



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

IZTACALA

División de Investigación y Posgrado

Especialización en

Endoperiodontología

PRESENCIA DE HELICOBACTER PYLORI EN PLACA DENTOBACTERIANA
DE PACIENTES QUE ACUDEN A LA CLINICA DE LA ESPECIALIDAD EN
ENDOPERIODONTOLOGIA

Tesis que presenta:

De La Rosa Jara Sofía Dafne

Para la obtención del grado de especialista en Endoperiodontología

Tutor:

Dr. Salvador Arróniz Padilla



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.

INDICE

| | |
|---------------------|---|
| OBJETIVOS | 1 |
| JUSTIFICACION | 2 |
| INTRODUCCION | 3 |

ASPECTOS PATOLOGICOS DEL APARATO DIGESTIVO VINCULADOS CON EL HELICOBACTER PYLORI.

GASTROPATIAS

| | |
|---|----|
| 1.1 Gastritis | 7 |
| 1.1.1 Gastritis aguda | 7 |
| 1.1.2 Generalidades sobre gastritis crónica | 10 |
| 1.1.3 Gastritis crónica por Helicobacter pylori | 13 |
| a) Histopatogenia | 14 |
| b) Características clínicas | 15 |
| c) Complicaciones | 20 |
| d) Diagnósticos diferenciales | 21 |
| e) Tratamiento | 21 |

MICROBIOLOGIA DEL APARATO DIGESTIVO

| | |
|--|----|
| 2.1 Generalidades sobre microbiología del tracto digestivo | 22 |
| 2.1.1 Microbiota oral | 23 |
| 2.1.2 Placa dentobacteriana | 27 |
| 2.2 Flora bacteriana habitual del estómago | 32 |
| 2.2.1 Especies de Helicobacter | 34 |
| 2.2.2 Helicobacter pylori | 35 |
| a) Características de crecimiento del Helicobacter pylori | 37 |
| 2.3 Presencia del Helicobacter pylori en la Cavidad Oral | 37 |
| 2.3.1 Mecanismos de transmisión del Helicobacter pylori | 38 |
| 2.4 Mecanismo de patogenicidad del Helicobacter pylori | 40 |
| 2.4.1 Desarrollo de la enfermedad por Helicobacter pylori | 43 |
| 2.5 Medios diagnósticos para detectar la infección por | 46 |
| Helicobacter pylori | 46 |
| a) Métodos invasivos | 46 |
| b) Métodos no invasivos | 47 |
| 2.5.1 Endoscopia y biopsia | 47 |
| a) Aspecto histológico | 48 |
| 2.5.2 Test de aliento mediante c ¹³ | 49 |
| 2.5.3 Cultivos para Helicobacter pylori | 52 |
| 2.5.4 Serología para Helicobacter pylori | 54 |
| 2.6 Asociación de la PDB con la presencia de Helicobacter pylori | 55 |

| | |
|--------------------|----|
| METODOLOGIA | 57 |
| RESULTADOS | 63 |
| DISCUSION | 67 |
| BIBLIOGRAFIA | 70 |

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana de pacientes que acuden a la clínica de la especialidad en Endoperiodontología.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1.- Identificar si el *Helicobacter pylori* se encuentra presente en placa dentobacteriana.

2- Analizar las características generales del *Helicobacter pylori*.

3- Realizar el diagnóstico oportuno en pacientes al Identificar la presencia de *Helicobacter pylori* en PBD.

4-Contrastar los resultados obtenidos con los reportes de la literatura en relación a la placa dentobacteriana asociada a *Helicobacter pylori*.

JUSTIFICACION

La gastritis es una enfermedad frecuente, pues representa el 70% de las gastropatías en la población. La gastritis puede ser aguda o crónica, siendo la causa principal de la primera, el desequilibrio de los factores protectores como el moco y enzimas digestivas en relación a la presencia de factores irritativos entre los que se incluyen alimentos, fármacos, estrés etc.

La gastritis crónica por lo general, está relacionada a la presencia del *Helicobacter pylori*, bacteria gramnegativa ampliamente implicada y cuya presencia en cavidad bucal ha sido informada en la placa dentobacteriana.

INTRODUCCION

De las gastropatías más frecuentes sobresale la gastritis crónica cuyo principal agente etiológico es el *Helicobacter pylori*, además de que este es un factor necesario para la aparición de úlcera péptica (gástrica duodenal) y está claramente relacionado con el adenocarcinoma gástrico.^{1,2}

El *Helicobacter pylori* es un microorganismo gramnegativo que se comporta como una bacteria hidrófoba y que se encuentra colonizando la mucosa gástrica. No se sabe exactamente cuáles son los mecanismos de transmisión del microorganismo, siendo la cavidad bucal un probable reservorio en el ser humano.^{1,2}

El reconocimiento de que la infección de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* es la principal causa de la gastritis crónica y un factor importante en la patogenia de la misma ha sido una de las aportaciones más relevantes en los últimos años. La erradicación del microorganismo modifica la historia natural de la enfermedad ulcerosa, anulando la tendencia a la recidiva, lo que implica un cambio sustancial en el manejo de la enfermedad.^{3,4}

Actualmente numerosos grupos de investigadores a nivel mundial han inclinado sus estudios para la detección de este microorganismo en la cavidad bucal mediante la determinación radiométrica de la saliva. Dicha técnica resulta rápida, sencilla, económica y además práctica, permitiendo detectar la presencia de este

microorganismo en la saliva, además de servir como un control en pacientes que han iniciado un tratamiento para su erradicación.

Por consiguiente, la valoración de la actividad ureásica en saliva a distintos tiempos, puede ser considerada como un buen marcador de la colonización oral por *Helicobacter pylori*, por lo tanto, se resume que mediante esta técnica se ha podido correlacionar el estado de contaminación de la boca por *Helicobacter pylori* con el grado de infección gástrica por dicho agente patógeno.^{1,3}

Así mismo existen reportes en la literatura en los cuales se asocia ampliamente la gastritis crónica por *Helicobacter pylori* con el aumento de la placa dentobacteriana y que han sido diagnosticadas mediante endoscopia.

En los últimos años se han realizado investigaciones por distintos grupos médicos, referentes al aislamientos del *Helicobacter pylori* de la boca en cultivos de placa dentaria y saliva mediante la determinación por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR), cultivo de la placa dental o de saliva o mediante la prueba de la ureasa rápida, que determina la producción de ureasa por parte de la bacteria.^{1,2,5}

Si bien este último método es confiable para este tipo de determinaciones, no es lo suficientemente sensible; la existencia de bacterias productoras de ureasa en la flora comensal de la boca podría enmascarar los resultados.

Aún no existe consenso sobre la vía más importante de transmisión de la infección por *Helicobacter pylori*, por lo que el modo de transmisión es

ampliamente discutido. Entre las vías propuestas, la de mayor relevancia es la interpersonal, esta incluye a la vía oral-oral, en la cual la cavidad oral juega un papel preponderante como reservorio de la bacteria (placa dental) y la vía fecal-oral. Otras rutas de transmisión propuestas son: alimentaría-oral, zoonótica, vectorial, ambiental, y la vía iatrogénica.²

La transmisión boca a boca se puede producir a través de la saliva, por la presencia de *Helicobacter pylori* y puede actuar como importante reservorio manteniendo la infección, perpetuando el ciclo infeccioso de la bacteria. La erradicación del *Helicobacter pylori* de la mucosa gástrica no se acompaña de la desaparición en la placa dentaria.

De esta forma tanto la saliva como la placa dental han sido implicadas como posibles vías de adquisición de la infección por *Helicobacter pylori*; aún cuando en la actualidad existen numerosos esfuerzos dirigidos a mejorar los métodos diagnósticos para detectar este agente su identificación a nivel bucal se percibe como muy complicada, quizás porque su tasa de recuperación es muy controversial.

Así, mientras que la bacteria pudo ser aislada de la cavidad bucal en algunos estudios; muchos esfuerzos para cultivarla han fracasado, a este respecto algunos investigadores ha sugerido que posiblemente formas cocoides, no cultivables del organismo puedan sobrevivir en la boca.^{2, 4, 5}

Por lo tanto, la cavidad bucal ha sido considerada en los últimos tiempos el reservorio más importante de *Helicobacter pylori* en el hombre, por lo cual resulta obvio que el medio vector para que el mismo alcance el estómago sea la saliva.

La finalidad de este trabajo es determinar la presencia *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana en pacientes que acuden a la clínica de la especialización en endoperiodontología, para relacionar los datos reportados en la literatura con los encontrados clínicamente.^{1, 3}

GASTRITIS

Para los endoscopistas la gastritis es un término que emplean para denotar varias características macroscópicas de la mucosa tales como eritema hemorragias subepiteliales y erosiones; para el patólogo el término denota inflamación histológica.

Resulta igual de frecuente el abuso de este diagnóstico que su infrautilización; se abusa cuando se aplica de forma general a cualquier molestia abdominal pasajera ante la ausencia de pruebas válidas, y se infrautiliza porque la mayoría de los pacientes con gastritis crónica son asintomáticos.

La **gastritis** se define simplemente como una **inflamación de la mucosa gástrica**; la inflamación puede ser predominantemente aguda, con infiltración neutrófila, o crónica, con predominio de linfocitos o células plasmáticas. Es importante hacer la diferencia entre gastritis aguda y crónica.¹⁷

Gastritis aguda

La gastritis aguda es un proceso inflamatorio agudo de la mucosa, generalmente transitorio. La inflamación puede acompañarse de hemorragia en la mucosa y, en los casos más graves, de erosiones de la mucosa superficial; la forma erosiva grave es una causa importante de hemorragia digestiva.

Se cree que actúan uno o más de los siguientes factores:

- ✓ Incremento de la secreción ácida con retrodifusión de la misma hacia la mucosa.
- ✓ Disminución de la producción del amortiguador bicarbonato.
- ✓ Riego sanguíneo disminuido.
- ✓ Rotura de la capa adherente del moco, y
- ✓ Lesión directa del epitelio.

Se han identificado otros posibles agentes lesivos de la mucosa, como la regurgitación de ácidos biliares y lisolecitinas desde el duodeno proximal así como una inadecuada síntesis mucosa de prostaglandinas. Cabe destacar que una parte de los pacientes sufre gastritis idiopática, sin trastornos asociados.¹⁷

La gastritis aguda se asocia frecuentemente a:

- ✓ Consumo abusivo de antiinflamatorios no esteroideos, especialmente aspirina.
- ✓ Consumo excesivo de alcohol y tabaquismo intenso.
- ✓ Infecciones sistémicas, como la salmonelosis.
- ✓ Quimioterapia anticancerosa.
- ✓ Estrés importante como el caso de traumatismos, quemaduras, cirugía.
- ✓ Ingesta de ácidos, álcalis.
- ✓ Irradiación gástrica.
- ✓ Traumatismos mecánicos como en la intubación nasogástrica.

- ✓ Gastrectomía distal.

La presencia de neutrófilos por encima de la membrana basal es anormal y denota una inflamación activa; con una lesión más grave de la mucosa, se puede producir erosión y hemorragia. La erosión denota pérdida del epitelio superficial, que genera un defecto en la mucosa que no cruza la muscularis mucosa. Se acompaña de una infiltración inflamatoria aguda importante, con salida de exudado fibrinopurulento hacia la luz.

Dependiendo de la gravedad de las alteraciones anatómicas, la gastritis aguda puede ser completamente asintomática; puede causar dolor epigástrico variable, náuseas y vómitos, hemorragia franca, hematemesis masiva con rasgos en “posos o sedimentos de café”, melena y pérdida de sangre, potencialmente mortal. Un 25% de personas que toman aspirina diariamente por Artritis Reumatoide (AR), desarrollan gastritis aguda.¹⁷

El diagnóstico diferencial de la gastritis aguda se debe realizar en base al dolor y a la hemorragia gástrica. En cuanto al dolor, debe diferenciarse de:¹⁰

- ✓ Reflujo gastroesofágico
- ✓ Envenenamiento por alimentos.
- ✓ Cáncer gástrico.
- ✓ Gastroenteritis viral.
- ✓ Enfermedad de las vías biliares.

- ✓ Dispepsia Funcional.

En caso de dolor intenso debe considerarse la posibilidad de:

- ✓ Úlcera perforante ó penetrante.
- ✓ Rotura de aneurisma aórtico.
- ✓ Enfermedad pancreática.
- ✓ Vólvulo gástrico.
- ✓ Rotura esofágica.
- ✓ Infarto al miocardio.

Si existe hemorragia gastrointestinal de tracto superior se deberá descartar otras patologías como:

- ✓ Desgarro de Mallory-Weiss
- ✓ Malformaciones Arteriovenosas.
- ✓ Varices esofágicas.

Gastritis Crónica

La gastritis crónica se define como la presencia de alteraciones inflamatorias crónicas de la mucosa que producen finalmente atrofia de la misma y metaplasia epitelial, normalmente en ausencia de erosiones y acompañado de dispepsia y

atipia del epitelio de la superficie. Las alteraciones epiteliales pueden llegar a ser displásicas; y constituyen una base para el desarrollo de carcinomas.¹⁷

La gastritis crónica es notable por sus diferentes subgrupos etiológicos, localización de la enfermedad en el estómago, histología y características clínicas. Los modelos de gastritis también varían en diferentes partes del mundo.

a) Epidemiología

- ✓ En el mundo occidental la prevalencia de cuadros de gastritis es de cerca de 50% de la población.
- ✓ Cabe mencionar que en los últimos años la incidencia a aumentado gradualmente por infección de *Helicobacter pylori*.
- ✓ La gastritis crónica por *Helicobacter pylori* se acompaña con un aumento de 4 a 6 veces en el riesgo de adenocarcinoma gástrico o linfoma clásico de la célula B de grado bajo (MALT).
- ✓ En EUA la incidencia de infección aumenta de menos de 10% en caucásicos menores de 30 años de edad a más de 50% en aquellos mayores de 60 años de edad.
- ✓ Este procedimiento es más frecuente en niños, en los pacientes inmunocomprometidos o en personas con padecimientos crónicos.

- ✓ En México no se conoce la precisión de la tasa de prevalencia de este padecimiento debido a que solamente el Instituto Nacional de Pediatría y de Nutrición han dado muestras claras sobre la prevalencia de este padecimiento.
- ✓ La incidencia es más grande en personas no caucásicas y emigrantes de países en desarrollo y se correlaciona inversamente con el estado socioeconómico.
- ✓ Aunque la infección crónica con *Helicobacter Pylori* se acompaña con gastritis está presente en 30 a 50% de la población la gran mayoría son asintomático y no padecen secuelas.^{13, 17}

a) Tipos de gastritis crónica

Las principales asociaciones etiológicas de la gastritis crónica son las siguientes:

- ✓ Infección crónica, especialmente por *Helicobacter pylori*.
- ✓ Inmunológicas, asociadas a anemia perniciosa, debido a una reacción autoinmune con repercusión en células de la mucosa gástrica (gastritis autoinmune o tipo A).
- ✓ Tóxicas, por ejemplo, por consumo de alcohol y tabaquismo crónicos.

- ✓ Postquirúrgicas, especialmente posterior a antrectomía y gastroenterostomía con reflujo de secreciones duodenales de bilis.
- ✓ Motoras y mecánicas, entre ellas, obstrucción tricobenzoar y atonía gástrica.
- ✓ Radiación en diversos carcinomas malignos.
- ✓ Procesos granulomatosos por ejemplo, enfermedad de Crohn.
- ✓ Gastritis hipertrófica (de pliegues gigantes) o Enfermedad de Ménétrier.
- ✓ Gastritis linfocítica.
- ✓ Gastritis granulomatosa.
- ✓ Otras causas: respuesta injerto-huésped, amiloidosis, uremia.

Gastritis crónica por Helicobacter Pylori

La infección crónica parece ser ahora la principal causa de gastritis crónica, por lo que el Helicobacter Pylori está adquiriendo un papel relevante. Como sabemos, este microorganismo es un bacilo gramnegativo en forma de S, no esporulado, que mide aproximadamente $3.5 \times 0.5 \mu\text{m}$ y está presente en un alto porcentaje de pacientes con gastritis crónica de antro y cuerpo.

Los índices de colonización por Helicobacter Pylori aumentan con la edad, alcanzando el 50% en adultos asintomáticos mayores de 50 años de edad, y

representan la infección gastrointestinal más común. En voluntarios humanos que han ingerido una gran dosis de *Helicobacter Pylori*, se ha desarrollado una gastritis con síntomas agudos en la que este organismo es el patógeno primario.

Más verosímil es la teoría de que la colonización de *Helicobacter Pylori* de la mucosa gástrica, dañada por otros agentes, produce un estado de curación retardada e inflamación de la mucosa crónica. Los mecanismos patógenos siguen sin estar claros, es decir, el papel potencial que tengan las alteraciones en el medio metabólico, la elaboración de toxinas bacterianas, y la inducción de una respuesta inflamatoria en el huésped, aún están bajo investigación.

Los pacientes con gastritis crónica por *Helicobacter pylori* normalmente mejoran con la administración de antimicrobianos y las recidivas están asociadas con reaparición en el organismo. La mayoría de las personas infectadas permanecen asintomáticas pero sufre un mayor riesgo de úlcera péptica y, posiblemente de cáncer gástrico.¹⁷

a) Histopatogenia

La gastritis crónica puede afectar a diferentes regiones del estómago y mostrar los diversos grados de lesión de la mucosa. La gastritis por *Helicobacter Pylori* tiende a afectar predominantemente la mucosa antral. O tanto a la mucosa antral como la del fondo y del cuerpo del estómago. Ahora bien, con independencia de la causa o localización, las características morfológicas son similares.

En gastritis antrales y corporales, *Helicobacter Pylori* está presente en la capa superficial de la mucosa y entre las microvellosidades de las células epiteliales en un 95% de los casos activos. Los microorganismos se encuentran a lo largo de la superficie luminal de las células epiteliales, no invaden la mucosa, esto se demuestra fácilmente con las tinciones de Giemsa o de Warthin-Starry. *Figura 1*

La distribución de los mismos puede ser parcheada e irregular, con áreas de colonización profusa adyacentes a las que no tienen bacilos, incluso en estómagos muy colonizados. Los microorganismos están ausentes en áreas con metaplasia intestinal.¹⁷

Macroscópicamente, la mucosa suele estar enrojecida, y tiene una textura más gruesa de lo normal, puede haber cierto aplanamiento de la mucosa y por otro lado, la inflamación puede crear una mucosa mamelonada con pliegues gruesos y rugosos simulando el principio de una enfermedad infiltrativa. Cuando la gastritis crónica es más grave, la mucosa se hace visiblemente más fina y aplanada. *Figura 2*

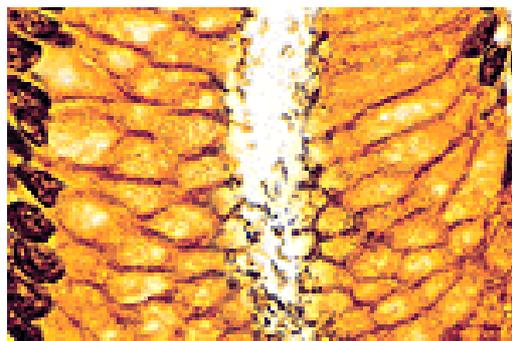


Figura 1. Corte histológico a gran aumento.

En el lumen de una fovea se observan bacilos (en negro),
Algunos ondulados, otros en forma de "v" (tinción de Warthin-Starry)

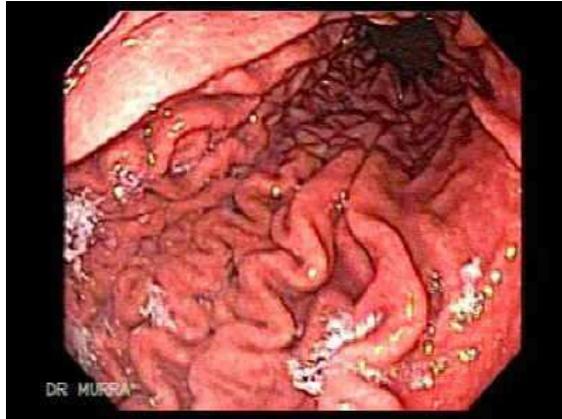


Figura 2.

Se aprecian los pliegues gástricos gruesos

En la gastritis crónica.

Microscópicamente se observa infiltración inflamatoria de linfocitos y células plasmáticas en la lámina propia. En las fases iniciales, esta infiltración suele estar limitada al tercio superior de la mucosa gástrica. En formas más graves la infiltración inflamatoria afecta a todo el espesor de la mucosa. Otras características histológicas son: ¹⁷

- **Actividad:** La inflamación “activa” se detecta por la presencia de neutrófilos en el epitelio de superficie y glandular.
- **Alteración regenerativa:** La respuesta del epitelio ante la lesión consiste en un incremento de la actividad mitótica de la región del cuello de las glándulas gástricas.

- **Metaplasia:** En áreas más o menos extensas del estómago, la mucosa gástrica es reemplazada parcialmente por células metaplásicas de tipo columnar y células caliciformes de fenotipo intestinal, principalmente de intestino delgado. La mucosa del fondo y del cuerpo del estómago también pueden mostrar características de la mucosa pilórica y antral.
- **Atrofia:** consiste en una importante pérdida de estructuras glandulares que corresponde con el aplanamiento mucoso. Se observa más en personas de edad avanzada.
- **Displasia:** Con gastritis crónica de larga duración, el epitelio presenta una serie de alteraciones citológicas, como: variación de tamaño, forma y orientación de las células epiteliales, así como aumento del tamaño nuclear y atipia. Las alteraciones displásicas pueden ser tan graves que llegan a construir un carcinoma in situ. Probablemente, son responsables del aumento de la incidencia de cáncer gástrico, principalmente en las formas atróficas. *Figuras 3, 4 y 5.*

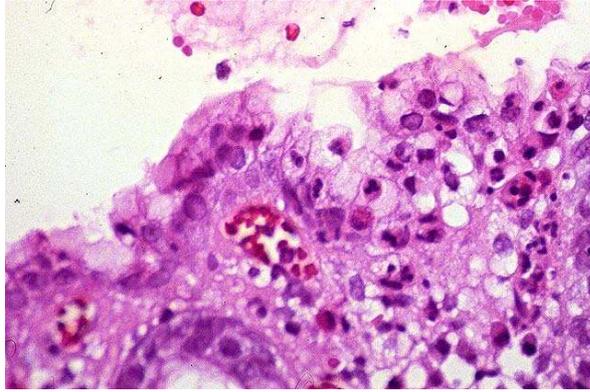


Figura3

Corte histológico a gran aumento de la zona foveola, las células foveolares son cuboideas, con núcleo aumentado de tamaño y menor cantidad de mucoide en el citoplasma. Edema de la lámina propia. Infiltración por leucocitos neutrófilos en la lámina propia y entre células epiteliales.



Figura 4

Corte histológico en la gastritis atrófica que muestra la mucosa gástrica adelgazada, sin división clara entre la porción foveolar y la porción glandular, muy escasas glándulas, la lámina propia difusamente ensanchada, con infiltración inflamatoria.

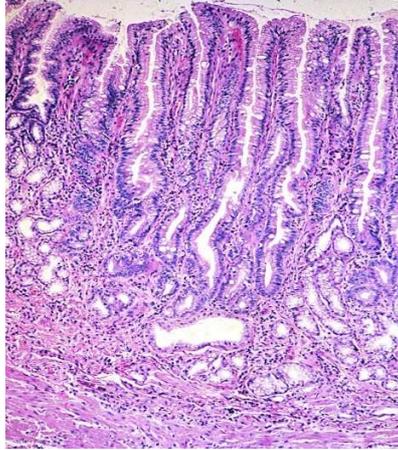


Figura 5

Corte histológico a mediano aumento que muestra las características de la metaplasia en la gastritis crónica causada por *Helicobacter pylori*.

b) Características clínicas de la gastritis crónica.

La gastritis crónica puede ser asintomático y a menudo se descubren manifestaciones abdominales vagas como:

- ✓ Náuseas y vómito.
- ✓ Dolor epigástrico.
- ✓ Hemorragia oculta.
- ✓ Anorexia.

- ✓ Distensión abdominal.
- ✓ Pirosis y dispepsia.
- ✓ Meteorismo.
- ✓ Sensación de plenitud posprandial.

Es importante tener en cuenta la relación de la gastritis crónica con la úlcera péptica y el carcinoma gástrico. La mayoría de los enfermos con úlcera péptica, tanto si es duodenal como gástrica, tienen pangastritis o gastritis antral que persiste después de que la úlcera cure, sugiriendo que la gastritis es primaria.

El riesgo a largo plazo, de carcinoma gástrico para personas con atrofia gástrica se encuentra entre 2 y 4%, lo cual es considerablemente superior al de la población normal.

c) Complicaciones.

La complicación potencial de la gastritis crónica es el riesgo de úlcera gástrica y carcinoma gástrico son la pérdida de sangre.¹⁴

d) Diagnósticos diferenciales.

Dado que la gastritis crónica no tiene una clínica específica se ha de hacer un diagnóstico diferencial sobre todo con la úlcera péptica, la hernia hiatal y la colelitiasis. La visualización de la mucosa gástrica o gastroscopia no es el método diagnóstico más específico ni el más seguro para llegar al diagnóstico de confirmación. Se ha de realizar un estudio histopatológico de la biopsia gástrica obtenida.

También se han de realizar estudios analíticos con determinaciones de sideremias y vitamina B₁₂ para descartar las anemias ferropénicas y perniciosas como consecuencia de gastritis crónica autoinmune o tipo A.¹⁸

e) Tratamiento

Los pacientes con gastritis crónica por *H. pylori* suelen mejorar cuando se les trata con agentes antimicrobianos. Se han evaluado numerosos fármacos para el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*, como los compuestos de bismuto, amoxicilina, tetraciclina, claritromicina, metronidazol, omeprazol y antagonistas del receptor H₂ aislados o en diversas combinaciones.

Ningún fármaco en monoterapia posee una eficacia óptima contra el microorganismo. Aunque *H. pylori* es sensible *in vitro* a la mayoría de los antibióticos no se puede dar por su supuesta sensibilidad *in vivo*, debido a la

posibilidad de escasa biodisponibilidad del fármaco, resistencia farmacológica o incumplimiento terapéutico por parte del paciente.

El tratamiento de la infección por *H. pylori* todavía está evolucionando, y se continúan evaluando nuevas pautas medicamentosas en un intento por determinar las combinaciones de los fármacos, posologías y duración del tratamiento.¹⁰

MICROBIOLOGIA DEL APARATO DIGESTIVO

Generalidades sobre la microbiología del tubo digestivo.

Los microorganismos se encuentran en aquellas partes del cuerpo expuestas al medio ambiente o que comunican con él como piel, nariz y boca, intestino entre otros. Los órganos y tejidos internos son habitualmente estériles. Cabe mencionar que en el tracto digestivo las zonas de mayor colonización son: Boca, Intestino delgado e intestino grueso.¹¹

Las bacterias, y en menor escala los hongos y protozoos, residen y proliferan activamente en estos sitios. Las otras partes del cuerpo humano, como el resto del tracto respiratorio y del tracto digestivo, la vejiga y el útero, tienen microorganismos en menor número y sólo están de paso. El hallazgo de microorganismos patógenos en estos sitios es altamente sugerente de enfermedad.

Por otra parte, existen otros tejidos y órganos en que no existen microorganismos, son territorios estériles. La densidad de la población bacteriana oscila de un sitio a otro.¹⁹

Microflora Bucal

La boca alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable que todavía no ha sido investigado en su totalidad y está lejos de ser comprendido en su magnitud.

Hasta hace poco, la boca se consideraba como un hábitat simple para los microorganismos pero en la actualidad se reconoce que los dientes, el surco gingival, todos forman hábitat o sitios diferentes donde los microorganismos se multiplican.

Cada zona o hábitat contiene su propia población característica, a menudo, con muchas especies microbianas distintas, las cuales pueden complementarse o competir con otras de la misma población durante la vida del huésped.^{1,14}

Está presente como *flora residente normal o autóctona* y *flora transeúnte o alóctona*; y llega a través de los alimentos, agua, aire, por el contacto con otras personas (al hablar, gritar, etc., estamos formando un “aerosol” alrededor nuestro de pequeñas gotitas de **pflügge** que van cargadas de microorganismos que están

presentes en la boca), y es por esto que la proximidad entre las personas transmite las enfermedades que afectan a las vías respiratorias.

Esta flora alóctona, en condiciones normales, es rápidamente destruida tanto por los mecanismos defensivos de la boca como el impedimento a colonizar que les ponen las bacterias autóctonas de la boca. La microflora bucal sufre variaciones durante el día, ya que no es continuo el número de bacterias que tenemos en la boca, esto se debe a que durante la noche la boca está en reposo, disminuyen los mecanismos de deglución a un mínimo, y las bacterias crecen indiscriminadamente hasta llegar a un máximo.

Luego al despertar y lavarse los dientes y la boca, desayunar, todo este movimiento fisiológico y limpieza de la boca disminuye las bacterias a un mínimo; posteriormente, durante la mañana van aumentando hasta la hora de almuerzo, y a la hora de almuerzo se ingieren alimentos, se mastica y deglute, con lo que baja el número de bacterias.

Se recupera durante la tarde hasta llegar a la hora de comida, donde nuevamente se come, mastica y deglute, se lavan los dientes, y el número de bacterias vuelve a disminuir para luego recuperarse durante la noche. Esto es continuo a lo largo de todos los días, y constituye lo que se llama *marea bucal* o *ritmo microbiano oral*.²⁷

Las bacterias quedan atrapadas entre los dientes, ya sea por la anatomía (trampas naturales) o debido a las restauraciones realizadas por el odontólogo

(trampas artificiales) mediante restauraciones, o por la posición de los dientes que puede resultar inadecuada (maloclusión dentaria, apiñamiento dentario).

Actualmente se considera que existen en la boca de 250 a 300 especies diferentes de microorganismos, aunque no todas están bien definidas, y que existen un millón de colonias de los mismos por cada centímetro cuadrado del dorso de la lengua, y de 100 millones a 1000 millones de bacterias por ml. De saliva. La mayoría de los microorganismos que existen en la boca de un individuo son de tipo *Estreptococos* (41%).¹

a) Medio Bucal

La cavidad bucal tiene ciertas condiciones muy favorables para el desarrollo microbiano, es muy beneficioso para las bacterias: tiene una temperatura de 37°C, tiene humedad, oscuridad, y sustratos abundantes (cada vez que comemos ingresamos elementos nutricios), un pH de 7, una tensión de oxígeno variada de acuerdo a diferentes ambientes en la boca por lo que vemos se tienen distintos tipos de microorganismos en cada lugar de ella.²⁷

En los lugares donde hay menor tensión de oxígeno se instalarán aquellas bacterias que viven en esas condiciones; donde hay abundancia de oxígeno se van a instalar las bacterias que son mayormente aeróbicas en su inspiración.

La microbiota bucal se compone principalmente de bacterias, hongos, parásitos y virus, todos de muy variadas especies y todos ellos pueden vivir en la boca, por

ejemplo: entre los hongos están las especies *Cándida*, algunos parásitos pueden ser la Entamoeba gingivalis, y dentro de los virus encontramos al herpes simple.

Cuadro 1.- Porcentaje de microorganismos en la cavidad humana

| MICROORGANISMOS | PLACASUPRAGINGIVAL | SALIVA | SURCO GINGIVAL |
|------------------------|--------------------|--------|----------------|
| 1. Cocos | 50% | 65% | 67% |
| Grampositivos AN/FAC | 37% | 44% | 50% |
| Grampositivos AN/ EST | < 1% | 3% | 4% |
| Aerobios gramnegativos | 2% | 3% | <1% |
| Gramnegativos AN/EST | 12% | 15% | 13% |
| 2. Bacilos | 48% | 35% | 32% |
| Grampositivos AN/FAC | 40% | 15% | 18% |
| Grampositivos AN/EST | <1% | 7% | 3% |
| Grampositivos AEROBIOS | <1% | 2% | <1% |
| Gramnegativos AN/FAC | 3% | 4% | 6% |
| Gramnegativos AN/EST | 3% | 7% | 5% |

AN/FAC= Anaerobio facultativo

AN/EST= Anaerobio estricto

En boca predomina la flora anaeróbica, tanto en saliva como en el tejido gingival, por ejemplo, en la saliva tenemos alrededor de 15 millones de microorganismos aerobios facultativos y tenemos 36 millones de anaerobios facultativos; en el tejido gingival tenemos 36 mil millones de los primeros y 110 mil millones de los segundos, respectivamente, por lo que predomina , la flora anaeróbica facultativa.²

Placa dentobacteriana

La placa dentobacteriana es una masa blanda, tenaz y adherente de colonias bacterianas en la superficie de los dientes, la encía, la lengua y otras superficies bucales (incluso las prótesis). También es posible definirla como una película transparente e incolora adherente al diente, compuesta por bacterias diversas y células descamadas dentro de una matriz de mucoproteínas y mucopolisacáridos.^{8,9}

a) Formación de la placa dentobacteriana

Todas las bacterias iniciadores de la formación de la placa dental entran en contacto de manera fortuita con la cubierta orgánica de la superficie dental. La placa crecerá en los dientes de todo individuo que no lleven a cabo los métodos apropiados de higiene oral, y se lleva a cabo en tres fases:³

1º Fase: Colonización inicial

Es la adhesión de las bacterias a la película adquirida y ocurre durante las primeras 8 horas siguientes a la limpieza de un diente incluye el depósito de bacterias provenientes de la saliva o de la mucosa bucal. Se observan *Streptococos*, *Neisseria* y *Actinomyces*.

2ª Fase: Crecimiento bacteriano rápido

Entre las 8 horas y dos días posteriores a la limpieza, las bacterias que sean adheridos a la película adquirida se multiplican y forman varias capas de bacterias unidas entre sí por la matriz interbacteriana. Abundan *Fusobacterium* y *Filamentos*. A *Helicobacter Pylori* los diez días la placa alcanza su grosos máximo.

3ª Fase: Remodelación

Se inicia aproximadamente a partir de 4 a 9 días y continúa indefinidamente. El número total de microorganismos se mantiene más o menos constante pero la composición microbiana se vuelve más compleja. Aumentan los microorganismos anaerobios como la *Veillonella*, *Espiroquetas*, *Bacteroides*, *Treponemas*; a esta etapa de la formación de la placa se le llama **placa madura** (a los 21 días) la mitad de los microorganismos son del tipo filamentosos y abundan los anaerobios.

b) Matriz orgánica intercelular de la placa dentobacteriana

Esta constituye más o menos el 30% de la placa dentobacteriana y está formada por glucoproteínas, proteínas, hidratos de carbono, compuestos inorgánicos y agua provenientes de la dieta, la saliva y las bacterias; estos elementos se encuentran entre las colonias de bacterias y entre las células y la superficie del diente.

Los compuestos, inorgánicos varían dependiendo de la edad, el contenido mineral del agua, pero en términos generales incluyen: sodio, potasio, hierro, flúor, agua (70 a 80%).

Los hidratos de carbono provienen sobre todo de la dieta y las glucoproteínas salivales, aunque hay intercelulares, extracelulares y capsulares. Pueden ser glucanos (polímero de la fructosa) y heteroglucanos. Según parece, los polisacáridos protegen a los microorganismos de influencias nocivas y eliminan de las superficies dentales las sustancias neutralizadores de ácidos.⁹

Los hidratos de carbono de la dieta, para ser asimilados por las bacterias, requieren de enzimas como la amilasa alfa de la saliva, las oxido-reductasas y las deshidrogenasas. Las enzimas bacterianas (dextranas, fructanasas, neuraminidasas, glucosidasas, glucógeno, fosforilasas, entre otras) tienen una función fundamental.

c) Tipos de placa dentobacteriana

Según su localización, la placa dentobacteriana puede ser supragingival, subgingival, de fosas y fisuras, proximal y radicular.

- **Placa dentobacteriana supragingival**

La placa dentobacteriana supragingival se extiende desde el margen libre de la encía hasta la corona del diente. La formación de la placa dentobacteriana supragingival se inicia con la colonización primaria, es decir, con la adherencia de microorganismos aerobios Gram + en colonias aisladas o domos. El primer colonizados es el *Streptococcus sanguis* y después *Actinomyces viscosus* y otros estreptococos.

Luego se agregan estreptococos de las especies *mitis*, *gordonii* y *crista*, así como otras bacterias (*Rothia dentocariosa*, especies de *Neisseria* y *Corynebacterium matruchotii*).

- **Placa dentobacteriana subgingival**

La placa dentobacteriana subgingival se localiza a partir del margen gingival en dirección apical. Su formación se favorece cuando el PH del surco es más alcalino que el de la saliva y el líquido gingival tiene mayor cantidad de sales. Hay poca

matriz intercelular, salvo en las zonas adheridas al diente, por lo cual las fuentes nutricias son endógenas (liquido gingival o interbacteriano).

Del margen dentogingival predomina los microorganismos Gram+ : Streptococos sanguis, Streptococos mitis, Streptococos gordonii, Streptococos oralis, Actinomices viscosus, A. cariosa y Corinebacterium matruchotii.

- **Placa dentobacteriana fisural**

Esta se forma en fosetas y fisuras, apenas tiene matriz extracelular y contiene abundantes restos de alimentos. Streptococos sanguis y Streptococos salivarius; también se desarrollan Lactobacilos, Corynebacterium matruchotii, especies de Veillonella y Streptococos mutans, el cual puede constituir el 40% de la colonización.

- **Placa dentobacteriana proximal**

La placadentobacteriana proximal está situada en los espacios interproximales en dirección apical. Predominan Actynomices viscosus y Actinomyces naeslundii, Streptococos sanguis, Actynomices israelii, especies de Veillonella y algunos bacilos Gram anaerobios estrictos como las especies de Selenomonas, Porpyromonas, Prevotella y Fusobacterium.

- **Placa dentobacteriana radicular**

Esta se desarrolla cuando el cemento radicular se expone al micro ambiente bucal, ya sea por retracción gingival en edad avanzada o por enfermedades. También se forma en áreas interproximales y a lo largo de la unión cemento-esmalte.

Los microorganismos en la formación de esta placa dentobacteriana son *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* y especies de *Capnocytophaga*, independientemente de que esta placa se mineraliza con facilidad.

Flora bacteriana habitual del estómago

La flora habitual juega un importante papel tanto en la salud como en la enfermedad. La manifestación más fácilmente perceptible es la producción de varias manifestaciones en las superficies epiteliales de las personas.

Se sabe que la flora intestinal del hombre juega un factor importante en la forma de nutrición del paciente y por ende repercusiones en el metabolismo, que con lleva a la enfermedad, pero poco a poco se sabe cuánta es la importancia de esta función. Dado que el hombre no puede llegar a estar absolutamente libre de microorganismos.

Microorganismos más frecuentes en el estómago

Enterobacterias

- ✓ Escherichia coli
- ✓ Salmonella
- ✓ Shigella
- ✓ Vibrio cholerae
- ✓ Campylobacter
- ✓ Yersinia

Bacterias con características especiales

- ✓ Chlamydia y Mycoplasma
- ✓ Mycobacterium

Aunque el estómago y el esófago se contaminan con bacterias cada vez que se ingiere alimento, la población bacteriana no sobrevive bien en estas dos áreas. De igual manera, el intestino delgado (excepto el íleon distal), el hígado y la vesícula están libres de bacterias o sólo las albergan transitoriamente.¹⁹

Especies de Helicobacter

En 1983 B.J. Marshall y J.R. Warren reportaron de una bacteria microaerofílica en espiral de la mucosa gástrica y demostraron que la presencia de esta bacteria se vincula con la inflamación gástrica.

El microorganismo se llamó originalmente *Campylobacter pylori*, pero el análisis de la secuencia genética de RNA y los estudios ultraestructurales condujeron a la creación de un nuevo gen, el *Helicobacter pylori*, y a que este microorganismo recibiera el nombre de *Helicobacter pylori* y hasta ahora se han descrito cerca de 12 especies de *Helicobacter*.

Las especies de *Helicobacter* se encuentran en diversos animales, la mayor parte de ellas reside en el estómago, no obstante, algunas se aíslan tanto en el hígado como en el estómago, y diversas **especies ureasa-negativas**, sólo residen en el intestino. *Helicobacter pylori* es una causa principal de gastritis crónica activa en humanos y constituye la principal causa de úlcera duodenal y gástrica, además es un factor de riesgo significativo para el surgimiento de adenocarcinoma gástrico y linfomas de células B de grado bajo en tejido linfoide relacionado con la mucosa gástrica.

Helicobacter pylori

El helicobacter pylori es una bacilo ampliamente vinculado con gastritis antral, ulcera duodenal y tal vez con úlcera y carcinoma gástrico y cuyas características generales se enumeran a continuación.

- ✓ El Helicobacter pylori es un bacilo gramnegativo en forma de espiral, en forma de bastoncillo microaerofílico un poco curvo con flagelos polares múltiples.
- ✓ Al principio se clasificó como una especie de Campylobacter, pero no puede cultivarse sobre agar Campy BAP porque es susceptible a la cefalotina.
- ✓ Se cultiva en agar Brucella, medio con infusión de corazón y cerebro o agar con triticosa de soya que contenga 5% de sangre de bovino desfibrinada o sangre de caballo.
- ✓ Crece en una atmósfera que contenga 10% de CO₂ y es débilmente hemolítico, oxidasa-positivo y catalasa-positivo, y presenta actividad intensa de ureasa. Difiere de las especies de Campylobacter por su perfil de ácidos grasos.²

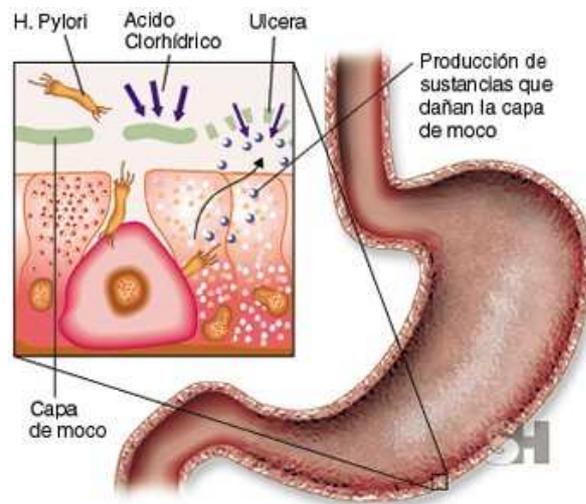


Figura 6.

En esta imagen se observa el sitio de ubicación del *Helicobacter pylori* en el estómago.

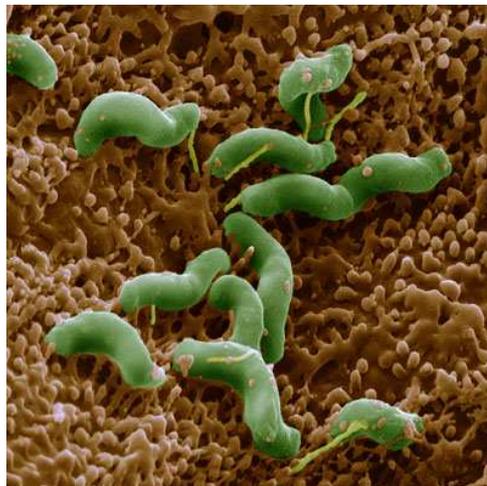


Figura 7.

Se observa una vista microscópica del *Helicobacter Pylori* y su localización en la capa mucosa gástrica.

a) Características de crecimiento del Helicobacter pylori

Esta bacteria se caracteriza por ser catalasa, oxidasa y ureasa positiva propiedad que le permite por una parte defenderse de la acción de los neutrófilos y por otra parte ha permitido el desarrollo de métodos diagnósticos de esta infección rápidos y fiables.¹⁴

Posee una gran afinidad por las células de la mucosa gástrica, probablemente como consecuencia de su capacidad para fijarse a un receptor específico.

Como principales factores el Helicobacter pylori con su producción de ureasa es capaz de crear un entorno alcalino que protege al microorganismo de la acidez gástrica hasta que llega a las capas de moco y crea daño, modificando así el ph gástrico de la mucosa y disminuyen la capacidad del ácido de difundir el moco, hematoglutina, que permiten la adherencia a las células del huésped.

Presencia de Helicobacter pylori en la Cavidad Oral

Siendo la cavidad oral un posible reservorio de Helicobacter pylori en el hombre, numerosos grupos de investigación a nivel mundial se han focalizado en la detección de dicha bacteria en la boca.

Es así como se han llevado a cabo diversos métodos para la determinación de Helicobacter pilory, uno de ellos es la determinación radiométrica en saliva; dicha técnica resulta rápida, sencilla, económica y práctica permitiendo evaluar la

colonización oral por *Helicobacter pylori*, además de controlar la evolución de los pacientes luego del tratamiento de erradicación.¹⁴

Por consiguiente, la valoración de la actividad ureásica en saliva a distintos tiempos, puede ser considerada como un buen marcador de colonización oral por *Helicobacter pylori*, también permite evaluar si existe una relación entre la colonización oral y la infección gástrica por *Helicobacter pylori*, por lo tanto, se resume que mediante esta técnica se ha podido correlacionar el estado de contaminación de la boca por *Helicobacter pylori* con el grado de infección gástrica por dicho agente patógeno.

Para lograr una mejor evaluación de la infección, la valoración de la actividad de la ureasa en saliva puede ser considerada como un buen marcador de colonización oral por *Helicobacter pylori* a través de estas observaciones se presume que pueden resultar de importancia para el éxito del tratamiento y erradicación de la infección por *Helicobacter pylori*.¹⁴

Mecanismo de transmisión de la infección por *Helicobacter pylori*

Aún no existe consenso sobre la vía más importante de transmisión de la infección por *Helicobacter pylori*, por lo que el modo de transmisión es ampliamente discutido. Entre las vías propuestas, la de mayor relevancia es la interpersonal, esta incluye a la vía oral-oral, en la cual la cavidad oral juega un papel preponderante como reservorio de la bacteria (placa dental) y la vía fecal-

oral. Otras rutas de transmisión propuestas son: alimentaria-oral, zoonótica, vectorial, ambiental, y la vía iatrogénica.²

La prevalencia de la infección varía notablemente en todo el mundo, con una tasa del 40 al 50% en los países desarrollados y cerca del 90% en aquellos países en vías de desarrollo.

Aunque algunas evidencias sugieren que este ocurre predominantemente por contacto de persona a persona, otros autores proponen la vía fecal-oral, pero recientemente ha sido sugerido que la bacteria puede existir de forma natural en el ambiente; la edad de adquisición del microorganismo puede ser crítica en determinar el inicio de la infección.

Actualmente, las evidencias a favor y en contra de la transmisión vía oral-oral del microorganismo son muy debatidas, pues desde que el *Helicobacter pylori* fue exitosamente aislado mediante cultivo de la placa dental de algunos pacientes, la cavidad bucal ha recibido especial interés como un posible reservorio del microorganismo.

De esta forma tanto la saliva como la placa dental han sido implicadas como posibles vías de adquisición de la infección por *Helicobacter pylori*; aún cuando en la actualidad existen numerosos esfuerzos dirigidos a mejorar los métodos diagnósticos para detectar este agente su identificación a nivel bucal se percibe como muy complicada, quizás porque su tasa de recuperación es muy controversial.

Así mientras que la bacteria pudo ser aislada de la cavidad bucal en algunos estudios, muchos esfuerzos para cultivarla han fracasado, a este respecto, algunos investigadores han sugerido que posiblemente formas cocoides, no cultivables del organismo puedan sobrevivir en la boca.

Muchas técnicas han sido desarrolladas con la finalidad de detectar el microorganismo a nivel de la cavidad bucal; algunas de ellos basadas en la secuencia del gen ureasa y otras en el gen de ARN 16S ribosomal, una alta prevalencia de *Helicobacter pylori* ha sido demostrada empleando estos ensayos.

Sin embargo, a diferencia de estas observaciones, una muy baja prevalencia o ninguna ha sido reportada por otros autores, o en muchos casos pacientes con resultados positivos a nivel de biopsias de estómago son también positivos a nivel de placa dental, pero otros pacientes no presentan coinfección a nivel bucal.

Estos resultados son realmente muy inconsistentes, y no están relacionados con la gran prevalencia a nivel mundial que ha sido demostrada a nivel de estómago.¹⁴

Mecanismos de patogenicidad del *Helicobacter pylori*

Es sabido que el *Helicobacter pylori* es el agente etiológico del 90% de las gastritis crónicas, 85-90% de las úlceras duodenales, 70-75% de las úlceras

gástricas y por estar asociado con la evolución de metaplasia a cáncer gástrico, en 1994 fue clasificado por la OMS como carcinógeno tipo I.

Se cree que los principales productos bacterianos que participan en la patogénesis de infecciones por *H. pylori* son adhesivas entre las que se encuentran: *ureasa*, *flagelos*, *citotoxinas vacuolantes*, *proteína CagA*, *catalasas* y *fosfolipasas*.²

Las enzimas metabólicas que posee pueden ser utilizadas por el *Helicobacter pylori* para producir daño en los tejidos y para defenderse de las condiciones adversas del ambiente en el que debe sobrevivir. Pero además, *H. pylori* posee otras características que le permiten colonizar la mucosa gástrica del estómago, inducir daños en los tejidos o liberarse de los mecanismos de defensa del huésped. Entre las características de virulencia podríamos destacar:

- ✓ **La estructura espiral.** La propia estructura de la bacteria le permite introducirse través de la capa de moco gástrico actuando de forma similar a un sacacorchos y favoreciendo por lo tanto el acercamiento a las células epiteliales gástricas.
- ✓ **La movilidad.** *Helicobacter pylori* posee de 4 a 6 flagelos polares que le confieren una gran movilidad y le permiten llegar a la mucosa y no ser eliminado por los mecanismos defensivos del huésped.

- ✓ **Las adhesivas.** Posee una gran variedad de adhesinas que reconocen de forma específica a los receptores de la mucosa gástrica y se unen a ellos comenzando la colonización bacteriana.
- ✓ **La 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 *H. pylori* y aquellos que poseen la toxina se han asociado con cuadros más graves de enfermedad. La toxina está codificada por un gen denominado *vacA* que está presente en todos los aislamientos, produzcan o no la toxina, aunque la secuencia del gen parece ser diferente.
- ✓ **La 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 interleuquina. 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*.** Se encuentra localizado en una región del cromosoma que se conoce como isla de patogenicidad. *Figura 8*

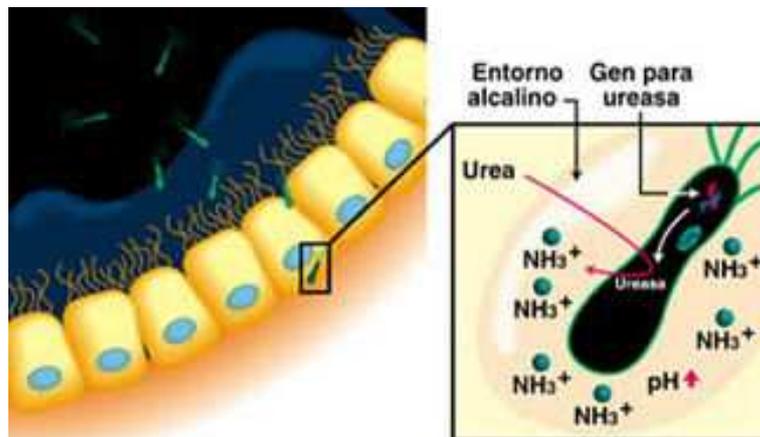


Figura 8.

Ilustración de los principales mecanismos de virulencia de *H. pylori*.

gracias a los flagelos puede movilizarse a través de la capa de moco, y la ureasa mantiene un Ph neutro, e incluso alcalino, en torno a la bacteria.

Desarrollo de la enfermedad por *Helicobacter pylori*

Como vimos, el *Helicobacter pylori* es la principal causa de gastritis crónica, por lo tanto, es un factor necesario para la aparición de úlcera gástrica y duodenal y está claramente relacionado con el cáncer gástrico, tanto de tipo adenocarcinoma como linfoma tipo MALT (Tejido linfoide asociado a la mucosa).

Aunque la relación entre *H. pylori* y la patología gastroduodenal ha dejado de ser objeto de controversia, es evidente que no todos los individuos infectados llegan a desarrollar úlcera y todavía menos evolucionan a cáncer gástrico.

La aparición de estas enfermedades está asociada a factores de virulencia y mecanismos de patogenicidad de *H. pylori* en relación con las distintas estirpes

bacterianas que colonizan la mucosa gástrica, la interacción específica de *H. pylori* coloniza la mucosa gástrica, se adhiere a ella y debido a determinados factores de patogenicidad la lesiona.^{14,2}

La colonización de la mucosa gástrica por la bacteria se ve facilitada por su morfología espiral y flagelar, que la ayuda a desplazarse entre la capa de moco. Además, *H. pylori* presenta una superficie con elevada hidrofobicidad, superior a la de otros microorganismos, que unida a la presencia de urea y de un pH ácido le confiere mayor afinidad por la mucosa gástrica, facilitando su penetración. Figura 9

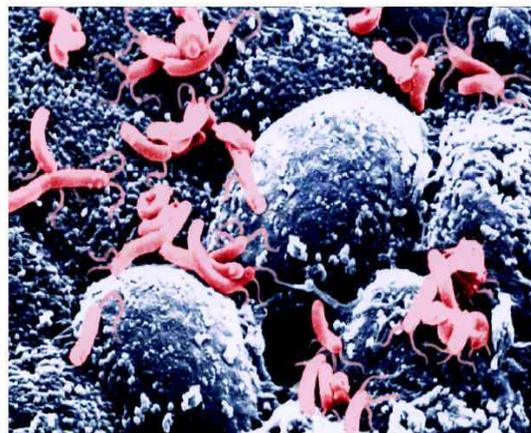


Figura 9

Esta microfotografía muestra la colonización de la mucosa Gástrica por la bacteria facilitada por su morfología espiral y flagelar.

La adhesión a la mucosa se debe a distintos tipos de adhesivas, para las que probablemente existen receptores específicos de unión en las células epiteliales gástricas, lo que explica la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica y no en el

intestino ni el esófago. Sí se ha encontrado *H. pylori* en zonas de metaplasia gástrica (por ejemplo, en el esófago de Barret) y en mucosa gástrica ectópica (por ejemplo, en el divertículo de Meckel).

Por otra parte, *H. pylori* produce ureasa, una enzima que al desdoblar la urea del estómago, produciendo iones amonio que neutralizan el pH ácido, crea un entorno favorable al crecimiento de la bacteria. *H. pylori* afecta a la integridad de la mucosa gástrica mediante la producción de proteasas y lipasas. Figura 10



Figura 10.

Modelo de *Helicobacter pylori* ureasa.

Sin embargo, el principal factor de virulencia es la producción de citotoxinas, entre las que se han identificado una toxina vacuolizante (VacA), codificada por el

gen *vacA*, y otra proteína (*CagA*), codificada por el gen *cagA*, cuya expresión parece estar relacionada con la producción de toxina y que se encuentra en adultos con mayor frecuencia en los aislamientos de pacientes con úlcera duodenal y cáncer gástrico.

Medios Diagnósticos para detectar la infección por *Helicobacter pylori*

El diagnóstico de la infección con *Helicobacter pylori* puede ser realizado mediante estudios invasivos y no invasivos, los cuales se ilustran brevemente.

- 1) Estudios invasivos**, que consisten en realizar, en las biopsias antrales obtenidas durante la realización de la esofagogastroduodenoscopia mediante los siguientes métodos:
 - A)** Cultivo u observación directa del *Helicobacter pylori*
 - B)** Reacción en cadena de la polimerasa (PCR); o
 - C)** Determinación de la producción de ureasa por la bacteria mediante rápidas pruebas calorimétricas con azul de metileno.

2) Estudios no invasivos, tales como:

- a.** Determinando la presencia serológica de anticuerpos Ig G, o
- b.** Detectando en la respiración el CO₂ espirado y generado por el desdoblamiento de urea marcada (ya sea con C13 o C14 en presencia de ureasa en mucosa gástrica, en los casos de infección por *Helicobacter pylori* 7-9.)

Endoscopia y biopsia

Mediante la introducción de una sonda flexible y maleable, el endoscopio y bajo sedación del paciente, se realiza la exploración armada del tracto digestivo superior, en donde se incluye esófago, estómago y duodeno.

El aspecto endoscópico que ofrece la mucosa gástrica es muy variable, desde leve eritema hasta formaciones nodulares intensas en el antro que corresponden a lo que conocemos como artritis nodular, hallazgo que, aunque no patognomónico, en los niños es muy sugestivo de infección por *Helicobacter pylori*. Se ha encontrado gastritis erosiva aguda y úlceras gástricas agudas en asociación con *H. pylori* como forma de presentación de la enfermedad.²

Este método se limita a ciertos pacientes en función de diversas características:

- ✓ Edad avanzada

- ✓ Pérdida de peso
- ✓ Sangrado gastrointestinal
- ✓ Vómitos significativos
- ✓ Estudios radiológicos inciertos.

La mayor ventaja es que el estudio endoscópico permite la visualización directa y apreciación del grado de inflamación de la mucosa. El costo inherente y la disconformidad del paciente, son sus mayores desventajas. Además, la presencia de *Helicobacter pylori* en el estómago como manchas de leopardo hace necesarias varias muestras de biopsias, pudiéndose obtener resultados falsos negativos. La sensibilidad se ve reducida con la terapia al disminuirse el número de bacterias.¹⁴

A) Aspecto histológico

La confirmación histológica de la inflamación de la mucosa es fundamental para el diagnóstico de gastritis y su clasificación, y permite el diagnóstico de algunas formas de gastritis, como la linfocítica, que pueden asociarse a esta infección. Además, es imprescindible para determinar la existencia de zonas de mataplasia intestinal.¹⁴

El hallazgo histológico típico es el de una gastritis antral superficial en la cual la mucosa gástrica muestra un aumento de células mononucleadas, estando también

elevado en muchos casos el número de polimorfonucleares; cuando predominan estos últimos se le denomina gastritis crónica superficial activa.

La tinción de Giemsa es la más adecuada para identificar H pylori en la mucosa gástrica, aunque si existe en gran número puede verse con hematoxilina eosina por patólogos expertos. La colonización por H. pylori puede clasificarse como leve, moderada e intensa, dependiendo de que se vean microorganismos aislados, se encuentren entre el epitelio glandular o constituyan una línea continua sobre éste.¹⁴

Test del aliento para detección del Helicobacter pylori mediante prueba con urea marcada (Carbono 13)

El diagnóstico de la infección por H. pylori puede realizarse por métodos que no precisan de endoscopia, como la prueba del aliento con urea marcada con ¹³C (Carbono 13) y la determinación de anticuerpos en suero frente a H. pylori, pero la endoscopia aporta además el diagnóstico del tipo de enfermedad gastroduodenal causada por la bacteria y permite la toma de biopsias para examen histológico, cultivo microbiológico y optativamente prueba rápida de la ureasa.

La búsqueda de técnicas no invasoras para el diagnóstico de la infección por H. pylori ha conducido a la utilización de la prueba del aliento con urea marcada con ¹³C ó ¹⁴C. Al igual que otras pruebas diagnósticas de infección por H. pilory, ésta se basa en la capacidad de producir ureasa de la bacteria. La ureasa,

extremadamente potente, hidroliza la urea y se libera CO₂ marcado que se expulsa con la respiración.¹⁴

Algunas veces se prefiere utilizar ¹³C en lugar de ¹⁴C por ser un isótopo natural, no radiactivo, que puede usarse tanto en niños como en mujeres embarazadas. Tiene como inconveniente su alto costo, al precisar para su lectura un espectrofotómetro de masas, pero sus evidentes ventajas, que incluyen su alta sensibilidad y especificidad (cercanas al 100% en el diagnóstico), y su fácil realización, hacen aconsejable su utilización tanto en el diagnóstico como en el seguimiento postratamiento de la infección.

La realización es muy sencilla; después de al menos seis horas de ayuno se obtiene una muestra basal de aire espirado, administrando a continuación una comida grasa o ácido cítrico, en ambos casos con el fin de retrasar el vaciamiento gástrico, y la urea marcada con ¹³C a dosis de 1,5-2 mg (máximo 75 mg). La segunda muestra para la determinación del CO₂ se obtiene 30 minutos después.¹⁴

El *Helicobacter pylori* posee una ureasa extremadamente potente que hidroliza la urea con excreción del CO₂. Si se administra por vía oral urea marcada con carbono-13 o con carbono-14, el CO₂ hidrolizado puede detectarse en la respiración de paciente supuestamente infectado con esta bacteria, lo que confirma la presencia de *Helicobacter*. Tanto la prueba con urea C-13 como con C-14 son semicuantitativas y miden la infección activa por *H. pylori*.

La prueba de la urea ^{13}C en la respiración utiliza un isótopo de carbono natural, no radiactivo y estable. Puede ser repetida muchas veces, incluso en mujeres embarazadas y niños y no se requieren instalaciones especiales.

La prueba con ^{14}C es más económica, pero requiere instalaciones radiactivas y aunque la dosis de isótopo radiactivo son bajas, su uso queda limitado por el número de aplicaciones que pueden hacerse y por estar contraindicado en niños y mujeres embarazadas. Por otra parte, a diferencia de la prueba con ^{13}C -urea, no existe un protocolo estandarizado.

Existen varios “kits” equipos comerciales con comprimidos, polvo o gránulos de ^{13}C -urea. Las dosis administradas son de 50 a 100 mg según el fabricante del equipo.

Un porcentaje de la ^{13}C -urea administrada por vía oral se excreta de forma inalterada por vía renal. En presencia de *H. pylori* se metaboliza parcialmente la ^{13}C -urea a ^{13}C -dioxido de carbono y amonio en el estómago. El resto se integra en el ciclo de la urea, la proporción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado aumenta de forma significativa en los pacientes infectados.

En estudios clínicos con voluntarios sanos no se ha observado un aumento apreciable del nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) y del amonio en el suero o de la urea en la orina, incluso con dosis superiores de hasta 300 mg, de ^{13}C -urea.

Cultivo del Helicobacter pylori.

La sensibilidad del cultivo puede limitarse por la terapéutica previa, contaminación con bacterias de otras mucosas y otros factores. Cuando se incuba a 37° C en un ambiente microaerofílico, como para *Campylobacter jejuni*, el *Helicobacter pylori* crece de 3 a 6 días.

El cultivo de *H. pylori* es la prueba más específica de infección, siendo por sí sola diagnóstica. Lamentablemente la sensibilidad es baja, no alcanzando, en nuestra experiencia, el 75% en el mejor de los casos.

Para mantener algún cultivo y este pueda determinar con mayor exactitud es necesario utilizar también algunos medios de transporte son:

- ✓ Solución glucosada al 20 por 100
- ✓ Caldo tioglicolato.
- ✓ Solución salina al 0,85 por 100.
- ✓ Caldo brucilla.

El *Helicobacter pylori* crece también en *agar sangre*, *agar chocolate* y *medio Thayer-Maartin* y *Medio Skirrow* pero es mejor suplementarlos con el suero de almidón soluble. Para el aislamiento de *Helicobacter pylori*. Siempre es conveniente incluir medios selectivos como antibióticos que inhíban el resto de los microorganismos acompañantes.²

✓ **Medio de cultivo**

Los siguientes medios son aptos para el aislamiento de *H. pylori*.

- Agar BHI con 7% de sangre de caballo.
- Agar Mueller-Hinton con 5% sangre de carnero.
- Agar Brucella con 1% almidón soluble.

Es conveniente incluir antibióticos en los medios selectivos para inhibir el crecimiento del resto de microorganismos acompañantes (Vancomicina, Anfotericina B, etc) Como medio selectivo se usa un medio Belo Horizonte compuesto por agar cerebro-corazón con 10% sangre carnero, cloruro de 2,3,5-trifenil-tetrazólico y antibióticos.

La incubación se realiza en condiciones reducidas de oxígeno dado el carácter microaerofílico de la bacteria. Una atmósfera idónea es 5% de oxígeno, 10% de bióxido de carbono, y 85% de nitrógeno.¹⁴ La sensibilidad de los métodos de cultivo depende de diversos factores como son:

- ✓ **Temperatura:** 35-37⁰C, no se desarrollan a 25⁰C, 30⁰C NI 42⁰C.
- ✓ **Humedad:** 100%
- ✓ **Transporte:** inmediato o bien, utilizar medios de transporte.

Como medio de transporte se puede utilizar:

- a) Solución salina al 0.9%. Cuando el transporte es rápido, este puede resultar un medio adecuado y barato, pudiendo aguantar 24 horas sin pérdida de rendimiento. El mayor inconveniente es que se ve afectado por la temperatura.
- b) Solución de glucosa al 20%. Se trata de una solución hipertónica que mantiene la estructura de la biopsia de la mucosa, de forma que las bacterias y la capa mucosa no se separen
- c) Caldo tioglicato.
- d) Caldo brucella con suero de caballo. En estos medios se mantienen viables 5 horas a 4⁰

Serología

La respuesta inmunitaria sistémica generada por *H. pylori* es la base de la utilización de diferentes métodos serológicos en el diagnóstico de la infección. Existen pruebas comerciales que se usan técnicas ELISA-EIA, generalmente elaboradas con el antígeno ureasa, que cuentan como principal ventaja el ser métodos cuantitativos que permiten tanto el diagnóstico como la monitorización de la respuesta al tratamiento.

En los adultos la sensibilidad y la especificidad de la serología son superiores al 90%, sin embargo, en los niños menores de seis años la sensibilidad puede no superar el 60%, lo que limita su uso por debajo de estas edades. Constituye, sin embargo, un buen método de cribaje en estudios epidemiológicos de amplios grupos de población.²

Asociación de la placa dentobacteriana con la presencia de Helicobacter pylori

Todavía no existe consenso sobre la vía de infección por Helicobacter pylori en el humano; todos los investigadores admiten que un eslabón de esta cadena es la boca. Por lo tanto, la cavidad bucal ha sido considerada en los últimos tiempos el reservorio más importante de Helicobacter pylori en el hombre, por lo que resulta obvio que el medio vector para el mismo alcance el estómago sea la saliva.

En los últimos años se han realizado investigaciones por distintos grupos médicos, referentes al aislamiento del Helicobacter pylori de la boca en cultivos de placa dentaria y saliva mediante la determinación por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR), cultivo de placa dental o de saliva o mediante el test de la ureasa rápida, que determina la producción de ureasa por parte de la bacteria.

Si bien este último método es confiable para este tipo de determinaciones, no es lo suficientemente sensible; la existencia de bacterias productoras de ureasa la toma de muestras de placa dentaria es una técnica que posee cierto grado de

complejidad. Es por ello que el análisis del contenido de ureasa en saliva constituye un buen método diagnóstico de la infección bucal por el H. pylori.

La transmisión oral-oral se puede producir a través de la saliva, por la presencia de Helicobacter pylori en lesiones de la cavidad oral y en la placa dental. Este puede ser un sitio de colonización del Helicobacter pylori y puede actuar como importante reservorio manteniendo la infección, perpetuando el ciclo infeccioso de la bacteria. La erradicación del Helicobacter pylori de la mucosa gástrica no se acompaña de la desaparición en la placa dentaria.^{14, 9}

METODOLOGÍA

Selección de los pacientes y toma de los productos.

Para el desarrollo de este estudio se seleccionaron, en la Clínica de especialización en Endoperiodontología 30 pacientes. Los pacientes incluidos en este trabajo manifestaron no haber sido sometidos a estudios endoscópicos, ni de toma de biopsias, y no haber recibido tratamiento con antibióticos o algún medicamento que pudiera interferir con los métodos de detección de H pylori, en un tiempo mínimo de tres meses.

Las muestras de placa dental subgingival se obtuvieron de pacientes con y sin enfermedad periodontal con cureta universal Hu Friedy 5-6, fueron depositadas en tubos estériles con 1 ml de agua desionizada estéril y en tubos estériles con 1ml de medio de cultivo BHI (infusión–cerebro-corazón) y transportadas al laboratorio de Análisis Clínicos para su procesamiento de cultivo e identificación por PCR.

Las muestras se guardaron a -20°C para su utilización posterior. (fig2)





Extracción de ADN de *H. pylori* para PCR. El ADN de cada muestra de placa fue extraído por el método descrito por Alam y colaboradores. Las muestras de placa se centrifugaron a 10,000 x g por un minuto a 4°C, y se descartó el sobrenadante. Las pastillas se lavaron con PBS (pH 7.0) y se resuspendieron en agua estéril. Los tubos con las suspensiones celulares fueron inmersos en agua hirviendo por 10 minutos e inmediatamente transferidos a hielo. Al término, los tubos se centrifugaron a 10,000 x g por un minuto a 4°C, el sobrenadante fue transferido a otro tubo y guardado a -20°C hasta su uso.



Detección de *H. pylori* por PCR anidado. La detección de *H. pylori* por PCR anidado se llevó a cabo por un método descrito previamente. Para la primera ronda de detección de *H. pylori* se utilizaron los primers EHC-U

(5'CCCTCACGCCATCAGTCCCA-AAAA-3') y el EHC-L (5'ÁAGAAGTCAAAAACGCCC-CAAAC-3'). El tamaño de los amplicones obtenidos fue de 417 pb (80076-80492 pb). El volumen final para la mezcla de reacción fue de 25 µL; 1µL de cada primer EHC-U (25 pmol) y EHC-L (25 pmol) (los primers fueron de Sigma-Genosys), 2.5 µL de solución buffer para PCR 10x, 10.5µL de H₂O libre de nucleasa, 10 µL de ADN TEMPLADO, 1.5 µL mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs (PuRetaqTMReady-To-GoTMPCR beads). La amplificación del ADN se realizó en un Termociclador modelo CGI-96, (figura 3) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95° C por cinco minutos; seguida de 40 ciclos de 94° C por 45 segundos, 59° C por 45 segundos y 72° C por 30 segundos con una extensión final a 75° C durante 10 minutos.



Tabela I. Descrição dos Primers utilizados para Diagnóstico do *H. pylori*

| Primer | Seqüência (5' - 3') | Ref |
|---------------|----------------------------|------------|
| H3 | TGGCGTGTCTATTGACAGCGAGC | 25 |
| H4 | CCTGCTGGGCATACTTCACCATG | 25 |
| H5 | GCCAATGGTAAATTAGTT | 26 |
| H6 | CTCCTTAATTGTTTTTAC | 26 |
| HPX | CTGGAGARACTAAGYCCTCC | 27 |
| HPX1 | GAGGAATACTCATTGCGAAGGCGA | 27 |

Ref. = Referencias

Y, corresponde a C ou T e R, corresponde a A ou G.

Para la segunda ronda de amplificación se utilizaron los primers ET-5U (5'GGCAAATCATAAGTCCG-CAGAA-3') y ET-5L (5'-TGAGACTTTCCTAGA-AGCGGTGTT-3') complementarios a un fragmento interno de amplicones obtenidos con EHC-U y EHC-L. El tamaño de los amplicones fue de 230 pb (80198-80427 pb). La amplificación de la segunda ronda fue similar a la primera, excepto que 0.2 µL del producto de la primera ronda se utilizó como ADN templado y la reacción se llevó a cabo

Como control positivo en cada reacción de PCR se utilizó el ADN extraído de la cepa ATCC 43629 de *H. pylori*. Como control negativo se utilizó una mezcla reactiva con todos los componentes necesarios excepto el ADN templado.

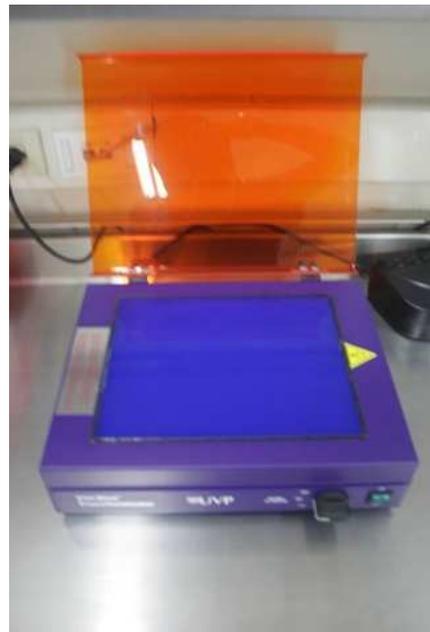
La detección de las otras bacterias se realizó por el método descrito por Fouad y cols. (Fouad AF; Barry J, Caimano M, Clawson M, zhu Q, Carver R, Hazlett K, Radolf D. 2002. PCR-Based Identification of Bacteria Associated with Endodontic Infections. *J. Clin Microbiol.* 40(9):3223-3231.

Como control positivo en cada reacción de PCR se utilizó el DNA extraído de *Prevotella gingivalis* (ATCC 33277).

Como control negativo se utilizó una mezcla reactiva con todos los componentes necesarios excepto el DNA templado.

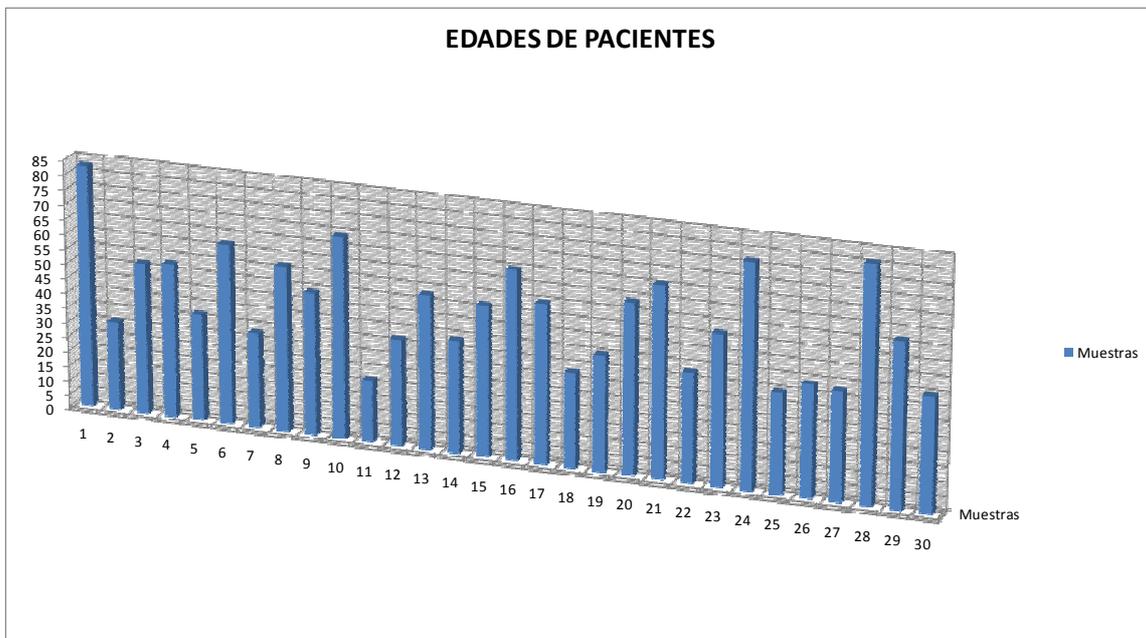
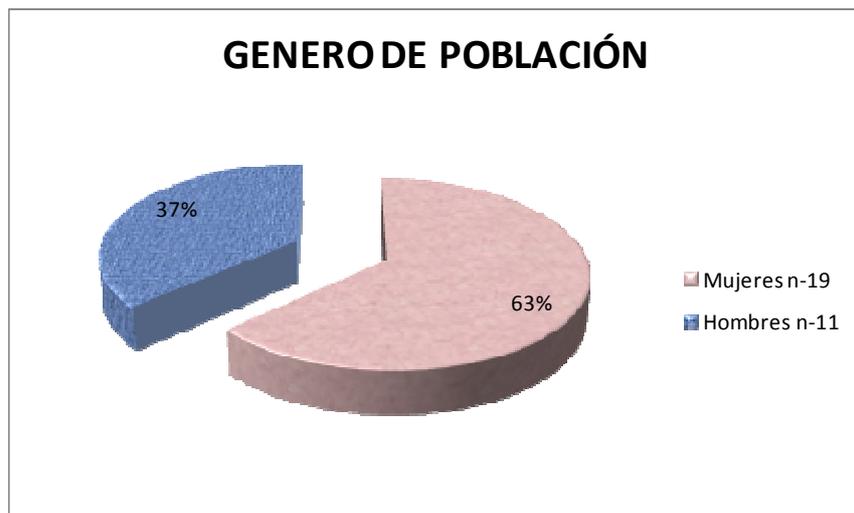
Análisis de las muestras amplificadas por electroforesis en geles de agarosa.

Después de la amplificación del ADN, 10µL de cada muestra se sometieron a electroforesis en geles de agarosa al 2% bajo las siguientes condiciones: 120 volts, 94 miliamperes por 120 minutos. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio y se fotografiaron bajo luz UV utilizando el sistema de fotodocumentación GEL LOGIC 100 (KODAK).



RESULTADOS

Pacientes: Se seleccionaron un total de 30 pacientes adultos; 19 correspondían al género femenino y 11 al género masculino, en edades comprendidas entre 22 y 81 años.

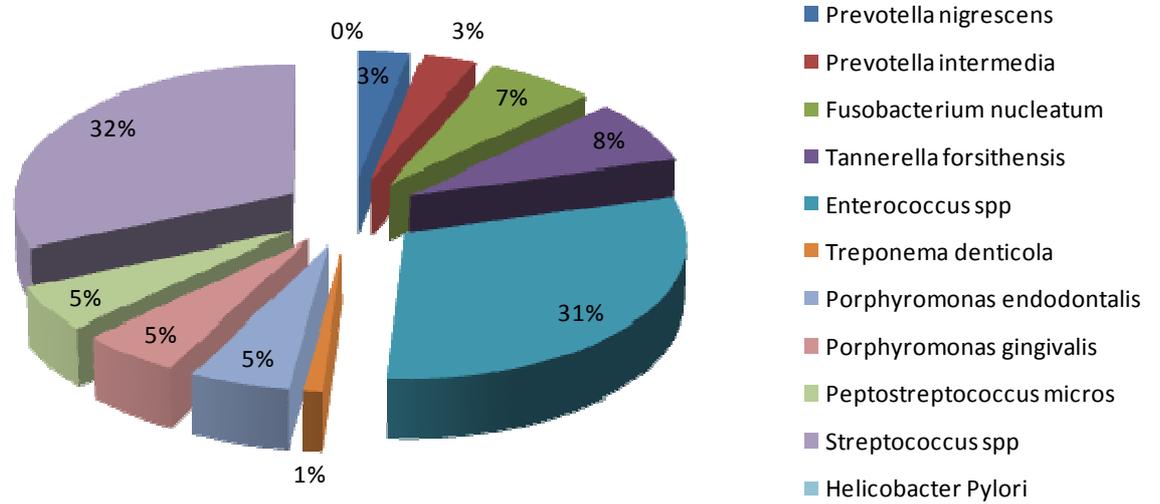


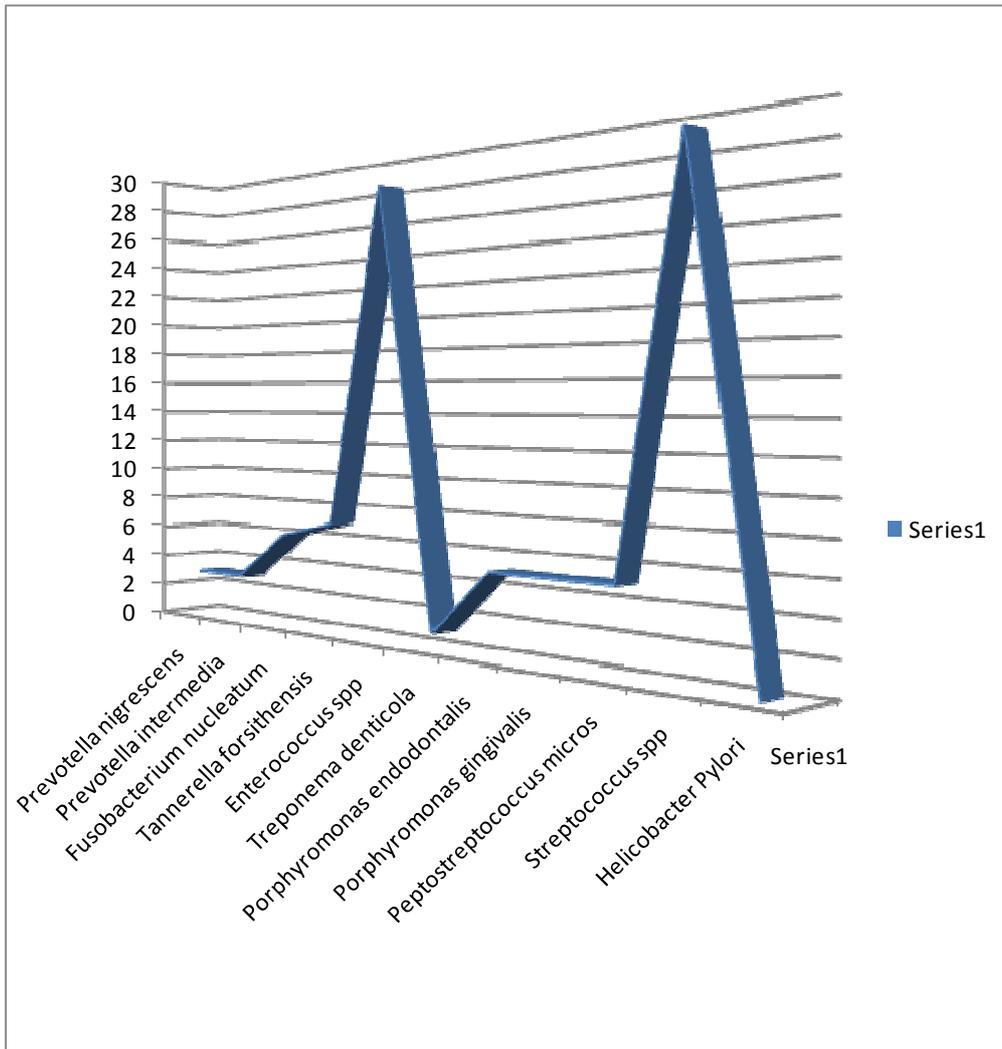
Ningún paciente estudiado indico que hubiese recibido terapia antibiótica o inhibidora de la bomba de protones 3 meses previos al estudio. A cada paciente se le explicó los procedimientos a los cuales serian sometidas para obtener las muestras.

En el presente trabajo al estudiar la prevalencia de *H. pylori* no se obtuvo su crecimiento de las muestras de placa dental de ningún paciente. Sin embargo se obtuvieron crecimientos de bacterias anaerobias como se muestra en el siguiente cuadro.

| BACTERIA | NÚMERO DE CASOS POSITIVOS | % |
|-----------------------------------|----------------------------------|----------|
| <i>Prevotella nigrescens</i> | 3 | 10.0 |
| <i>Prevotella intermedia</i> | 3 | 10.0 |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 6 | 20.0 |
| <i>Tannerella forsythensis</i> | 7 | 23.3 |
| <i>Enterococcus spp</i> | 28 | 93.3 |
| <i>Treponema denticola</i> | 1 | 3.3 |
| <i>Porphyromonas endodontalis</i> | 5 | 16.7 |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 5 | 16.7 |
| <i>Peptostreptococcus micros</i> | 5 | 16.7 |
| <i>Streptococcus spp</i> | 29 | 96.7 |
| <i>Helicobacter Pylori</i> | 0 | 0.0 |

PORCENTAJE DE BACTERIAS ANAEROBIAS





Con el fin de obtener el fragmento del gen de la ureasa reportado por Berroteran, 2002 en muestras de placa, se sometió al control positivo a una PCR de gradiente utilizando las condiciones antes descritas; sin embargo, en ninguna de las condiciones se observó la banda esperada. Solo se pudo observar una tenue señal entre las bandas correspondientes a 100 y 200pb en los pozos con las muestras que se manejaron a 42.8 y 45°C para el alineamiento.

DISCUSION

Se han realizado esfuerzos en la búsqueda de procedimientos para la detección de *H. pylori* en cavidad bucal, abarcando desde técnicas microbiológicas convencionales hasta técnicas moleculares. Las conclusiones de los diferentes trabajos son controvertidas y hasta ahora no se conoce si existe una colonización transitoria de la cavidad bucal, en casos de reflujo o en aislamiento de *Helicobacter pylori* en pacientes sometidos a endoscopia. Los resultados de prevalencia en este tipo de muestras fluctúan desde valores elevados hasta resultados próximos a cero.

En un estudio realizado por Berroterán y col. en Venezuela, lograron recuperar *H. pylori* mediante cultivo en 7/40 (17,5%) muestras de placa dental, sin embargo, en el presente estudio, no se logró aislar *H. pylori* en las muestras de cavidad oral en ningún paciente. Estos resultados concuerdan con los reportados por Bernander en Suecia, quien no logró aislar *H. pylori* en cultivos de placa dental y saliva de 52 pacientes que fueron positivos en muestras de biopsia gástrica.

Oshowo y col., lograron aislar *H. pylori* a partir de placa dental en sólo 2 pacientes de 208 estudiados, sin recuperarlo en saliva, raspado de lengua ni hisopado orofaríngeo. Bickley y col en 1993, tampoco lograron detectar el microorganismo mediante cultivo o PCR de placa dental de 62 pacientes con biopsias positivas. Por otra parte, Kradjen y col. en un estudio Canadiense, así como Luman y col., en el Reino Unido, no aislaron el microorganismo en saliva.

Los cultivos negativos en cavidad oral podrían deberse a que *H. pylori* se encuentra en bajo número, dificultando su aislamiento por el sobrecrecimiento de abundantes poblaciones de microorganismos competitivos. Otra explicación, podría basarse en la distribución no uniforme de *H. pylori* en cavidad oral.

En el presente estudio, los cultivos negativos en placa, podrían atribuirse a que los pacientes no poseían *H. pylori* en cavidad bucal ni gástrica, o que se encontraran en inóculos menores a 10² UFC/mL. También se ha planteado como dificultad para el éxito del cultivo a partir de cavidad oral, la existencia de *H. pylori* en forma cocoide, la cual se especula sea una forma de resistencia capaz de soportar las condiciones adversas que encuentra en el medio ambiente y reversible a la forma espiral en el momento en que se vuelven a dar las condiciones óptimas. Numerosos intentos de cultivar la forma cocoide han fracasado, lo que han llevado a denominar a la forma cocoide como “forma viable pero no cultivable” de *H. pylori*.

Nasrolahei y col. en un estudio similar a esta investigación, evaluaron 180 pacientes dispépticos mediante varias técnicas (ureasa, coloración de Giemsa, PCR, cultivo en placa dental y biopsia gástrica), evidenciando la presencia de *H. pylori* en placa dental tanto en pacientes infectados como no infectados, por lo que concluyen que no hay asociación entre colonización en placa dental e infección gástrica.

En conclusión los resultados obtenidos se pueden atribuir a la existencia de *H. pylori* en inóculos bajos o la presencia de formas cocoides no cultivables, lo cual

sugiere que la metodología empleada para la detección de *H. pylori* no es suficientemente sensible para la determinación del microorganismo en cavidad bucal.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Banatvala N.L., Owen R.A. (1999). Helicobacter pylori in dental plaque. Journal Pathology, México.
- 2.- Delgado T.A. Microbiología, (2ª. Ed): McGraw Hill. Interamericana, México.
- 3.- Emili C.S., Carolina M. N., Luis S.M. (1995). Odontología Preventiva y Comunitaria, (2ª.Ed): Masson, México.
- 4.- Farreras V. Medicina Interna, (14Ed): Harcourt, México.
- 5.- Fernando Q. G. (2000), Tratado de Anatomía Humana, (37ª Ed): Porrua, México.
- 6.- Gamboa J.F.(2000) Planeamiento de un modelo para el conocimiento de Flora Microbiana Oral Humana: Memorias IV-V Encuentro de Investigación en Ciencia Básica en Odontología [disponible en red].

<http://www.encolombia.com/investigaciones/memorias-IVencuentro-planeamiento.htm>.
- 7.- Gardner E., Gray D.J. (1978) Anatomia (Reimpresión): Salvat, México.
- 8.- Garther Leslie P. (1997) Histología, Texto y Atlas: McGraw-Hill Interamericana, D.F. México.

- 9.- Harrison (2000), Principios de Medicina Interna, (11^a. Ed): MacGraw Hill, Interamericana.
- 10.- Jawetz M, Aderby Microbiología Médica, (16aEd): Manual Moderno, México.
- 11.- Kraiden S., Anderson J., Kempston J (1999). Examination of human stomach biopsies, saliva and dental plaque for cambylobacter pylori. Clin Microbiol. México.
- 12.- Lawrence M.T. Diagnóstico Clínico y Tratamiento, (36aEd): Manual Moderno, México.
- 13.- Mims P. R., Walkelin W. Microbiología Oral, (2aEd): Mosu, México.
- 14.- Pontón J., (2000). Composición y Ecología de la Microbiota Oral: Bionotas sobre microbiología oral:
- 15.- Robbins S., Marcía M., Vinay K. (1997) Patología Humana, (3^a Ed): McGraw Hill, Interamericana.
- 16.- Romero C. Raul (1995), Microbiología y Parasitología Humana: Médica Panamericana, México.
- 17.- Torrealba Marcela (2000). Ecología del sistema Bucal: Central de apuntes de Microbiología.