



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Helicobacter pylori EN PLACA DENTOBACTERIANA Y
SUS MÉTODOS DE DETECCIÓN.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

ULISES GARCÍA PILLADO

TUTORA: Esp. LAURA MARGARITA MÉNDEZ GUTIÉRREZ

ASESOR: C.D. EDUARDO ANDRADE RODRÍGUEZ

MÉXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Quiero expresar mi agradecimiento

A mis padres que siempre han estado a mi lado en todas y cada una de las etapas de mi vida , en la que con su apoyo y amor incondicional he podido lograr cada una de mis metas, que son tuyas también. Metas que no hubiera logrado sin todo el sacrificio, la paciencia y la confianza que siempre han puesto en mi .Los amo

A mi hermana, que siempre he tenido su apoyo y fé en todo lo que me he propuesto, mi mayor cómplice en la vida. Te amo y no hace falta decirlo eres la mejor manis que cualquiera desearía tener, siempre con toda esa alegría y bipolaridad que te caracteriza, eres simplemente la mejor.

A mis padres adoptivos la **Dra. María Elena Tena y el Dr. José Luis Capetillo** que me han apoyado inmensamente tanto en mi carrera profesional y crecer personalmente .Gracias por abrirme las puertas de su vida y formar parte de su familia este logro también es de ustedes que sin su apoyo, regaños, alegrías y todo lo que hemos compartido hubiera sido un poco mas difícil.

A la **Dra. Laura Méndez** mi queridísima tutora fue poco el tiempo que nos conocimos pero forma parte importante en todo este proceso, y gracias por no solo ser la que dirigió este trabajo sino también la amistad que surgió y que seguirá mucho tiempo más.

Mi asesor **Dr. Eduardo Andrade** que me apoyó en todo momento, que tomó mucho en cuenta mis opiniones y que también este trabajo lleva su firma dentro gracias.

A la **Dra. Luz del Carmen** que simplemente la admiro, es una gran persona tan dedicada a lo que hace y sobre todo un ejemplo a seguir , gracias por esos regaños y robarme siempre una sonrisa le estoy profundamente agradecido.

A mis hermanos **Paco y Avelino** que siempre están al pie del cañón pase lo que pase, los quiero y forman parte importante de mi vida.

A toda la banda **Lalo toda tu familia, Nacho ,Dianita, mi huesito Miriam, Angel** y todos aquellos que hemos compartido alegrías, tristezas y logros , seria imposible nombrar a todos, está por demás decir todo lo que siento por ustedes y lo mucho que los quiero gracias por estar a mi lado.

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO** por brindarme todo lo necesario para mi formación como profesionista,y por haber contribuido con mi desarrollo personal.

ÍNDICE

| | Página |
|--|---------------|
| INTRODUCCIÓN..... | 6 |
| 1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS..... | 7 |
| 2. <i>Helicobacter pylori</i> | 9 |
| 2.1 Características generales..... | 9 |
| 2.2 Fisiopatología..... | 10 |
| 2.3 Características de adaptación..... | 11 |
| 2.4 Características de virulencia..... | 12 |
| 2.5 Características de cultivo | 16 |
| 2.6 Epidemiología | 16 |
| 2.6.1 Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en México..... | 17 |
| 2.7 Transmisión..... | 18 |
| 2.8 <i>Helicobacter pylori</i> y su asociación con diversas enfermedades..... | 19 |
| 2.8.1 Úlcera gástrica y <i>Helicobacter pylori</i> | 20 |
| 2.8.2 <i>Helicobacter pylori</i> y úlcera duodenal..... | 21 |
| 2.8.3 <i>Helicobacter pylori</i> y su relación con el cáncer gástrico..... | 22 |
| 3. PERIODONTO..... | 24 |
| 3.1 Ligamento periodontal..... | 24 |
| 3.2 Células..... | 25 |
| 3.3 Sustancia intracelular..... | 27 |
| 3.4 Irrigación..... | 29 |
| 3.5 Inervación..... | 29 |
| 3.6 Histofisiología..... | 30 |

| | |
|---|----|
| 4. PLACA DENTOBACTERIANA..... | 32 |
| 4.1 Formación de la película adquirida sobre el diente..... | 32 |
| 4.2 Colonización por microorganismos específicos..... | 32 |
| 4.3 Formación de la matriz de la placa..... | 35 |
| | |
| 5. PLACA DENTOBACTERIANA COMO RESERVORIO DE <i>Helicobacter pylori</i> | 37 |
| | |
| 6. MÉTODOS DE DETECCIÓN..... | 40 |
| 6.1 Reacción en cadena de la polimerasa | 41 |
| 6.2 Test rápido de ureasa..... | 45 |
| 6.2.1. Propósito..... | 46 |
| 6.3 Cultivo..... | 49 |
| 6.3.1 Recogida de la muestra..... | 49 |
| 6.3.2 Transporte y conservación de la muestra..... | 50 |
| 6.3.3 Procesamiento de la muestra y medios de cultivo.... | 51 |
| 6.3.4 Condiciones de incubación..... | 52 |
| 6.3.5 Criterios para la interpretación de resultados..... | 52 |
| | |
| CONCLUSIONES..... | 55 |
| | |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 58 |

INTRODUCCIÓN.

La infección por *Helicobacter pylori* es una de las infecciones más comunes en el hombre, y una de las enfermedades de mayor prevalencia en el mundo. Afecta a la mayor parte de la población mundial independientemente del nivel socioeconómico, sin embargo, se asocia principalmente a países en vías de desarrollo donde el hacinamiento y las condiciones deficientes de saneamiento ambiental, favorecen su aparición.

La importancia del estudio de *Helicobacter pylori* radica en la fuerte asociación que se ha establecido entre su presencia y la aparición de enfermedades gástricas como gastritis crónica, úlcera péptica, cáncer gástrico y linfoma. A pesar de que se ha estudiado ampliamente, la forma en la que se adquiere la bacteria aún sigue siendo muy discutida; siendo las vías de transmisión más aceptadas la vía fecal-oral, oral-oral e iatrogénica.

Existen diversos estudios en los cuales se establece una importante relación entre enfermedades orales y enfermedades sistémicas. Dentro de este contexto, la finalidad de este trabajo es destacar la importancia de la placa dentobacteriana de la cavidad oral en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, haciendo énfasis en el papel que puede jugar como reservorio permanente o transitorio de este microorganismo; así como su posible relación con la infección, evolución de la enfermedad y la posible reinfección. Así mismo este trabajo se enfoca en conocer las técnicas y los medios de diagnóstico para la detección de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral.

Desde el punto de vista odontológico es de particular interés el estudio de la transmisión de esta bacteria, pues su reservorio no solo se encuentra en la mucosa gástrica sino también en la placa dental; así, la terapia de erradicación de *Helicobacter pylori* debe acompañarse con medidas preventivas a nivel bucal como coadyuvante para la disminución de las patologías gástricas asociadas a eventos de reinfección.

1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

La presencia de bacterias espirales en el estómago humano fue descrita por primera vez por Kreintz en 1906. A principios de los años 80s, en Australia, el patólogo Robin Warren (fig2) redescubrió la bacteria y estableció por primera vez su relación con la inflamación y úlcera gástrica.

Robin Warren animó al médico gastroenterólogo Barry Marshall (fig1) a intentar aislar la bacteria; los intentos de cultivar la bacteria resultaron infructuosos hasta que, casualmente, muestras de biopsias quedaron olvidadas durante las vacaciones de Semana Santa de 1982. A la vuelta de las vacaciones, Marshall observó la presencia de bacterias que no correspondían a ninguna especie conocida y que llamó *Campylobacter Pyloridis* por su parecido morfológico con un *Campylobacter spp.*^{31,38} En 1984 se publica en la revista Lancet la asociación de esta bacteria con la gastritis crónica y por primera vez se sugiere que la úlcera péptica pudiera ser de etiología infecciosa.³⁸



Fig.1. Barry Marshall y Robin Warren.²¹

Es hasta 1989 que se publica el nuevo nombre de *Helicobacter*, gracias a que el análisis de secuencias del ácido ribonucleico ribosomal 16s demostró que *Campylobacter* y *Helicobacter* son dos géneros diferentes.

Finalmente en 1994 *Helicobacter pylori* es declarado la principal causa de ulcera péptica y en ese mismo año la Agencia Internacional para la Investigación de Cáncer de la Organización Mundial de la Salud, lo refiere como un agente cancerígeno en humanos.³⁸

Paralelamente a estos estudios, se logró establecer la presencia de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral. En 1989 se reportó por primera vez el aislamiento de la bacteria a partir de la placa dental de pacientes con enfermedad gástrica asociada a la infección por *Helicobacter pylori*.^{1,6}

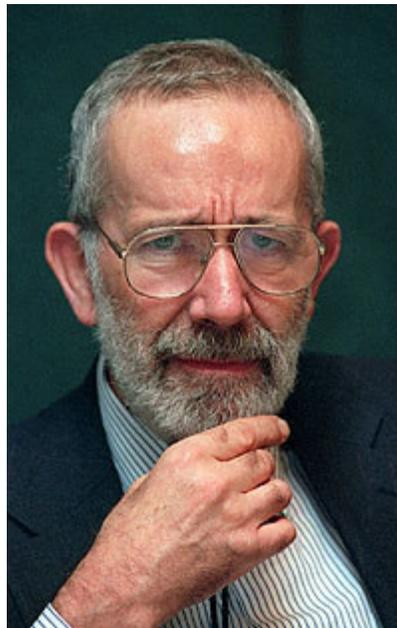


Fig.2. J.Robin Warren imagen tomada en 1997.²⁰

2. HELICOBACTER PYLORI.

2.1 Características generales.

Helicobacter pylori es un bacilo Gram negativo en forma de espiral “S” o de “U” que mide aproximadamente 3.5 por 0.5 micrometros con muchas características semejantes a otras especies de *Campylobacter*. Posee múltiples flagelos en uno se sus polos (de 5 a 6) lo que la hace altamente móvil lo que aumenta su patogenicidad (Fig 3). Posee un glucocalix de 40nm de grosor que le permite unirse a las microvellosidades de las células epiteliales, dando un aspecto de estar unidas por hilos. ^{22,38,39,40,41}

Es un microorganismo microaerófilico, oxidasa y catalasa positivo. Una de las características de esta bacteria es ser gran productor de ureasa que le permite catalizar la reacción de la hidrólisis de urea hacia bicarbonato y amoníaco creando un microambiente alcalino que lo protege de la acción del jugo gástrico. En cultivo duradero o con exposición a oxígeno las bacterias asumen forma de cocos.



Fig. 3. Microfotografía electrónica de *Helicobacter pylori*.¹⁹

2.2 Fisiopatología.

Helicobacter pylori habita exclusivamente en la mucosa gástrica aunque puede encontrarse en zonas muy alejadas donde existen células de epitelio gástrico, como sería el esófago, duodeno o en el divertículo de Meckel . Se considera como un microorganismo oportunista y que, de hecho, se encuentra en diversos órganos como corazón, pulmón, encías y placa dentobacteriana . Sin embargo, la mayor cantidad de bacterias se encuentra en el estómago, principalmente en el área antral.^{39,40,41}

Para que *Helicobacter pylori* llegue a colonizar la superficie gástrica se vale de su movilidad, su forma espiral y la actividad de ureasa. Este microorganismo coloniza la superficie gástrica en una capa semipermeable del moco que tapiza el lumen del estómago; para ello requiere rodearse de un espacio periplásmico que le ayude a mantener un pH relativamente alcalino en un ambiente microaerofílico.

En condiciones normales el pH gástrico en humanos es muy variable. Se considera que el lumen tiene un pH promedio de 1.4, que baja durante la noche al no existir alimento que actúe como amortiguador. El pH de la superficie gástrica es significativamente más alto, y es posible que alcance la neutralidad gracias a la presencia de una barrera mucosa y la secreción de bicarbonato; mientras que el pH de la luz de las glándulas del fundus es mucho más bajo pues es ahí donde se produce ácido clorhídrico.^{39,40,41}

Helicobacter pylori es un microorganismo muy sensible a cambios de pH; cambios de un orden de magnitud son suficientes para que se detenga su reproducción o muera. Solo puede vivir en un pH periplásmico de 4.0 a 8.0 y su crecimiento y reproducción se favorecen en un pH de 6.0 a 8.0; de aquí la importancia de la actividad de la ureasa para producir un entorno más alcalino superior a 6.0.^{39,40,41}

2.3 Características de adaptación.

Helicobacter pylori es capaz de adaptarse a las condiciones de su microambiente gracias a diferentes mecanismos:

Membrana

Al ser un microorganismo Gram negativo *Helicobacter pylori* posee dos membranas que propician un espacio periplásmico. El pH de este espacio es importante para su supervivencia, desarrollo y reproducción. (fig4)

Las características químicas de ambas membranas le permiten desarrollar diferentes mecanismos de respuesta ante una acidificación aguda o crónica del medio. La composición lipoprotéica de ambas membranas proporciona un grado de resistencia adaptativa a la acción del ácido cuando el microorganismo se expone directamente a la acidez del lumen durante el tránsito.^{39,40,41} Esta protección transitoria le permite llegar a su blanco para poder establecerse y desarrollarse en el medio ambiente gástrico.

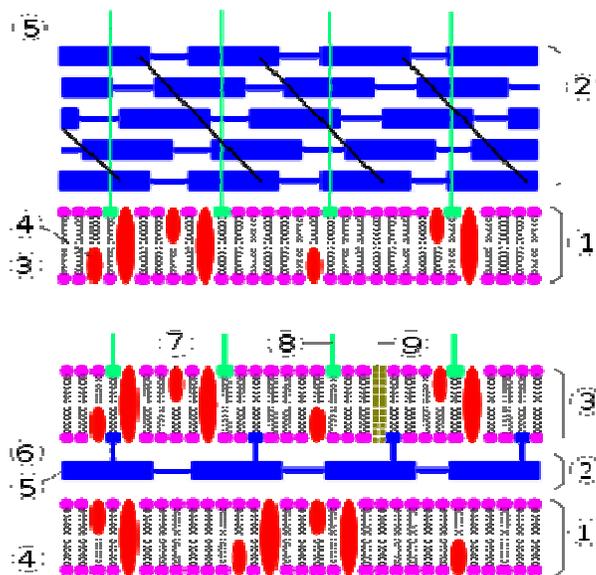


Fig.4. Comparación de las envolturas celulares. Arriba Bacteria Gram positiva. Abajo bacteria Gram negativa.¹⁹

Ureasa

La ureasa que produce *Helicobacter pylori* puede encontrarse en dos formas diferentes: libre y unida a la superficie de la bacteria. Ambas catalizan en un pH óptimo entre 7.5 y 8.0, de tal manera que al encontrarse en un pH muy bajo su actividad disminuye, lo mismo que su capacidad protectora.^{39,40,41}

Modificación del moco gástrico

El moco que se produce en el estómago se adhiere a la pared gástrica y presenta diferentes valores de pH. En la superficie que mira hacia la luz gástrica, el moco tiene un pH bajo (de 1.0 a 2.0) mientras que en el lado que mira hacia el epitelio el pH es casi neutro [REF] y es ahí donde *Helicobacter pylori* encuentra las condiciones óptimas para vivir. Una vez establecido, *Helicobacter pylori* es capaz de producir enzimas proteolíticas que afectan la capacidad del moco para regular el pH. La disminución del moco en los tejidos inflamados es característica de la gastritis asociada a *Helicobacter pylori*.^{39,40,41}

2.4 Características de virulencia.

La virulencia califica la patogenicidad a través de varios factores. Las características de virulencia que posee un microorganismo son utilizadas para producir daño en los tejidos y defenderse de las condiciones adversas del ambiente; en el caso de *Helicobacter pylori* le permiten colonizar la mucosa gástrica del estómago, inducir daño en los tejidos y liberarse de los mecanismos de defensa del huésped.^{39,40,41} (Fig 5)

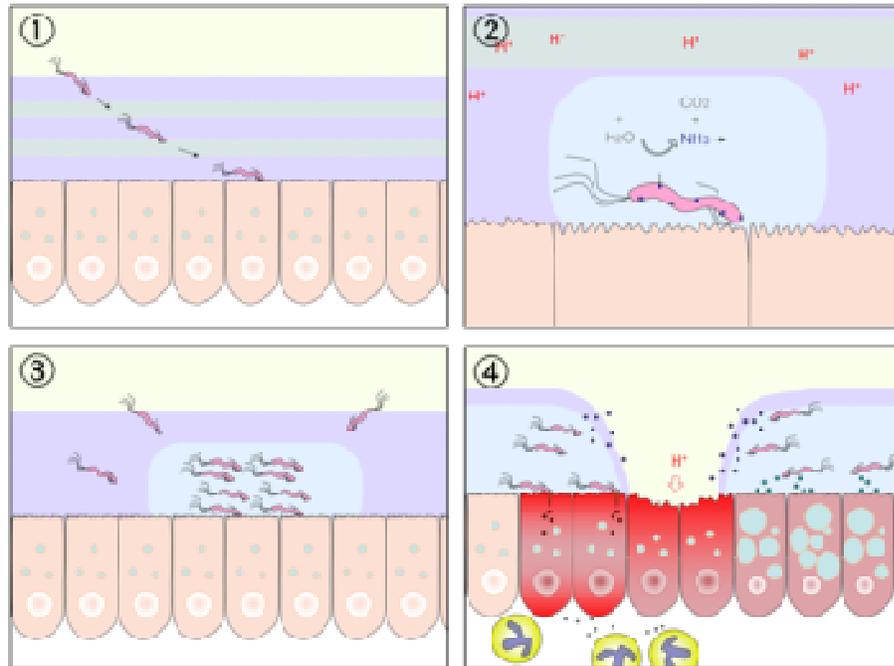


Fig. 5. Modo de infección de *Helicobacter pylori*.¹⁹

Entre las características de virulencia de *Helicobacter pylori* podemos destacar:

Estructura espiral: La estructura en espiral de la bacteria le permite introducirse a través de la capa de moco gástrico actuando de forma similar a un sacacorchos y favoreciendo el acercamiento a las células epiteliales gástricas.

Movilidad: *Helicobacter pylori* posee de 4 a 6 flagelos polares que le confieren una gran movilidad que le permiten llegar a la mucosa sin ser eliminado por los mecanismos defensivos del huésped. (fig 6)

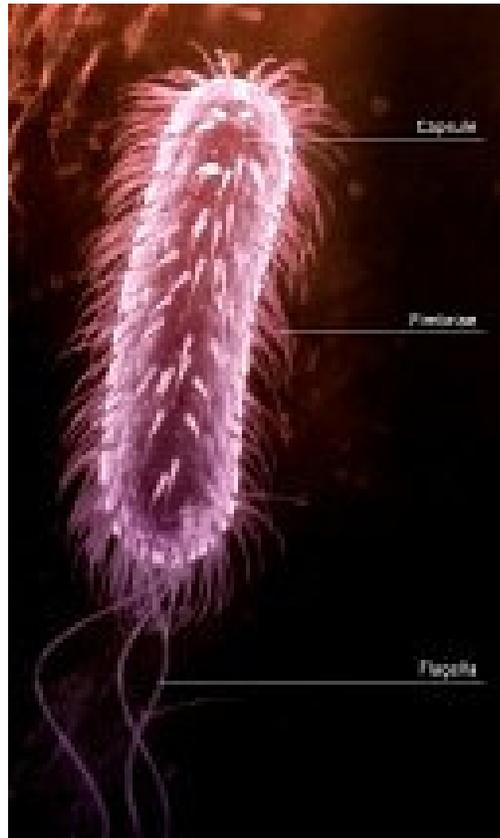


Fig.6. Microscopia electrónica de *Helicobacter pylori*.²³

Adhesinas: Posee una gran variedad de adhesinas, proteínas que se unen a lípidos asociados a membranas y a carbohidratos, que reconocen de forma específica a los receptores de la mucosa gástrica y se unen a ellos comenzando la colonización bacteriana.^{39,40,41}

Estas adhesinas, como BabA y SabA, además de ser necesarias para el establecimiento de la bacteria, son importantes para producir la inflamación y promover el daño en la mucosa gástrica.

Toxina vacuolizante: Se ha descrito la presencia de una toxina que produce la formación de grandes vacuolas en las células eucarióticas. Este efecto lo

producen más de la mitad de los aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori* y aquellos que poseen la toxina se han asociado con cuadros más graves de enfermedad.^{24,29,40,41}

La toxina vaculizante está codificada por un gen denominado vacA que está presente en todos los aislamientos.

Proteína CagA: Se ha descrito la presencia de una proteína codificada por el gen cagA que podría estar implicada en el proceso de activación de la toxina vacuolizante (cagA= gen asociado a citotoxina). La presencia de esta proteína podría influir en la respuesta inflamatoria y aumentar la secreción de interleucina. Algunos autores han observado una clara diferencia en cuanto al proceso de enfermedad que se produce cuando se trata de una cepa cagA+ o cagA-, sin embargo, para otros autores la diferencia no es tan importante.

El gen cagA que codifica para esta proteína, se encuentra localizado en una región del cromosoma que se conoce como Isla de patogenicidad. El término "Isla de patogenicidad" se refiere a una región cromosómica cuyos productos son esenciales para la virulencia.

Ureasa: *Helicobacter pylori* tiene varios mecanismos de resistencia al ácido; uno de los mecanismos más notables se da gracias a la expresión de la enzima ureasa que cataliza la hidrólisis de urea para producir amoníaco que amortigua la acidez gástrica.^{24,39,40,41}

2.5 Características de cultivo.

Helicobacter pylori es un microorganismo de crecimiento lento, toma de 5 a 7 días para poder apreciar las colonias en medios sólidos. Para su desarrollo en cultivo se requieren condiciones particulares de microaerofilia (10% de CO₂) y medios ricos en nutrimentos.³⁸

Crece en un pH neutro y su temperatura óptima es de 35 a 37°C.

2.6 Epidemiología.

Estudios epidemiológicos estiman que más de la mitad de la población mundial esta afectada por *Helicobacter pylori*, pero solo un fragmento desarrolla la enfermedad.^{38,39,40,41}

La prevalencia en adultos es cercana a 30% en Estados Unidos y en otros países desarrollados, mientras que en países en vías de desarrollo la prevalencia alcanza el 80% (Fig 7). Esta infección se adquiere desde la infancia en una edad promedio de 10 años y a pesar de que se observa en todos los niveles socioeconómicos, está estrechamente relacionada con una baja calidad de vida asociada al hacinamiento y al deficiente saneamiento ambiental.^{38,39,40,41}

Por otro lado, se ha observado que los casos aumentan con la edad. Estudios reportan que la seroprevalencia en niños preescolares (1-5 años) es del 6% y en púberes (11-15 años) alcanza el 12%. En edades mas avanzadas el porcentaje aumenta de manera considerable, en edades de entre 16-20 años la prevalencia es del 16%, mientras que para edades de entre 36 y 40 años de 31% .^{34,37,38}

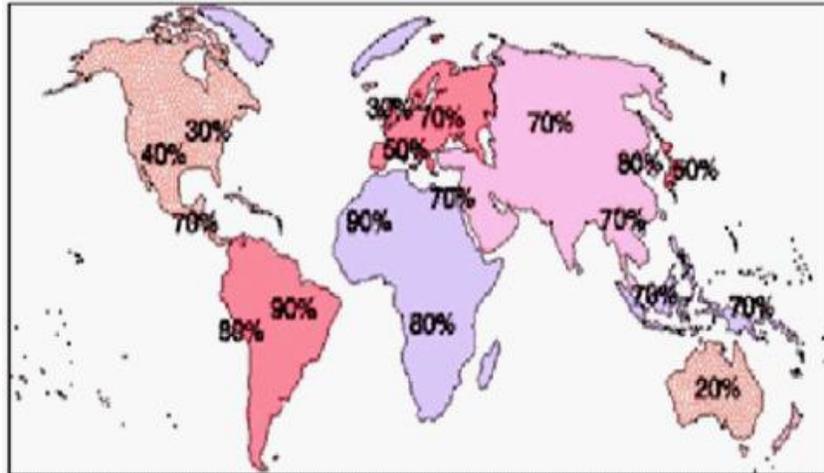


Fig. 7. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en el mundo.¹⁹

2.6.1 Prevalencia de *Helicobacter pylori* en México.

En México se han observado regiones de mayor riesgo para la infección de *Helicobacter pylori*, entre ellas, las zonas altas del estado de Chiapas donde existen grupos indígenas que presentan una alta incidencia de cáncer gástrico asociado al organismo. (fig 8)

En un estudio seroepidemiológico realizado en 1997, se trabajó con un banco de sueros representativo de la población de todos los estados de la republica mexicana (11,605 individuos) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años. Los resultados mostraron que el 20 % de los niños de 1 año de edad presentaron anticuerpos contra *Helicobacter pylori* y que la seropositividad aumento hasta un 50 % en los niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección por el microorganismo se adquirió en edades tempranas y alcanzo un 80% en los adultos jóvenes entre 18 y 20 años de edad.³⁸



Fig.8. Estado de Chiapas.¹⁹

2.7 Transmisión.

Se considera que, a pesar de que el *Helicobacter pylori* esta presente en el estómago de casi la mitad de la población mundial, su mecanismo de transmisión todavía no es del todo claro.^{3,29,31,37-41}

Los reservorios principales de *Helicobacter pylori* en el hombre son la mucosa gástrica, saliva y placa dental; y se propone que su transmisión se puede dar a través de tres diferentes vías: iatrogénica, fecal-oral y oral-oral.³ (Fig 9)

Las principales vías reconocidas de transmisión de *Helicobacter pylori* se describen a continuación:

a) Vía iatrogénica: cuando endoscopios, tubos u otros objetos en contacto con la mucosa gástrica de una persona infectada, son introducidos en otra.

b) Vía fecal-oral: a través del agua y alimentos contaminados.

c) Vía oral-oral: a través de la saliva, lo cual sugiere que la cavidad bucal es un reservorio natural de la bacteria y/o transitorio

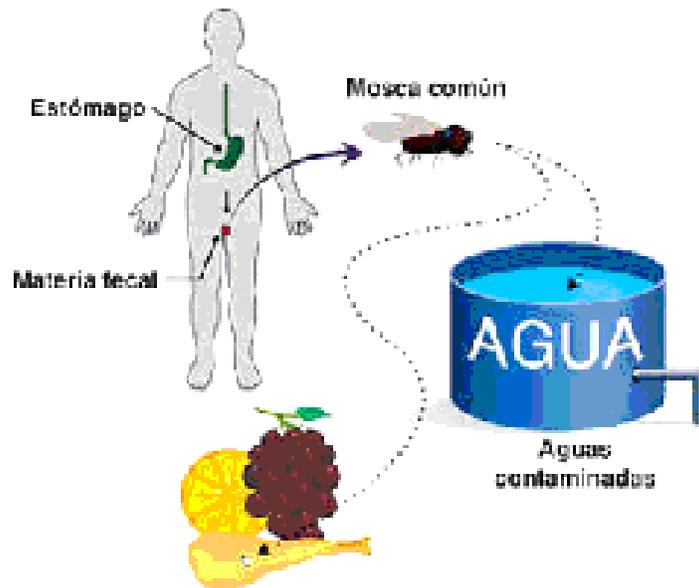


Fig. 9. Esquema de los mecanismos involucrados en la transmisión de la infección por *Helicobacter pylori*.¹

2.8 *Helicobacter pylori* y su asociación con diversas enfermedades.

Las principales enfermedades con las que se ha asociado *Helicobacter pylori* son: Gastritis crónica, úlcera péptica y linfomas.^{30,31,38-41}

Gastritis y *Helicobacter pylori*

Se reconocen dos tipos de esta, Tipo A y Tipo B; de estas, se presume que la Tipo A tiene una etiología autoinmune, mientras que la de Tipo B es causada por la bacteria *Helicobacter pylori*.²⁴

El *Helicobacter pylori* es la causa más común de gastritis crónica inespecífica no erosiva. Puede afectar exclusivamente la región antral, la región glandular del fundus, presentarse como pangastritis o como gastritis atrófica multifocal. La afección antral es la más común, que se conoce también como gastritis tipo B. Puede causar gastritis aguda ocasionalmente.^{24,30,31,38-41}

La gastritis se cataloga histológicamente como superficial cuando la inflamación no se profundiza más allá de las criptas, es decir, cuando no hay afectación glandular. Generalmente, el infiltrado inflamatorio presenta tanto como mononucleares como neutrófilos, y es en estos casos en que se designa como crónica activa; cuando el infiltrado se conforma únicamente por mononucleares, se cataloga como crónica inactiva. La gastritis provocada por *Helicobacter pylori* mejora al erradicar la bacteria y empeora en caso de reinfección. El infiltrado inflamatorio agudo suele desaparecer al cabo de seis semanas de tratamiento, no obstante, la desaparición del infiltrado monocuclear es más gradual, pudiendo requerir hasta un año para su desaparición.^{24,38-41}

2.8.1 Úlcera gástrica y *Helicobacter pylori*.

El *Helicobacter pylori* ha demostrado ser el agente causal más importante de la gastritis crónica además a comprobado ser un factor importante en el desarrollo de la úlcera péptica, presentándose en el 90-100% de las úlceras duodenales y en un 70-90% de las úlceras gástricas, donde comparte un papel muy importante en la patogénesis de las mismas, con el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES). La presencia de gastritis en infección por *Helicobacter pylori* se encuentra en aproximadamente 70% de los pacientes con úlcera gástrica.²⁴ La prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* en pacientes consumidores de AINES oscila entre 22 y 63%. Factores como la edad, grupo étnico y nivel socioeconómico son de

extrema importancia a este respecto. Las úlceras ocasionadas por AINES se forman por un mecanismo distinto al que provoca su formación en pacientes con *Helicobacter pylori*.^{24,38-41} (fig 10)

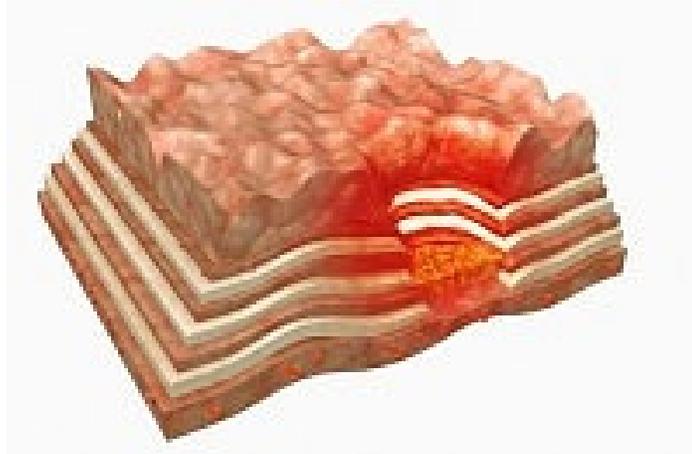


Fig.10.Ulcera crónica de la mucosa gástrica.²³

2.8.2 *Helicobacter pylori* y úlcera duodenal.

La prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con úlcera duodenal oscila entre 95 y 100%. Por el contrario, solo un pequeño porcentaje, alrededor del 10% del total de pacientes infectados desarrolla úlcera duodenal. Se puede concluir entonces que el *Helicobacter pylori* funge únicamente como un factor de riesgo asociado, aunque importante, ya que su erradicación prácticamente cura la enfermedad.²⁴

La úlcera duodenal se acompaña frecuentemente de gastritis antral, respetando en la mayoría de los casos la región del cuerpo y el fundus, lo cual explica por que suelen cursar con elevados niveles de gastrina posprandial y ácido gástrico. Como resultado de la inflamación crónica y el exceso de ácido que llega al duodeno, se afectan los mecanismos de defensa de la mucosa, que le permite la retrodifusión del ácido en las zonas

dañadas, provocando inicialmente erosiones y posteriormente la formación de úlceras.^{24,39-41}

El *Helicobacter pylori* alcaliniza el medio a su alrededor, produciendo amonio a partir de urea; de esta manera interfiere con la retroalimentación habitual de ácido hacia las células G del antro y se produce aumento en la producción de gastrina. La gastrina en exceso estimula más intensamente a las glándulas productoras de ácido, aumenta la masa de células parietales y desencadena hiperacidez secundaria.

El potencial ulcerogénico depende de la cepa de la bacteria así como su capacidad para sintetizar citotoxinas.^{24,39-41}

2.8.3 *Helicobacter pylori* y su relación con el cáncer gástrico.

Los alimentos ricos en sal, nitritos o nitratos se consideran portadores de un alto potencial carcinogénico. En el proceso de carcinogénesis, la sal actúa como irritante gástrico y los nitritos y nitratos pueden convertirse en carcinógenos activos (nitrosaminas).^{24,39-41}

El cáncer gástrico puede dividirse histológicamente en dos tipos, según la clasificación de Lauren: intestinal y difuso.

El de tipo intestinal, el más frecuente mundialmente, suele originarse en el antro gástrico y es más frecuente en hombre que en mujeres. El de tipo difuso suele afectar el cardias y la región del fundus, es solo ligeramente más frecuente en hombres que en mujeres y suele afectar a personas más jóvenes.²⁴

Correa y colaboradores sostienen que la mucosa sufre algunos cambios antes de la aparición del carcinoma de tipo intestinal. Inicialmente se desarrolla gastritis superficial, luego gastritis crónica atrófica, posteriormente ocurre la metaplasia intestinal y displasia, para finalmente aparecer a partir de ellas el carcinoma gástrico de tipo intestinal.²⁴

Aquellos que sostienen que el *Helicobacter pylori* favorece la carcinogénesis postulan los siguiente mecanismos posibles: 1) productos metabólicos de la bacteria transforman la mucosa gástrica,2) el DNA de la bacteria se incorpora a las células del huésped, transformándolas, o 3) la respuesta inflamatoria que induce la bacteria es genotóxica por si sola. Probablemente este último mecanismo sea el mas consistente, sabiendo que la inflamación crónica se ha vinculado causalmente con el desarrollo de otras neoplasias. La proliferación expone el DNA celular a errores espontáneos de replicación. A mayor tiempo de infección mayores probabilidades de una reparación inadecuada y por ende de transformación maligna.²⁴

Existe además una asociación firme entre *Helicobacter pylori* y otra neoplasia gástrica. El tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) puede sufrir transformación maligna y degenerar en linfoma gástrico, conocido también como maltoma. Se ha demostrado que 90% de estos tumores se asocian a infección por *Helicobacter pylori*. La gastrítis asociada a la infección por esta bacteria se caracteriza por presentar numerosos folículos linfoides en la mucosa gástrica.²⁴

3. PERIODONTO.

Se llama periodonto al conjunto de estructuras vecinas que fijan la pieza al alvéolo y pueda resistir cargas de masticación y constituyen entorno vital para la vida de la pieza dentaria (Fig 11).²²

Desde la raíz del diente hacia afuera encontramos:

- Cemento: con sus fibras de Sharpey.
- Ligamento periodontal: tejido conjuntivo muy fibroso.
- Pared alveolar
- Túnica propia gingival o de la encía: tejido blando muy fibroso.

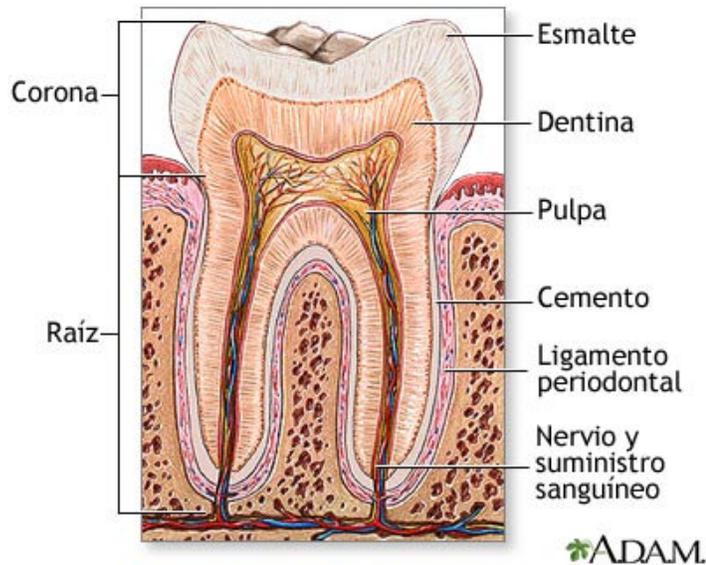


Fig. 11. Estructuras del periodonto.¹⁹

3.1 Ligamiento periodontal.

Es tejido conjuntivo fibroso, muy vascularizado y con inervación, tanto sensitiva como motora. (fig 13)

El espacio periodontal es la distancia entre el cemento y pared alveolar, allí se ubica este ligamento (Fig 12). Si en una radiografía este espacio se ve ensanchado, probablemente se trate de una periodontitis.²²

Con la edad este espacio se reduce y el diente se va anclando al alvéolo. Mide entre 0,15 y 0,4 milímetros. El espacio periodontal es un poco menor en la zona media de la raíz, porque esa zona tiene menos movimiento .²²



Fig. 12. Ligamento periodontal incluido en el espacio entre las raíces (R) de los dientes y la lámina dura o hueso alveolar propio (flechas).¹³

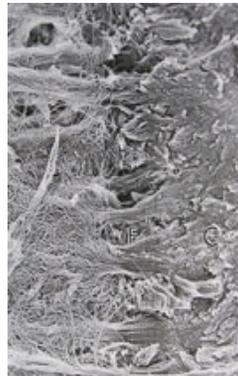


Fig. 13. Microscopía electrónica de barrido, el ligamento periodontal (L) mas cercano a la superficie del cemento (C), claramente demostrando grupos de fibrillas sueltas plexiformes, dentro de fibras bien definidas de Sharpey (F), las cuales entran a la matriz del cemento (C).¹⁴

Como tejido conjuntivo, el ligamento tiene células y una sustancia intercelular.

3.2 Células.

Células de síntesis: fibroblastos (para la zona que atraviesa el espacio), osteoblastos y cementoblastos (Fig 14).

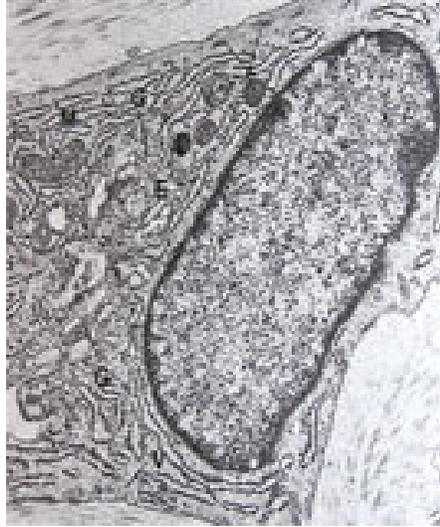


Fig. 14. Fibroblasto bajo microroscopía electrónica. El citoplasma contiene un retículo endoplasmático granuloso bien desarrollado (E) con ribosomas. El aparato de Golgi (G) con un tamaño considerable y las mitocondrias (M) que son grandes y numerosas. Adyacente a la membrana celular, a lo largo de la periferia, se observan muchas vesículas (V).¹³

Células de reabsorción: cementoclastos, osteoclastos; también el fibroblasto actúa como fibroclasto, que por acción enzimática hidroliza las microfibrillas, este remodelado de colágeno explica la erupción pasiva del diente.

Células de defensa: linfocitos, macrófagos, células cebadas .²²

Restos epiteliales de Malassez: están ubicados en el tercio apical, encima del cemento.²² (Fig 15)



Fig. 15. Tinción de hematoxicilia-eosina de restos epiteliales de Malassez .¹⁴

3.3 Sustancia intracelular.

- *Fibras*: la mayor parte son fibras colágenas (ondulantes); también hay fibras de oxytalán, que no son fibras elásticas; en el ligamento no hay fibras elásticas (salvo en las paredes de los vasos).²²
- *Colágenas*: en mayor cantidad, la mayor parte son fibras de sharpey; se les llama fibras principales (hay otras dispersas en el tejido conjuntivo); tienen orientaciones muy definidas y en base a eso se agrupan (Fig 16):
 - *Fibras de la cresta alveolar*: van desde la parte alta del reborde alveolar hasta el cuello del diente.
 - *Fibras horizontales*: trayectoria perpendicular a la superficie del cemento
 - *Fibras oblicuas*: son las más numerosas
 - *Fibras del grupo apical*
 - *Fibras interradicular*, si tiene más de una raíz en el septum o tabique interalveolar. (Fig 17)



Fig. 16. Capa gruesa de fibrillas colágenas enredadas (Cf) adheridas insertadas a la matriz de cemento (C).¹⁴

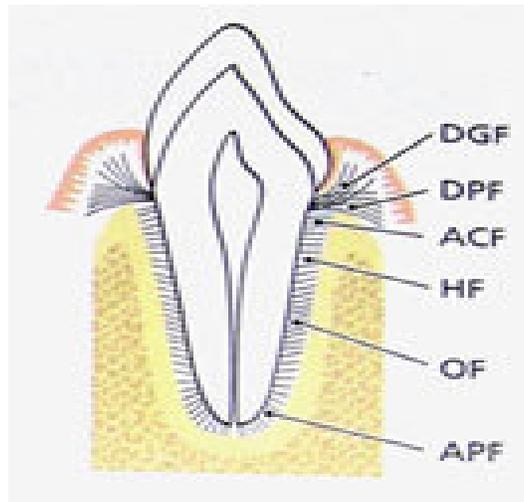


Fig. 17. Fibras de la cresta alveolar (ACF), Fibras horizontales (HF), Fibras Oblicuas (OF), Fibras apicales (APF), Hueso alveolar propio (APF), Fibras dentogingivales (DGF), Fibras dentoperiodontales (DPF).¹³

OXYTALAN: compuesta por unidades pequeñas filamentosas de proteínas. Están agrupados de una forma parecida a las proteínas elásticas (pero no hay elastina). Son casi paralelas a la raíz dentaria; se insertan en el cemento y el extremo queda libre en el ligamento, donde se asocian a las paredes de los vasos sanguíneos; otras (las menos) se insertan en el alvéolo y terminan en vasos sanguíneos.²²

Se desconoce la función de estas fibras, pero se supone que sirven para acomodar los vasos sanguíneos y evitar que sean apretados por las cargas físicas y movimientos del diente.²²

- ▶ Sustancia amorfa o fundamental: complejos de proteínas con hidratos de carbono, glucoproteínas, mantienen hidratado el tejido.

3.4 Irrigación.

El ligamento está muy irrigado, la que procede de 3 fuentes distintas:

- ☛ Aporte apical: vasos sanguíneos que van a la pulpa, de cuyos troncos salen ramas que irrigan el sector apical del ligamento.
- ☛ Desde la pared alveolar: son los más numerosos (porque el espacio es mayor); los vasos del tejido óseo van dando ramas arteriolares al ligamento.
- ☛ Aporte gingival: los vasos sanguíneos del tejido conjuntivo de la encía irrigan la parte más alta del ligamento.(fig 18)²²

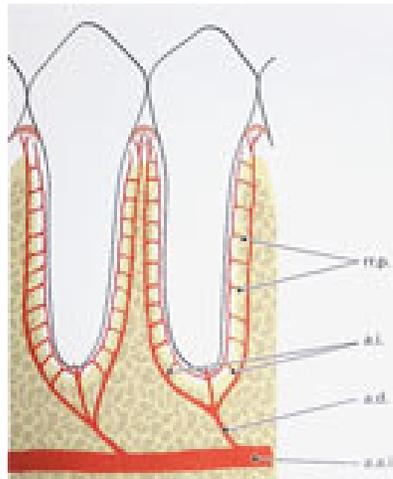


Fig. 18. Irrigación sanguínea de los tejidos dentarios y periodontales. Arteria dentaria (ad), que es una rama de la arteria maxilar superior o inferior (a.a.i). la arteria intratabical (a.i) que se ramifica a partir de la arteria dentaria, en antes de penetrar en alveolo dentario, ramas terminales de la arteria intratabical (*rami perforantes rr.p*)¹³

3.5 Inervación.

- ▲ Motora: dada por el sistema nervioso vegetativo para los vasos sanguíneos arteriolares (vasomotora).
- ▲ Sensitiva:
 - Terminaciones nerviosas libres: receptores de dolor

- Terminaciones nerviosas espiraladas: están enrolladas alrededor de fascículos de fibras principales; son receptores de presión y tensión (mecanorreceptores). No producen percepción sensorial, sino que regulan automáticamente el ciclo masticatorio.

Esta inervación tiene un rol protector en la pieza dentaria, ya que frente a un cuerpo extraño o dolor hacen disminuir la fuerza de masticación.²²

3.6 Histofisiología.

La erupción del diente se explica porque las microfibrillas están siendo remodeladas por los fibroblastos, que desunen este colágeno y lo vuelven a unir. Este remodelado del colágeno se produce en una zona media; las cadenas cortadas se unen con las de la fibra que estaba más arriba. Romper algunas cadenas de tropocolágeno no afectan la resistencia de la fibra de colágeno. Esto es válido para el fenómeno de la erupción dentaria y para la erupción pasiva. Antes de que se conociera la ultraestructura del ligamento periodontal, a esto se le llamó plexo intermedio del ligamento periodontal. Este plexo ha sido reemplazado por el dinamismo del colágeno.²²

Con el tiempo, el ligamento periodontal experimenta un fenómeno regresivo, que se traduce en la disminución del grosor del espacio para el ligamento periodontal. Esto se debe a que aumenta la cantidad de cemento que se va depositando en la raíz, con lo que va mineralizando más la fibra de Sharpey.²²

Además, la orientación de las fibras no es tan ordenada, porque las piezas se van desgastando y hay menor actividad del ligamento (por menores cargas mecánicas), lo que conduce a un cierto grado de atrofia del ligamento. Cuando se pierde la pieza dentaria del arco opuesto, el ligamento entra en una regresión definitiva; por erupción pasiva y por disminución de

cargas, el ligamento se reduce al mínimo, quedando el cemento muy cerca de la pared alveolar (anquilosis).²²

Frente a traumatismos o cargas pesadas que producen luxación del ligamento, este tejido tiene una buena recuperación (no como la pulpa). El remodelado puede llevar a una normalización del anclaje de la pieza dentaria, incluso si el diente ha salido del alvéolo. En este caso no hay que lavar el diente con agua, sino con suero fisiológico, tampoco hay que desinfectarlo con alcohol, ni rasparlo (porque se sacan las fibras de Sharpey), y el lugar más indicado para llevar este diente es la boca, o leche. Otro problema es que el trauma haya roto los vasos de irrigación de la pulpa, lo que lleva a necrosis.

Cuando el ligamento se afecta, hay 2 áreas principales de compromiso:

Tercio apical: las defensas orgánicas van a focalizar la infección en la zona apical, destruyendo parte del alvéolo; en este caso el tejido conjuntivo produce una proliferación del ligamento, lo que constituye un granuloma. Donde hay restos epiteliales de malassez, estos pueden proliferar y generan un quiste apical, en el que se necrosan las células del centro, que no alcanzan a ser vascularizadas, formándose una cavidad llena de líquido rodeada de un epitelio.²²

Tercio cervical: las personas mayores disminuyen la frecuencia de caries, pero aumentan las infecciones a la encía; en el surco gingival se acumulan microorganismos y las sales de la saliva lo mineralizan, formando tártaro o sarro; en una primera etapa solo formará gingivitis marginal, pero si se prolonga en el tiempo, la encía se desprende de su inserción de origen, avanzando la infección y destruyéndose el ligamento y la cresta alveolar (esto no necesariamente da síntomas).²²

4. PLACA DENTOBACTERIANA.

4.1 Formación de la película adquirida sobre la superficie del diente.

La formación de la película adquirida sobre la superficie del diente es la etapa inicial en la formación de la placa dental. Sobre la superficie del esmalte comienza a depositarse una película delgada amorfa que oscila entre 0,1 y 1,0 micrómetros de espesor, llamada película adquirida, compuesta por proteínas y glucoproteínas aniónicas unidas a la hidroxiapatita del esmalte. Estas proteínas y glucoproteínas provienen de elementos salivales y del fluido crevicular, así como de los desechos bacterianos y de las células de los tejidos. Los mecanismos que intervienen en la formación de la película sobre el esmalte incluyen fuerzas electroestáticas, tipo Van der Waals e hidrófobas. Es por ello que en la superficie de la hidroxiapatita que posee grupos fosfatos con carga negativa, interactúa con proteínas y glucoproteínas salivales y del fluido crevicular con carga positiva.^{17,16}

La película formada opera como barrera de protección proporcionando lubricación a las superficies e impidiendo la desecación del tejido. Además, posee moléculas que funcionan como sitios de unión para la adherencia de microorganismos y enzimas de origen salival, como lisosimas, amilasas y peroxidasas, que favorecen la colonización bacteriana sobre la superficie de la película.^{17,16}

4.2 Colonización por microorganismos específicos.

La colonización por microorganismos específicos comprende varias fases que involucra la deposición, adhesión, coagregación, crecimiento y reproducción de los microorganismos adheridos sobre la película adquirida.

Luego de formada la película adquirida, ésta es colonizada por microorganismos que residen en la cavidad bucal.

Las bacterias se adhieren a las glucoproteínas de la película adquirida depositada en la superficie del diente, de forma casi inmediata.¹⁶ Algunos mecanismos por los cuales las bacterias se adhieren a la película adquirida son: mediante moléculas específicas, denominadas "adhesinas", presentes en la superficie bacteriana que se unen con receptores específicos de la película; a través de estructuras proteínicas fibrosas, llamadas "fimbrias", que se fijan a la película; por la formación de puentes de calcio (Ca^{++}) y magnesio (Mg^{++}) con carga positiva que permiten la unión de componentes bacterianos cargados negativamente a la película que también posee carga negativa; y a través de polisacáridos extracelulares sintetizados a partir de la sacarosa, que permiten la unión de polisacáridos bacterianos a la superficie de la película. *Streptococcus sanguis*, es el primer microorganismo que se adhiere a la superficie de la película adquirida y como tal, inicia la colonización microbiana en la formación de placa dental supragingival e inmediatamente se adhiere a *Actinomyces viscosus*. (fig 19)



Fig.19 *Actinomyces viscosus*.²³

Algunos señalan que *S. sanguis* y *A. viscosus* son los microorganismos pioneros en la colonización de la placa dental, y que la asociación de estas bacterias con la superficie del diente es considerado como un prerequisite para la colonización posterior de especies de *Veillonella* y *Fusobacterium*.¹⁶ Otras bacterias que inician el proceso de colonización son *Streptococcus* del grupo oralis (*S. oralis*, *S. mitis*), *Actinomyces sp.*, *Neisserias sp.*, y *Haemophilus sp.*¹⁶

Después de siete días de formada la placa dental, las especies de *Streptococcus* continúan siendo el grupo predominante, pero a las dos semanas comienzan a predominar los bacilos anaerobios y las formas filamentosas.

Estos cambios microbianos que se van produciendo van ligados a diversas causas, tales como: antagonismo por competencia de sustratos; producción de H₂O₂; y especialmente por el consumo de oxígeno en el ambiente, por lo que ocurre una sustitución de especies bacterianas Gram positivas facultativas por especies bacterianas anaerobias facultativas y estrictas Gram negativas, proceso llamado Sucesión Autogénica.^{17,16}

Investigaciones realizadas refieren que los microorganismos secundarios que se adhieren a las bacterias presentes en la masa de la placa son *Prevotella loescheii*, *P. intermedia*, *Capnocytophaga sp.*, *F. nucleatum* y *P. gingivalis*; dichas bacterias se adhieren a otras bacterias ya presentes en la masa de la placa dental.¹⁷ Un aspecto que juega un papel preponderante en el crecimiento y posterior maduración de la placa dental, es el fenómeno de coagregación entre células microbianas, en el cual la adherencia de nuevos microorganismos se realiza sobre la primera capa de estos ya unidos a la superficie del diente. Estas interacciones suceden específicamente a través de proteínas de tipo lectinas y menos específicas resultantes de las fuerzas hidrófobas, electrostáticas y de Van der Waals .

Se han descrito coagregaciones entre *S. sanguis* con *A. viscosus*, *A. naeslundii*, *Corynebacterium matruchotii* y *F. nucleatum*, entre *P. loescheii* con *A. viscosus* y entre *Capnocytophaga ochracea* con *A. viscosus*.¹⁶

También entre especies Gram positivas como *Streptococcus gordonii*, *S. mitis*, con *C. matruchotii* o con *Propionibacterium acnes*; entre especies Gram positivas con Gram negativas como *Streptococcus sp.* o *Actinomyces sp.* con *Prevotella sp.* y *Porphyromonas sp.*, *Capnocytophaga sp.*, *F. nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Veillonella sp.* y entre especies Gram negativas como *Prevotella melaninogenica* con *F. nucleatum*.¹⁶

En las últimas fases de la formación de la placa, es probable que predomine la coagregación entre especies Gram negativas anaerobias, como *F. nucleatum* con *P. gingivalis*. Este fenómeno provee las condiciones para la interacción patológica característica de las infecciones periodontales.¹⁶

4.3 Formación de la matriz de la placa.

El crecimiento y reproducción de los microorganismos adheridos sobre la película, pueden conducir a la formación de la placa dental madura. Estos microorganismos existen en una matriz intercelular, la cual está constituida a su vez por productos bacterianos, células (epiteliales, macrófagos y leucocitos), materiales orgánicos (polisacáridos, proteínas, y glucoproteínas) e inorgánicos (calcio y fósforo) derivados de la saliva o del líquido del surco gingival. Esta matriz forma un gel hidratado donde proliferan las bacterias y se producen las interacciones metabólicas entre las diferentes especies.¹⁷ Especies de *Streptococcus* y *Actinomyces*, microorganismos pioneros en la colonización de la placa dental, utilizan el oxígeno lo que favorece el desarrollo de especies anaerobias, a su vez estas bacterias utilizan azúcares como fuente de energía y saliva como fuente de carbono; caso contrario ocurre con las bacterias anaerobias asacarolíticas en la placa madura que usan aminoácidos y péptidos como fuentes de energía.¹⁶

Los productos generados del metabolismo bacteriano como protohemina y hemina, derivado de la descomposición de la hemoglobina del hospedero favorecen el desarrollo de especies de anaerobios como *P. gingivalis*.¹⁶ (Fig.20)



Fig.20. *Porphyromonas gingivalis*.²³

Como consecuencia de estos procesos e interacciones, se favorece el crecimiento y la supervivencia de especies anaerobias en la placa dental, así como, condiciones apropiadas para el desarrollo de periodontitis.

5. PLACA DENTOBACTERIANA COMO RESERVORIO DE *Helicobacter pylori*.

No hay duda de la relación existente entre enfermedades orales con otras enfermedades sistémicas. En tal contexto, las bacterias de la flora bacteriana oral, que alcanza alrededor de 350 especies, para la mayoría de tales bacterias no se ha demostrado un rol específico, conociéndose si una relación entre los Estreptococos orales (*Streptococcus sanguis*; *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*) y *Actinobacillus actinomycetencomitans*, Entre otros con la endocarditis bacteriana; así como infecciones digestivas por *Candida albicans*.¹

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 estos microorganismos que moran en la cavidad bucal. Cuidar la composición de estos micro ecosistemas bióticos permite prevenir enfermedades locales y disminuir las consecuencias asociadas a problemas que tengan relación con su permanencia en boca.²

La comunidad bacteriana de la superficie dentaria forma parte de la microflora, residente o transitoria, del cuerpo humano. Se organiza formando un película (biofilm) a la que se agregan especies bacterianas que establecen relación entre ellas mediante receptores, estructuras y compuestos adherentes, e interacciones iónicas, hasta formar una capa densa que trasciende de la colonización primaria de bacterias que conforman la placa dentobacteriana.^{2,36}

Las bacterias Gram negativas pueden colonizar la placa bacteriana oral y competir por los nutrientes necesarios para la microflora local; también pueden aprovechar ciertas condiciones de menor tensión de O₂ en las zonas dentales posteriores, y dar lugar, a un ecosistema dinámico.³⁸

El *Helicobacter pylori* tiene muy particulares características de colonización, Puede encontrarse en la boca en un pH, entre 6.8-7.2 donde se cree que es atrapada por *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* .^{1,29}

La presencia de *Helicobacter pylori* en la placa dental y en la saliva plantea que la infección oral-oral podría ser la ruta de infección mas significativa. Los pacientes con infección de *Helicobacter pylori* en la boca alguna vez manifestaron reflujos, sin embargo en pacientes sin reflujos, luego de tratamientos antiácidos, no se halló *Helicobacter pylori* en la boca, no obstante que el *Helicobacter pylori* en el estómago fue constante en todos los casos, aun luego del tratamiento. Esto podría probar que el *Helicobacter pylori* es regurgitado desde el estómago. ^{1,39-41}

El ecosistema bucal es muy diferente al del estómago, puede ser la primer residencia de *Helicobacter pylori*. La presencia de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral esta influenciada por varios factores, como lo son la temperatura, pH, potencial de oxido-reducción, la viabilidad de nutrientes.¹¹

Algunos estudios han detectado *Helicobacter pylori* en la microbiota oral en pacientes con enfermedad periodontal, lo que propone que las bolsas periodontales y la inflamación sugiere la mayor colonización de esta bacteria por la baja concentración de oxigeno en estos sitios que es el mejor ambiente dado que la bacteria del *Helicobacter pylori* es microaerofílico.^{10,11,29}

Otros estudios reportan que otras bacterias inhiben el crecimiento de *Helicobacter pylori* produciendo bacteriocina una proteína inhibitoria lo cual afecte la viabilidad de la bacteria en la cavidad bucal, como lo es el *Lactobacillus salivarius* (fig.21) que produce una gran cantidad de ácido láctico lo cual inhibe el crecimiento en un cultivo de *Helicobacter pylori*.¹¹

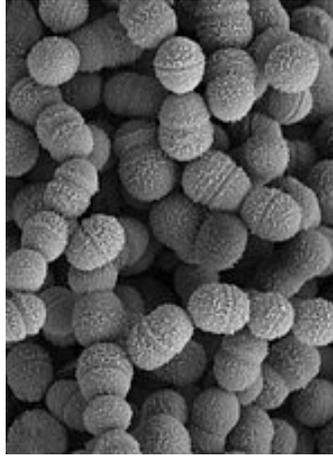


Fig.21 *Streptococcus salivarius*²³

Otros 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 ulcerosa-péptica, posteriores al tratamiento de erradicación, mediante un mecanismo de reinfección.^{30,37,39-41} Adicionalmente se ha propuesto, que la colonización en la placa dental no trasciende a enfermedad local, sin embargo Umeda y cols. (2003) encontraron una alta prevalencia de *Helicobacter pylori* en la placa dental de pacientes con periodontitis.² Sin embargo otros estudios que se realizaron para la detección de *Helicobacter pylori* en un grupo de pacientes de la clínica de odontología Fes-Iztacala³ los resultados no fueron indicativos de la presencia de *Helicobacter pylori* en la placa bacteriana oral.

Otro estudio realizado en Brasil concluyeron que la cavidad oral no es un reservorio para *Helicobacter pylori*.¹¹

6. MÉTODOS DE DETECCIÓN.

En la actualidad existen diversos métodos de diagnóstico para determinar la presencia de *Helicobacter pylori*, los invasivos y no invasivos:

Los invasivos comprenden todas las técnicas de detección del microorganismo en la mucosa gástrica e implican la realización de una endoscopia para obtener muestras.

Los no invasivos se realizan con muestras obtenidas ya sea por saliva, aliento o placa bacteriana oral. La prueba serológica realizada en saliva no es tan sensible ni tan específica como las basadas en suero. La prueba de aliento utiliza urea marcada con C-13 o C-14 y se basa en la capacidad que tiene el *Helicobacter pylori* para hidrolizar la urea mediante su ureasa. Las pruebas de placa bacteriana oral se han trabajado principalmente por técnicas moleculares.³⁹⁻⁴¹

También existe otra clasificación que es por métodos indirectos y directos:

Los métodos directos estudian alguna propiedad del *Helicobacter pylori* (urea rápida, prueba de aliento). Los indirectos detectan la presencia del microorganismo mediante cultivo, tinciones histológicas o por técnicas moleculares como la PCR.³⁸⁻⁴¹

6.1 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

La Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR por sus siglas en inglés, es la técnica más sensible y la que se aplica con mayor éxito en microbiología clínica. En particular, en el caso de patógenos que son difíciles de crecer in vitro o que presentan crecimiento lento, la PCR ha aportado un gran valor diagnóstico. A partir de 1990 se han desarrollado múltiples protocolos que permiten identificar de forma específica y rápida bacterias de diagnóstico difícil, así como detectar la presencia de genes de relevancia clínica como los que codifican resistencia a antibióticos, o los que confieren mayor virulencia a organismos que los portan.^{7,26,27,37,38}

Lo que consigue la PCR es fabricar múltiples copias de una secuencia de DNA mediante un proceso de amplificación que llega a permitir la obtención de microorganismos de DNA a partir de cada molécula inicial: Cualquier segmento de DNA o de RNA puede ser amplificado siempre que se conozcan las secuencias flanqueantes de la región diana o, lo que es lo mismo, podemos amplificar cualquier porción de ácido nucleico, conocido o no, siempre que quede comprendido entre dos secuencias conocidas con las que podrán hibridar oligonucleotidos complementarios que actúan como cebadores para que la polimerasa pueda copiar las hebras molde.³⁸

Se han realizado diferentes estudios con el objetivo de mejorar las técnicas para identificar diversos agentes patógenos. Entre los de uso más reciente y con mayor sensibilidad se encuentran los métodos moleculares.

Los métodos moleculares utilizan fragmentos de ADN para la detección de periodontopatógenos. Se trata de pruebas rápidas, sensibles y específicas, en comparación con los que métodos que utilizan medios de cultivo.^{26,34}

Las técnicas de biología molecular aplican métodos de análisis genéticos para la detección e identificación de microorganismos. Por medio del análisis del material genético (ADN o ARN) específico de cada microorganismo, es posible distinguir e identificar cepas con base en las diferencias de sus genotipos. El diagnóstico molecular ha demostrado ser seguro, rápido, reproducible y discriminatorio, con la gran ventaja de que estas pruebas es que no requieren de microorganismos vivos.

El primer paso para realizar un diagnóstico molecular es la obtención y preparación de las muestras. La detección e identificación de microorganismos en cavidad oral se puede realizar en sangre, saliva, líquido crevicular, placa dental y mucosa oral; pero es posible partir de cultivos puros de microorganismos, si el objetivo es la identificación o caracterización del aislamiento, o su comparación genética.

Esta técnica se basa en sintetizar grandes cantidades de ADN in vitro de manera similar a como la célula lo realiza in vivo. Una reacción típica incluye como reactivos: la molécula de ADN de doble cadena o templado proveniente de la muestra; una enzima polimerasa termoestable (Taq); dos oligonucleótidos iniciadores o primers;(fig 22) una mezcla de desoxinucleótidos trifosfatos (dNTP); buffer de reacción, y magnesio.^{33,36} La reacción se efectúa en un aparato llamado termociclador, el cual permite cambios de temperatura en tiempos ínfimos.

Esta técnica consta de las siguientes etapas:

1. **Desnaturalización** o separación de las cadenas de doble hélice, del ácido nucléico por calentamiento a 90-95 °C.
2. **Annealing** o hibridación. Se enfría la mezcla disminuyendo la temperatura a 40-60 °C, para propiciar que las cadenas sencillas se hibriden con los iniciadores

3. **Extensión.** Se eleva de nuevo la temperatura a 70-75°C y la polimerasa comienza a sintetizar las cadenas complementarias a partir de los iniciadores, usando como molde la cadena sencilla de ADN original, obteniéndose al final una cadena complementaria inicial.

Los productos de cada ciclo se utilizan como moldes para el siguiente, por lo que el número de copias de ADN se duplica cada vez. Los fragmentos de AND obtenidos al final de cada ciclo de esta reacción exponencial, son segmentos de doble cadena que pueden ser analizados en secuencia, tamaño y cantidad; y que pueden utilizarse para buscar material genético de agentes infecciosos en una muestra clínica.

Esto lo hace uno de los métodos con mayor sensibilidad y de los más eficaces en cuanto a diagnóstico periodontal se refiere, ya que es relativamente simple, rápido y permite identificar microorganismos y diferenciar entre cepas con una mínima cantidad de muestra.

La técnica de PCR ha demostrado ser superior al cultivo en términos de sensibilidad, especificidad y eficiencia, lo cual es de gran interés para la detección de microorganismos específicos en estudios epidemiológicos a gran escala. No obstante, pueden producirse reacciones falsas positivas o negativas, por lo cual resulta indispensable efectuar controles durante su ejecución. Los mayores inconvenientes de la PCR son su capacidad para identificar serotipos y su susceptibilidad frente a antibióticos, por lo que posiblemente no sea la técnica ideal para monitorizar clínicamente los resultados de la terapia periodontal. Los factores que pueden alterar la eficacia y especificidad de la PCR incluyen: concentración de polimerasa y magnesio; concentración y pureza de ADN y primer; temperaturas de desnaturalización, annealing y extensión; así como el número de ciclos empleados.

En los últimos años, se han empleado métodos moleculares para la detección de periodontopatógenos, a través de fragmentos específicos de ADN de las bacterias, en numerosos estudios.^{5,6,7,11,33}

Table 1. Polymerase chain reaction primers used to amplify regions of *Helicobacter pylori* genes

| Gene | Name | Primer sequence | Size | Location/accession |
|--------|---------|---------------------------------|--------|-------------------------------|
| Ag | P1 | 5'-TGGCGTGTCTATTGACAGCGAGC-3' | 298 bp | 220-242/M55507 |
| | P2 | 5'-CCTGCTGGGCATACTTCACCATG-3' | | |
| Urease | A | 5'-AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT-3' | 295 bp | 1291-1317/M60398 |
| | B | 5'-AAGCTTACTTTCTAACACTAACGC-3' | | |
| m1 | VA3-F | 5'-GGTCAAAATGCGGTCATGG-3' | 290 bp | 2741-2759/U05676 |
| | VA3-R | 5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAAC-3' | | |
| m2 | VA4-F | 5'-GGAGCCCCAGGAAACATTG-3' | 352 bp | 976-994/U05677 |
| | VA4-R | 5'-CATAACTAGCGCCTTGCAC-3' | | |
| s1a | SS1-F | 5'-GTCAGCATCACACCGCAAC-3' | 190 bp | 866-884/U05676 |
| | VA1-R | 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3' | | |
| s1b | SS3-F | 5'-AGCGCCATACCGCAAGAG-3' | 187 bp | 1037-1055/U05676 ¹ |
| | VA1-R | 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3' | | |
| s2 | SS2-F | 5'-GCTAACACGCCAAATGATCC-3' | 199 bp | 433-452/U29401 |
| | VA1-R | 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3' | | |
| cagA2 | CAG-1 | 5'-AGACAACCTTGAGCGAGAAAG-3' | 320 bp | 1764-1783/X70039 |
| | CAG-2 | 5'-TATTGGGATCTTGGAGGCG-3' | | |
| cagA1 | CagA-F2 | 5'-GATAACAGGCAAGCTTTTGA-3' | 349 bp | 157-176/AF001357 |
| | CagA-R2 | 5'-CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA-3' | | |

¹According to Atherton et al. (5) there are no published coordinates for strains of this type.

Fig.22. Primers usados para la amplificación de genes de *Helicobacter pylori*.¹¹

En un estudio comparativo realizado en Brazil⁶ la detección de *Helicobacter pylori* en placa dental y biopsias gástricas, se evaluó en 99 pacientes adultos (69 mujeres y 30 hombres) la mayoría de zonas de bajo nivel socioeconómico

El DNA de *Helicobacter pylori* fue encontrado en el 96% de las muestras de mucosa gástrica y en un 72% en muestras de placa dental. Lo que sugiere que este patógeno se encuentra simultáneamente en placa dental y la mucosa gástrica y que la infección gástrica se correlaciona con la presencia de *Helicobacter pylori* en la boca.⁶

Sin embargo otro estudio realizado también en Brazil concluyen que la cavidad oral no es un reservorio para *Helicobacter pylori* en el que se evaluaron 43 pacientes con síndrome de dolor epigástrico confirmando la infección en el estómago con test rápido de ureasa y prueba de urea en el aliento. En las muestras tomadas de saliva, dorso de la lengua y placa dental supragingival no fue posible detectar *Helicobacter pylori* en ninguna de las muestras concluyendo que la cavidad oral no es un reservorio para *Helicobacter pylori* y que la bacteria solo es detectada exclusivamente en el estómago.^{11,7}

6.2 Test Rápido de Ureasa.

Consiste en un gel casero que contiene urea un marcador de pH (rojo fenol) la fuerte actividad de la ureasa de *Helicobacter pylori* produce un cambio de color amarillo a rosado.

Esta prueba se utiliza para la detección de *Helicobacter pylori* en biopsias gástricas.^{15,30,32}

Para su uso en la detección en cavidad bucal se toman muestras a nivel gingival o subgingival e inter proximal de zonas dentales posteriores (Fig 23)^{4,6,9,10,12,30} donde hay menor tensión de oxígeno y las biopsias se esparcen sobre el test de la ureasa.



Fig. 23. Zonas indicadas para la toma de muestra para el Test Rápido de Ureasa en cavidad bucal.¹⁹

6.2.1 Propósito.

H. pylori posee una ureasa que le capacita para la colonización y persistencia en la cavidad gástrica. Se localiza tanto en la membrana externa como en el espacio periplásmico y está compuesta por complejos de una estructura hexamérica. La potencia de la ureasa es muy superior a la de otras bacterias, incluida *Proteus spp.* La enzima cumple tres funciones principales: protección frente al ácido de la mucosa gástrica, provisión de nitrógeno en forma de amonio y como factor de virulencia en la patogenia de la úlcera gástrica.¹⁵

El fundamento de la prueba rápida de la ureasa consiste en detectar la presencia de la enzima de la siguiente forma: *Helicobacter pylori* descompone la urea en anhídrido carbónico y amoníaco ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{NH}_3$), lo cual genera un pH básico que va a ponerse en evidencia mediante el cambio de color del medio de naranja-amarillo a rosa fuerte debido a la acción del indicador de pH.^{4,15} (Fig 24)

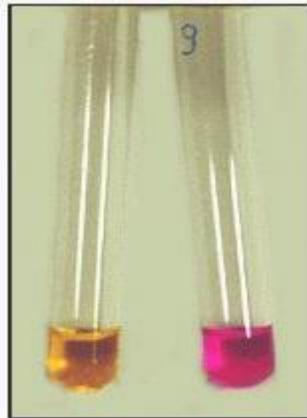


Fig. 24. Test rápido de la ureasa: amarillo = ureasa negativo; rosa = ureasa positivo.¹⁸

La prueba de la ureasa rápida se puede realizar directamente con la muestra de biopsia gástrica, obtenida mediante endoscopia digestiva alta. Se recomiendan dos biopsias, una de cuerpo y otra de antro para el diagnóstico. Las muestras pueden ser inoculadas en la misma sala de endoscopias por lo que no necesitan ningún medio de transporte.¹⁰

Existen diferentes reactivos comerciales dirigidos a detectar la enzima a partir de biopsia. Todos ellos contienen urea a diferentes concentraciones (se estima que hasta un máximo del 6% porque concentraciones superiores pueden inhibir la enzima) y un indicador de pH y varían en el diseño de los mismos: existen "test" de gelosa como Clotest® (Fig 25), HUTtest® (Fig 26) y Hpfast® en los que la muestra se introduce en un medio semisólido que contiene los reactivos, "tests" de membrana, en los que los reactivos están contenidos en una tira de papel, como Pyloriteck® y Pronto Dry® y "tests" en medio líquido como Helicochek®.



Fig. 25. Test rápido de ureasa, CLOtest.¹⁹



Fig. 26. Test rápido de ureasa, HUT Test.¹⁹

En general son sistemas comerciales muy sencillos de utilizar y los resultados se interpretan en un intervalo corto de tiempo (media hora), observando el cambio en el color del reactivo. Los resultados de sensibilidad y especificidad son en general superiores al 80% y 90%, respectivamente.¹⁵

También se puede utilizar una solución preparada en el laboratorio que contenga urea al 3-4% e indicador de pH, sin embargo los resultados de sensibilidad pueden ser algo menores. La solución se puede preparar con 60 g/L de urea, 0,012 g/L de rojo fenol, 2 g/L de KH_2PO_4 , 1 g/L de peptona, 5 g/L de NaCl y 10 g/L de glucosa en agua destilada.

En la Unidad de Gastroenterología del Hospital Universitario de los Andes, se realizó un estudio epidemiológico para determinar la presencia de *Helicobacter pylori* en la placa dental por medio del test de la ureasa comparado con el cultivo del microorganismo.

Se evaluaron 147 pacientes, de los cuales 97(66%) presentan dispepsia y 50(34%) sin dispepsia.⁴

El test de la ureasa en la placa dental resulta positivo en el 99.3% de los pacientes estudiados. Se comparó el test de la ureasa en la placa dental con el cultivo de la misma, se encuentra que 99% son test de la ureasa positivos, pero no hay aislamiento de *Helicobacter pylori* en la placa dental de ningún paciente. Lo que concluye que el test de la ureasa no es un método de detección específico para determinar la presencia de *Helicobacter pylori* en la placa dental.⁴

Sin embargo en un estudio realizado en Turkia ⁹ consideran que el test rapido de ureasa (CLOtest) puede ser la primera línea de diagnóstico para la infección gástrica asociada a *Helicobacter pylori*.⁹

6.3 CULTIVO.

El aislamiento mediante cultivo de *Helicobacter pylori* es sin duda el método más específico en el diagnóstico del microorganismo. No obstante su sensibilidad varía notablemente en relación con diferentes variables como la recogida, transporte y almacenamiento de la muestra, los medios de cultivo utilizados y las condiciones de incubación (porcentaje de CO₂ y humedad, principalmente). Se puede considerar como un método tedioso e incluso de difícil realización, pero debe efectuarse de rutina si se realiza la endoscopia ya que aporta un gran número de ventajas en el estudio de la bacteria. Entre ellas destaca el conocimiento de la sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, la caracterización de factores de virulencia y la posibilidad del tipificado de cepas con fines epidemiológicos.^{7,15,25,28,32,34}

6.3.1 Recogida de la muestra.

La muestra más habitual para el cultivo de *Helicobacter pylori* es la biopsia a partir de mucosa gástrica. El microorganismo se encuentra predominantemente en la parte antral del estómago, excepto en individuos tratados con IBP y antihistamínicos anti-H₂, en los que se encuentran densidades más grandes en el cuerpo. Se encuentra, igualmente en mayor proporción en el antro gástrico en comparación con duodeno incluso en pacientes con duodenitis. Debido a la distribución parcheada se recomiendan varias biopsias para el aislamiento. Para obtener resultados óptimos se requieren cuatro biopsias, si bien se acepta de una manera general y de acuerdo con la clasificación modificada de Sydney que para asegurar un diagnóstico suficiente se deben procesar para cultivo al menos una muestra de antro y, si es posible, dos de cuerpo.^{8,15}

Se han utilizado otras muestras gástricas como jugo gástrico, la obtenida mediante la prueba del hilo ("string test") y el aislamiento a partir de vómitos, aportando diferentes resultados. *Helicobacter pylori* se ha cultivado puntualmente también de muestras exogástricas como placa dental, esófago, recto y vejiga urinaria. Cualquier antibiótico con actividad frente a *Helicobacter pylori* reducirá considerablemente el número de bacterias en el estómago. Si el paciente ha estado en tratamiento con antibióticos es necesario esperar al menos cuatro semanas tras la última dosis para obtener resultados satisfactorios en lo que respecta al cultivo. Otro aspecto importante a tener en cuenta es la limpieza de los fórceps con los que se realizan las biopsias. Estos dispositivos deben desinfectarse adecuadamente para evitar contaminaciones entre los pacientes, si bien si la desinfección es demasiado fuerte puede perjudicar la viabilidad de la bacteria.¹⁵

6.3.2 Transporte y conservación de la muestra.

Helicobacter pylori es un microorganismo lábil y el procesamiento de la muestra debe realizarse de una forma rápida una vez que esta ha sido obtenida. Si el procesamiento es inmediato se debe introducir la biopsia en un tubo estéril con 0,5 ml de suero salino, si bien otros autores recomiendan dejar la muestra sobre la pared del tubo sin introducirla en el suero. *Helicobacter pylori* permanece viable en suero salino hasta 6 horas, de forma que si la siembra se realiza con posterioridad, la biopsia debe introducirse en medio de transporte semisólido para aumentar la viabilidad de la bacteria hasta 48 h si se conserva en nevera a 4°C. No obstante la mejor alternativa parece ser procesar la biopsia durante las cuatro horas posteriores tras la recogida de la muestra.¹⁵

6.3.3 Procesamiento de la muestra y medios de cultivo.

Previa a la inoculación es conveniente realizar una homogeneización de la biopsia bien mediante un mortero de cristal o preferiblemente con un triturador eléctrico en un volumen pequeño de suero fisiológico. El objetivo no es romper completamente el tejido sino mejorar la liberación de las bacterias de la superficie del mismo. Una vez realizada la homogeneización de la muestra se deben colocar dos gotas del homogeneizado en un medio selectivo y otras dos en otro no selectivo. ¹⁵

Helicobacter pylori es un microorganismo capaz de crecer en distintos medios de cultivo si bien requiere diferentes factores de crecimiento. Es difícil de cultivar en medio líquido aunque se logra con menor dificultad a partir de caldo de *Brucella*, cerebro-corazón, Mueller-Hinton y tripticasa soja, todos ellos suplementados con nutrientes, siendo el más común el suero bovino fetal. ¹⁵

Los medios de cultivo sólidos base más frecuentes son agar Mueller-Hinton y agar Columbia y los suplementos más comúnmente empleados son la sangre o derivados de ella. Otros suplementos son el suero de caballo, lisado de eritrocitos y hemina, extracto de levadura, peptona, e Isovitalax, si bien los resultados no son mejores que los obtenidos con suero bovino fetal o sangre. Recientemente se ha mostrado prometedor en el cultivo del microorganismo un extracto obtenido de cianobacterias.

Dos aspectos importantes a considerar en relación con la sangre son, en primer lugar la cantidad utilizada, ya que un aumento en la proporción al 7-10% mejora significativamente el crecimiento en comparación con el 5%. En segundo lugar el tipo de sangre utilizada, encontrándose un crecimiento más denso con sangre de caballo al 10% y lisada al 7%. ¹⁵

Con el objeto de evitar el sobrecrecimiento de contaminantes que pueden acompañar a *Helicobacter pylori* en la biopsia es necesaria la utilización de inhibidores que no afecten su viabilidad. *Helicobacter pylori* es resistente *in vitro* a la vancomicina, sulfametoxazol, trimetoprim, cefsulodina y polimixina B, los cuales pueden utilizarse en los medios selectivos para su aislamiento.¹⁵

6.3.4 Condiciones de incubación.

Helicobacter pylori es un microorganismo microaerófilico que requiere para su crecimiento una atmósfera con las siguientes características: 5-10% de O₂, 5-10% de CO₂ y 80-90% de N₂ a 35-37°C, una humedad del 95% y una incubación de hasta 10 días antes de considerar negativo el cultivo. Estas condiciones se obtienen bien utilizando cabinas de microaerofilia o con sobres comerciales que proporcionen las características anteriores. Estos últimos proporcionan resultados muy buenos pero tienen como inconveniente la necesidad de reemplazar los sobres una vez abiertas las jarras.¹⁵

6.3.5 Criterios para interpretación de resultados.

La identificación se realiza mediante visualización en fresco con un microscopio de contraste de fases para ver la morfología o bien mediante una tinción de Gram (Fig 27). Las pruebas positivas de catalasa, ureasa y oxidasa confirman la identificación como *Helicobacter pylori*.¹⁵



Fig. 27. Tinción de Gram a partir de un cultivo en placa de agar de *Helicobacter pylori*.¹⁸

Una vez realizado el aislamiento se debe subcultivar cada 48-72 horas en medios no selectivos en las condiciones anteriormente expuestas. Las cepas se pueden conservar en caldo tripticasa soja o infusión de cerebro corazón con glicerol al 20% en congelador a -80°C o en nitrógeno líquido (Fig 28).

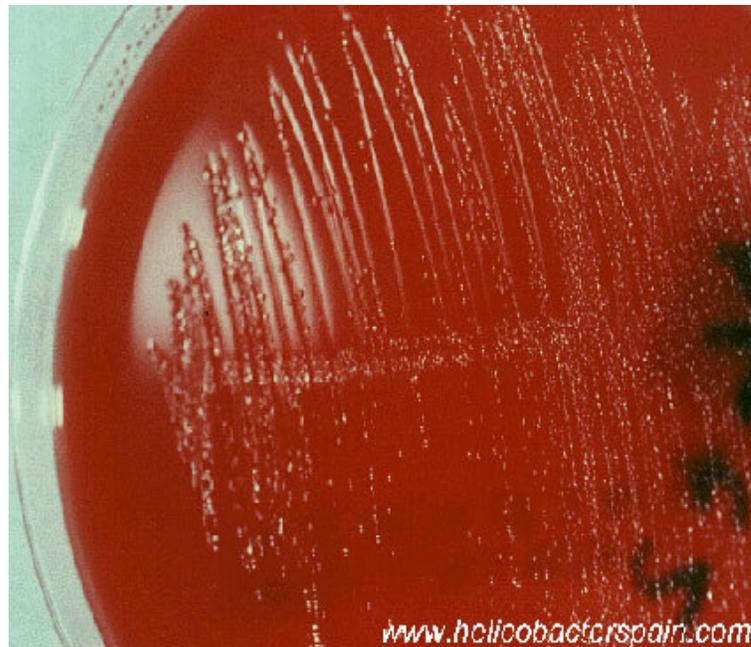


Fig. 26. Cultivo de *Helicobacter pylori*.¹⁸

Un estudio realizado en Perú⁸ detectó la presencia de *Helicobacter pylori* en muestras de sarro dental las cuales se obtuvieron de zonas supragingivales y transportadas en un medio de conservación para el cultivo e incubado en microaerofilia por 5 a 10 días. En una población de estudio de 115 pacientes, en 24 se logró aislar *Helicobacter pylori* en sarro dental.⁸

De esta forma tanto la saliva, la placa dentobacteriana y la enfermedad periodontal han sido implicadas como posibles vías de adquisición de la infección por *Helicobacter pylori*.⁸

CONCLUSIONES.

La infección por *Helicobacter pylori* es una de las infecciones bacterianas crónicas más comunes en el hombre afectando a la mayor parte de la población mundial. Debido a esto, *Helicobacter pylori* es uno de los patógenos más estudiados que actualmente se reconoce como el principal agente causal de enfermedades gástricas.

La presencia de *Helicobacter pylori* en el tracto gastrointestinal está perfectamente establecida, así como su papel en la etiología y curso de diversos padecimientos; sin embargo el papel que juega en la cavidad oral como reservorio, permanente o transitorio, de este microorganismo es aún incierto y controversial. Si bien se reconoce que además de la mucosa gástrica, la saliva y la placa dentobacteriana son los principales reservorios de la bacteria en el hombre, su presencia y etiología en la cavidad oral resultan de gran importancia desde el punto de vista odontológico.

Resulta importante establecer no solo la identificación de la bacteria en muestras provenientes de cavidad oral, sino si existe una relación directa entre las cepas de *Helicobacter pylori* encontradas en cavidad oral y aquellas comúnmente encontradas en tracto gastrointestinal, pues de esa relación puede derivarse una vía óptima de tratamiento y/o medidas preventivas a nivel bucal que disminuyan la patología gástrica por vía directa o por fenómenos de reinfección.

Los esfuerzos para la erradicación de este patógeno engloban el estudio de nuevas técnicas de diagnóstico, tratamiento y prevención que incluyen a la práctica odontológica.

La relevancia de la detección de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana dentro de la práctica clínica odontológica no se relaciona con padecimientos dentales *per se*, pues la presencia de esta bacteria no desencadena procesos patológicos en cavidad oral. Mejor dicho, su relevancia se enfoca al establecimiento de mejores regímenes de salud bucal y su impacto en padecimientos gástricos establecidos y/o en proceso, así como la prevención de posibles reinfecciones post tratamiento antimicrobiano.

Dentro de este contexto, debe considerarse fundamental la elaboración de una historia clínica previa completa que permita reconocer pacientes que pudieran ser objeto de la individualización de planes de tratamiento y prevención especializados dirigidos a impactar favorablemente el curso de los padecimientos gástricos referidos por el paciente.

En este marco, este trabajo se enfoca en la búsqueda y recopilación de información acerca de las técnicas más empleadas para la detección de *Helicobacter pylori* en muestras de interés clínico. Describe tres métodos usados en la actualidad que abarcan métodos de detección tradicionales, como el cultivo microbiológico, pruebas comerciales y de fácil empleo como el Test rápido de Ureasa hasta técnicas más especializadas de diagnóstico molecular como la prueba de PCR.

A diferencia de otras técnicas empleadas, estas tres reúnen las principales particularidades que caracterizan a *Helicobacter pylori* y pueden generar la detección acertada del patógeno en la placa dentobacteriana.

El uso de cualquiera de estas técnicas difícilmente arroja resultados falsos negativos; sin embargo las ventajas de una sobre otra marcan una gran diferencia dependiendo del enfoque del estudio que se realice. Por ejemplo el uso de una técnica de diagnóstico molecular, como la reacción de PCR, permitiría no solo la detección sino también la diferenciación entre cepas de *Helicobacter pylori* para establecer patrones de infección y/o reinfección

basados en huellas genéticas del microorganismo, que pudieran ayudar a la comprensión de la relación entre los factores de invasividad y características individuales de un paciente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Moromi H , ***Helicobacter pylori en la flora bacteriana oral.*** Odontología Sanmarquina Vol.1, No 3, Enero-Junio 1999
2. Premoli G, González A, Agujera L. ***Infección por Helicobacter pylori en niños. Su identificación en la placa dental .*** Revista Mexicana de Pediatría 2005;72:89-93
3. Morteo G, Papone V, ***Helicobacter pylori: un patógeno emergente.*** Su relación con la placa dental. Actas odontológicas.
4. Parlapianno D y col. ***Determinación del Helicobacter pylori en la placa dental por el test de ureasa en pacientes dispépticos.*** GEN 2006; 60:179-182
5. Bürgers R et al. ***Helicobacter pylori in human oral cavity and stomach.*** Eur. J Oral Sci. 2008;116:297-304
6. Baraúna M et al. ***Helicobacter pylori in dental plaque and stomach of patients from Northern Brazil.*** World J. Gastroenterol. 2010;16:3033-3039.
7. Hardo P, Tugnait A, Hassan F, Lynch D, West AS, Mapstone N, Quirke P, Chalmers D, Kowolik M, Axon A. ***Helicobacter pylori infection and dental care.*** Gut 1995;37:44-46
8. Chumpitaz J, ***Aislamiento de Helicobacter pylori en sarro dental de pacientes con gastritis del Policlínico “Angamos”***, Rev. gastroenterol. Perú 2006;26:1-6

9.Kemal A,y col . **Oral colonization of Helicobacter pylori:risk factor and response to eradication therapy**. Southern Medical Journal 2003;96:214-247

10.Al My col. **Is the presence of Helicobacter pylori in the dental plaque of patients with chronic periodontitis a risk factor of gastric infection?** Can J. Gastroenterol. 2009;23:177-179

11.Rossi S et al. **Oral cavity is not a reservoir for Helicobacter pylori in infected patients whith functional dyspepsia**. Oral Microbiology Immunology 2009;24:255-259

12.Taghi M, Fattahi E, Mostofi R, Fattahi S, **Helicobacter pylori in the dental plaque:Is it diagnostic value for gastric infeccion?**,Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006;11:E325-8

13.Jan Lindhe, **Periodontologia clinica e implantologia**,2003 3ª edición Editorial medica panamericana,p 19-67

14. Raspante M, Cesari Cy col. **A histological and electrón microscopio study of the architecture and ultrastructure of human periodontal tissues**. Archives of Oral Biology 2000;45:185-192

15.Cercenado E, Cantón R. **Diagnostico microbiológico de la infección por Helicobacter pylori** . Procedimientos en microbiología clínica 2004

16.Guilarte C, Perrone M. **Microorganismos de la placa dental relacionados con la etiología de la periodontitis**. Acta odontológica Venezolana 2004;42.

17. Carranza F, Newman M, **Periodontología clínica** 1997 8va Edición. Ediciones Mc Graw-Hill Interamericana
18. www.helicobacterspain.com
19. Google imágenes
20. www.elmundo.es.com
21. www.nobelprize.org
22. www.idap.com.mx/apuntes/embriología/ligamento
23. www.visualsunlimited.com
24. Larisch J, Dehesa M. **Infeción por Helicobacter pylori**. Astra Chemicals 1995, fascículo 5.
25. Czesnikiewicz-Guzik M, Karczewska E, Bielanski W, Guzik T.J, Kapera P, Tragos A, Konturek S.J, Loster B, **Association of the presence the Helicobacter pylori in the oral cavity and the stomach**. Journal of Physiology and Pharmacology 2004,55,Supp 12,105-115.
26. Riggio M.P., Lennon A, **Identification by PCR of Helicobacter pylori in subgingival plaque of adult periodontitis patients**. J. Med. Microbiol, Vol 48 (1999),317-322.
27. Song Q, Lange T, Spahr A, Adler G, Bode G, **Charactreristic distribution pattern of Helicobacter Pylori in dental plaque and saliva detected with nested PCR**, J. Med. Microbiol vol,49 (200),349-353.

28. Czesnikiewicz-Guzik M, Bielanski W, Guzik T.J, Loster B, Konturek S.J., ***Helicobacter pylori in the oral cavity and its implications in gastric infection, periodontal health, immunology and dyspepsia.*** Journal of Physiology and Pharmacology 2005,56,Supp6:77-80.
29. Maromi H, ***La cavidad oral, principal fuente de dispersión de Helicobacter pylori.*** Odontol. Sanmarquina 2005;8 (1):28-30.
30. Pradeep s, Nandakumar k, Shenoy K.T, ***Are dental plaque, poor oral hygiene and periodontal disease associated with Helicobacter pylori infection?*** Journal Periodontol 2006;vol 77 number 4:692-698.
31. Morris L. ***Helicobacter pylori: Epidemiology and routes of transmission.*** Epidemiol Rev 2000 Vol.22, No.2:283-297.
32. Sudhakar U, Anusuya C, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R. ***Isolation of Helicobacter pylori from dental plaque: A microbiological study.*** Journal Society of Periodontology; Vol 12, Issue 3, Sep-Dec 2008:67-72.
33. Perrone M, Correnti M, Berroteran A, Lopez T, Avila M, Cavazza M, Lecuna V. ***La placa dental como reservorio de Helicobacter pylori.*** Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2007;27:95-99.
34. Loster B, Czesnikiewicz-Guzik M, Bielanski W, Karczewska E, Loster J, Kalukin J, Guzik T, Majewski S, Konturek S. ***Prevalence and characterization of Helicobacter pylori (H.pylori) infection and colonization in dentists.*** Journal of Physiology and Pharmacology 2009,60,Suppl 8,13-18.

- 35.Allaker R, Young K, Hardie J, Domizio P, Meadows N. ***Prevalence of Helicobacter pylori at oral and gastrointestinal sites in children:evidence for possible oral-to-oral transmission.*** J.Med.Microbiol Vol.51 (2002),312-317.
- 36.Loster B, Majewski S, Czesnikiewicz-Guzik M, Bielanski W, Pierzchalski P, Konturek S. ***The relationship between the presence of Helicobacter pylori in the oral cavity and gastric in the stomach.*** Journal of Physiology and Pharmacology 2006,57,Supp 3,91-100.
- 37.Medina M, MerinoL, Medina M. ***Consideraciones actuales sobre la presencia de Helicobacter pylori en cavidad bucal.*** Instituto de Medicina Regional UNNE,8-10.
- 38.Castillo B, Cuapio A, Perez K, Ramirez C, Torres V, Urzúa R. ***Detección de Helicobacter pylori en muestras de placa dentobacteriana de un grupo de pacientes de la clínica odontológica FES-Iztacala, por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).***
- 39.Gordillo Juarez Olida Oraida.***Helicobacter pylori y enfermedad ácido y enfermedad péptica en pediatría,*** Tesis Especialidad (Especialidad en Pediatría Médica) UNAM, Facultad de Medicina, México 2001,51 p.
- 40.Cruz Garduño Alicia. ***Helicobacter pylori como agente patógeno en el humano.*** Tesis Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo) UNAM, Facultad de Química, México 1995,30p.

41. Zepeda Amescua Mara. ***Helicobacter pylori: bacteria que revoluciona el concepto y tratamiento de la enfermedad ácido péptica.*** Tesis Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo) Universidad La Salle, Escuela de Química, México 200, V 137.