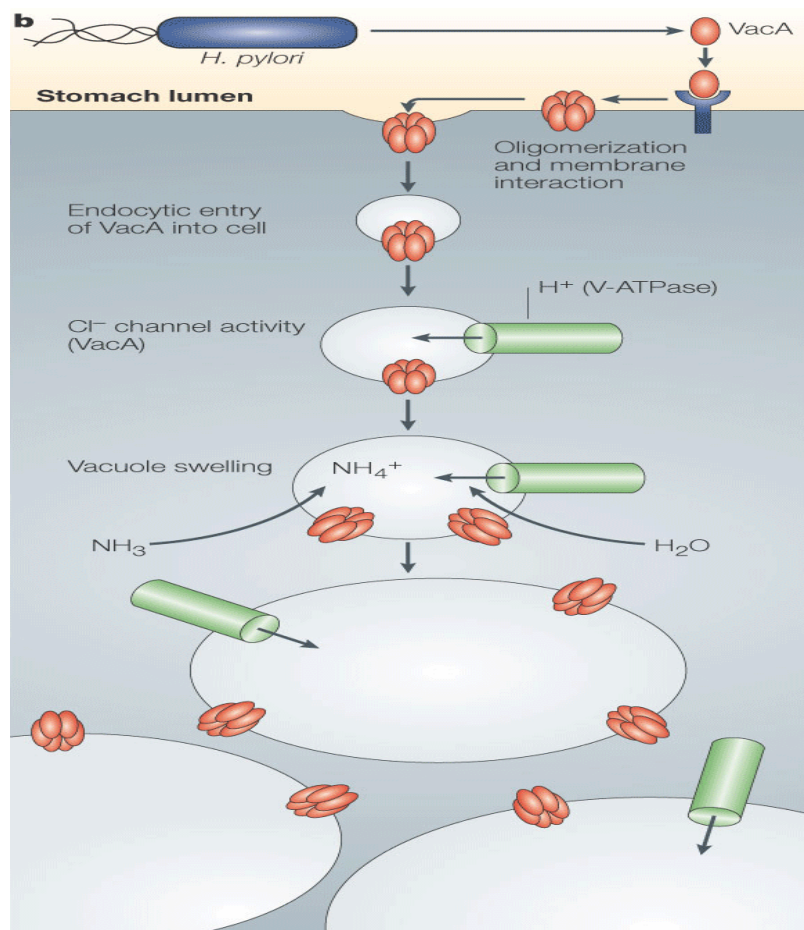
Imagen 11. Regiones variables del gen *vac A*

El genotipo VacAs1 es el que está asociado con el desarrollo de la enfermedad, porque posee mayor virulencia.

Se conoce sólo parcialmente el mecanismo por el cual VacA induce vacuolización.

- 1) En estudios realizados *in vitro* han demostrado que VacA se une a la célula por interacción con receptores específicos, y que esta unión depende de la concentración de la citotoxina así como de la saturación de los receptores en la superficie celular. La proteína forma una estructura hexamérica, la cual se ensambla favorecida por el pH ácido se inserta en la membrana (endocitosis), formando un canal selectivo de aniones a través de la bicapa lipídica celular favoreciendo el transporte de la urea

al citosol de la célula, que a su vez, actúa como un sustrato para la generación de amoníaco por la enzima ureasa de *H. pylori*. La conducción de cloruros por estos canales causa un aumento en la concentración intralumenal. Posteriormente para compensar este aumento en la concentración de aniones aumenta la actividad de la ATPasa vacuolar, causando un aumento en el bombeo de protones y una reducción en el pH intralumenal. Generando que bases débiles como el amoniaco penetren en los compartimentos endocíticos se protonen y forme partes de estos compartimentos. La hinchazón osmótica de estos compartimentos causando la vacuolización.⁷¹



Nature Reviews | Microbiology

Imagen 12. Esquema del modelo de vacuolización generado por *VacA*

- 2) Un segundo mecanismo de acción que involucra a VacA durante la formación de vacuolas es el aumento de la permeabilidad *in vitro* de células polarizadas. Esto conduce a un aumento del paso de moléculas de bajo peso molecular, que parece aumentar el flujo de nutrientes desde el interior de la célula a la sub-mucosa, favoreciendo la sobrevivencia de *Helicobacter pylori*.

- 3) Por otro lado, VacA se une a los receptores de un determinado tipo de proteína tirosina fosfatasa, Ptpz, y activa Git1 por un mecanismo aún no identificado. Git1 integra múltiples señales intracelulares que regulan el transporte de membrana, estructura de organelos, produce cambios en la actina del citoesqueleto y la adhesión celular. **b)** La intervención de Ptpz por VacA conduce al desprendimiento de la membrana basal subyacente a las células epiteliales, con lo que la lámina propia se torna vulnerable a los efectos perjudiciales del ácido en el estómago. **c)** La exposición prolongada y desprovista de inflamación mucosa gástrica de ácido en última instancia conduce a la úlcera péptica.

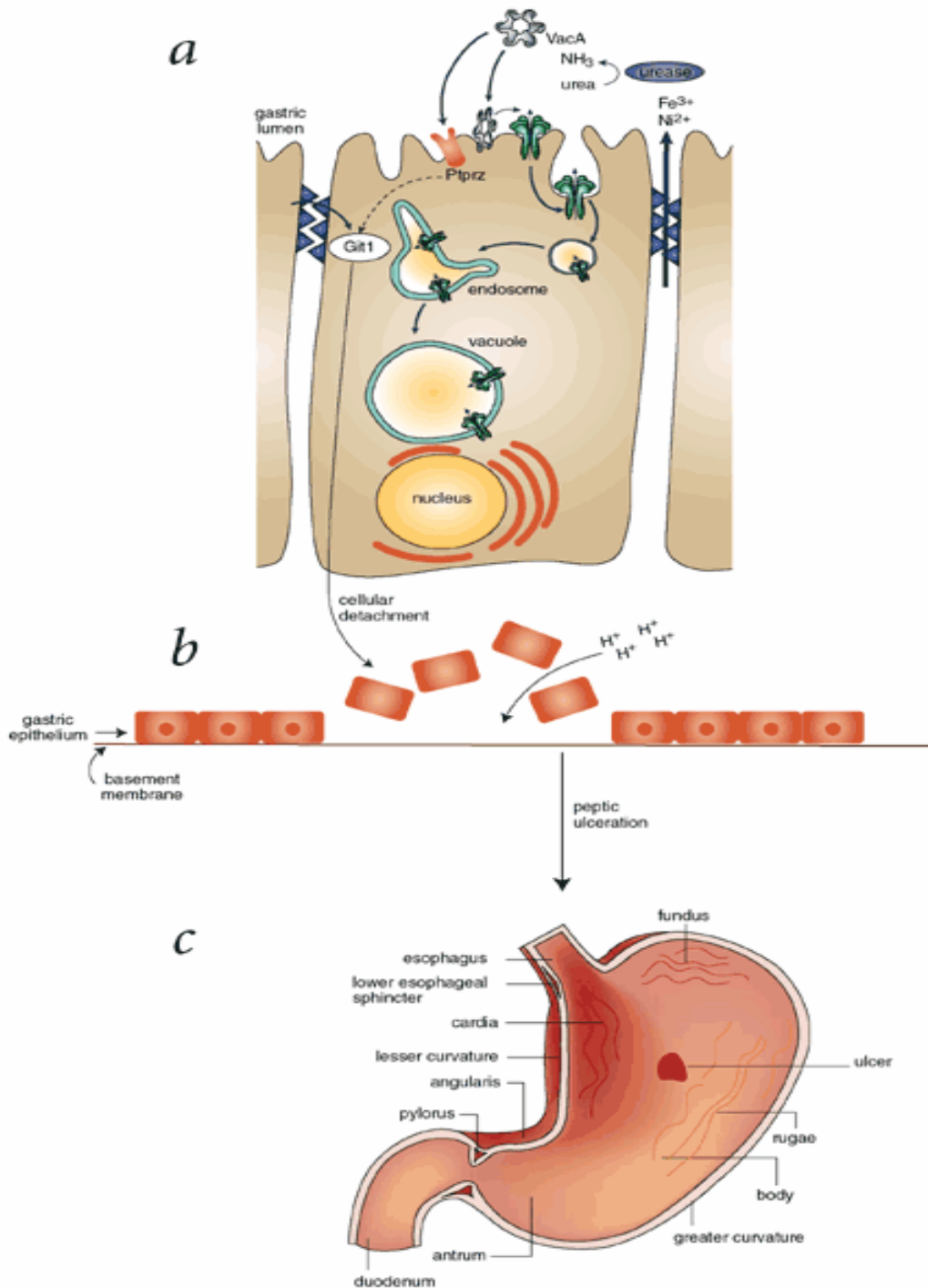


Imagen 13. Alteraciones celulares inducidos por la toxina VacA del *Helicobacter pylori* que conducen a la formación de úlcera

1.7.7 Gen A asociado a citotoxina (Cag A)

Todas las cepas productoras de vac A tienen un gen denominado *cag A*, que codifica una proteína de igual nombre cuya función se desconoce,²⁸ pero se relaciona con la producción de citotoxina vacuolizante, capaz de estimular la producción de interleucina 8 (IL-8) y generar una respuesta humoral específica^{2,3}.

El gen asociado a la citotoxina A (*cagA*) codifica para una proteína de alto peso molecular (120-140 kDa) muy inmunorreactiva presente en aproximadamente el 60% de las cepas de *Helicobacter pylori*.^{14,28,58,59,71}

La proteína CagA ingresa al interior de las células humanas donde interrumpe el funcionamiento normal del citoesqueleto.

El gen *cagA* forma parte de una entidad genómica grande denominada isla de patogenicidad (*cag*-PAI) de un tamaño aproximadamente de 40 kDa,^{7,28,58,59,71} cinco de estos genes: HP0524 (*virD4*), HP0525 (*virB11*), HP0527 (*virB10*), HP0528 (*virB9*) y HP0544 (*virB4* / *cag E*) constituyen el principal aparato del sistema de secreción tipo IV de *H. pylori*. Todos estos genes excepto HP0524 están asociados con la producción IL8.^{2,28}

Después de fijarse a las células epiteliales del estómago, la proteína CagA es inyectada dentro de la célula por este sistema de secreción. La proteína CagA es fosforilada en un residuo específico de tirosina por proteínas de membrana de la célula huésped. Se ha visto que cepas patogénicas de *H. pylori* activan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR en inglés), una proteína de membrana con tirosina quinasa. La activación del EGFR por *H. pylori* está asociado con alteraciones en las señales de transducción y de expresión génica en las células huéspedes y este hecho puede contribuir a su patogenicidad. También se ha sugerido que la región C-terminal de la proteína CagA (aminoácidos 873-1002) podría regular la

transcripción genética de la célula huésped, independientemente de la fosforilación.⁵

La infección con cepas CagA induce una mayor respuesta inmunitaria y una gastritis más intensa. Varios estudios han mostrado que la infección con cepas *cagA*+ se asocia con mayor frecuencia a la úlcera péptica, la atrofia gástrica y el cáncer gástrico, ya que se adhieren a las células del epitelio gástrico, donde inducen la secreción de un mediador inflamatorio como la interleucina-8 (Il-8), a través de la activación del factor nuclear kappa beta (NF-kB),² que la infección con cepas *cagA*-.^{3,27,28,58,71}

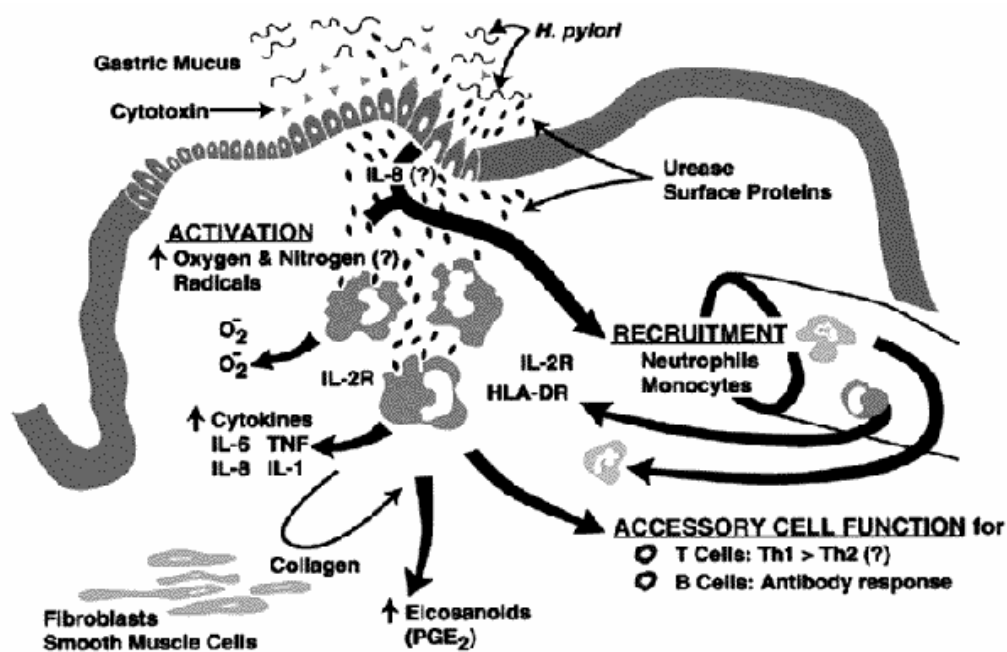


Imagen 14. Diagrama que muestra la respuesta inmune del hospedador frente a una infección por *H. pylori*. Los macrófagos juegan un papel central orquestando las etapas iniciales de la respuesta inmune. La liberación de IL-8 por las células epiteliales y posteriormente por los macrófagos, en conjunto con IL-1 β , IL-6 y TNF- α , actúan como principales agentes proinflamatorios que median la liberación de radicales libres, la activación de fibrogénesis, el aumento de prostaglandinas, el reclutamiento de más células y la función accesoria al presentar antígenos a los linfocitos T.

El gen *cagA*, además de ser parte de *cag*-PAI puede ser considerado como un marcador de esta estructura genética y su presencia está asociada con las cepas de mayor virulencia. La *cag*-PAI contiene otros genes que codifican para proteínas que aumentan la interacción de la bacteria con las células del hospedador, por ejemplo, por inducción de citocinas.

Hay evidencias que la capacidad de producir interleucina-8 (IL-8) por parte de las células epiteliales, no se ve afectada al emplear cepas mutantes con el gen *cagA* lesionado (es decir, cepas carentes de este gen). Por el contrario, la delección de otros genes de *cag*-PAI sí que llega a suprimirla.⁷¹

La capacidad de las cepas de *H. pylori* de inducir IL-8 se correlaciona con la presencia de *cag*-PAI². Aunque la presencia del *cag*-PAI prevalece en pacientes dispépticos o con úlcera duodenal, no hay diferencias significativas entre ambas patologías en cuanto a su presencia.

1.6 PATOGENESIS.

Helicobacter pylori ha desarrollado diversas capacidades para colonizar con éxito la mucosa. El primer paso en la infección es la colonización, proceso que dura una semana. Para esto, *Helicobacter pylori* resiste el ambiente ácido local, atraviesa la capa mucosa, se adhiere a los receptores de las células epiteliales¹⁴ y se adapta a la hostilidad del medio.¹⁵ Lo anterior se explicaría por la gran movilidad que da la forma helicoidal y la presencia de flagelos, lo que permite que la bacteria escape de la acción del jugo gástrico, se sitúe bajo la cubierta mucosa, donde la presencia de varias proteínas específicas facilitan su adaptación, como las proteasas que desdoblan inmunoglobulinas del huésped, mucinasa, que le permite desplazarse en la capa mucosa, y adhesinas, que favorecen su unión con receptores de las uniones estrechas entre células epiteliales.^{7,15,29} No obstante, la acción de la enzima ureasa es la que le confiere la mayor capacidad de residir en el estómago, lo que permite que la bacteria cree un microambiente que la

protege del ácido circundante; así queda unida a la mucosa sin penetrar en la submucosa. Además, por la irritación e inflamación que causa el amonio al retrodifundirse a capas más profundas, promueve una persistente reacción inflamatoria local. Una vez dada la colonización, *Helicobacter pylori* evita la reacción inmune local del huésped, debido a la presencia de la IgA secretora; esto se suma al hecho de que el lipopolisacárido de su membrana, a diferencia de la gran mayoría de los gram negativos, tiene bajo poder inmunogénico y escasa actividad biológica, lo que no permite que el huésped genere una respuesta defensiva que consiga la eliminación de la bacteria. Además, se sabe que 60% de las cepas tienen la capacidad de producir toxinas, específicamente la toxina vacuolizante VacA y la citotoxina CagA, componentes diferenciales de virulencia, que producen toxicidad directa en las células epiteliales del huésped.⁷ La adherencia de la mucosa antral por *Helicobacter pylori* genera una reacción inflamatoria aguda con el consiguiente daño en las células epiteliales. Ciertos productos quimiotácticos se liberan desde la bacteria mientras las células epiteliales producen interleucina-8 y se genera una activación local de polimorfonucleares.⁵⁸ Esta respuesta se ve potenciada por otros factores, como las citocinas pro-inflamatorias, IL-1 y TNF alfa, con la posterior producción de enzimas proteolíticas y radicales libres de oxígeno por parte de los neutrófilos.⁷ La reacción inflamatoria daña, evidentemente, el epitelio y las células adoptan una forma cuboidea, con pérdida de la continuidad de las uniones estrechas intercelulares, y se conforman los cambios típicos de una gastritis aguda antral.⁸¹ Este proceso dura dos semanas. En la medida que la respuesta inflamatoria aguda se va atenuando, comienzan a llegar los linfocitos y monocitos, y se inicia en esta forma una reacción inflamatoria crónica, puesto que la respuesta humoral por medio de la formación de anticuerpos es incapaz de eliminar la bacteria.^{15,29} Esto explica que no haya erradicación espontánea de *Helicobacter pylori*.

1.9 MANIFESTACIONES CLINICAS ASOCIADAS A *HELICOBACTER PYLORI*.

La bacteria está asociada a enfermedades gastroduodenales, como: úlcera gástrica (en un 60-70%), úlcera duodenal (en un 95%),^{1,45} gastritis crónica superficial, gastritis crónica atrófica, cáncer gástrico⁴⁵ y linfoma MALT.^{1,2,6,8,12,14,15,16,19,21,22,29}

a) Úlcera gástrica a duodenal (Úlcera Péptica)^{33,41,56}

La úlcera péptica es una enfermedad frecuente en los países desarrollados, de forma que del 5% al 10% de sus habitantes la presentan en algún momento de su vida. No obstante, si se considera únicamente a los pacientes positivos para *H. pylori*, esta cifra aumenta hasta el 20%.⁸⁴ Una úlcera péptica es una llaga en el revestimiento del estómago o el duodeno, que es el principio del intestino delgado. *H. pylori* debilita el revestimiento mucoso que protege el estómago y el duodeno, lo cual permite que el ácido producido por el PLG (Péptido liberador de Gastrina) y la pepsina afecten la superficie sensible que se halla por debajo de dicho revestimiento. Por efecto del ácido como de las bacterias, la superficie delicada se irrita y se forma una llaga o úlcera.^{15,16,83}



Imagen 15. Imagen endoscópica de una úlcera duodenal

Las zonas donde más frecuentemente se produce una úlcera péptica son las siguientes:

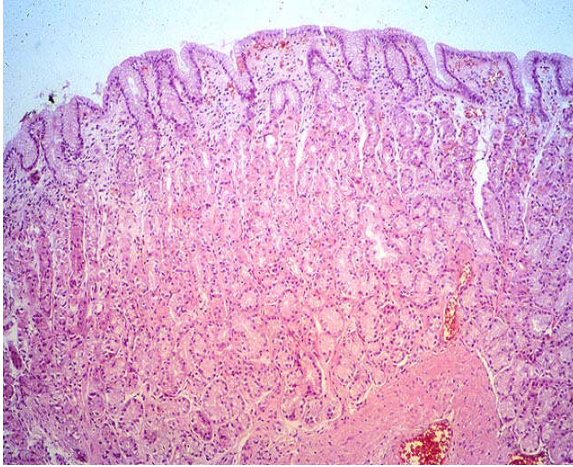
1. Duodeno:	Cara anterior de la primera porción Cara posterior de la primera porción Segunda porción
2. Estómago:	Curvatura menor del antro Otras zonas con gastritis crónica atrófica
3. Esófago:	Tercio inferior, en zonas de metaplasia gástrica.

El síntoma más sugestivo de úlcera péptica es el dolor epigástrico, que los pacientes refieren como de tipo ardoroso; se presenta en los periodos interprandiales, aproximadamente una a tres horas antes de la ingestión de alimento; mejora al comer o consumir antiácidos. Puede despertar al paciente en las primeras horas de la madrugada, dura días o semanas y alterna con periodos asintomáticos.

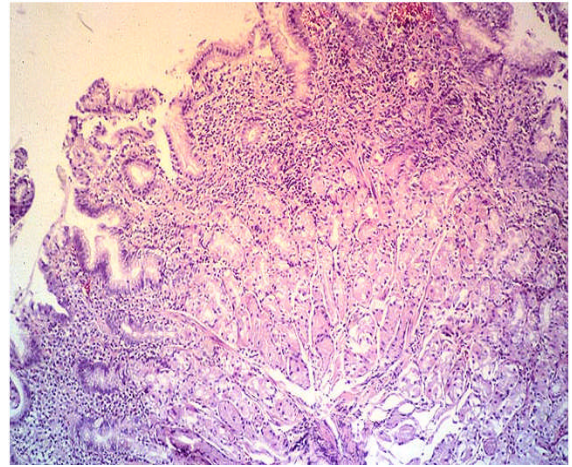
b) Gastritis crónica superficial^{24,33,56}

Se caracteriza por alteraciones degenerativas en las células del istmo, infiltración de linfocitos y plasmocitos preponderadamente en la porción superficial de la lámina propia, entre las foveolas gástricas; la infiltración incluye variable cantidad de neutrofilos.^{12,15}

Esta lesión puede ser no detectable endoscópicamente pero se logra observar que la mucosa gástrica está enrojecida presentándose en diversas formas de imágenes rojizas en flama, hemorragias subepiteliales puede ser que sólo una parte del estómago esté afectada o toda la esfera gástrica.



a)



b)

Imagen 16. Cortes histológicos a bajo aumento de mucosa gástrica a) Mucosa gástrica normal; b) Gastritis crónica superficial. La lámina propia en la porción interfoveolar está ensanchada por un denso infiltrado inflamatorio. No se observa infiltración inflamatoria entre las glándulas.

c) Gastritis crónica atrófica

Se presenta una mucosa gástrica adelgazada, con disminución de glándulas y simplificación de las glándulas remanentes; infiltración linfocitaria y plasmocitaria en todo el espesor de la lámina propia, acompañada de neutrófilos ; en la mucosa fúndica puede producirse un reemplazo de las glándulas características por glándulas de tipo pilórico (metaplasia pilórica); tanto en la mucosa fúndica como en la pilórica puede haber también una metaplasia intestinal: el epitelio de las foveolas y de las glándulas está reemplazado principalmente por células caliciformes y células cilíndricas similares a las células de función absortiva del intestino (enterocitos).

Como consecuencia de la gastritis crónica se produce una excesiva secreción de ácido clorhídrico como mecanismo de defensa por parte del organismo ante la presencia de la bacteria, que ocasiona la ruptura en el tejido normal que recubre el estomago, es decir, una perdida focal del tejido que compromete al menos todo el espesor de la mucosa y parte de la submucosa,

pudiendo extenderse a todo espesor del órgano, denominándose úlcera gástrica.^{56,81}

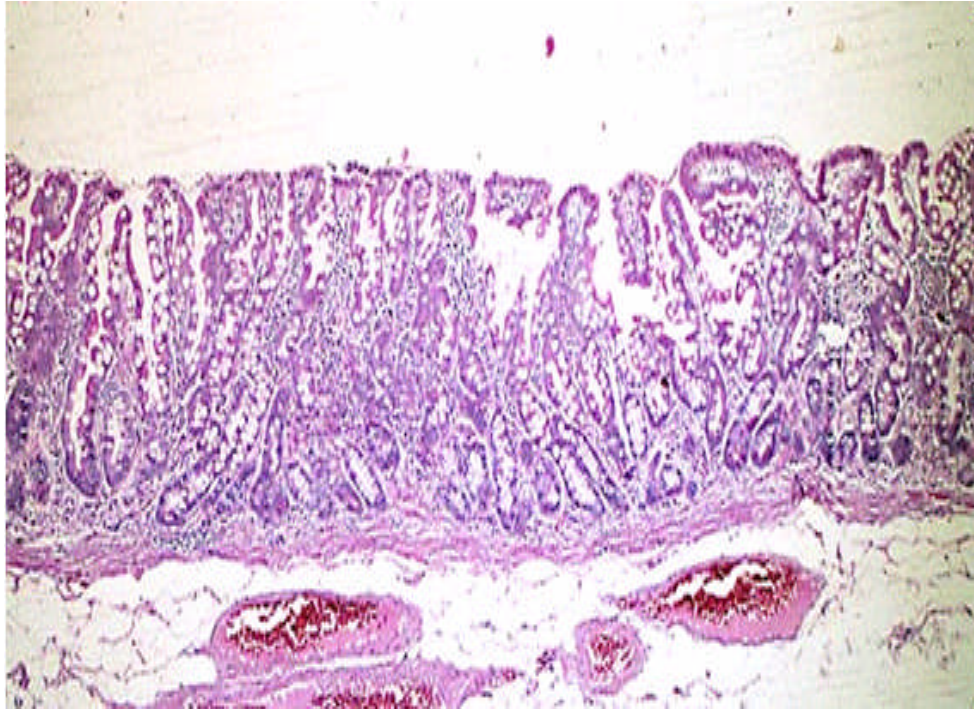


Imagen 17. Corte histológico a bajo aumento de mucosa gástrica adelgazada, con su arquitectura simplificada, sin división clara entre la porción foveolar y la porción glandular. Muy escasas glándulas. Lámina propia difusamente ensanchada, con infiltración inflamatoria.

d) Cáncer gástrico.

Diversos estudios han demostrado una asociación entre la infección por *H. pylori* y cáncer gástrico.⁴⁵ La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer de la OMS (International Agency for Research on Cancer IARC), ha reconocido una relación causa-efecto entre la infección por *Helicobacter pylori* y el cáncer de estómago^{2,21,22,26,30,33,54}, de tal magnitud que la presencia de dicha infección aumenta aproximadamente 4 veces el riesgo de padecer cáncer.²⁸

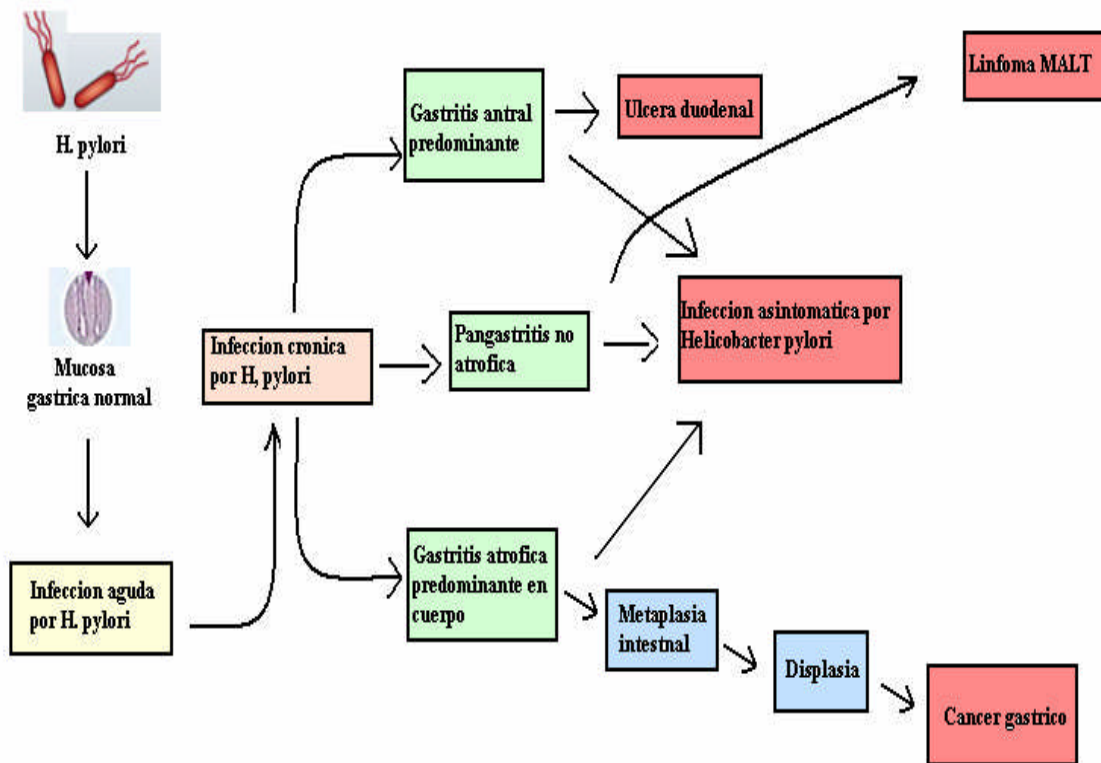
El cáncer gástrico es una de las enfermedades malignas más comunes en el mundo, aunque la incidencia y la tasa de mortalidad han disminuido en los últimos decenios.^{17,26,30}

El cáncer más frecuentemente asociado a esta infección es el adenocarcinoma tipo intestinal, aunque también existe información de que el adenocarcinoma difuso pudiera tener relación etiológica con esta bacteria.^{7,11,27}

La magnitud del riesgo de cáncer gástrico asociadas a la infección es, sin embargo, poco claro y ha habido sugerencias de que variaba con el sexo, la edad y el subtipo histológico del cáncer. También hay pruebas de que el exceso de riesgo se limita al cáncer que ocurre en lugares distintos de los cardias gástricos.^{25,54}

Solo una minoría de los pacientes infectados desarrolla cáncer gástrico. El papel exacto que juega *Helicobacter pylori* en la carcinogénesis no se ha definido con exactitud.⁵⁴ Se han propuesto varias hipótesis para explicar esta asociación. La más aceptada es la capacidad que tiene el microorganismo para desencadenar gastritis crónica y metaplasia intestinal que serian las lesiones precursoras del adenocarcioma gástrico.²⁷

Por lo tanto la acción está mediada por la inflamación crónica activa de la mucosa gástrica que la bacteria induce.¹⁷ Este fenómeno está influenciado por diversos factores: a) la virulencia de *H. pylori*; b) la predisposición genética y la respuesta inmunológica del hospedador; c) factores ambientales. La interacción entre estos factores determinará dos tipos de gastritis: a) gastritis astral difusa, con hipersecreción ácida y asociada a úlcera duodenal; b) gastritis crónica atrófica multifocal o tipo B, con hipoclorhidria.



El 70-80% de los adenocarcinomas gástricos son atribuidos a la gastritis tipo B. Tanto el adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal, como el tipo difuso se asocian a la infección por *H. pylori*. Se ha logrado esclarecer mejor la patogenia del tipo intestinal, en cambio, el carcinoma difuso no se asocia a una lesión pre-neoplásica. Se ha postulado que los cambios histológicos que conducen al adenocarcinoma gástrico de tipo intestinal se inician a través de una infección por *H. pylori* adquirida principalmente por vía oral, generalmente a una edad temprana de la vida, causando una gastritis aguda superficial. Posteriormente, en la fase crónica los cambios inflamatorios de la mucosa pueden progresar a lo largo de los años, bajo la influencia de ciertas cepas virulentas, expresión aumentada de interleucinas, y determinadas mutaciones a una gastritis atrófica, metaplasia intestinal, displasia y eventualmente a un adenocarcinoma.^{17,54}

El riesgo de neoplasia tiene una relación exponencial con la extensión de la gastritis atrófica y la metaplasia intestinal. Dado que la metaplasia intestinal se encuentra también en la úlcera péptica, se considera que esta condición histológica sería sólo un indicador de riesgo para neoplasia. Por ello, algunos autores definieron un fenotipo de gastritis de riesgo para carcinoma, que se caracteriza por una gastritis con actividad moderada a severa de predominio corporal y por atrofia y metaplasia intestinal global del estómago.

1.10 METODOS DE DIAGNÓSTICO.

Existen diversos métodos para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. Estos podrían agruparse en métodos invasivos y no invasivos. Dentro de los primeros a su vez se cuenta a aquellos que se pueden denominar directos, tales como la observación directa (Endoscopia) y cultivo y aquellos indirectos, como el test de la ureasa.³ Los métodos no invasivos comprenderían el test del aliento y las pruebas serológicas.²⁷

a) Métodos Invasivos

Métodos directos.

❖ *Histología*: permite la observación del microorganismo espiral y el estudio anatómo-patológico de la muestra gástrica (antro y cuerpo).¹⁵

Se utilizan varios tipos de tinciones para visualizar mejor al organismo como:

a) Gram: Precisa una muestra de biopsia fresca y no aporta información histológica de la muestra.^{3,27,58}

b) Giemsa: es la que mejor resultados nos da, ya que permite una identificación rápida del microorganismo.

- c) hematoxilina-eosina: permite realizar el estudio histológico y valorar la infección por *H. pylori*, además de ser barata y se realiza muy rápido.
- d) Otras técnicas: Como es la inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales contra *H. pylori* para su detección.

Cultivo a partir de biopsia gastrica.

Es un método de diagnóstico con alta sensibilidad y especificidad (100%), imprescindible en la investigación y el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos de las diferentes cepas.^{3,15,22,27}

El aislamiento de *H. pylori* en un medio de cultivo se sitúa como el patrón de referencia en el diagnóstico. La muestra debe transportarse en el medio adecuado y en el menor tiempo posible, dado la sensibilidad del Hp a la desecación y las condiciones ambientales. No es una técnica de rutina ya que sólo está indicada cuando hay resistencia del microorganismo al tratamiento. El cultivo para *H. pylori* puede realizarse en medios no selectivos enriquecidos con agar nutriente (sangre y otros elementos) y medios selectivos con 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) y suplementos antibióticos (el medio de Skirrow es el más utilizado)^{12,18,58}.

Test rápido de la ureasa

Es una prueba rápida, no es costosa y permite obtener el diagnóstico en un corto tiempo. *Helicobacter pylori* hidroliza la urea por la producción de la ureasa, produciendo iones amonio, por lo que aumenta el pH de la solución produciendo un viraje de color del indicador. En la actualidad existen varias pruebas basadas en la ureasa, siendo las más utilizadas el CLO-Test, el caldo de urea de Christensen



y las soluciones de urea con concentraciones variables son de gran sensibilidad y especificidad.^{3,15,22,27,37,58}

Pruebas moleculares.

La prueba de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), presenta sensibilidad y especificidad muy elevadas, cercanas al 100%.⁵⁸ Esta prueba por lo general se realiza en estudios de investigación, ya que requiere de equipo sofisticado y personal capacitado, el método se basa en detectar genes específicos de la bacteria con base a iniciadores.^{15,22,35}

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction, PCR*) implica un conjunto de tratamientos desarrollados *in vitro* sobre una región de DNA para su amplificación selectiva, lo que permite producir un enorme número de copias de una secuencia de DNA específica.

El proceso requiere el conocimiento de la secuencias de dos regiones cortas que flanqueen a la que se pretende amplificar; estas regiones cortas son utilizadas como cebadores o *primers* en la reacción de elongación catalizada por la polimerasa, para lo cual es necesario previamente conseguir su asociación al DNA molde desnaturalizado.

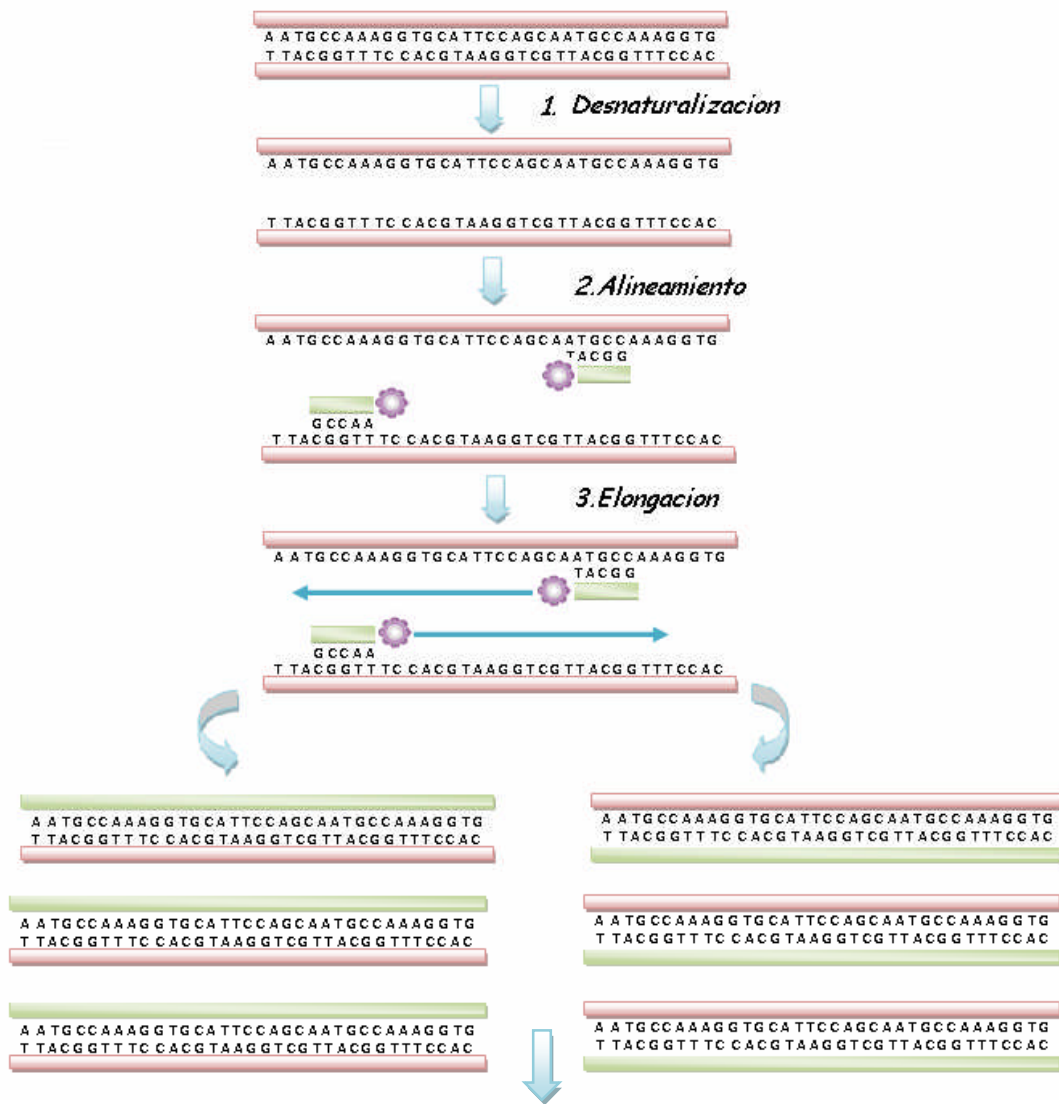
La reacción de amplificación consiste en la repetición de un ciclo integrado por tres etapas:

1. ***Desnaturalización del DNA molde:*** Para duplicarse, el DNA se separa en su dos cadenas complementarias mediante la elevación de la temperatura (94° - 96°C), así cada una de ellas sirve de molde o plantilla permitiendo la subsiguiente unión de los fragmentos cebadores.

2. **Alineamiento:** A continuación se producirá la hibridación del primer, es decir, el *primer* se unirá a su secuencia complementaria en el DNA molde. Para ello es necesario bajar la temperatura a 50-65°C durante 20-40 segundos (según el caso), permitiendo así el alineamiento. Los puentes de hidrógeno estables entre las cadenas de DNA (unión DNA-DNA) sólo se forman cuando la secuencia del primer es muy similar a la secuencia del ADN molde. La polimerasa une el híbrido de la cadena molde y el *primer*, comenzándose a sintetizar DNA. Los *primers* actuarán como límites de la región de la molécula que va a ser amplificada.

Cada *primer* es un oligonucleótido monocatenario de secuencia idéntica a una corta región de cada una de las dos hebras, localizadas en las posiciones extremas de la región que se quiere amplificar.

3. **Elongación:** Actúa la DNA polimerasa, tomando el DNA molde para sintetizar la cadena complementaria y partiendo del *primer* como soporte inicial necesario para la síntesis de nuevo DNA. La polimerasa sintetiza una nueva hebra de DNA complementaria a la hebra molde añadiendo los dNTP's complementarios en dirección 3'→ 5', uniendo el grupo 5'- fosfato de los dNTPs con el grupo 3'- hidroxilo del final de la hebra de DNA creciente (la cual se extiende). La temperatura para este paso depende de la DNA polimerasa que usemos. Para la *Taq polimerasa*, la temperatura de máxima actividad está en 75-80°C (comúnmente 72°C). El tiempo de extensión depende tanto de la DNA polimerasa usada como de la longitud del fragmento de DNA que se va a amplificar. Hay una regla básica: en su temperatura óptima, la polimerasa de DNA polimerizará mil bases en un minuto.



Amplificación exponencial del producto.

Imagen 18: Esquema de la reacción de amplificación mediante PCR.

Para verificar que la PCR ha generado el fragmento de DNA previsto, se emplean técnicas de electroforesis, que separan los fragmentos de DNA generados de acuerdo a su carga, esto es, longitud, y, en menor medida y dependiendo de la matriz empleada, a su tamaño: típicamente se emplean la electroforesis en gel de agarosa, para fragmentos grandes; en acrilamida, para los más pequeños; y, de forma más rápida y aplicable a la PCR asociada a marcaje fluorescente, la electroforesis capilar. El/los tamaño/s de los productos de la PCR vienen determinados por un marcador de peso molecular

de DNA, el cual contiene fragmentos de ADN de tamaño conocido, y que se corre en el gel junto con los productos de PCR.



Imagen 19: Preparación del corrido electroforético

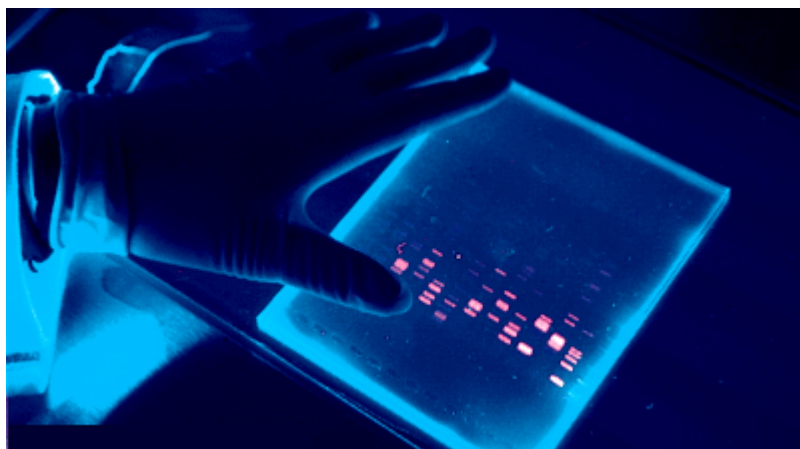


Imagen 20: Electroforesis en gel de agarosa, sobre luz ultravioleta.

Condiciones de la reacción

La reacción de PCR se lleva a cabo en un volumen de 100 μl y en un medio que contiene:

- Un tampón de Tris-HCl que a temperatura ambiente mantiene el pH en un valor de 8 y que a la temperatura de polimerización (72°C) cae hasta 7.
- Sal (KCl) e iones Mg^{2+} ; aunque su concentración óptima es muy baja, el Mg^{2+} es esencial para la reacción, lo que obliga a evitar la presencia de EDTA en las disoluciones de otros componentes.
- Una mezcla de los cuatro dNTPs, a una concentración saturante.
- Los dos oligonucleótidos cebadores, también en exceso.
- El DNA molde.
- La DNA-polimerasa *Taq*.

Una vez incorporados todos los componentes, el recipiente de la reacción debe cerrarse para evitar la evaporación durante los ciclos de calentamiento y enfriamiento.

La reacción de PCR se ha automatizado: existen aparatos (termocicladores) que pueden programarse para que modifiquen de forma cíclica las condiciones de reacción de modo que la muestra pueda atravesar repetidamente las tres etapas del proceso de amplificación.



Imagen 21: Termociclador MJ RESEARCH

Otras técnicas:

- a) Citología con cepillado endoscópico: Es una buena técnica de identificación, aunque agresiva sobre la cobertura epitelial que puede llegar a romperse y exponer al Hp a la acción de jugos gástricos, lo que reduciría su sensibilidad

- b) Técnicas de aspirado gástrico: No requieren estrictamente la realización de una endoscopia, aunque si precisan la introducción de una sonda nasogástrica para obtener la muestra.

Métodos indirectos

1. Prueba del aliento con urea marcada (13C ó 14C): es una prueba fácil de realizar, sin molestias y bien tolerada. Se basa en la capacidad de *H. pylori* y la ureasa que produce para hidrolizar rápidamente una solución de urea marcada previamente, valorando la totalidad de la mucosa gástrica.^{3,58}

Esta prueba detecta la infección activa con pequeñas cantidades del microorganismo.

Consiste en que el paciente ingiera cápsulas, tabletas o una solución marcada previamente con ^{13}C ó ^{14}C , después de 15 a 30 minutos, se colecta el aire espirado en tubos de vidrio o plástico, que se sellan y en un espectrómetro se analiza la presencia del isótopo $^{13}\text{CO}_2$ o $^{14}\text{CO}_2$ en el aliento (figura 19) liberado por la actividad de ureasa del *Helicobacter pylori* intragástricos. Por lo general se utiliza ^{13}C . No se utiliza en niños ni en mujeres embarazadas.^{27,37,58}

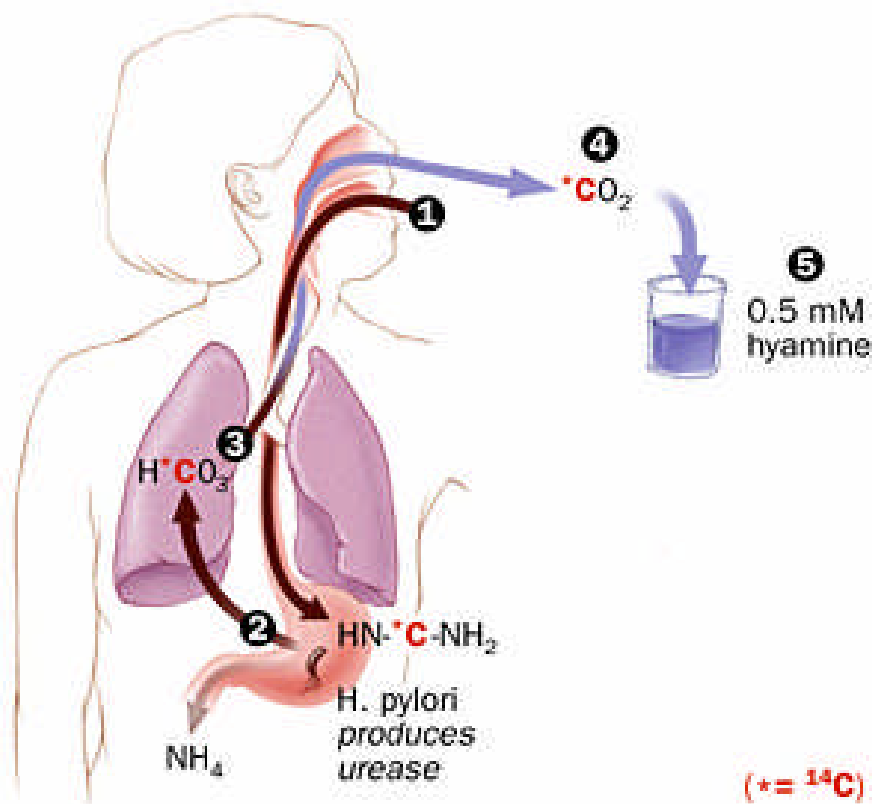


Imagen 18. Prueba de aliento de urea determina la presencia del *Helicobacter pylori*.

2. Serología: La prueba serológica es un método aceptado para la detección de *Helicobacter pylori*. Los niveles medios de la IgG y de IgA en las pruebas de ELISA (ensayo inmunoenzimático ligado a la enzima) son significativamente mayores en los pacientes con *Helicobacter pylori* positivo que en los pacientes de *Helicobacter pylori*-negativo.^{3,27}

Dada la permanencia de anticuerpos en el periodo comprendido entre los 3 y los 6 meses inmediatamente posteriores al tratamiento, las pruebas serológicas indican únicamente infección previa por *Helicobacter pylori* y no discriminan entre otras personas con infección activa y enfermedad de aquellos pacientes infectados pero asintomáticos.³

La sensibilidad de este análisis sérico se encuentra en general en el rango de un 80-95% y la especificidad en el rango de 75-95%.

2. JUSTIFICACION.

Se ha implicado a *Helicobacter pylori* como el principal agente causal en la patogénesis de gastritis crónica, úlcera y neoplasia gástrica en humanos, sin embargo los reservorios extragástricos y las vías de transmisión permanecen en el campo de lo controversial. Esto se debe a que solo se reconocía como su único nicho el estómago humano. Investigaciones más recientes han permitido detectar la bacteria por métodos moleculares en cavidad bucal (sobre todo en la saliva, surco gingival, mucosa yugal y placa dental), lo que sugiere que quizás el ambiente bucal puede constituir un ambiente de transición o permanencia dentro del huésped.

En México se han realizado muy pocos estudios relacionados a la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal, por lo que es necesario hacer un estudio para conocer la frecuencia en las que se localiza la bacteria en saliva y placa dental en diferentes tipos de población mexicana.

3. OBJETIVO GENERAL.

- 📄 Determinar la frecuencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal en población mexicana, por el método de la Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR).

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- 📄 Detectar la presencia de *Helicobacter pylori* en placa dental, saliva y dorso de lengua de pacientes que acuden al servicio dental de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- 📄 Detectar la presencia de *Helicobacter pylori* en placa dental, saliva y dorso de lengua de pacientes con patología gástrica que acuden al servicio de endoscopia del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), Secretaria de Salud.
- 📄 Determinar en cuál de las muestras de estudio de cavidad bucal se determina con mayor frecuencia la presencia de *Helicobacter pylori*.

4. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.

Helicobacter pylori ha sido implicado como el principal agente causal en la patogénesis de gastritis crónica, úlcera y neoplasia gástrica en humanos, sin embargo los reservorios extragástricos y las vías de transmisión permanecen en el campo de lo controversial.

Por ello el estudio pretende conocer la frecuencia de *Helicobacter pylori* en la cavidad bucal (saliva, placa dental y dorso de lengua) y determinar si su presencia se trata de una extensión secundaria o de una colonización previa a la gástrica; así mismo evaluar si existe relación con los principales tipos de enfermedad de las vías digestivas superiores en pacientes con sintomatología gástrica

5. HIPOTESIS.

Dado que *Helicobacter pylori* juega un papel importante en la patogénesis de gastritis crónica, úlcera y neoplasia gástrica en humanos, y su presencia en cavidad bucal (saliva, placa dental y dorso de lengua) puede ser origen de una extensión secundaria o de una colonización previa a la gástrica; además de mencionarse como posible vía de adquisición de la infección; entonces dados dos grupos de sujetos, un grupo de pacientes que acuden al servicio de endoscopia del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, en el cual existe un diagnóstico relacionado a algún tipo de enfermedad gastroduodenal, comparándolo con un grupo de pacientes que acuden al servicio dental de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, la frecuencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal será mayor en pacientes del primer grupo mencionado comparándolo con el último.

6. METODOLOGIA

6.1 Grupo de Estudio

El grupo de estudio fue constituido por 132 pacientes los cuales se dividieron en 2 grupos de 66 pacientes cada uno con/sin síntomas gastrointestinales cada uno provenientes de:

- Grupo I: Pacientes pertenecientes al Servicio de Gastroenterología del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias (INER).
- Grupo II: La Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

6.2 Recolección de muestras

6.2.1 Grupo I: Muestras provenientes del Servicio de Gastroenterología del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias (INER).

- a) La muestra de placa dental, saliva y dorso de lengua de este estudio la constituyeron pacientes que fueron sometidos a endoscopia digestiva por indicación médica (Pan-endoscopia), en el Instituto Nacional de enfermedades respiratoria (INER).
- b) Placa Dental: Las muestras fueron tomadas previamente a la endoscopia, mediante raspado de la superficie dentaria con Curetas de *Gracey* debidamente esterilizadas, extrayendo la placa dental supra e infragingival y colocando en tubos *Eppendorff* con solución salina fisiológica el cual sirvió como medio de transporte.
- c) Saliva: Así mismo se tomaron muestras de saliva proporcionándoles a los pacientes un trozo de cera, el cual estimularía la producción de saliva.

- d) La saliva fue recolectada con jeringa de 10 ml, para posteriormente colocar las muestras en tubos *Eppendorff*.
- e) Dorso de lengua: La toma de muestra se realizo haciendo un raspado de lengua con hisopos previamente estériles y al igual que las muestras anteriores se colocaron el hisopo en tubos *Eppendorff* con solución salina fisiológica.
- f) El material se conservó congelado en el laboratorio a -20°C , para su posterior análisis.

6.2.2 Grupo II: Muestras provenientes de La Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Este grupo lo constituyeron pacientes que asisten a la Facultad de Odontología para realizarse algún tipo de revisión dental.

A los cuales se les solicito su autorización para obtener las muestras de Saliva, Placa dental y Dorso de Lengua por el mismo método utilizado en pacientes provenientes del INER.

Posteriormente, se les otorgó un cuestionario en el cual hacen referencia de sus datos personales, así como la presencia de algunas sintomatologías gástricas.

6.3 Lavado de muestras (En el caso de saliva)

La muestra obtenida se colocó en viales previamente esterilizados y se realizaron lavados con sol. Salina fisiológica (NaCl) 0.13 M y se traspasaron alícuotas de aprox. 400 a 500 μL a tubos *Eppendorf*, para así eliminar la cera que se encuentra en la muestra.

6.4 Liberación de DNA de muestras de Saliva, Placa dental y Raspado de lengua.

1. Inicialmente se realizó la descongelación de las muestra de cada paciente.
2. Para la detección de DNA de *H. pylori* de las muestras de placa dental, saliva y raspado de lengua las muestras fueron agitadas.
3. Posteriormente se realizo la liberación de DNA bacteriano de las muestras de placa dental y saliva, calentando a aprox. 100 °C las muestras por 10 minutos en un Multiblock Heater.

6.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para a identificar a *Helicobacter pylori* en muestras de saliva, placa dental y raspado de lengua se amplió una región específica del ADN de la bacteria, que fue la región de la secuencia señal del gen *vac A* por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa

6.5.1 La amplificación re realizo con un volumen total de 25µL: 10 µL del DNA extraído de cada una de las muestras y 15µL de la mezcla de :

Reactivo	Por tubo (µL)
Agua para PCR	9.0 µL
Buffer 10X	2.5 µL
MgCl ₂	0.7 µL
dNTP`s	0.5 µL
Primer 1 (VAI-F)	1.0 µL
Primer 2 (VAI-R)	1.0 µL
Taq polimerasa	0.3 µL
Templado DNA	10 µL
Volumen final	25 µL

Para la identificación de la secuencia señal del gen *vacA* de *Helicobacter pylori* en cada una de las muestras se utilizaron los siguientes **primers**:

Secuencia amplificada localizada en el gen	Tamaño y ubicación del producto de PCR	Secuencia del oligonucleótido sintético 5'-3'
VAI -F	259 pb	ATGGAAATACAACAAACACACC
VAI -R	286 pb	CTGCTTGAATGCGCCAAACTTA

6.5.2. Para las amplificaciones se utilizó un Termociclador automático (PTC-200), donde se realizaron 35 ciclos para cada una de las muestras con las siguientes condiciones:

- Desnaturalización: 94 °C / 1 min
- Alineación: 52 °C / 1 min.
- Extensión final: 72 °C / 1 min

6.5.3. Análisis y electroforesis.

Para la identificación de *Helicobacter pylori* se utilizó gel de agarosa al 1.2%.

a) Preparación del gel de agarosa.

1. Se vierten en un matraz 100 mL del tampón de electroforesis TBE
2. 0.5 X y 1.2 g de agarosa.
3. Se funde la solución de agarosa en un microondas
4. Se deja enfriar la suspensión hasta que alcance unos 50°C aproximadamente.

5. Se sella con cinta adhesiva el soporte donde se va a verter el gel de agarosa y se coloca el peine que servirá para formar los pocillos del gel.
6. Una vez que la solución de agarosa ha alcanzado los 50°C, se le añaden 5 μL de bromuro de etidio (10 mg/mL) y se mezcla bien.
7. Se vierte la solución de agarosa con bromuro de etidio en el soporte, previamente sellado. Se deja polimerizar durante unos 30 minutos.

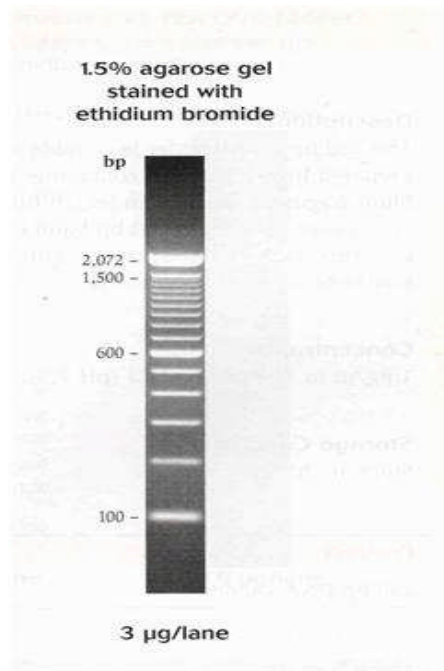
b) Preparación de las muestras de DNA.

Se toman 10 μL del pPCR y se le añaden 5 μL de tampón de carga. (loading buffer)

c) Electroforesis

1. Se quita la cinta adhesiva con la que se ha sellado el soporte del gel y se coloca en la cubeta de electroforesis. Los pocillos deben de estar cerca del cátodo (polo negativo, color negro).
2. Se añade tampón de electroforesis TBE 0.5X, de forma que cubra bien el gel de agarosa.
3. Se aplican 10 μL de la muestra preparada en el apartado anterior en los pocillos.
4. Se aplican 3 μL de marcadores (100 pb) de peso molecular en dos de los pocillos.

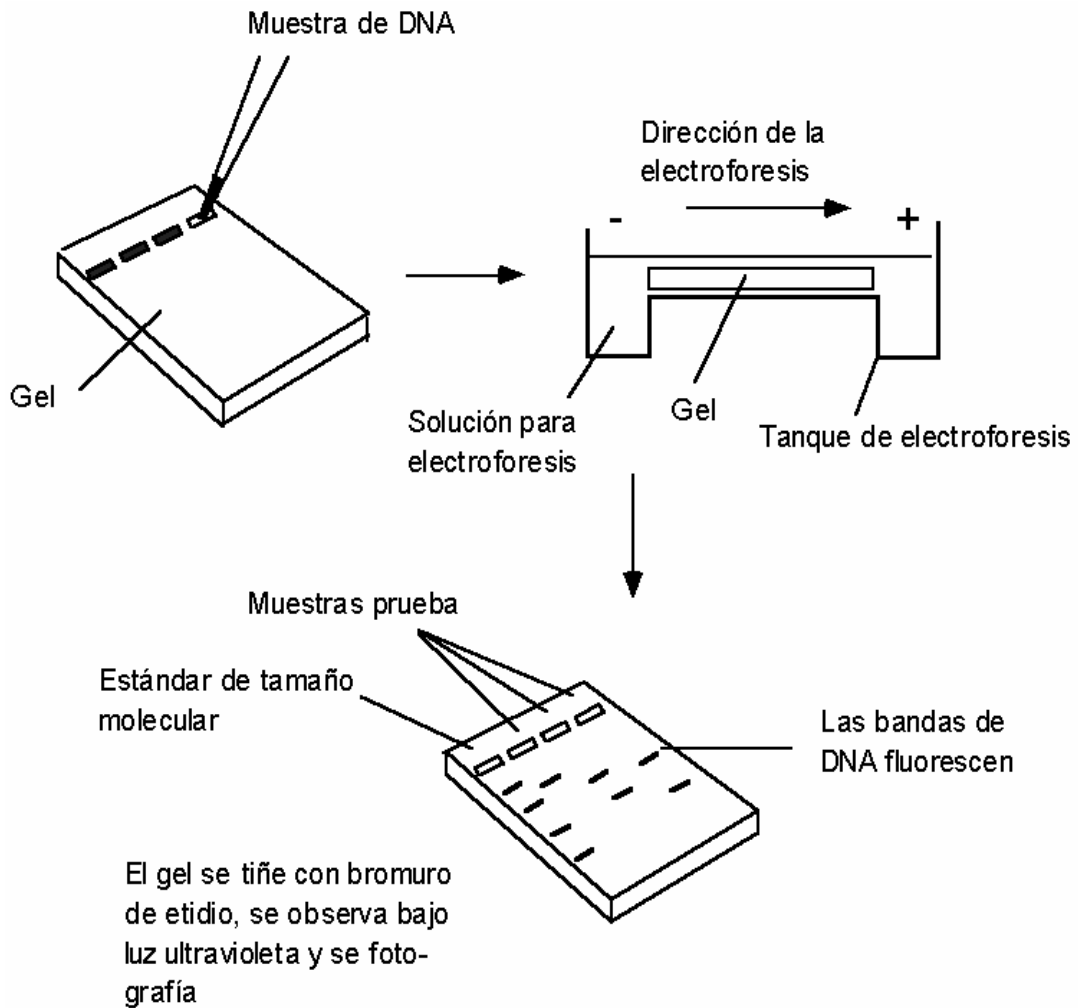




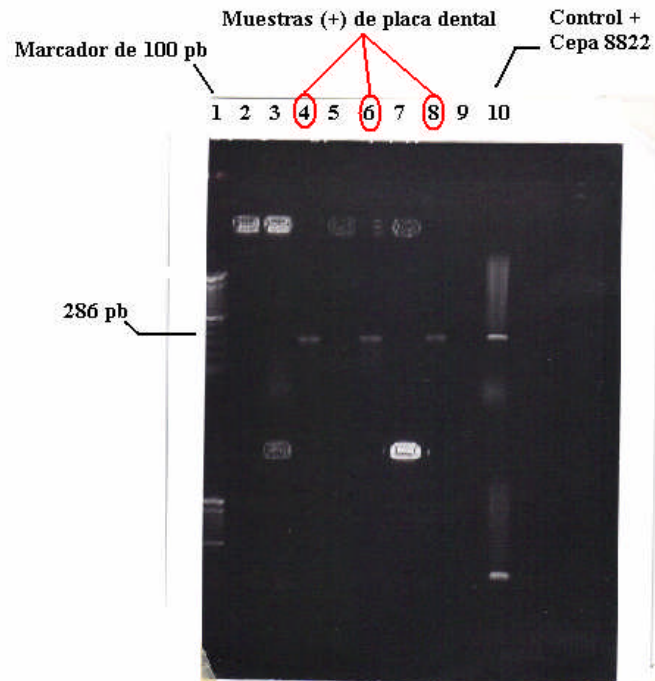
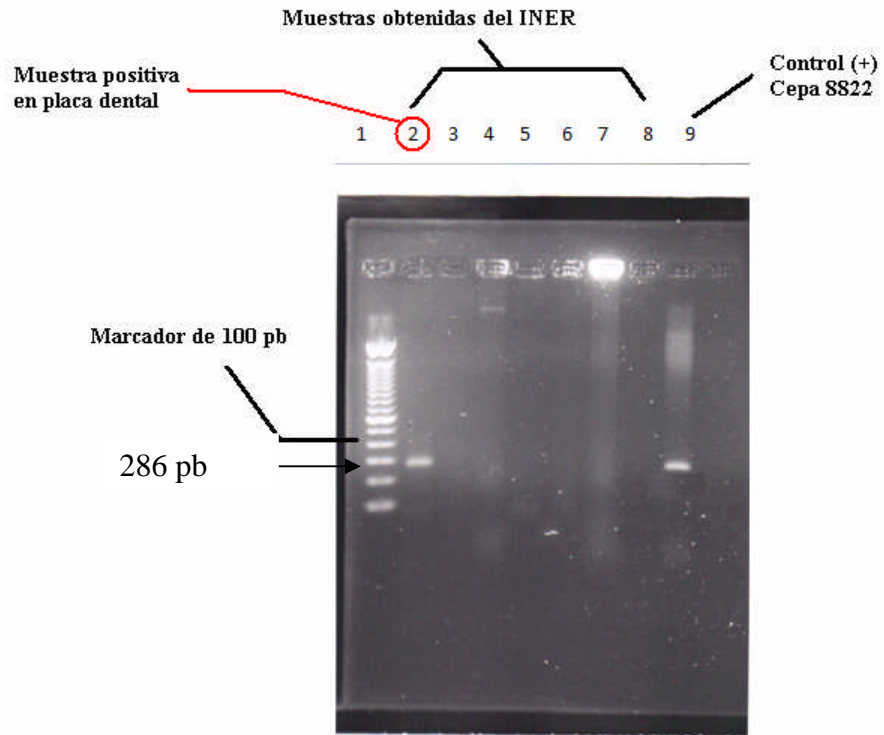
Marcador de 100 *pb*

5. Se tapa la cubeta de electroforesis y se conectan los electrodos a la fuente de alimentación. Se comprueba que está bien conectada.
6. Se programa la fuente a unos 100 voltios y se comienza a correr la electroforesis que durará unos 30-45 minutos.
7. Una vez terminada la electroforesis se visualizan los fragmentos de DNA mediante luz UV (Transiluminador) y se realiza una fotografía de la imagen.

Las muestras fueron consideradas como positivas cuando una banda de 286 pb pudo ser observada en el gel. Como control positivo se utilizo S2 – 286 pb (8822 Obtenida del Departamento de microbiología de la Facultad de Medicina UNAM).



Ejemplo de un gel de muestras obtenidas de placa dental procedentes de pacientes del INER



7. RESULTADOS

7.1 Análisis Estadístico.

Los resultados de ambos grupos se sometieron al análisis estadístico descriptivo, representado con tablas y gráficos.

El análisis descriptivo para cada una de las variables se efectuó a través de medidas de porcentajes y frecuencias.

Las diferencias entre variables categóricas fueron evaluadas por medio de la prueba Chi cuadrada y para variables continuas con la prueba "t" de *Student*, se consideraron significativas si $p > 0.05$.

7.1.1 Grupo I.

Se trabajó con un total de 66 pacientes pertenecientes al Servicio de Gastroenterología del Instituto Nacional de Enfermedades respiratorias (INER), 16 (24.24%) fueron PCR positiva para *Helicobacter pylori* en saliva y 50 (75.75%) fueron PCR negativa; 34 (51.51%) fueron PCR positiva en Placa dental y 32 (48.48%) fueron PCR negativa y finalmente en la muestra obtenida por dorso de lengua mostró un 0% de positividad a *Helicobacter pylori* detectado por PCR (Gráfico 1).

En el gráfico 2 destaca la alta frecuencia de positividad de *Helicobacter pylori* en placa dental en el grupo 1.

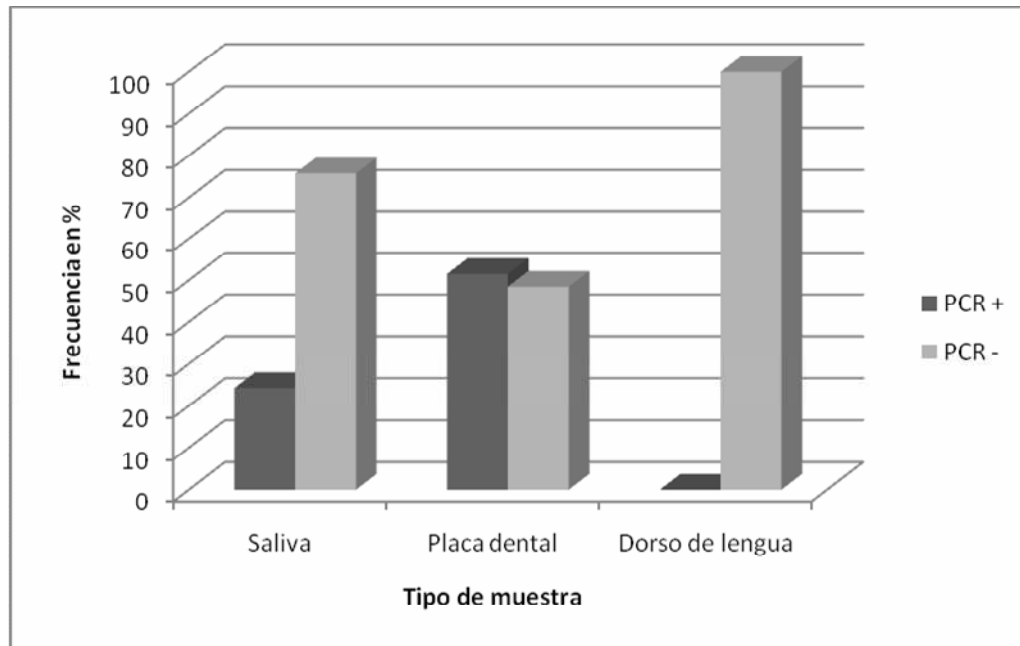


Gráfico 2. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en las diferentes muestras obtenidas de cavidad bucal procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Estos resultados fueron analizados según edad, sexo, diagnóstico clínico y población.

a) Frecuencia y asociación de *H. pylori* en muestras de Saliva, Placa dental con la edad.

La media para la edad de este grupo de pacientes fue de 45.33 años, con un rango de edades de meses de vida a 86 años.

La **Tabla no. 4** describe los resultados de PCR para cada una de las muestras de **Saliva**, así como los porcentajes obtenidos en cada rango de edad.

Edad	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
0-14	1	1.51	10	15.15	11	16.66
15-29	0	0	3	4.54	3	4.54
30-44	4	6.06	7	10.60	11	16.66
45-59	6	9.09	18	27.27	24	36.16
60-74	3	4.54	11	16.66	14	21.22
75-89	2	3.03	1	1.51	3	4.54
Total	16	24.24	50	75.75	66	100

Los grupos que presentaron mayor incidencia del microorganismo en saliva, se encontraron en el rango 45-59 años con un 9.09% de positividad. (Gráfico 3)

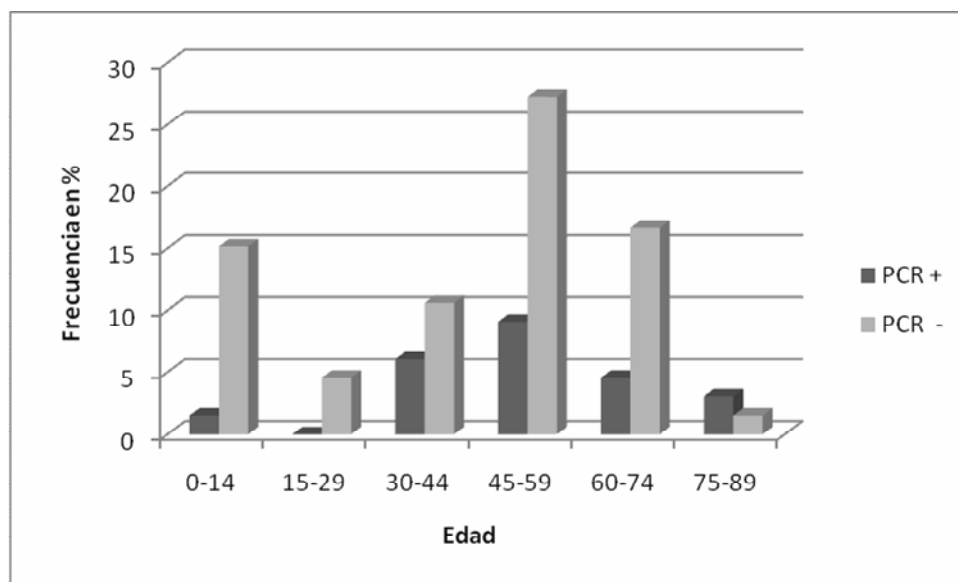


Gráfico 3. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en saliva asociado con la edad en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

La **Tabla no. 5** describe los resultados de PCR para cada una de las muestras de **Placa dental**, así como los porcentajes en cada rango de edad.

Tabla 5. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados a la edad, procedentes del INER.

Edad	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
0-14	8	12.12	3	4.54	11	16.66
15-29	3	4.54	0	0	3	4.54
30-44	6	9.09	4	6.06	10	15.15
45-59	12	18.18	13	19.69	25	36.35
60-74	4	6.06	10	15.15	14	21.21
75-89	1	1.51	2	3.03	3	4.54
Total	34	51.51	32	48.48	66	100

Los grupos que presentaron mayor incidencia del microorganismo en Placa dental, se encontraron en el rango 45-59 años con un 18.18% de positividad. (Gráfico 4)

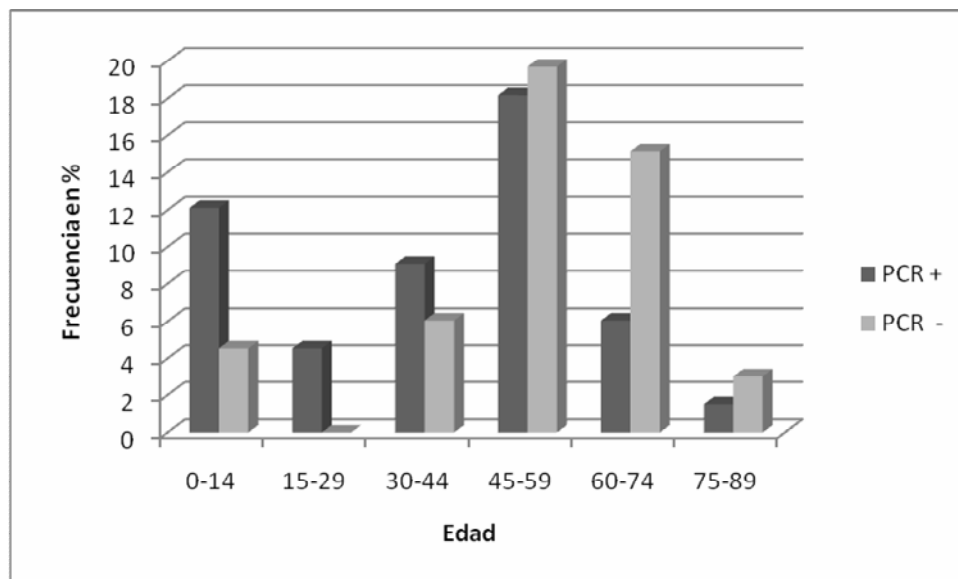


Gráfico 4. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con la edad en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Los datos de ambas muestras de cavidad bucal muestran que *Helicobacter pylori* está presente desde la niñez.

b) Frecuencia y asociación de *H. pylori* en muestras de Saliva y Placa dental con el sexo.

De los 66 pacientes de estudio 42 (63%) fueron mujeres y 24 (36.36%) hombres. El promedio de edad para los hombres fue de 41.5 años y para las mujeres 47.5 años.

La **Tabla no. 6** describe los resultados de PCR para cada una de las muestras de **Saliva**, así como los porcentajes en ambos sexos.

Tabla 6. Total de casos positivos y negativos para <i>Helicobacter pylori</i> en Saliva asociados con el sexo, procedentes del INER						
Sexo	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
Femenino	12	18.18	30	45.45	42	63.63
Masculino	4	6.06	14	21.21	24	36.36
Total	16	24.24	50	75.75	66	100

El sexo que presento mayor incidencia del microorganismo en saliva, fue el femenino con un 18.18% de positividad por PCR para *Helicobacter pylori*. (Gráfico 5)

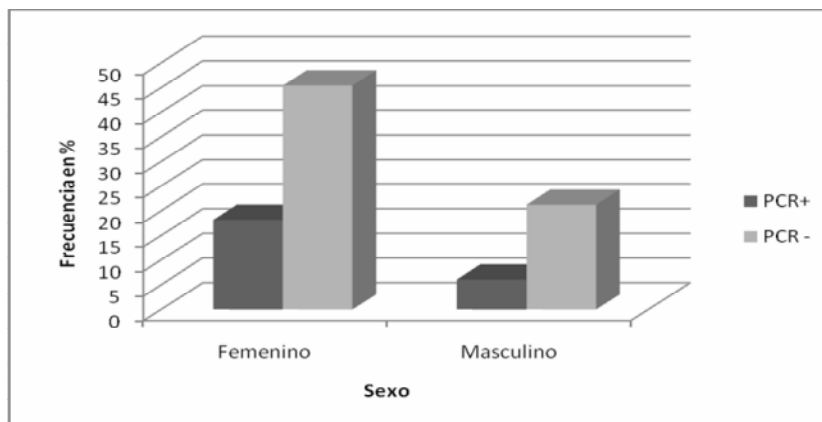


Gráfico 5. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Saliva asociado con el sexo en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

La **Tabla no. 7** describe los resultados de PCR para cada una de las muestras de **Placa dental**, así como los porcentajes en ambos sexos.

Tabla 7. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados con el sexo, procedentes del INER

Sexo	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
Femenino	19	28.78	23	34.84	42	63.62
Masculino	15	22.72	9	13.63	24	36.35
Total	34	51.51	32	48.48	66	100

El sexo que presentó mayor incidencia del microorganismo en Placa dental, fue el femenino con un 28.78% de positividad por PCR.

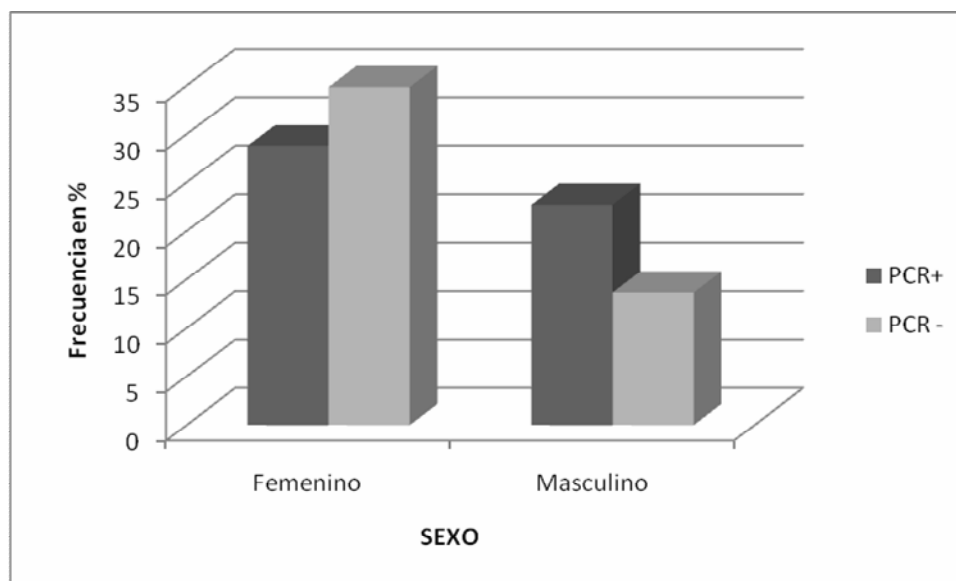


Gráfico 6. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con el sexo en pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

c) Frecuencia y asociación de *Helicobacter pylori* en muestras de Saliva y Placa dental con el Diagnóstico clínico.

El diagnóstico de este grupo fue obtenido mediante el ingreso al expediente clínico de cada uno de los pacientes. De los 66 pacientes de estudio 16 (24.24%) presentaban Dispepsia no ulcerosa (DNU), 30 (45%) presentaban Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), 10

(15.15%) presentaban Cáncer gástrico (CA) y 10 (15.15%) de los pacientes presentaban un diagnóstico clínico, el cual no estaba relacionado con ninguna patología gástrica (otros).

La **Tabla no. 8** se describen los resultados obtenidos por PCR para cada una de las muestras de **Saliva**, así como los porcentajes obtenidos en cada uno de los diagnósticos reportados por expediente clínico.

Tabla 8. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados al diagnóstico clínico, procedentes del INER.

Dx	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
DNU	8	12.12	8	12.12	16	24.24
ERGE	5	7.57	25	37.87	30	45.45
CA	3	4.54	7	10.60	10	15.15
Otros	0	0	10	15.15	10	15.15
Total	16	24.24	50	75.75	66	100

De acuerdo al Diagnóstico clínico los que presentaron mayor incidencia del microorganismo en saliva, fueron los pacientes que tenían Dispepsia no ulcerosa con un 28.78% de positividad por PCR para *Helicobacter pylori*. (Gráfico 7)

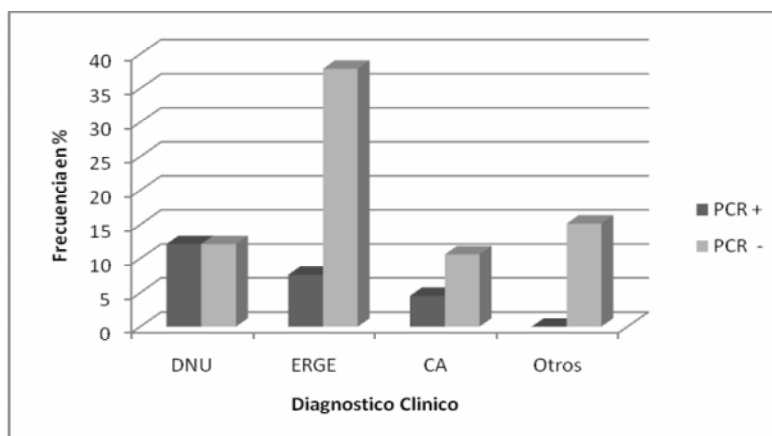


Gráfico 7. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Saliva asociado con el Diagnóstico clínico de pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

La **Tabla no. 9** describe los resultados de PCR para cada una de las muestras de **Placa Dental**, así como los porcentajes de cada diagnóstico reportado por expediente clínico.

Tabla 9. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa Dental asociados al diagnóstico clínico, procedentes del INER.

Dx	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
DNU	11	16.66	5	7.57	16	24.24
ERGE	18	27.27	12	18.18	30	45.45
CA	5	7.57	5	7.57	10	15.15
Otros	0	0	10	15.15	10	15.15
Total	34	51.51	32	48.48	66	100

De acuerdo al Diagnóstico clínico los que presentaron mayor incidencia del microorganismo en placa dental, fueron los pacientes que tenían Reflujo Gastroesofágico (ERGE) con un 27.27% de positividad por PCR para *Helicobacter pylori*. (Gráfico 8)

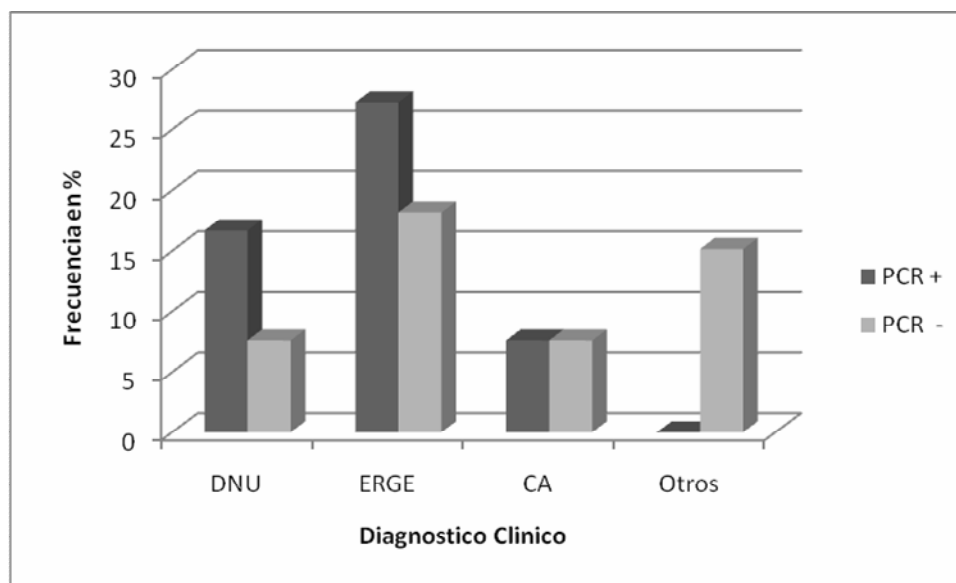


Gráfico 8. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con el Diagnóstico clínico de pacientes procedentes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

7.1.2 Grupo II.

Se trabajo con un total de 66 pacientes pertenecientes a la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, descartando un paciente debido a que no se obtuvo muestra, trabajándose con 65 pacientes, donde 10 (15.38%) fueron PCR positiva para *Helicobacter pylori* en saliva y 55 (84.61%) fueron PCR negativa; 13 (20%) fueron PCR positiva en Placa dental y 52 (80%) fueron PCR negativa y finalmente en la muestra obtenida por raspado de lengua mostró un 0% de positividad a *Helicobacter pylori* detectado por PCR (Gráfico 9.).

Estos resultados obtenidos fueron analizados según edad, sexo, diagnostico clínico y población.

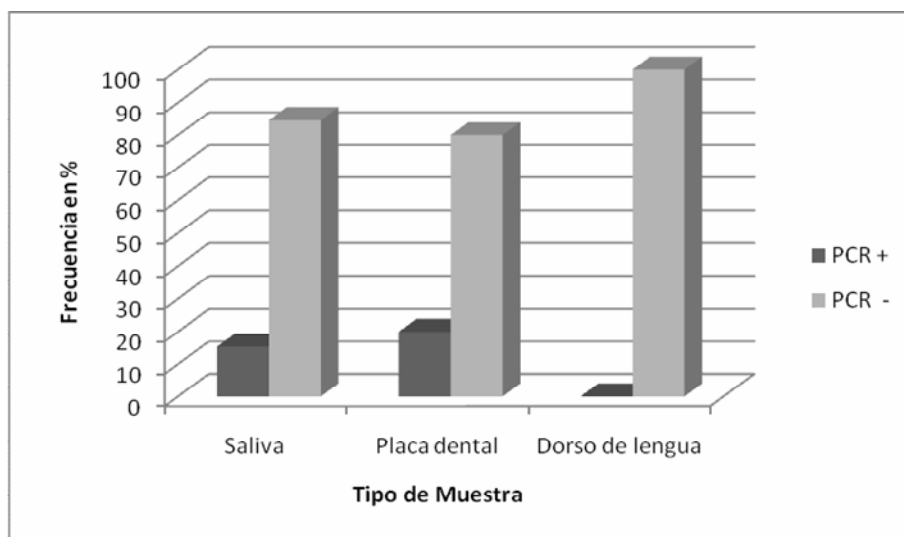


Gráfico 9. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en las diferentes muestras obtenidas de cavidad bucal procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.

a) **Frecuencia y asociación de *H. pylori* en muestras de Saliva y Placa dental con la edad.**

La media para la edad de este grupo de pacientes fue de 32 años, con un rango de 12 a 66 años.

La **Tabla no. 10** se describen los resultados obtenidos por PCR para cada una de las muestras de **Saliva**, así como los porcentajes obtenidos en cada rango de edad.

Tabla 10. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en saliva asociados a la edad, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

Edad	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
10-19	1	1.53	10	15.38	11	16.91
20-29	4	6.15	22	33.84	26	39.99
30-39	3	4.61	6	9.23	9	13.84
40-49	0	0	10	15.38	10	15.38
50-59	2	3.07	4	6.153	6	9.22
60-69	20	0	3	4.61	3	4.61
Total	10	15.38	55	84.61	65	100

Los grupos que presentaron mayor incidencia del microorganismo en saliva, se encontraron en el rango 20-29 años con un 6.15% de positividad. (Gráfico 10)

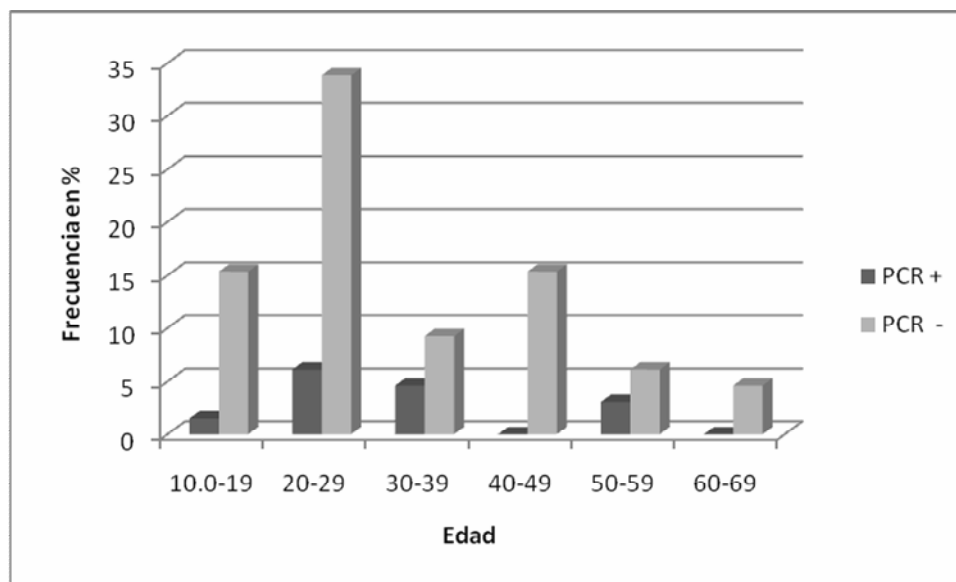


Gráfico 10. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en saliva asociado con la edad en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.

La **Tabla no. 11** se describen los resultados obtenidos por PCR para cada una de las muestras de **Placa dental**, así como los porcentajes obtenidos en cada rango de edad.

Tabla 11. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados a la edad, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

Edad	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
10-19	1	1.53	10	15.38	11	16.91
20-19	4	6.15	22	33.84	26	39.99
30-39	5	7.69	4	6.15	9	13.84
40-49	0	0	10	15.38	10	15.38
50-59	2	3.07	4	6.15	6	9.22
60-69	1	1.53	2	3.07	3	4.61
Total	13	20	52	80	65	100

Los grupos que presentaron mayor incidencia del microorganismo en **Placa dental**, se encontraron en el rango 30-39 años con un 7.69% de positividad. (Gráfico 11)

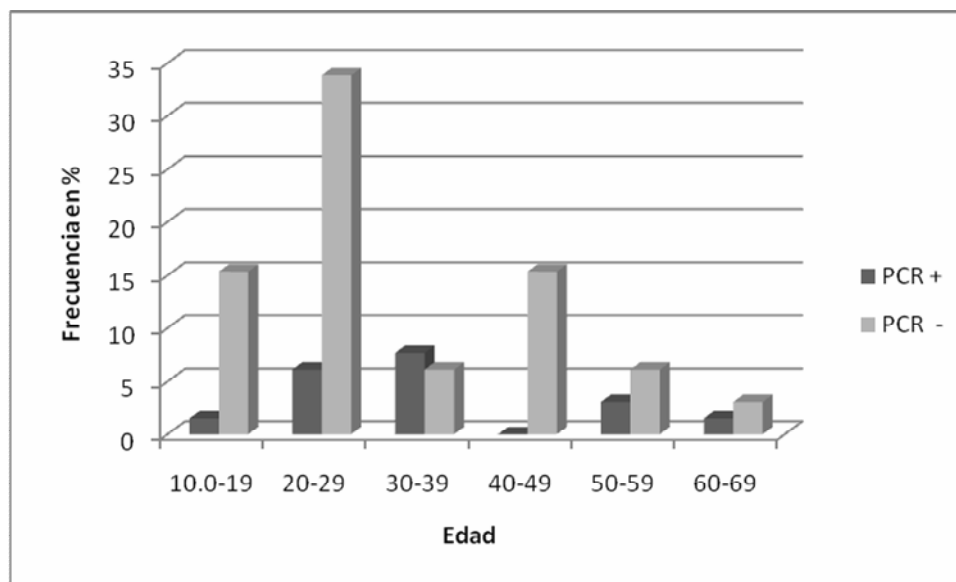


Gráfico 11. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con la edad en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM.

b) **Frecuencia y asociación de *H. pylori* en muestras de Saliva y Placa dental con el sexo.**

De los 65 pacientes de estudio 36 (55.38%) fueron mujeres y 24 (44.61%) hombres.

La **Tabla no. 12** se describen los resultados obtenidos por PCR para cada una de las muestras de **Saliva**, así como los porcentajes obtenidos en ambos sexos.

Tabla 12. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados con el sexo, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

Sexo	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
Femenino	6	9.23	30	46.15	36	53.38
Masculino	4	6.15	25	38.46	29	44.61
Total	10	15.38	55	84.61	65	100

El sexo que presento mayor incidencia del microorganismo en saliva, fue el femenino con un 9.23% de positividad en PCR para *Helicobacter pylori*. (Gráfico 12)

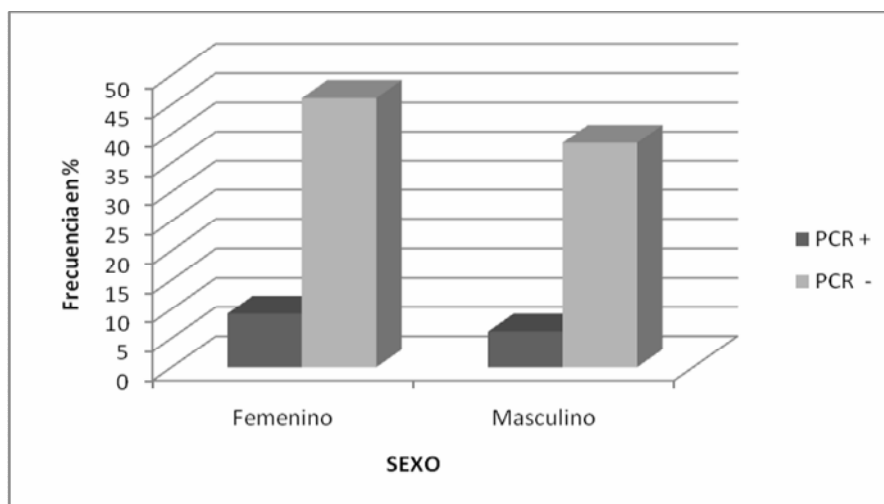


Gráfico 12. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Saliva asociado con el sexo en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM

La *Tabla no. 13* se describen los resultados obtenidos por PCR para las muestras de **Placa dental**, así como los porcentajes obtenidos en los ambos sexos.

Tabla 13. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados con el sexo, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

Sexo	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
Femenino	8	12.30	28	43.07	36	44.61
Masculino	5	7.69	24	36.92	29	55.37
Total	13	20	52	80	65	100

El sexo que presento mayor incidencia del microorganismo en Placa dental, fue el femenino con un 12.30% de positividad por PCR. (Gráfico 13)

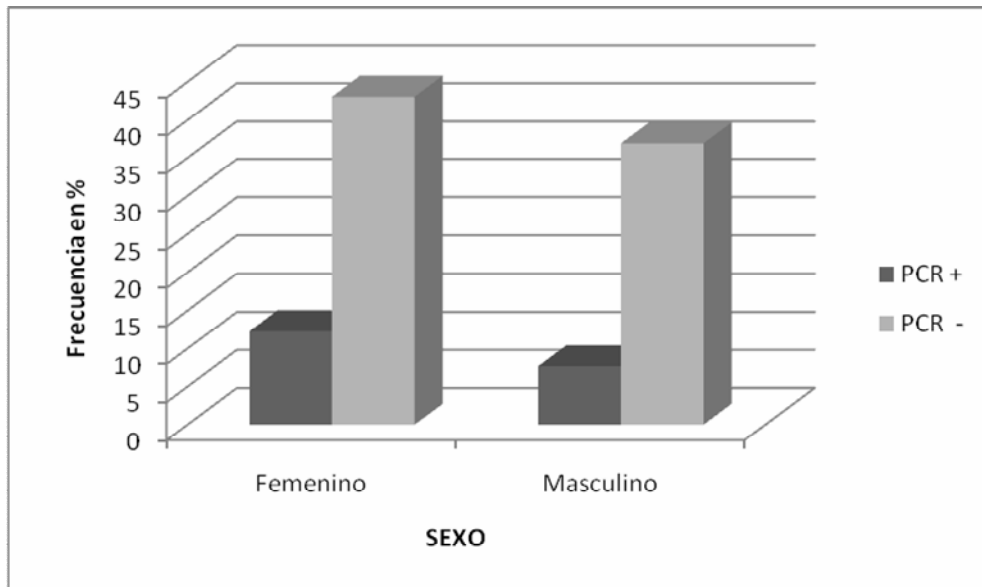


Gráfico 13. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con el sexo en pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM

c) **Frecuencia y asociación de *Helicobacter pylori* en muestras de Saliva y Placa dental con respecto al Diagnóstico clínico.**

El diagnóstico de este grupo se obtuvo mediante información proporcionada por los pacientes que asisten a la Facultad de Odontología de la UNAM a las cuales se les otorgo un cuestionario en el cual hacen referencia a una serie de sintomatologías gástricas (agruras, acidez, cólicos, vómitos, diarreas y nauseas) y antecedentes gástricos (Ver anexo), agrupando el diagnóstico de los pacientes en Dispepsia no ulcerosa (DNU) y pacientes aparentemente sanos (PAS).

De los 65 pacientes de estudio, 20 (30.76%) presentaban Dispepsia no ulcerosa (DNU) y 45 (69.23%) fueron pacientes aparentemente sanos.

La **Tabla no. 14** se describen los resultados obtenidos por PCR para cada una de las muestras de **Saliva**, así como los porcentajes obtenidos en cada uno de los diagnósticos reportados por cuestionario.

Tabla 14. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados al diagnóstico clínico, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

Dx	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
DNU	10	15,38	10	15.38	20	30.76
PAS	0	0	45	69.23	45	69.23
Total	10	15.38	55	84.61	65	100

De acuerdo al Diagnóstico clínico los que presentaron mayor incidencia del microorganismo en saliva, fueron los pacientes con diagnóstico clínico de Dispepsia no ulcerosa con un 15.38% de positividad en PCR para *Helicobacter pylori*. (Grafico 14). Cabe señalar que del total de los pacientes que presentaron Dispepsia no ulcerosa el 50% de ellos fueron positivos para

H. pylori y todos los pacientes diagnosticados como aparentemente sanos fueron *H. pylori* negativos.

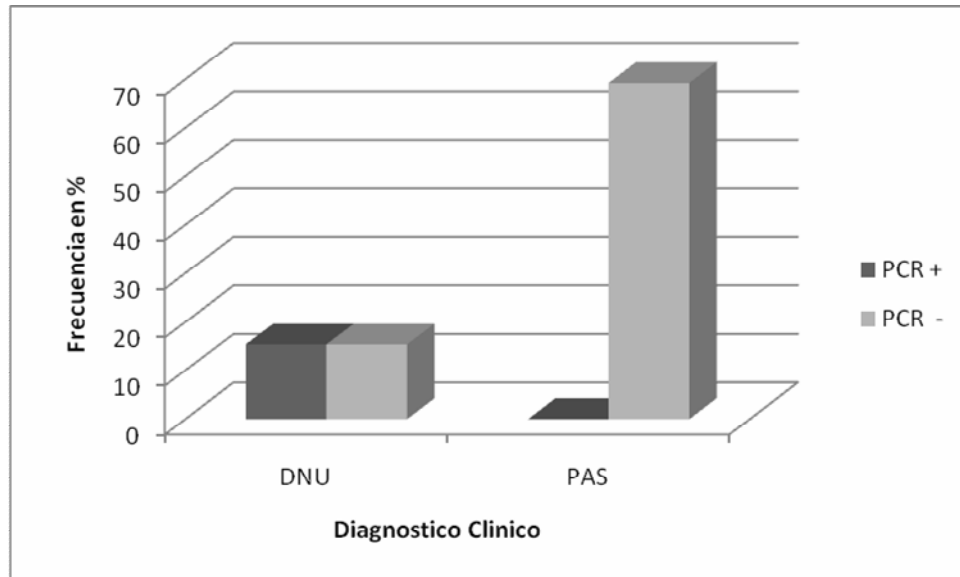


Gráfico 14. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con el Diagnóstico clínico de pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM

La **Tabla no. 15** se describen los resultados obtenidos por PCR para cada una de las muestras de **Placa Dental**, así como los porcentajes obtenidos en cada uno de los diagnósticos reportados por expediente clínico.

Tabla 15. Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa Dental asociados al diagnóstico clínico, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

Dx	PCR +		PCR -		Total	
	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%	No. de pacientes	%
DNU	12	18.46	8	12.30	20	30.76
PAS	1	1.53	44	67.70	45	69.22
Total	13	20	52	80	65	100

De acuerdo al Diagnóstico clínico los que presentaron mayor incidencia del microorganismo en placa dental, fueron los pacientes con diagnóstico de Dispepsia no ulcerosa con un 18.46% de positividad por PCR para *Helicobacter pylori*. (Gráfico 15)

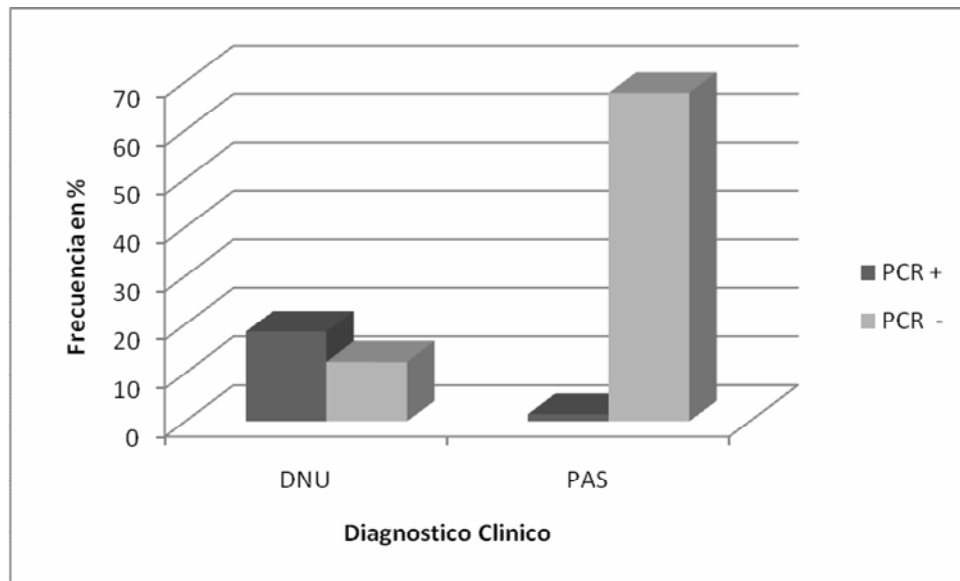


Gráfico 15. Frecuencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental asociado con el Diagnóstico clínico de pacientes procedentes de la Facultad de odontología de la UNAM

8. Discusión.

Una de las enfermedades infecciosas con mayor distribución a nivel mundial es la infección por *Helicobacter pylori* un reconocido patógeno asociado con enfermedades graves con un peso significativo en la morbilidad y mortalidad, donde las más altas tasas de infección se encuentran principalmente en países en vías de desarrollo, donde el factor socioeconómico es notable.^{3,7,8,12,28,31,47}

A pesar del considerable impacto de la infección por *Helicobacter pylori* en la salud en todo el mundo, aún hay poco entendimiento de los factores del huésped que facilitan la adquisición, así como su forma de transmisión, ya que el mecanismo por el cual el microorganismo se transmite no se conoce con certeza, lo que dificulta el éxito de la aplicación de medidas preventivas.³¹ Varios estudios sugieren que la vía de transmisión predominante es la vía oral-oral, donde la cavidad bucal juega un rol importante.^{6,20,51,79}

En la búsqueda y comprensión de todo el fenómeno etiopatogénico que involucra la presencia de *Helicobacter pylori*, se han desarrollado nuevas técnicas abarcando desde las microbiológicas convencionales hasta las moleculares investigándose así las diferentes probabilidades de posibles vías de infección y reservorios de este microorganismo. Es así como en la actualidad se ha podido evidenciar la presencia de *Helicobacter pylori* en otros reservorios que no son el epitelio gástrico, un ejemplo de ellos es la cavidad bucal.^{3,8,19}

Sin embargo, también se ha considerado que su presencia en la cavidad bucal forme parte de la microbiota transitoria, y no como residente normal. Esto se debe a que la tasa de recuperación de *Helicobacter pylori* es muy controversial lo cual se ve reflejado en datos provenientes de una diversidad de metodologías empleadas en diferentes estudios para identificar al microorganismo (como son: PCR, ELISA y Prueba de Urea en el aliento),

que muestran resultados muy variables, informando de un 0 a un 97% de muestras positivas,^{8,24,35,43,67,78}

Es así que dentro de los componentes de la cavidad bucal se han considerado a la saliva y a la placa dental como posibles vías de transmisión de la infección y una fuente de re-infección gástrica.^{3,22,23,35,40}

En países en vías de desarrollo como México, donde de acuerdo con estudios realizados la prevalencia de infección es alta (70 %), lo que indica que de una población de 105 millones de habitantes, pueden existir 70.35 millones de infectados, de los cuales por lo menos el 10 % que son 7.35 millones podrían ser o son pacientes sintomáticos,^{8a} y donde la re-infección también podría ser frecuente; son pocas las investigaciones que se han realizado en nuestro país para conocer y determinar las posibles vías de transmisión y así poder dar a conocer a la población las medidas preventivas adecuadas.³

El objetivo general de este trabajo fue desarrollar un estudio para determinar la frecuencia de pacientes infectados y no infectados a nivel bucal con *Helicobacter pylori* en México por el método de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), y así mismo, comprobar si estos pacientes tienen una enfermedad gastroduodenal que se pueda o no relacionar con la infección por el *Helicobacter pylori*.

La hipótesis a probar fue que dados dos grupos de sujetos, un grupo de pacientes que acuden al servicio de endoscopia del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (total de 66 pacientes) en el cual existe un diagnóstico relacionado a algún tipo de enfermedad gastroduodenal comparándolo con un grupo de pacientes que acuden al servicio dental de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México (total de 65 pacientes), la frecuencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal será mayor en pacientes del primer grupo mencionado comparándolo con el último.

Para demostrar la frecuencia de *Helicobacter pylori* en nuestro estudio se consideraron tres diferentes tipos de muestras de cavidad bucal: placa dental, saliva y dorso de lengua.

Como sabemos la cavidad oral es un ecosistema abierto en el que constantemente se está produciendo el ingreso de microorganismos asociados a los alimentos sólidos o líquidos que se ingieren o que son aspirados del ambiente que nos rodea; pero protege su integridad mediante mecanismos inespecíficos (el flujo salival, la masticación, la deglución, la higiene bucal y la descamación de células epiteliales) que son fenómenos que sirven para eliminar las bacterias de las superficies orales y mecanismos específicos (anticuerpos secretores de clase Ig A) que previenen la adherencia de los microorganismos a la superficie de la mucosa y los dientes mediante la agregación facilitando, al mismo tiempo, su fagocitosis (opsonización). Cuando se rompen estos mecanismos de control, microorganismos potencialmente patogénicos pueden causar, directamente un daño.³

Los tres tipos de muestra de cavidad bucal utilizados en este estudio presentan características ideales para que exista la colonización de microorganismos anaeróbicos como es el caso de nuestra bacteria.

La lengua es un refugio excelente para las bacterias anaeróbicas gram-negativas debido a su extensa y continua superficie que presenta papilas gustativas y filiformes y grietas que se relacionan con las glándulas mucosales y amígdalas linguales.

Es interesante mencionar que algunos estudios enfocados a halitosis bucal han considerado que esta patología tiene una estrecha relación con *Helicobacter pylori*, ya que en algunos de ellos se ha demostrado la presencia de la bacteria en la lengua de pacientes que presentan algún tipo de patología y sintomatología gástrica.^{47,97}

En nuestro estudio no se logro obtener ninguna muestra positiva a *Helicobacter pylori* en muestras provenientes del dorso de la lengua de ambas poblaciones, teniendo en cuenta que en el grupo I (pacientes provenientes del INER) el 84.84% y en el grupo II (Pacientes provenientes de la facultad de odontología) un 30.76% presentaban patologías gastrointestinales.

La mayoría de los estudios realizados sobre el método de transmisión que relaciona la cavidad bucal con *H. pylori*, se han enfocado principalmente a muestras de saliva y placa dental.

La saliva es una secreción compleja proveniente de las glándulas salivales mayores en el 93% de su volumen y de las menores en el 7% restante, las cuales se extienden por todas las regiones de la boca excepto en la encía y en la porción anterior del paladar duro, está a su vez sirve como fuente nutricional para muchos microorganismos que como algunos anaerobios metabolizan sus componentes y en consecuencia no requieren adherirse a ninguna estructura.

La mayoría de los microorganismos detectados en la saliva son un reflejo de los presentes sobre las diferentes superficies de la cavidad oral. En consecuencia, se piensa que las bacterias presentes en la saliva son un reflejo fiel de las halladas en la boca.

Ensayos de PCR han demostrado ser altamente sensible y específico y se consideran como el método de elección para la detección del ADN del *H. pylori* en la cavidad oral, por lo que se han reportado varios estudios de detección de *H. pylori* en saliva y placa dental con esta técnica.³⁵

En diferentes estudios realizados en la búsqueda de la relación existente entre *Helicobacter pylori* y cavidad bucal, se ha encontrado la presencia de *H. pylori* en saliva con resultados muy variados.^{35,37,49,53}

Es así que en un estudio realizado por Ferguson, y otros diversos autores (1996) demuestran la alta prevalencia de *Helicobacter pylori* en saliva, reportando un 84% de positividad en pacientes con patología gástrica,^{53,67} a diferencia de Song Et.al. (2000) donde sigue reportando una alta prevalencia de *H. pylori* en saliva pero con una distribución característica que es independiente de la situación de infección del estómago,⁷⁸ donde se ha llegado a encontrar en un porcentaje bajo en pacientes sin patologías gástricas.

Nuestro estudio fue evidenciada la presencia de *Helicobacter pylori* en la saliva mediante PCR en ambos grupos de población, (gráficos 1 y 7), donde se observa que la frecuencia no es tan elevada como algunos autores han encontrado.^{53,67,79} Es interesante mencionar que la positividad a *Helicobacter pylori* en saliva se mostro solo en pacientes que presentaban alguna patología gastrointestinal, obteniéndose un 24.24% de pacientes positivos provenientes del INER y un 15.38% de pacientes positivos provenientes de la Facultad de odontología; donde se vio principalmente elevada fue en aquellos pacientes que tenían diagnosticada una Dispepsia no ulcerosa (DNU), como varios autores señalan.^{53,79}

La placa dental al igual que la saliva ha sido propuesta como medio de transmisión y reservorio para dicho microorganismo, pero la hipótesis de que la microflora bucal pueda ser un nicho permanente para la bacteria es muy controversial.^{40,61}

Para la adecuada comprensión de la asociación de *Helicobacter pylori* con la placa dental, se hace necesaria una breve descripción de cómo se produce la misma. Manson y Eley afirman que algunos segundos después de la limpieza de los dientes, una fina capa de proteína salival, normalmente glicoproteínas, se deposita sobre la superficie de los dientes, sobre restauraciones y prótesis formando una película (Biofilm) a la que se agregan especies bacterianas que establecen relaciones entre ellas: mediante receptores, estructuras y compuestos adherentes, e interacciones iónicas, hasta formar

una capa densa que en pocas horas, algunas especies de *Streptococcus* y, posteriormente, de *Actinomyces* se adhieren a la película, dando inicio así a la etapa de colonización microbiana en la formación de la placa dental. Esta capa, llamada película adquirida, es lisa, incolora, translúcida. Se adhiere firmemente a la superficie dentaria y solo puede ser eliminada por una fricción adecuada.⁷⁷

Posteriormente, otros microorganismos colonizan sobre los que ya se encuentran previamente adheridos a la superficie de la película adquirida (produciéndose así el proceso de Coagregación) incrementándose el espesor de la placa dental (en la etapa de maduración y crecimiento), donde aumenta el número de microorganismos ya sea por multiplicación de los que ya se hallan presentes o por agregación de nuevos microorganismos. Paralelamente a la etapa de colonización microbiana surge la formación de la matriz de la placa, que ayuda a mantener estable la comunidad de microorganismos que conforman en sí la estructura de la misma.⁷⁷

La función de la microbiota oral es impedir implantación de patógenos oportunistas, colaborando con los mecanismos de defensa del hospedero para controlar el crecimiento y reproducción de los microecosistemas que moran en la cavidad bucal.

La comunidad bacteriana de la superficie dentaria forma parte de la microflora, residente o transitoria, del cuerpo humano.^{37,38}

Las bacterias gram negativas pueden colonizar la placa dental y competir por los nutrientes necesarios para la microflora local; también pueden aprovechar ciertas condiciones de menor tensión de oxígeno en las zonas dentales posteriores, y dar lugar, transitoriamente, a un ecosistema dinámico.^{8,61}

La placa dental ha tomado mayor importancia en el análisis de *Hp* en cavidad bucal ya que ha sido el sitio donde se han realizado mayor número de

trabajos de investigación, desde el hallazgo del primer aislamiento en placa dental, pero los datos generados han sido controversiales ya que algunos han demostrado frecuentemente la presencia de *Helicobacter pylori* en muestras de placa dental como en un estudio en la India, realizado por Majmudar et al. (1990) donde el 100% de 40 voluntarios presentó *H. pylori* a nivel de placa dental; también los recientes estudios realizados por Berroterán y cols. (2001) en una población venezolana, detectaron la presencia de *H. pylori* en placa dental en un 37,5 % (usando PCR) y Umeda y cols. (2003) utilizando la misma técnica encontrando éste microorganismo en un 35%¹³, por solo mencionar algunos ejemplos. Otros se han observado solo en aislamientos ocasionales, Kradjen y col. (1989), refieren en Canadá que en solo 1/29 (3,4%) pacientes con gastritis por esta bacteria, y muchos han fallado para demostrar la presencia del microorganismo. Aun considerando la presencia de *H. pylori* en placa dental, se observa en la literatura que la prevalencia de la infección por esta bacteria puede variar de 0% al 100%.^{19,37,40,49,61,69,}

Nuestros resultados muestran la presencia de *Hp* en placa dental en ambos grupos de población (gráficos 1 y 7), siendo mucho mayor la frecuencia de casos positivos en placa dental que en saliva. Cabe destacar que el mayor porcentaje de positividad en placa dental a *Hp* en ambas poblaciones se dio en pacientes que presentaban alguna sintomatología gástrica, obteniéndose un 51.51% de pacientes positivos a *Hp* provenientes del INER y un 20% de pacientes positivos provenientes de la Facultad de odontología de la UNAM. Pero a diferencia de los resultados obtenidos en las muestras de saliva, aquí logramos detectar un porcentaje bajo (1.53%) de positividad a *Hp* de pacientes asintomáticos provenientes de la Facultad de Odontología de la UNAM, lo que nos hace creer que la bacteria puede estar presente en un muy bajo porcentaje de la población, en personas que no tienen problemas relacionados con patologías gástricas.

Para determinar si existe alguna relación de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal con patologías gastrointestinales se trabajó con pacientes que presentaban algunas patologías gástricas y pacientes asintomáticos en ambos

grupos. En el grupo de pacientes provenientes del INER, se trabajo con 30/66 pacientes (45.45%) con diagnóstico de Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE), 16/66 pacientes (24.24%) con Dispepsia no ulcerosa (DNU), 10/66 pacientes (15.15%) con Adenocarcinoma gástrico y 10 pacientes (15.15%) con enfermedades no relacionadas al sistema digestivo.

En la facultad de odontología se trabajo con 20/65 pacientes (30.76%) con Dispepsia no ulcerosa (DNU) y 45/65 pacientes (69.23%) asintomáticos.

Para comprender nuestros resultados es necesario conocer la relación que registra la literatura entre estas patologías y *Helicobacter pylori*.

La prevalencia de la infección de *H. pylori* y su relación con la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) ha sido muy estudiada, ya que *H. pylori* no tiene efecto sobre la barrera gastroesofágica, pero tiene efectos predecibles sobre la secreción ácida, la cual une a la infección por *H. pylori* y ERGE. La severidad del ERGE y la presencia de complicaciones asociadas están relacionadas a la exposición del esófago a la acidez, la cual está relacionada a la existencia de anomalías en la función de la barrera, tanto como de la secreción ácida. Numerosos estudios publicados en los últimos años sobre la relación del *Helicobacter pylori* con la ERGE han mostrado unos resultados muy variables, llegando incluso a ser contradictorios, al menos en apariencia.⁸⁶

Tanto la liberación de NO, que reduce el tono del Esfínter Esofágico Inferior (EEI), como el aumento de producción de gastrina, con la consiguiente hiper-producción de ácido, podrían ser mecanismos favorecedores de ERGE relacionables con *H. pylori*. Por el contrario, la propia gastrina mejoraría el tono del EEI, y la concentración de amonio tendría capacidad de tamponar el ácido gástrico.^{13,46,74}

De muchos trabajos de investigación parece deducirse que *Helicobacter pylori*, no sólo no se comporta como patógeno en la ERGE, sino que su erradicación puede hacerla aparecer, o bien empeorar la evolución del proceso.^{8,41,46,74,85,86}

La Asociación Mexicana de Gastroenterología, efectuó en el año 2002 un consenso de expertos, en el cual se puso de manifiesto que, aunque en México se desconoce la prevalencia exacta de la ERGE, es probable que sea un padecimiento frecuente, sub-diagnosticado y sujeto a la automedicación.⁶⁷

En el grupo I de nuestro estudio (pacientes provenientes del INER) se observó una elevada frecuencia de pacientes con diagnóstico de ERGE (45.45%), lo que puede llegar a considerarse como un padecimiento frecuente en la población donde es indispensable crear conciencia sobre la importancia de esta enfermedad en la comunidad médica.

En el grupo de pacientes con Enfermedad de reflujo gastroesofágico logramos detectar un porcentaje elevado del 27.27% de positividad a *Hp* en placa dental, y en un porcentaje menor del 7.57% en muestras de saliva.

Los pacientes con síntomas pépticos pero que no tienen una lesión visible con endoscopia y cuyos estudios de vesícula, esófago y páncreas son normales son agrupados en el mal definido término de dispepsia no ulcerosa o también llamada dispepsia funcional.^{41,100} Se han planteado una serie de factores causales relacionados a: fisiología gástrica, disminución motora, disfunción del sistema nervioso central y factores ambientales entre los que se encuentra el *H. pylori*. Entre ellos se identifica cambios inflamatorios a nivel de mucosa gástrica que sería responsable de la disminución del umbral para el malestar causado por la distensión de la pared gástrica mediada por la alteración en la transmisión neuronal local y central. Cifras variables entre el 50% y 60% de estos pacientes pueden tener una evidencia microscópica de gastritis y se puede detectar en ellos el *H. pylori*, un buen porcentaje de estos pacientes presentan una mejoría de sus síntomas al

erradicar la bacteria con triple terapia, aunque la recidiva es frecuente y algunos pacientes no mejoran sus síntomas a pesar de la mejoría histológica y curación bacteriológica.¹⁰²

Este último dato es muy importante en nuestro estudio ya que en ambas poblaciones se detecto *H. pylori* en saliva y placa dental en pacientes con Dispepsia no ulcerosa, en porcentajes que van de 12.12 al 16.66%, lo cual podría ser uno de los factores por los que se dé la frecuente recidiva post-tratamiento en este tipo de pacientes. Estos resultados son interesantes para considerarse durante el tratamiento a pacientes con DNU, el cual debería de incluir la erradicación de la bacteria de la cavidad bucal y así disminuir las posibles recidivas post-tratamiento.

Finalmente, dentro de las patologías gastrointestinales reportadas en el estudio es el cáncer gástrico.

La incidencia del cáncer gástrico ha ido disminuyendo en los últimos 50 años, sin embargo, *Helicobacter pylori* es la primera bacteria carcinógena reconocida por la Organización Mundial de la Salud (carcinógeno de clase I) y es importante en la etiología del adenocarcinoma gástrico del tipo intestinal y del linfoma de los linfocitos B de tejidos linfoide asociado a la mucosa (MALT), estimándose que 1% de los pacientes infectados desarrollarán el cáncer gástrico.

El cáncer de estómago es la segunda causa de muerte en pacientes que fallecen por tumores malignos en México²⁸ después de las enfermedades cardiovasculares, registrando una mortalidad de 5 por 100000 habitantes, consolidándose como el tumor digestivo maligno más frecuente.^{9a}

La infección por *H. pylori* podría ser un co-factor importante en la patogenia del cáncer gástrico, ya que se estima que la infección por *H. pylori* contribuye en más del 60% del riesgo de carcinoma gástrico. Un estudio en

México encontró una incidencia de 87.2% de infección por *Hp* en pacientes con cáncer gástrico.^{9a}

Ésta patología se inicia con la aparición de gastritis crónica superficial, gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia gástrica y finalmente cáncer. Se ha postulado que el control de la infección por *H. pylori* previene la progresión de lesiones pre-neoplásicas a carcinoma gástrico.

En nuestro estudio se pudo detectar la presencia de *Hp* en pacientes que presentaban cáncer gástrico, donde la frecuencia tanto en saliva como en placa dental fue menor a la registrada por las patologías gástricas antes mencionadas, siendo esta de un 4.54% en saliva y 7.57% en placa dental.

Es evidente que el Cáncer gástrico se desarrolla únicamente en una muy pequeña proporción de personas infectadas y que en un porcentaje variable *Helicobacter pylori* se encuentra en cavidad bucal de estos individuos.

Es así que en nuestro estudio la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal se presentó con mayor frecuencia en pacientes con patologías gastrointestinales principalmente provenientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, arrojando resultados que muestran diferencias estadísticamente significativas para placa dental y saliva en ambas poblaciones en relación al diagnóstico clínico ($p > 0.05$).

Con los datos obtenidos podemos decir que *Helicobacter pylori* por lo general se encuentra en la boca de individuos infectados a nivel gastrointestinal o como consecuencia del reflujo esofagástrico, por lo que es posible que la cavidad bucal pueda ser el sitio inicial de la infección, y así mismo ser un factor de riesgo para la re-infección gastrointestinal después de la terapia antibiótica.

La infección por *H. pylori* es muy frecuente, por lo general se adquiere en las primeras décadas de la vida, por lo que la edad de adquisición del microorganismo puede ser crítica en determinar el inicio clínico de la infección y sin tratamiento específico esta bacteria puede persistir de por vida ocasionando inflamación aguda y crónica del epitelio gástrico.

Se estima que en los países en desarrollo la mayoría de las personas (el 80% aproximadamente) se infectan con *H. pylori* a una edad promedio de 10 años.

Nuestro estudio muestra una diferencia estadística significativa que relaciona *H. pylori* en cavidad bucal con la edad ($p > 0.0000$), mostrando que la bacteria como en la mayoría de los países en vías de desarrollo está presente desde la infancia, y la mayor frecuencia se encuentra en la edad adulta.

Finalmente en nuestros resultados no se mostraron diferencias estadísticamente significativas que relacionaran la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad oral con el sexo (femenino o masculino) de los individuos (Anexo 2, $p < 0.05$).

9. CONCLUSIONES.

1. En conclusión podemos decir que la frecuencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal (principalmente en saliva y placa dental) en nuestra población es alta sobre todo en aquellos individuos que presentan alguna patología gástrica.
2. Se evidencio la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal, principalmente en saliva y placa dental en ambos grupos de población por medio de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), lo que podría ayudar a establecer el diagnostico y tratamiento oportuno.
3. Los resultados obtenidos mostraron la presencia de *Helicobacter pylori* en saliva (15.38 %) y placa dental (20%) en pacientes provenientes de la Facultad de Odontología, presentándose la mayor frecuencia en pacientes con patologías gastrointestinales, sin embargo es importante conocer que existe una pequeña población que no tienen problemas relacionados con patologías gástricas en la cual se encontró positividad de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal lo que nos hace creer que la bacteria puede estar presente en muy bajo porcentaje de la población.
4. Los resultados obtenidos mostraron la presencia de *Helicobacter pylori* en saliva (24.24%) y placa dental (51.51%) en pacientes provenientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, presentándose la mayor frecuencia en pacientes con patologías gastrointestinales.
5. La presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal se presento con mayor frecuencia en pacientes con patologías gastrointestinales principalmente provenientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

6. *Helicobacter pylori* por lo general se encuentra en cavidad oral de individuos infectados a nivel gastrointestinal o como consecuencia del reflujo esofagástrico, por lo que es posible que la cavidad bucal pueda ser el sitio inicial de la infección, y así mismo ser un factor de riesgo para la re-infección gastrointestinal después de la terapia antibiótica.
7. *Helicobacter pylori* está presente en cavidad bucal desde la infancia, pero la frecuencia es mayor en individuos de edad adulta.
8. No se mostraron diferencias estadísticamente significativas que relacionaran la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad oral con el sexo femenino o masculino.
9. La técnica de Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta valiosa para la detección de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral y puede ser utilizada para dilucidar el modo de transmisión de la infección.

1. GLOSARIO.

Alelo: Una de dos o más formas alternativas de un gen que ocupan los lugares correspondientes en los cromosomas homólogos.

Catalasa: Es una enzima hemo-proteica, que se caracteriza por poseer una estructura tetramérica, en la cual cada subunidad contiene un grupo hem(Fe^{+3}). Está presente en la mayoría de las bacterias aerobias estrictas, facultativas y anaerobias aerotolerantes. En la prueba de catalasa la reacción se efectúa con dos moléculas de peróxido de hidrógeno, una de las cuales actúa como sustrato reducido y la otra como donador de átomos de hidrógeno; esto resulta en la formación de agua (sustrato reducido) y oxígeno (donador oxidado). El peróxido de hidrógeno es muy tóxico para las bacterias. Generalmente los microorganismos que carecen de citocromos, también carecen de catalasa, así la mayoría de las bacterias anaerobias no la poseen.

Citocinas: Son proteínas producidas por células que afectan al comportamiento de otras células. Las citocinas producidas por linfocitos se denominan comúnmente interleucinas. Las citocinas actúan sobre receptores específicos en las células a las que afectan.

Citotoxina: Son proteínas producidas por células T citotóxicas que participan en la destrucción de las células diana.

Dispepsia no ulcerosa o funcional: Se define como dolor o molestia persistente o recurrente localizada en el abdomen superior sin evidencia de enfermedad orgánica que explique los síntomas.

dNTPs: Mezcla de los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfato (dATP, dTTP, dCTP, dGTP) necesarios para la síntesis de DNA.

Electroforesis: Método de separación de moléculas a partir de una disolución en base a su diferente capacidad de desplazarse en el seno de un campo eléctrico.

ELISA (*Enzyme Linked Immunoassay*): se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

Endoscopia: Es la observación directa del tubo digestivo superior: esófago, estómago, y parte del duodeno. Es un método de exploración que se realiza con un endoscopio con luz fría para ver la mucosa del tracto digestivo superior, en busca de posibles alteraciones. El video endoscopio que se introduce es delgado, flexible, y equipado con sistema fotográfico y de vídeo. El pan-endoscopio tiene un canal de trabajo para introducir un pinzas para tomar biopsias para su análisis y prueba para *Helicobacter pylori*, sondas con globo para dilatar, ultrasonido, equipo de electrocirugía y esclerosis.

Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE): La enfermedad por reflujo gastroesofágico, podría definirse como el movimiento retrógrado a través del esfínter esofágico inferior del contenido gástrico y/o duodenal hacia el esófago.

El reflujo, es un evento fisiológico que ocurre en el postprandio, generalmente asintomático y de corta duración, que característicamente nunca se presenta durante la noche. Cuando estos eventos, se hacen más frecuentes y prolongados, o se presentan durante la noche o en los periodos interdigestivos y causando síntomas, se habla de reflujo patológico

Factor XII: Factor de Hageman, factor estable activado por el contacto con vidrio u otras superficies extrañas, que inicia el proceso intrínseco de coagulación de la sangre al activar al factor XI y que participa en la activación de la vía fibrinolítica.

Fagocitosis: Proceso por el cual células especializadas buscan, localizan, identifican e introducen a su citoplasma partículas o gérmenes extraños para matarlos y digerirlos.

Gastritis antral difusa: Es producida por la infección de *Helicobacter pylori*, se caracteriza por un intenso infiltrado inflamatorio de tipo crónico, con predominio de linfocitos e incluso con formación de folículos linfoides, de localización antral. Generalmente cursa con secreción elevada de ácido clorhídrico y es la gastritis que acompaña casi exclusivamente a la úlcera duodenal; se cree que con el correr de los años el proceso inflamatorio va ascendiendo para comprometer el cuerpo y finalmente el fondo gástrico, estableciéndose la gastritis multifocal. No se aprecia verdadera atrofia de mucosa y pueden existir escasos focos de metaplasia intestinal.

Gastritis crónica multifocal: Es el tipo de gastritis crónica inespecífica más frecuente. El estudio histológico pone de manifiesto inflamación crónica con grados variables de atrofia glandular y metaplasia intestinal, distribuidos por todo el estómago. El agente causal más importante es el *Helicobacter pylori*. Esta gastritis se correlaciona epidemiológicamente con la úlcera gástrica.

Glicoproteínas: son moléculas compuestas por una proteína unida a uno o varios hidratos de carbono, simples o compuestos. Tienen entre otras funciones el reconocimiento celular cuando están presentes en la superficie de las membranas plasmáticas.

Halitosis: La halitosis es un síntoma o un signo caracterizado por mal aliento u olor desagradable de la cavidad oral.

Hidrólisis: Descomposición de sustancias orgánicas e inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción de agua.

IgA: Es la principal inmunoglobulina protectora de las secreciones externas (es decir, de los aparatos gastrointestinal, respiratorio y urogenital), pero también está presente en el torrente sanguíneo.

IgG: Es una clase de inmunoglobulina caracterizada por cadenas pesadas γ . Es la que se encuentra en el plasma con mayor abundancia.

IL-1: es un potente estimulador de la respuesta inmunitaria y de las reacciones inflamatorias. Su actividad más importante es la estimulación de la proliferación de los linfocitos T. La IL-1 también es activa como estimulante de los linfocitos Th2 y, además. Resulta un cofactor para estimular la proliferación de los linfocitos B, de los cuales depende la producción de anticuerpos. Al aumentar la expresión de los receptores (TCR) que tienen los linfocitos T para reconocer antígenos, la IL-1 expande la respuesta celular y humoral del sistema inmunitario.

Ínterleucina: Son proteínas solubles de bajo peso molecular mediadoras de crecimiento celular, inflamación, inmunidad, diferenciación y reparación, entre otras actividades. Además de las células del sistema inmune, las citocinas son producidas por diferentes tipos celulares durante la activación de la inmunidad innata y adquirida. Son el principal medio de comunicación intracelular ante una invasión microbiana. Las citocinas sirven para iniciar la respuesta inflamatoria, y para definir la magnitud y naturaleza de la respuesta inmune específica

Linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa gástrica (MALT): Este tipo de linfoma se desarrolla a partir de la transformación maligna de células B presentes en condiciones normales en el intestino, pero que proliferan en los procesos inflamatorios. El tejido gástrico presenta MALT en respuesta patológica a la infección por *H. pylori*.

Lipopolisacárido: Es el componente de la pared de las bacterias Gram negativas, es el principal agente causante del shock séptico. Una vez en el torrente sanguíneo, el lipopolisacárido activa los sistemas de contacto y estimula diferentes tipos celulares mediante moléculas de reconocimiento como el CD14 y los recientemente conocidos receptores TLR, disparando diversas vías de transducción que interaccionan entre sí.

Loading buffer: Solución tampón de carga utilizada como tinción para la carga de marcadores de ADN y las muestras en gel de agarosa.

Metaplasia: Transformación de las células de tejidos normales en otras anormales menos diferenciadas, como respuesta a una tensión o lesión crónica.

Microbiota transitoria: Es aquella que llega a nuestra piel por el contacto directo con superficies contaminadas o por aerosol. Esta microbiota puede estar constituida por bacterias, virus, parásitos u hongos, causantes en muchos casos de toxiinfecciones.

Morbilidad: Número proporcional de personas que enferman en una población y tiempo determinado, se reporta en %.

Mortalidad: Número proporcional de muertes en una población y tiempo determinado.

Opsonización: Consiste en la alteración de la superficie de un patógeno u otra partícula para que pueda ser ingerida por los fagocitos. Los anticuerpos y el complemento opsonizan bacterias extracelulares para que sean destruidas por neutrófilos y macrófagos.

Par de bases (Pb): Dos nucleótidos complementarios en una molécula de DNA bicatenario.

PCR: La reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*), es una técnica de biología molecular descrita en 1986 por Kary Mullis, cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de DNA específico, partiendo de un mínimo del fragmento original o molde.

Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de DNA; su utilidad es que, tras la amplificación, resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad virus o bacterias causantes de una enfermedad, identificar

personas (cadáveres) o hacer investigación científica sobre el DNA amplificado.

Pepsina: es una proteasa, una enzima digestiva que degrada las proteínas en el estómago; las otras enzimas digestivas importantes son la tripsina y la quimotripsina

Péptido liberador de gastrina (PLG): Se produce en las terminaciones del nervio vago que inervan las células G. Es un neurotransmisor que incrementa la secreción de gastrina mediada por el nervio vago. Su estructura química es similar a la bombesina de los anfibios.

Peristalsis: es una serie de contracciones musculares rítmicas y coordinadas que ocurren a todo lo largo del tracto gastrointestinal. La peristalsis también se observa en los uréteres, que son los órganos tubulares que conectan los riñones a la vejiga.

Radicales libres: es una molécula (orgánica o inorgánica), en general extremadamente inestable y, por tanto, con gran poder reactivo.

Reflujo gastroesofágico (ERGE): Es producido por reflujo del contenido del estomago y del duodeno al esófago. Esto puede producir una inflamación en la mucosa gástrica. El ERGE suele producirse cuando hay una distensión gástrica, una disminución transitoria de la presión del esfínter esofágico inferior y una disminución de la presión del esfínter esofágico inferior, cuando existe una esofagitis erosiva grave. A causa de estos mecanismos, el contenido gastroduodenal, que resulta corrosivo por su bajo pH, permanece en el esófago durante periodos de tiempo que resultan perjudiciales debido a la tendencia del reflujo a desplazarse en sentido craneal. Este movimiento ascendente que existe en el ERGE contrasta con lo que sucede en las personas que no sufren esta enfermedad, en las cuales, cuando se produce reflujo, se origina un aumento de la peristalsis y un vaciamiento rápido del esófago.

Reservorio: se designa a cualquier animal vivo que proporcione subsistencia y alojamiento a cualquier agente infeccioso para los seres humanos (virus, bacterias, hongos, protozoos y helmintos) en condiciones naturales.

Termociclador: Instrumento que permite realizar copias de los lugares (loci) en el DNA que son de interés. En este instrumento se lleva a cabo la llamada reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El termociclador realiza cambios cíclicos de temperatura que obligan a que la cadena de ADN se separe para que una enzima agregada a la reacción, junto con otros elementos químicos, permitan realizar copias consecutivas de una muestra de interés. Después de un número de 30 o 40 ciclos se obtienen millones de copias a partir de la muestra original.

Tinción de Gram: es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color violeta y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa.

Tinción de Wright – Giemsa: Tinción que se utiliza para identificar parásitos sanguíneos y otros microorganismos seleccionados.

Vector: Se llama vector a un mecanismo, generalmente un organismo, que transmite un agente infeccioso desde los individuos afectados a otros que aún no portan ese agente.

ANEXO 1 “MATERIALES, REACTIVOS Y MEDIOS”

➤ **Materiales**

- a. Guantes de látex estériles.
- b. Jeringas de 10 ml.
- c. Hisopos estériles.
- d. Tubos eppendorf 2.0 ml.
- e. Parafina.
- f. Micropipetas 2, 10, 20, 100, 200, 100 μ l.
- g. Tubos para PCR 0.2 ml.
- h. Termómetro.
- i. Puntas para micropipeta de diferentes volúmenes.
- j. Espátula.
- k. Matraz erlenmeyer 100, 1000 ml.
- l. Gradilla para tubos eppendorf.
- m. Probeta de 100 ml.
- n. Curetas Gracey.
- o. Etiquetas.
- p. Espátula.
- q. Pipeta graduada de 10 ml.

➤ **Medios y reactivos**

- a. Sol. Salina fisiológica al 10%
- b. Caldo Brucella + 10% SFB
- c. Agua para PCR
- d. Kit para PCR: (INVITROGEN)
 - Buffer 10 X
 - $MgCl_2$
 - DNTP's (12.5mM)
 - Taq polimerasa
- e. Primer 1 (VAI-F)
- f. Primer 2 (VAI-R)

Secuencia amplificada localizada en el gen	Tamaño y ubicación del producto de PCR	Secuencia del oligonucleótido sintético 5'-3'
VAI -F	259 pb	ATGGAAATACAACAAACACACC
VAI -R	286 pb	CTGCTTGAATGCGCCAAACTTTA

- g. Agua destilada
- h. Agarosa
- i. Bromuro de etidio
- j. Control (+) : S2 = 286 pb (cepa 8822)
- k. Marcador de peso molecular de 100 pb
- l. TBE 0.5 x
- m. Acetato de amonio 7.5 M
- n. Acido acético
- o. Cloroformo/ alcohol isoamilico 24:1 v/v
- p. buffer TE (Buffer tris-EDTA pH=8)
- q. Reactivo de GES
- r. Isopropanol
- s. Etanol al 70%

➤ **Equipo**

- a. Balanza analítica digital
- b. Baño María
- c. Fuente de poder: BRL Bethesda Research Laboratoris. Life Technologies, Inc. Model 4000 Power Supply
- d. Cámara de electroforesis
- e. Equipo de Fotos: FOTODYNE Model 3-1000 POLAROID* MP4 LAND CAMERA 44-01
- f. Transiluminador: Hoefer Scientific instruments. Model UVVIS-20
- g. Multiblock Heater
- h. Centrifuga
- i. Microcentrifuga
- j. Termociclador MJ RESEARCH
- k. Congelador -20°C

ANEXO 2. TABLAS ESTADISTICAS

a) **Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados con el sexo, procedentes del INER.**

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada.

Sexo	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
Femenino	12	10.18	30	31.82	42
Masculino	14	5.82	20	18.18	24
Total	16	16	50	50	66

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva no tiene relación con el sexo.

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva tiene relación con el sexo.

Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{Tablas}$

Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{Tablas}$

Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 1

Δ $X^2_{Tablas} = 3.841$

$$X^2 = \frac{(12-10.18)^2}{10.18} + \frac{(4-5.82)^2}{5.82} + \frac{(30-31.82)^2}{31.82} + \frac{(20-18.18)^2}{18.18} = 1.0984$$

b) **Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados con el sexo, procedentes del INER.**

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada

Sexo	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
Femenino	19	21.64	23	20.36	42
Masculino	15	12.36	9	11.64	24
Total	34	34	32	32	66

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental no tiene relación con el sexo.
- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental tiene relación con el sexo.
- Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 1
- Δ $X^2_{\text{Tablas}} = 3.841$

$$X^2 = \frac{(19-21.64)^2}{21.64} + \frac{(15-12.36)^2}{12.36} + \frac{(23-20.36)^2}{20.36} + \frac{(9-11.64)^2}{11.64} = 1.8268$$

c) **Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados con el diagnostico clínico, procedentes del INER.**

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada

Diagnostico clínico	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
DNU	8	3.88	8	12.12	16
ERGE	5	7.27	25	22.72	30
CA	3	2.42	7	7.58	10
Otros	0	2.42	10	7.58	10
Total	16	16	50	50	66

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva no tiene relación con el Diagnostico clínico.
- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva tiene relación con el Diagnostico clínico.
- Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 3
- Δ $X^2_{\text{Tablas}} = 7.815$

$$X^2 = \frac{(8 - 3.88)^2}{3.88} + \frac{(5 - 7.27)^2}{7.27} + \frac{(3 - 2.42)^2}{2.42} + \frac{(0 - 2.42)^2}{2.42} + \frac{(8 - 12.12)^2}{12.12} + \frac{(25 - 22.72)^2}{22.72} + \frac{(7 - 7.58)^2}{7.58} + \frac{(10 - 7.58)^2}{7.58} = 10.3556$$

d) **Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados con el diagnostico clínico, procedentes del INER.**

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada

Diagnostico clínico	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
DNU	8	3.88	8	12.12	16
ERGE	5	7.27	25	22.72	30
CA	3	2.42	7	7.58	10
Otros	0	2.42	10	7.58	10
Total	16	16	50	50	66

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva no tiene relación con el Diagnostico clínico.

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva tiene relación con el Diagnostico clínico.

Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{Tablas}$

Δ No rechazar Ho si $\chi^2_c < \chi^2_{Tablas}$

Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 3

Δ $X^2_{Tablas} = 7.815$

$$X^2 = \frac{(11 - 8.24)^2}{8.24} + \frac{(18 - 15.45)^2}{15.45} + \frac{(5 - 5.15)^2}{5.15} + \frac{(0 - 5.15)^2}{5.15} + \frac{(5 - 7.75)^2}{7.75} + \frac{(12 - 14.55)^2}{14.55} + \frac{(5 - 4.85)^2}{4.85} + \frac{(10 - 4.85)^2}{4.85} = 13.3950$$

e) **Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en saliva asociados al sexo, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).**

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada.

Sexo	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
Femenino	8	7.2	28	28.8	36
Masculino	5	5.8	24	23.2	29
Total	13	13	52	52	65

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva no tiene relación con el sexo.

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en saliva tiene relación con el sexo.

Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{\text{Tablas}}$

Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{\text{Tablas}}$

Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 1

Δ $X^2_{\text{Tablas}} = 3.841$

$$X^2 = \frac{(8 - 7.2)^2}{7.2} + \frac{(5 - 5.8)^2}{5.8} + \frac{(28 - 28.8)^2}{28.8} + \frac{(24 - 23.2)^2}{23.2} = 0.2559$$

f) **Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Placa dental asociados al sexo, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).**

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada.

Sexo	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
Femenino	6	5.53	30	30.47	36
Masculino	4	4.47	25	24.53	29
Total	10	10	55	55	65

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental no tiene relación con el sexo.
- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental tiene relación con el sexo.
- Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 1
- Δ $X^2_{\text{Tablas}} = 3.841$

$$\chi^2 = \frac{(6 - 5.53)^2}{5.53} + \frac{(4 - 4.47)^2}{4.47} + \frac{(30 - 30.47)^2}{30.47} + \frac{(25 - 24.53)^2}{24.53} = 0.1055$$

g) Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados al Diagnóstico clínico, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada.

Diagnóstico Clínico	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
DNU	10	3.07	10	16.93	20
PAS	0	6.93	45	38.07	45
Total	10	10	55	55	65

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Saliva no tiene relación con el sexo.
- Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Saliva tiene relación con el sexo.
- Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{\text{Tablas}}$
- Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 1
- Δ $X^2_{\text{Tablas}} = 3.841$

$$\chi^2 = \frac{(10 - 3.07)^2}{3.07} + \frac{(0 - 6.93)^2}{6.93} + \frac{(10 - 16.93)^2}{16.93} + \frac{(45 - 38.07)^2}{38.07} = 26.66$$

h) Total de casos positivos y negativos para *Helicobacter pylori* en Saliva asociados al Diagnóstico clínico, procedentes de la UNAM (Fac. Odontología).

➤ Prueba estadística: Chi cuadrada.

Diagnostico Clínico	PCR +	Frecuencia esperada	PCR -	Frecuencia esperada	Total
DNU	12	4	8	16	20
PAS	1	9	44	36	45
Total	10	13	52	52	65

➤ Regla de decisión.

Hipótesis de trabajo:

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental no tiene relación con el sexo.

Δ Ho= La presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* en Placa dental tiene relación con el sexo.

Δ Rechazar Ho si $\chi^2 > \chi^2_{\text{Tablas}}$

Δ No rechazar Ho si $\chi^2 < \chi^2_{\text{Tablas}}$

Δ $\alpha = 0.05$, G.l = 1

Δ $\chi^2_{\text{Tablas}} = 3.841$

$$\chi^2 = \frac{(12 - 4)^2}{4} + \frac{(1 - 9)^2}{9} + \frac{(8 - 16)^2}{16} + \frac{(44 - 36)^2}{36} = 28.81$$

ANEXO 3

BIBLIOGRAFIA

1. Ahmed Niyaz. (2005) “*23 years of the discovery of Helicobacter pylori: Is the debate over?*” Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, **Vol.4**, Núm.17, Pp.1-3.
2. Ahmed Niyaz; A. Sechi Leonardo. (2005) “*Helicobacter pylori and gastroduodenal pathology: New threats of the old friend*” Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, **Vol.4**, Núm.1, Pp. 1-10.
3. Anzures López Beatriz. (2005) “*Pediatría general*” Rev. Médica del Hospital general de México, S.S. **Vol. 68**, Núm. 3 Pp. 110-119.
4. Araya O. Juan Carlos, Et. al. (2000). “*Helicobacter pylori and chronic gastritis: Relationship between infection and inflammatory activity in a high risk population for gastric cancer*” Rev. Médica de Chile **Vol.128**, Núm.3.
5. Barik A. Salh. Et al. (2007) “*A preliminary study on the genetic profile of cag pathogenicity-island and other virulent gene loci of Helicobacter pylori strains from Turkey*” Infection, Genetics and Evolution **Vol.7**, Núm.4, Pp. 509-512.
6. Belkind Gerson Jaime, M.C.; Basurto Gloria, Newton Oscar, M.C. (2001). “*Incidencia de infección por Helicobacter pylori en una cohorte de lactantes en el estado de Morelos*” Salud pública Méx. **Vol.43**, Núm.2, Pp. 122-126.
7. Benítez Bribiesca Luis. (2004) “*Las estrategias del Helicobacter pylori*” Acta Medica. Grupo Ángeles Servicios de Salud. **Vol. 1**, Núm.1. Pp. 49-50.

8. Berroteran Alejandra; Perrone Marianella. Et.al. (2001). "*Prevalencia de Helicobacter pylori en el estomago y placa dental de una muestra de la población en Venezuela*". Acta Odontológica Venezolana. **Vol. 39**, Núm.2.
9. Black Jacquelyn G. (2005) "*Microbiology. Principles and Explorations*" USA. 6a edic. Edit. WILEY, Pp.659-661.
10. Bosques Padilla Fco. Javier; Et.al. (2003) "*Comparison of Helicobacter pylori prevalence in symptomatic patients in Northeastern Mexico with the rest of the country: It's Association with Gastro intestinal disease*" Archives of Medical Research, **Vol.34**, Núm.1, Pp.60-63.
11. Brenner Hermann; Arndt Volker. (2004) "*Is Helicobacter pylori Infection a Necessary Condition for Noncardia Gastric Cancer?*" American Journal Epidemiology, **Vol.159**, Núm.3, Pp. 252–258.
12. Butt AK; Khan AA; Khan AA; Et.al. (2002) "*Correlation of Helicobacter pylori in dental plaque and gastric mucosa of dyspeptic patients.*" Journal of the Pakistan Medical Association, **Vol.52**, Núm.5, Pp. 196-200.
13. Carmona Sánchez Ramón, Navarro Cano Gregorio. (2003). "*La prevalencia de infección por Helicobacter pylori en pacientes con esofagitis por reflujo gastroesofagico, Estudio de casos y controles*". Rev. Gastroenterología México. **Vol. 68**, Núm.1. Pp. 23-28.
14. Castillo Rojas, Gonzalo; Mazarí Hiriart, Marisa; (2004). "*Helicobacter pylori: Focus on CagA and VacA major virulence factors*". Salud pública de México, **Vol. 46**, Núm.6, Pp. 538-548.

15. Cava Felipe y Cobas Guillermo. (2003). "*Dos décadas de Helicobacter pylori*". VacciMonitor, Núm. 1. Pp. 1-10.
16. Chumpitaz Conde, J; Gutiérrez Manay J. (2006) "*Aislamiento de Helicobacter pylori en Sarro Dental de pacientes con Gastritis del Policlínico Angamos*". Rev. Gastroenterología Perú, **Vol. 26**, Núm. 4. Pp. 373-376.
17. Correa Pelayo; Houghton Jean Marie. (2007) "*Carcinogenesis of Helicobacter pylori*" Gastroenterology, **Vol. 133**, Núm.2, Pp. 659-672.
18. Czinn, Steven J. (2005) "*Helicobacter pylori infection: Detection, investigation and management*". Journal Pediatrics, **Vol. 146**, Núm.3, Sup. 28p. Pp. 21-26.
19. De Sousa, Lilibeth; Vásquez Libia. (2006) "*Aislamiento de Helicobacter pylori en mucosa gástrica, placa dental y saliva en una población de los Andes venezolanos*" Investigación Clínica **Vol.47**, Núm.2, Pp. 109-116.
20. Debrabrata Majumdar, Bebb James. (2007) "*Helicobacter pylori infection and peptic ulcers*" Medicine, **Vol. 35**, Núm. 4, Pp. 204 -209.
21. Dowsett S. A, Archila L, Segreto V. A. (1999) "*Helicobacter pylori Infection in Indigenous Families of Central America: Serostatus and Oral and Fingernail Carriage*" Journal of Clinical Microbiology. **Vol. 37**, Núm. 8, Pp. 2456–2460.
22. Dowsett S.A.; Kowolik M.J. (2003) "*Oral Helicobacter pylori: Can we stomach it*" Critical Rev Oral Biololgy & Medicine, **Vol.14**, Núm.3, Pp. 226-233.

23. Feldman Roger A, P Eccersley A James and Hardie Jeremy M (1998) “*Epidemiology of Helicobacter pylori: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio*” British Medical Bulletin **Vol. 54**, Núm.1, Pp. 39-53.
24. Ferguson, Jr D. A; C Li, N R Patel. Et.Al. (1993). “*Isolation of Helicobacter pylori from saliva.*” Journal Clinical Microbiology, **Vol.31**, Núm.10, Pp. 2802–2804. Chekar para procedimiento
25. Fochesatto, Alejandra Noelia. Et al. (2004). “*Helicobacter y enfermedad gastroduodenal. Bases para el diagnostico y tratamiento*”. Rev. de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina Núm.138. Pp.11-17. pendiente
26. Forman D. (2001) “*Gastric cancer and Helicobacter pylori: a combined analysis of 12 case control studies nested with in prospective cohorts*” Gut. **Vol.49**, Núm.3, Pp. 347–353.
27. Forne, Bardera Lic. Montserrat. (2001) “*Diagnostico de la infección por Helicobacter pylori y tratamiento de la infección en pacientes con ulcera duodenal*” Tesis doctoral en Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona.
28. Germán R. Aguilar, M.S., Ph.D; Guadalupe Ayala, M.S., Ph.D; Et. al. (2001). “*Helicobacter pylori Recent advances in the study of its pathogenicity and prevention*”. Salud Pública México, **Vol. 43**, Núm. 3, Pp. 237- 247.
29. Gómez Martínez Julián. (2001). “*Caracterización molecular de cepas de Helicobacter pylori. Reproducción del modelo animal en ratones y estudio de los mecanismos de la inflamación*” Tesis doctoral en Medicina y Cirugía. Universidad de Barcelona.

30. Gomez Rodriguez B.J; Rojas Feria M. (2004) "*Incidence and factor influencing on Helicobacter pylori infection recurrence*". Revista Española de Enfermedades Digestivas, **Vol. 96**. Núm. 9, Pp. 620-627.
31. González Carlos A. (2002) "*Infección por Helicobacter pylori en niños. ¿Qué podemos hacer?*" Enf. Emerg., **Vol.4**, Núm.1, Pp.9-10.
32. González Carbajal Miguel P, Sevilla Mederos Luis Fausto (2004) "*Alteraciones histológicas de la mucosa gástrica y prevalencia del Helicobacter pylori en pacientes dispépticos*" Rev. Panamericana de Infectología. **Vol. 7**, Núm. 1. Pp. 8-15.
33. González CP; Hernández GH. (1998) "*Helicobacter pylori: su importancia como problema de salud en la comunidad*". Rev. Cubana Med. Gen. Integr., **Vol.14**, Núm.6, Pp. 611-18.
34. González Morales José Eleuterio; Leal Villarreal Lucía. (2004) "*Helicobacter pylori y enfermedad*" Revista Alergia México, **Vol.51**, Núm.6, Pp. 218-25.
35. Goosen, C; Theron, J; Et.al. (2002). "*Evaluation of a Novel Heminested PCR Assay Based on the Phosphoglucosamine Mutase Gene for Detection of Helicobacter pylori in Saliva and Dental Plaque*" Journal of Clinical Microbiology, **Vol. 40**, Núm.1, Pp. 205-209.
36. Grossman Eduardo A. (2001) "*Principles of Bacterial Pathogenesis*" USA. Edit Academic Press., Pp. 509-545
37. Hammar M; Tyszkiewicz T; Wadström T and O'Toole P W. (1992). "*Rapid detection of Helicobacter pylori in gastric biopsy material by polymerase chain reaction*" Journal Clinical Microbiology. **Vol.30**, Núm.1, Pp. 54-58.

- 38.H. Nguyen Anne Marie Et. al. (1993) “*Detection of Helicobacter pylori in Dental Plaque by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction*” Journal of Clinical Microbiology, **Vol. 31**, Num. 4, Pp. 783-787.
- 39.Han Shan-Rui, Christoph-Hans. (2000) “*Helicobacter pylori: Clonal Population Structure and restricted transmission within Families revealed by molecular typing*” Journal of Clinical Microbiology, **Vol.38**, Núm.10, Pp. 3646-3651.
- 40.Hardo P G; Tugnait A; Hassan F. (1995) “*Helicobacter pylori infection and dental care*” Gut. **Vol.37**, Pp. 44-46.
- 41.Harris D Paul.; Godoy F.Alex y Ernesto Guiraldes C. (2001) “*Dolor abdominal, dispepsia y gastritis en pediatría. Rol del Helicobacter pylori*” Rev. Chilena. Pediátrica, **Vol.72**, Núm.2.
- 42.Ishihara Kazuyuki. Et.al. (1997) “*Oral bacteria inhibit Helicobacter pylori growth*” FEMS Microbiology Letters **Vol.152**, Issue 2, Pp. 355-361.
- 43.J. Olivier Brenda, P. Bond Robert. (2006) “*Absence of Helicobacter pylori within the Oral Cavities of Members of a Healthy South African Community*” Journal of Clinical Microbiology. **Vol. 44**, Num. 2 Pp. 635–636.
- 44.Jaakkimainen, R. Liisa. (1999) “*Is Helicobacter pylori associated with non-ulcer dyspepsia and will eradication improve symptoms? A meta-analysis*” British Medical Journal. **Vol.319**, Núm.7216, Pp. 1040-1044.
- 45.Janulaityte-Gunther, Daiva; Et.al. (2005) “*Helicobacter pylori antibodies and gastric cancer: a gender-related difference*” FEMS Immunology and Medical Microbiology **Vol.44**, Núm.2, Pp. 191–195.

46. Janulaityte-Gunther Daiva; Kucinskiene Ruta. (2005) “*The humoral immuneresponse to Helicobacter pylori infection in children with gastrointestinal symptoms*” FEMS Immunology and Medical Microbiology, **Vol.44**, Núm.2, Pp. 205–212.
47. Jiménez Rivera Carolina, Mora Guevara Alfredo (2001) “*Caracterización de pacientes infectados por Helicobacter pylori en el Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica. 1995-1997*” Acta Pediátrica Costarricense, **Vol.15**, Núm.2.
48. Jones M. (2006) “*The role of psychosocial factors in peptic ulcer disease: Beyond Helicobacter pylori and NSAIDs.*” Journal of Psychosomatic Research, **Vol. 60**, Núm.4, Pp. 407-412
49. Krajden Sigmud, Fuksa Milan. (1989) “*Examination of Human Stomach Biopsies, Saliva, and Dental Plaque for Campylobacter pylori*” Journal of Clinical Microbiology, **Vol. 27**, Num. 6, Pp. 1397-1398.
50. Lazcano, Ponce Eduardo César; Hernández, Ávila Mauricio (1997) “*Cáncer: frecuencia, factores de riesgo y medidas de prevención*” Salud pública México, **Vol.39**, Núm.4, Pp.251-252.
51. Lee Richard H., Pan Vivien L. (2005) “*The prevalence of Helicobacter pylori in the Hispanic population affected by hyperemesis gravidarum*” American Journal of Obstetrics and Gynecology **Vol.193**, (3 Pt 2), Pp. 1024–1027.
52. León, Barúa Raúl; Recavarren, Arce Sixto. (2006) “*Helicobacter pylori associated chronic atrophic gastritis involving the gastric body and severe disease by Vibrio cholerae*” Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Vol.100, Núm.6, Pp. 567–572.

53. Li C; Ha T; Ferguson DA Jr.; Et.al. (1996) "*A newly developed PCR assay of H. pylori in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of H. pylori in saliva supports oral transmission.*" Digestive Diseases and Sciences. **Vol.41**, Núm.11, Pp. 2142-2149.
54. Limburg Paul J.; Z. Stolzenberg Solomon Rachael. (2002) "*Helicobacter Pylori Seropositivity and Colorectal Cancer Risk. A Prospective Study of Male Smokers*" Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention **Vol. 11**, Pp. 1095-1099.
55. López, Brea M. (2005) "*La infección por Helicobacter pylori: Premio Nobel de Medicina*" Rev. Esp. Quimioter., **Vol.18**, Num.4, Pp. 271-272.
56. López, Carrillo Lizbeth; Et.al. (1997) "*Infección por Helicobacter pylori y cáncer gástrico en México. Un reto para la prevención y el control poblacional*" Rev. Gastroenterología México; **Vol.62**, Núm.1, Pp. 22-28.
57. Marjarie Kelly Coman. (2006) "*Microbiology a systems approach*" USA. Mc, Graw Hill International Edition, Pp.696-697.
58. Mazari, Hiriart M, López, Vidal Y, Castillo-Rojas G, Ponce de León S, Cravioto A. (2001) "*Helicobacter pylori and other enteric bacteria in freshwater environments in Mexico City*" Archives of Medical Research, **Vol.32**, Núm.5, Pp.458-67. REVIZAR
59. M. Cittelley Diana P, G. Huerta Mónica, D. Martínez Julián. (2002) "*Helicobacter pylori genotypes in non atrophic gastritis, peptic ulcer disease, premalignant lesions and gastric cancer in Colombia*" Rev. Méd. Chile, **Vol.130**, Núm.2.

60. Medina, M. Merino, L. A. Gorodner, J. O. (2004) "*Informe preliminar sobre el estudio de la presencia de Helicobacter pylori en saliva y placa dental*" Universidad Nacional del nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: M-021.
61. Medina, Myriam L. Merino, Luis A. (2005) "*Evaluación del riesgo de infección por Helicobacter pylori en la práctica odontológica*" Universidad Nacional del nordeste, Comunicaciones científicas y tecnológicas
62. Mobley, Harry LT. Et.al. (2001) "*Helicobacter pylori: physiology and Genetics*" Edit. ASM Press.
63. Mohar Alejandro; Ley Catherine; Guarner Jeannette. (2002) "*Alta frecuencia de lesiones precursoras de cáncer gástrico asociadas a Helicobacter pylori y respuesta al tratamiento, en Chiapas, México*" Gaceta Médica de México, Academia Nacional de Medicina de México, **Vol. 138**, Núm. 5, Pp. 405-410.
64. Monique M Gerrits; Arnoud H M Van Vliet. Et.al. (2006) "*Helicobacter pylori and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications*" The Lancet Infectious Diseases, **Vol. 6**, Núm. 11, Pp. 699-709.
65. Munk Petersen, Andreas; Angeliki Krogfelt Karen. (2003) "*Helicobacter pylori: an invading microorganism?*" FEMS Immunology & Medical Microbiology, **Vol. 36**, Núm. 3, Pp. 117-126.
66. Murray Patrick R. Et.al. (2002) "*Medical Microbiology*" 5a ed., Edit. Elsevier Mosby, Pp. 351-354.

67. Musich C Li, P R, T Ha, Ferguson D A, Patel Jr, N R, E Thomas D S Chi and E Thomas (1995) "*High prevalence of Helicobacter pylori in saliva demonstrated by a novel PCR assay*" *Journal of Clinical Pathology*; **Vol.48**, Núm.7, Pp. 662-666.
68. Nasrolahei M, Maleki I, Emadian O. (2003) "*Helicobacter pylori colonization in dental plaque and gastric infection.*" *Journal Gastrointestinal and Liver Disease*. **Vol.12**, Núm.4, Pp. 293-296.
69. N.P. Mapstone, DAF Lynch, FA Lewis; Et.al. (1993) "*Identification of Helicobacter pylori DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR*". *Clinical Pathology* **Vol.46**, Núm.6, Pp.540-43.
70. Olfat Farzad O; Zheng Quing. (2005) "*Correlation of the Helicobacter pylori adherence factor BabA with duodenal ulcer disease in four European countries*" *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **Vol.44**, Num.2, Pp.151–156.
71. Olivares D. y Gisbert J. P. (2006). "*Factors involved in the pathogenesis of Helicobacter pylori infection*". *Rev. Española de Enfermedades Digestivas*, **Vol.98**, Núm.5, Pp.374-86.
72. Okuda K, Kimizuka R, Katakura A, Nakagawa T, Ishihara K. (2003) "*Ecological and immunopathological implications of oral bacteria in Helicobacter pylori, infected disease.*" *Journal Periodontology*. **Vol.74**, Núm.1, Pp.123-128.
73. Pajares, García José María. (2006) "*Descubrimiento de la bacteria de Helicobacter pylori y su impacto en las enfermedades gastroduodenales: Premio nobel 2005, merecido aunque retrasado*". *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, **Vol.72**. Núm.1, Pp. 139-164.

74. Peek RM. (2004) "*Helicobacter pylori and Gastroesophageal Reflux Disease*" Current Treatment Options in Gastroenterology. *Vol.7*, Núm.1, Pp. 59-70.
75. Peralta, Pedrero Ma. Luisa; Lagunes, Espinosa Alma L. (2007) "*Frecuencia de síntomas de ERGE en adultos mayores que acuden a una unidad de medicina familiar*" Rev. Medica Instituto Mexicano del Seguro Social. *Vol.45*, Núm.5, Pp. 447-452. Imprimir para discusión
76. Piñol, Jiménez Dr. Felipe N. y Paniagua, Estévez Dr. Manuel. (1999) "*Mediadores Bacterianos de la inflamación en la gastritis crónica por Helicobacter pylori*" Rev. Cubana Medica; *Vol. 38*, Núm. 4, Pp. 276-83.
77. Premoli, Gloria; González, Ana Julia. (2004) "*Diagnostico de Helicobacter pylori mediante la reacción en cadena de la Polimerasa*" Rev. Cubana Médica Tropical. *Vol.56*, Núm.2, Pp. 85-89.
78. Q. Song, B Haller, D Ulrich, A Wichelhaus, G Adler, G Bode. (2000) "*Quantitation of Helicobacter pylori in dental plaque samples by competitive polymerase chain reaction*" Journal Clinical Pathology, *Vol. 53*, Núm.3, Pp. 218-222.
79. Q. Song, T. Lange, A. Spahr, G. Adler and G. Bode. (2000) "*Characteristic distribution pattern of Helicobacter pylori in dental plaque and saliva detected with nested PCR*" Journal Medical Microbiology. *Vol.49*, Pp. 349-353.
80. Recordati, Camilla; Gualdi, Valentina. Et.al. (2007) "*Detection of Helicobacter spp. DNA in the oral cavity dogs*" Veterinary Microbiology. *Vol.119*, Núm. 2-4, Pp. 346-351.

81. Recavarren, Asencios Rosemary; Recavarren Arc. Sixto. (2002) “*Gastritis crónica atrófica: mecanismos patogénicos por hipersensibilidad celular.*” Rev. de Gastroenterología del Perú **Vol.22**, Núm.3.
82. Rodríguez, María; N Queiroz Dulciene M.M. (2006) “*History of breastfeeding and Helicobacter pylori infection in children: results of a community-based study from northeastern Brazil*” Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, **Vol. 100**, Núm.5, Pp. 470-475.
83. Sans, Cuffí M; Soriano, Izquierdo A. (2000) “*Enfermedad ulcerosa péptica: etiopatogenia, clasificación, manifestaciones clínicas y diagnóstico*” Medicine, **Vol. 08**, Núm. 03, Pp. 121-127.
84. Serrano, Carolina; Díaz, Maria Inês. (2007). “*Relationship between Helicobacter pylori virulence factors and regulatory cytokines as predictors of clinical outcome*” Microbes and Infection. **Vol. 9**, Issue 4, Pp. 428-434.
85. Shanmugarajah, Rajendra. Et.al. (2007) “*Helicobacter pylori, Ethnicity, and the Gastroesophageal Reflux Disease Spectrum: A Study from the East*” Rev. Helicobacter. **Vol. 12**, Issue 2, Pp. 177-183.
86. Sobrino, Faya M. y Domínguez, Muñoz J.E. (2001) “*Enfermedad por reflujo gastroesofágico: aspectos actuales etiopatogénicos y diagnósticos*” Rev. Española de Enfermedades Digestivas. **Vol.93**, Núm.2, Pp. 114-119.
87. Suerbaum, Sebastian and Achtman, Mark. (1999) “*Evolution of Helicobacter pylori the role of recombination*” Trends Microbiology. **Vol.7**, Núm.5, Pp. 182-184.

88. Sugimoto Mitsushige; Furuta Takahisa. (2007) "*Evidence that the Degree and Duration of Acid Suppression are related to Helicobacter pylori Eradication by Triple Therapy*" Rev. Helicobacter, **Vol.12**, Núm. 4. Pp. 317–323.
89. Stingl Kerstin, Altendorf Karlheinz. (2002) "*Acid survival of Helicobacter pylori: how does urease activity trigger cytoplasmic pH homeostasis?*" TRENDS in Microbiology. **Vol. 10**, Issue 2, Pp.70-74.
90. Torres Javier, Leal Herrera Yelda. (1998) "*A Community-Based Seroepidemiologic Study of Helicobacter pylori Infection in Mexico*" The Journal of Infectious Diseases. **Vol. 178**, Núm.4, Pp. 1089–1094.
91. Torres López Javier. Et.al. (2004) "*Infección por Helicobacter pylori en niños y adultos*" Rev. Mexicana del Seguro Social. Núm. 56, Pp. 18-28.
92. Valenzuela E, Jorge. (2004) "*Helicobacter pylori: 20 años después*". Rev. Médica de Chile, **Vol.132**, Núm.11, Pp.1339-1344.
93. Valmaseda, Tania; Gisbert, Javier P. (2002) "*Anticuerpos frente a la citotoxina CagA de Helicobacter pylori en diversas enfermedades gastroduodenales en dos poblaciones diferentes*" Med Clin, **Vol.118**, Núm.3, Pp. 90-93.
94. Vogelmann, Roger and R. Amieva, Manuel. (2007) "*The role of bacterial pathogens in cancer*" Current Opinion in Microbiology **Vol.10**, Núm. 1, Pp.76-81.
95. Whitney, Annette E.; Guarner Jeannette. (2000) "*Helicobacter pylori Gastritis in children and adults: Comparative Histopatologic Study*" Annals Diagnostic Pathology **Vol.4**, Núm.5, Pp. 279-285.

96. Y Yamaji, T Mitsushima, H Ikuma, M Okamoto, H Yoshida, T Kawabe, Y Shiratori, K Saito, K Yokouchi, and M Omata. (2001) "Inverse background of *Helicobacter pylori* antibody and pepsinogen in reflux oesophagitis compared with gastric cancer: analysis of 5732 Japanese subjects" *Gut*. September; **Vol.49**, Núm. 3, Pp. 335–340.
97. Zavala García Dra. Carmen (2002) "Halitosis" *Médica Sur Sociedad de Médicos, AC*. **Vol. 9**, Núm. 4. Pp. 156-160.
98. Zolezzi, Alberto. (1998) "Tratamiento de úlcera péptica" *Rev. De Gastroenterología del Perú*, **Vol. 18**, Sup. No. 1.
99. Zolezzi, Francis Alberto. (2002) "Gastritis atrófica y *Helicobacter pylori*". *Rev. Gastroenterología del Perú*, **Vol. 22**, Num.3, Pp. 197-198.
100. Zúñiga Alemán Gustavo Adolfo (1992) "*Helicobacter pylori*" *Rev. Medica hondureña*. **Vol. 60**, Pp.91-95.
101. Zúñiga, Noriega Jaime Raúl; Bosques, Padilla, Francisco Javier. (2006) "Diagnostic Utility of Invasive Tests and Serology for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Different Clinical Presentations" *Archives of Medical Research*, **Vol.37**, Núm.1, Pp. 123–128.
102. Zúñiga Alemán Gustavo Adolfo. (1992) "*Helicobacter Pylori*" *Rev. Medica hondureño*, **Vol. 60**, Pp. 91-95.

BIBLIOGRAFIAS DE INTERNET

1ª. Cárdenas, Ylec; Castro, Verónica; Et. al.(2006). “*Apoptosis and Helicobacter pylori: a new model for infectious oncogenesis*”. VITAE Academia Biomédica Digital, No. 29.

<http://www.bioline.org.br/request?va06028>, consultada el 22/02/08

2ª. Cervantes, García Estrella. (2006) “*Helicobacter Pylori e infecciones asociadas*”. Rev. Fac. Med. UNAM Vol. 49.

<http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no49-4/RFM49409.pdf>

3ª. García, Campos José Ángel; Alarcón Teresa. “*La infección por Helicobacter pylori*” BioPress.net número 8 / Diciembre 2003.

<http://www.biojournal.net/biopress/articulos/pdf/articulo0803.pdf>

4ª. Herrerías Gutiérrez . J.M., Delgado Bellido. J.D. “*Infección por Helicobacter pylori y cáncer gástrico*”.

http://www.compumedicina.com/gastroenterologia/gastro_240901.htm,
consultada el 1/06/2008

5ª. Padilla Peña Alicia C. et al. “*Electroforesis de ácidos nucleicos en geles de agarosa. Aislamiento y caracterización electroforética de DNA plasmidico*” [en línea] Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales. Disponible en internet:

<http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica/biolmol/pdfs/17%20ELECTROFORESIS%20ACS%20NUCLEICOS%20GELES%20AGAROSA.pdf>

6ª. Premolí, Gloria; Hernández, J. Gregorio. “*INFECCION POR Helicobacter pylori EN NIÑOS E IMPORTANCIA DE LA PLACA DENTAL*” Centro de Investigaciones Odontológicas (CIO). Facultad de Odontología. Universidad de Venezuela.

http://www.saber.ula.ve/db/ssaber/Edocs/pubelectronicas/academia/vol3num6/articulo_3.pdf

7ª. Reyes Susana H. "*Helicobacter pylori: La bacteria que nadie soñó jamás*" Aleph Zero 41, Septiembre - Octubre 2005. Año 10.

<http://hosting.udlap.mx/profesores/miguela.mendez/alephzero/archivo/historico/az41/medicina2005.html>

8ª. Torres, Valadez Fernando. "*Helicobacter pylori*" (2008) Beneficencia Española. Seminario El Ejercicio Actual de la Medicina

http://www.facmed.unam.mx/eventos/seam2k1/2008/ene_01_ponencia.html

9ª. *Cáncer gástrico* www.ejournal.unam.mx/rfm/no47-5/RFM47506.pdf