



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XIX
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

***“DETECCION DE HELICOBACTER PYLORI POR PCR Y ELISA EN
NIÑOS CON OTITIS MEDIA CON EFUSION”***

T E S I S

**PARA OBTENER EL TITULO EN LA SUBESPECIALIDAD EN
OTORRINOLARINGOLOGIA PEDIATRICA**

PRESENTA

DRA. AISHA KENNEDY PADILLA

ASESOR METODOLOGICO

DRA. NURIA E. BORONAT ECHEVERRIA

COLABORADORA

DRA. MARGARITA DE LA LUZ CAMORLINGA PONCE

México D.F, Febrero del 2015.





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.



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MEXICO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XIX
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

***“DETECCION DE HELICOBACTER PYLORI POR PCR Y ELISA EN NIÑOS
CON OTITIS MEDIA CON EFUSION”***

Autor:

Dra. Aisha Kennedy Padilla

Médico Residente del Servicio de Otorrinolaringología Pediátrica

Asesor Metodológico:

Dra. Nuria E. Boronat Echeverría

Otorrinolaringólogo Pediatra
Maestría en Investigación y Ciencias Médicas
Unidad Medica de Alta Especialidad
Centro Médico Nacional Siglo XIX
Hospital de Pediatría
México D.F

Colaborador:

Dra. Margarita de la Luz Camorlinga Ponce

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias
Unidad Medica de Alta Especialidad
Centro Médico Nacional Siglo XIX
Hospital de Pediatría
México D.F



Dra. Graciela Castañeda Muciño

Jefe de Departamento de Educación e Investigación en Salud
UMAE, Centro Medico Nacional Siglo XIX, Hospital de Pediatría, Mexico, DF

Dra. Yolanda Sevilla Delgado

Profesor titular y Jefe del Servicio de Otorrinolaringología Pediátrica
UMAE, Centro Medico Nacional Siglo XIX, Hospital de Pediatría, Mexico, D.F.

Dra. Nuria E. Boronat Echeverría

Asesor Metodológico
UMAE, Centro Medico Nacional Siglo XIX, Hospital de Pediatría, Mexico, D.F.

Dra. Aidee Perez Olguin

Profesor Ayudante del servicio de Otorrinolaringología Pediátrica
UMAE, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Hospital de Pediatría, México, D.F.

Dr. David Espinoza Saavedra

Medico Adscrito del Servicio de Gastroenterología Pediátrica
UMAE, Centro Medico Nacional Siglo XIX, Hospital de Pediatría, Mexico, D.F.

ÍNDICE

1. Resumen Estructurado.....	5
2. Antecedentes	6
3. Justificación	13
4. Planteamiento del problema	14
5. Objetivos	15
6. Hipótesis	16
7. Material y Métodos	17
8. Criterios de Selección	18
9. Descripción de variables	19
10. Análisis estadístico	21
11. Descripción general del estudio	22
12. Aspectos éticos	27
13. Recursos Humanos, físicos, financieros y factibilidad	28
14. Cronograma de actividades.....	29
15. Resultados	30
16. Discusión	33
17. Conclusiones	36
18. Bibliografía	37
19. Anexos	40

RESUMEN ESTRUCTURADO

DETECCION DE HELICOBACTER PYLORI POR PCR Y ELISA EN NIÑOS CON OTITIS MEDIA CON EFUSION

Kennedy-Padilla A., Boronat-Echeverría N.

Departamento de Otorrinolaringología Pediátrica, Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI. IMSS México D.F.

Antecedentes: La otitis media con efusión (OME) es una patología pediátrica muy frecuente y se define como la presencia de líquido en el oído medio, sin signos de infección aguda. Se han realizado algunos estudios para investigar el papel fisiopatológico del ERGE en la OME, detectando la presencia de *Helicobacter pylori* en concentraciones hasta 1000 veces mayores que la sérica, sugiriendo una asociación.

Objetivos: Demostrar la presencia de *H. pylori* en las efusiones del oído medio. Determinar la frecuencia de sintomatología de ERGE mediante un instrumento validado en los pacientes con OME

Material y métodos: Pacientes con OME operados de colocación de tubos de ventilación; a los cuales se realizó el Cuestionario de Orenstein o de Nelson. Se realizó ELISA y PCR en la efusión para evaluar la presencia de *H. pylori*. Se correlacionó los resultados del cuestionario con la PCR y ELISA.

Resultados: 69 pacientes de marzo 2011 a julio 2014; 21 mujeres (30.4%) y 48 hombres (69.6%), con una mediana de edad de 5 años. 85.5% con resultado negativo por los cuestionarios, 11.5% positivo y 3% sospechoso. Con 7.2% positivo para ELISA y 2.8% para PCR y ELISA

Conclusiones: No puede demostrarse el rol de *H. pylori* en la OME. Todos los pacientes con resultados de los cuestionarios positivos deberán ser valorados por un Gastroenterólogo.

ANTECEDENTES

La otitis media con efusión (OME) es una patología muy frecuente en la edad pediátrica, correspondiendo a la mayoría de los casos de hipoacusia conductiva en este grupo etario. Se caracteriza y define como la presencia de líquido seroso o mucoso (efusión) en el oído medio, sin signos de infección aguda, caracterizada por la metaplasia de la mucosa del oído medio.¹ La OME es la forma más frecuente de otitis media crónica en niños, y puede ser una secuela de un cuadro de otitis media aguda.^{1,2.}

Se reporta una alta incidencia de esta patología en la literatura, presentándose por lo menos en una ocasión en el 91.1% de los pacientes antes de los 2 años, en 66% de los pacientes entre los 2 y 5 años, y en 22% de los pacientes entre los 5 y 12 años. De tal forma que a la edad de 3 años casi todos los niños habrán experimentado al menos un episodio de efusión del oído medio, ya sea otitis media aguda u OME.² La falta de síntomas en la OME hace difícil estimar la prevalencia, pero gracias a las pruebas de detección se estima aproximadamente un 20%, encontrando la incidencia máxima al año de edad; algunos estudios sugieren un aumento en la incidencia del 39% en los últimos 10-20 años. Se estima una tasa de recurrencia del 50% dentro de los primeros 24 meses.^{3,4}

La mayoría de los niños con OME tienen hipoacusia leve o superficial, con una media de tres frecuencias para tonos puros, en promedio 25 dB, variando de 10 a 40 dB basado en el volumen de la efusión, lo que puede traer como consecuencia retraso en el desarrollo del lenguaje, tomando en cuenta que la mayor prevalencia de OME se presenta en pacientes menores de 2 años.^{1,2,4}

La etiopatogenia continúa siendo controversial, ya que si bien la disfunción de la trompa de Eustaquio juega un papel primordial, se ha postulado que también surge a partir de un mecanismo inflamatorio de la mucosa de la caja timpánica como en el proceso agudo, siendo éste el responsable del exudado observado y no de una obstrucción tubaria inicial. El factor detonante podría ser de novo, ya sea por la inflamación de la mucosa del oído medio, o bien por la alteración en la presión del oído medio secundaria a una disfunción tubaria, lo que lleva a una proliferación de células caliciformes y glándulas mucosas, acumulando un moco

viscoso en el espacio del oído medio que no puede ser eliminado por el sistema de transporte mucociliar normal.⁵

La secreción del oído medio puede surgir de dos fuentes: derrame capilar (trasudado) y a partir de las células secretoras del epitelio respiratorio (mucoso). Trabajos previos reportaban que no más de 30% de los cultivos de líquido provenientes de una OME son positivos para algún germen, sugiriendo una etiología inflamatoria y no infecciosa; sin embargo, el uso de técnicas modernas de biología molecular ha permitido la identificación de bacterias en un número mayor de pacientes.¹

La causa de ésta patología es multifactorial, incluyendo virus, bacterias, alergia y disfunción tubaria entre otras. En un estudio reciente en el cual se utilizó PCR, se detectó ADN bacteriano entre el 77 y el 95% de los casos y ARN viral en el 30%. No está claro si estos hallazgos constituyen evidencia de infección activa o pasada. Las bacterias más comúnmente identificadas son aerobias: *Streptococcus pneumoniae* (30-50%), *Haemofilus influenzae* no tipificable (20-36%), *Moraxella catarrhalis* (10-20%) y *Streptococcus* grupo A (1-5%).

Así mismo se ha postulado al ERGE como una causa; el reflujo del contenido gástrico hacia la nasofaringe y de ahí al oído medio es posible gracias a la angulación y la inmadurez de la trompa de Eustaquio que existe en niños y lactantes, que se favorece por la posición de decúbito supino. De ésta forma el contenido gástrico que invade el oído medio causa daños transitorios en la mucosa de la trompa de Eustaquio y del oído medio antes de que pueda ser neutralizado, resultando en inflamación, creando así las condiciones ideales para la colonización bacteriana, sugiriendo que el tratamiento antirreflujo pudiera prevenir la otitis media con efusión.^{2,5} Algunos estudios han reportado la presencia de *Helicobacter pylori* (HP) en el oído medio, lo que podría reforzar cada vez mas la relación entre el ERGE y la OME.²²

La otitis media con efusión se trata con drenaje y colocación de tubos de ventilación, si ésta no se ha resuelto en los primeros 6 meses o bien existe hipoacusia secundaria.⁶

HELICOBACTER PYLORI

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es un microorganismo microaerófilo gramnegativo que habita en la capa mucosa que recubre el epitelio gástrico, que ha demostrado estar asociado con la gastritis crónica, úlcera gastroduodenal y cáncer gástrico. El *H. pylori* también se ha descubierto en la placa dental, saliva, tejido adenoamigdalino, pólipos nasales, mucosa nasal y mucosa del seno maxilar.¹³ La prevalencia de *H. pylori* varía en relación a la edad, que va a partir de los 2 años, donde el 20% de los niños son portadores de *H. pylori*; aumentando de forma directamente relacionada a la edad; de tal manera que a los 16 años el 65% son también portadores.^{7,18}

Existen pruebas invasivas y no invasivas para la detección de *H. pylori*. Las no invasivas son: prueba de aliento con urea, serología y antígeno en heces. Las invasivas incluyen la prueba histopatológica de CLO (Organismo similar a *Campylobacter*) y la PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa).^{8,20,23}

La prueba CLO es el método más comúnmente utilizado para demostrar la actividad de la ureasa, con rangos de especificidad que van del 95 al 98% ; y que se usa para monitorear la erradicación de *H. pylori*. Cuando una pieza de tejido contiene *H. pylori* se incuba con la prueba de CLO, y el color cambia de amarillo a rojo, así es como se sabe que existe infección.^{7,20}

La prueba de ELISA constituye un método sencillo y rápido, que permite establecer distintos umbrales de positividad para diferentes grupos poblacionales, mediante la detección de una proteína de 120-128 kDa, derivada de la formación de anticuerpos específicos de *H. pylori* teniendo como ventaja sobre la PCR ya que se puede diagnosticar infección activa, debido a que los anticuerpos desaparecen entre los 6 a 12 meses después del tratamiento médico. Su cuantificación se realiza de acuerdo a la absorbancia obtenida para un suero control, probado en diferentes diluciones o concentraciones que se expresaran en unidades/ml. Tiene un rango de sensibilidad y especificidad que va del 80% al 90% respectivamente. La presencia de anticuerpos IgG traduce memoria inmunológica y que la bacteria ha sido erradicada, en cambio la presencia de IgM traduce actividad bacteriana.^{9,10, 11, 21,24, 25,26.}

La PCR demuestra la presencia de ADN bacteriano y es la única técnica molecular con una sensibilidad y especificidad del 95%. Su principio es la amplificación de una región específica de ADN bacteriano y es útil para el diagnóstico de *H. pylori* con la ventaja de detectar la bacteria con muy poco ADN celular detectando a el microorganismo sin importar la viabilidad y cantidad en la muestra.^{12,27, 28,29}

Los 5 métodos utilizados para la amplificación del ADN por PCR son:

- 1) Gen rRNA 16S,
- 2) Secuencia aleatoria cromosómicas,
- 3) Gen antígeno específico de especies 26KDa,
- 4) Gen ureasa A (urea) y
- 5) Gen urea C (ure-C).

Considerándose que la PCR del gen ure-C es el más apropiado de los 5 métodos diferentes para la detección de *H. pylori* ya que en los estudios de pruebas diagnósticas, se ha calculado un valor predictivo positivo del 100%.^{13,22.}

Sin embargo, el estándar de oro para la detección sigue siendo el cultivo de la bacteria; la principal desventaja de esta técnica en el diagnóstico es su baja sensibilidad en condiciones no óptimas, por los exigentes requerimientos de cultivo de *H. pylori*, que implican disponer de una atmósfera de microaerofilia, alta humedad con una temperatura de 35-37 °C y un tiempo de incubación de 5 a 10 días. Por otra, parte la disponibilidad de los insumos para el cultivo es muy poca, sobre todo en México^{10,11,14,24.}

HELICOBACTER PYLORI Y OME

Se ha investigado la presencia del *H. pylori* en muestras obtenidas de la efusión de oído medio. En general, se han demostrado tasas de positividad por PCR para *H. pylori* que varían entre el 16.3% y 35%.^{5,6,7,10}

Tasker *et al* en 2002, midieron la concentración de pepsina en efusiones de oído medio en niños mediante ELISA, y ensayos de actividad enzimática ,encontrando en el 83% concentraciones de pepsina/pepsinógeno hasta 1000

veces mayores que la séricas, reforzando la idea de que el reflujo gástrico podría ser una causa importante de otitis en niños.^{5,6,7}

Yilmaz *et al* en 2006 estudiaron la posible asociación del *H. pylori* y la otitis media con efusión en un grupo de 42 pacientes pediátricos, 22 con ERGE y OME, y 20 con OME sin ERGE, a los cuales se les realizó determinación de la presencia de *H. pylori* en estómago y en el moco de la efusión, encontrando la presencia de *H. pylori* en 10 pacientes (45%) en el grupo con ERGE y en 2 (10%) en el grupo sin ERGE, encontrando esta diferencia estadísticamente significativa.¹⁰ La demostración de *H. pylori* en la efusión del oído medio, indica que el contenido gástrico llega al mismo debido al reflujo faríngeo, y apoya que el *H. pylori* puede estar involucrado en la patogenia de la OME. Gracias a esta evidencia podría ser postulado, que el *H. pylori* causa hiperplasia secretora en la mucosa del oído medio tal como lo hace en la mucosa gástrica.¹⁰

Morinaka, *et al.* (2005) encontraron la presencia de *H. pylori* en la efusión del oído medio de 3 pacientes mediante inmunohistoquímica y la prueba de CLO.⁸ El anticuerpo anti- *H. pylori* tiene sensibilidad del 100% y una especificidad del 94%, sin reactividad cruzada con *Campylobacter jejuni* o *Campylobacter coli*. Éstos resultados sugieren que el *H. pylori* puede existir en la efusión del oído medio de algunos pacientes con OME. La mayoría de los pacientes eran adultos con OME y problemas gástricos. La conclusión de estos autores es que por supuesto que *H. pylori* no significa o se traduce como ERGE, pero en el caso particular de la OME, el sentido biológico nos dice que, solo por la vía del ERGE pudiera llegar a colonizarse el oído medio con *H. pylori* y que evidentemente son necesarios más estudios para determinar si los pacientes con OME y problemas gástricos deben recibir tratamiento de erradicación. Por otra parte y como ya se mencionó estos resultados fueron obtenidos en adultos principalmente por lo que también se requieren más estudios desarrollados en la población pediátrica ⁸.

Melake *et al* encontraron positividad para *H. pylori* en 24 de 60 pacientes (40%) y una PCR positiva en 34 de 60 pacientes (56.7%) con una $P > 0.05$.¹¹

Fancy *et al*, estudiaron una posible relación de *H. pylori* con OME, determinando si *H. pylori* a través de la colonización de la nasofaringe, podría desempeñar un papel en la enfermedad del oído medio en los niños, encontrando que las pruebas de PCR realizadas para *H. pylori* fueron positivas en 23 (31.5%) de

las 73 muestras de la efusión del oído medio.¹¹ Aunque el estudio demuestra la presencia de *H. pylori* en la nasofaringe y en la efusión del oído medio de los niños con OME, las tasas de prevalencia no parecen diferir de los que no tienen OME con una significancia estadística con una *p* de 0.49.²⁶

En una revisión sistemática de 6 trabajos originales sobre la relación entre *H. pylori* y OME, con un total de 230 pacientes, se concluye que hasta la actualidad, aunque el *H. pylori* está presente en la nasofaringe y la efusión del oído medio, el papel de ésta bacteria en la patogenia de la OME no puede determinarse aún.^{11, 12, 13,14}

Por otro lado, la literatura actual sugiere que el control del ERGE juega un rol en el manejo de la otitis media tanto recurrente como con efusión, algunos autores señalan que incluso podría intentarse un tratamiento empírico contra el ERGE en estos niños, en México no hay literatura al respecto ni en pacientes pediátricos ni en adultos.^{15, 21, 22,23}.

Por lo anteriormente citado es lógico pensar que pueda existir una asociación ente *H. pylori* y OME, surgiendo la pregunta de como podría distinguirse a los pacientes que tienen mas probabilidad de presentarlo de los que no. Evidentemente sería más probable encontrar la presencia de *H. pylori* en las efusiones de pacientes con OME y sintomatología clínica compatible con ERGE. En éste sentido sería de util un instrumento clínico, de fácil acceso, probablemente con buena sensibilidad y especificidad, dado que, a excepción de la clínica, las pruebas diagnósticas para ERGE y *H. pylori* son invasivas, costosas o no son de fácil acceso al médico no especialista en gastroenterología. Además tendríamos que demostrar primero cierto grado de correlación entre este instrumento clínico con la presencia del *H. pylori* en la efusiones del oído medio.

INSTRUMENTOS CLÍNICOS PARA DIAGNÓSTICO DE ERGE

Los cuestionarios clínicos para diagnóstico del ERGE, se agrupan en opciones según la edad del paciente, para evaluar clínicamente la presencia de ERGE según el puntaje obtenido.

De la revisión de la literatura a este respecto y obviamente de la consulta con los expertos, delimitamos básicamente dos instrumentos que podrían sernos de utilidad.

En primera instancia tenemos el instrumento de Orenstein que desarrolló en 1992, (cuestionario infantil de Reflujo Gastroesofágico denominado I-GERQ, por sus siglas en inglés) útil como una herramienta para identificar a los niños con ERGE, que proporciona datos de la historia clínica con respecto a las manifestaciones de reflujo y es aplicable en pacientes menores de 7 años de edad. Este cuestionario ha sido modificado por otros autores agregando preguntas para mejorar la sensibilidad y valor predictivo positivo del mismo ^{30, 31,32}

Por otro lado, Nelson *et al*, crearon un cuestionario para pacientes de 7 a 16 años de edad, que posteriormente fue validado por Storal y colaboradores.

Ambos cuestionarios tienen una sensibilidad hasta del 74% y una especificidad de hasta 81%, lo que los hace buenos instrumentos para determinar la sospecha de ERGE. ³³

Los instrumentos anteriormente mencionados serán aplicados en este trabajo para tratar de determinar si existe una relación entre la presencia de síntomas clínicos de ERGE y la prueba positiva de PCR y ELISA para *H. pylori* en efusión del oído medio. ³³

JUSTIFICACIÓN

La patogénesis de la OME sigue siendo controvertida, aunque se sabe que puede ser multifactorial. En pacientes portadores de *H. pylori* y ERGE es lógico pensar que este microorganismo pudiera estar presente en la efusión del oído medio y tener un papel en la fisiopatología de la OME.

Siendo la OME una enfermedad común en la niñez que representa el 30% SIMO CMN SIGLO XXI de la consulta médica en nuestro servicio, pensamos que es importante descartar o no la asociación con ERGE, que se plantea en la literatura para ofrecer un tratamiento más integral a nuestros pacientes y evitar las recaídas que ponen en riesgo a la larga el desarrollo óptimo del lenguaje del lenguaje , además el presente estudio nos permitiría saber si es posible correlacionar la presencia o ausencia clínica de síntomas de reflujo por medio del Cuestionario Clínico de ERGE de Orenstein Modificado y de Nelson con la presencia del *H. pylori* en la efusión del oído medio.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuál es la frecuencia de detección de *H. pylori* por medio de la prueba de *PCR* y *ELISA* en las efusiones de los pacientes con OME del Departamento de Otorrinolaringología del Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI?

2. ¿Cuál es la frecuencia de sintomatología clínica compatible con ERGE obtenido por medio del Cuestionario Clínico de ERGE de Orenstein Modificado para niños menores de 7 años y de Nelson para mayores de 7 años?

OBJETIVOS

1. Determinar la presencia de *H. pylori* detectado por PCR y ELISA en las efusiones de oído medio de los pacientes con diagnóstico de OME atendidos en el departamento de Otorrinolaringología Pediátrica CMN SXXI en el periodo de Marzo de 2011 a Julio de 2014.
2. Determinar la presencia de sintomatología clínica compatible con ERGE mediante el puntaje obtenido por medio del Cuestionario Clínico de ERGE de Orenstein Modificado para menores de 7 años y de Nelson para ERGE en mayores de 7 años, en los pacientes con diagnóstico de OME atendidos en el departamento de Otorrinolaringología Pediátrica CMN SXXI en el periodo comprendido de Marzo de 2011 a Julio de 2014.

HIPÓTESIS

1. Encontraremos la presencia de *H. pylori* en un 18% en la efusión del oído medio en los pacientes con diagnóstico de OME atendidos en el departamento de Otorrinolaringología Pediátrica CMN SXXI en el periodo de Marzo de 2011 a Julio de 2014.
2. Encontraremos datos clínicos compatibles con ERGE en un 10% de la población determinado por el Cuestionario Clínico de ERGE de Orenstein modificado para niños menores de 7 años y el cuestionario de Nelson para mayores de 7 años en los pacientes con diagnóstico de OME atendidos en el departamento de Otorrinolaringología Pediátrica CMN SXXI en el periodo de Marzo de 2011 a Julio de 2014.

MATERIAL Y METODOS

TIPO DE ESTUDIO

Este estudio es el seguimiento de una cohorte prospectiva que no fue determinante en cuanto a resultados por faltarle tamaño de muestra, la primera parte del estudio inicio en el 2011 y concluyó en el 2012, en esta parte del estudio se amplio la cohorte hasta julio del 2014. Se trata de un estudio observacional, ambispectivo, transversal, y descriptivo.

UNIVERSO

Pacientes pediátricos de cualquier edad con diagnóstico de otitis media con efusión candidatos a colocación de tubos de ventilación cortos o largos en el Departamento de Otorrinolaringología Pediátrica del CMN SXXI durante el periodo de Marzo 2011 a Julio de 2014.

CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para un cálculo de tamaño de muestra en estudios comparativos, cuyas variables predictoras y de desenlace sean dicotómicas (estadígrafo Z) y de acuerdo a la evidencia disponible en la literatura la frecuencia de detección del *H. pylori* a nivel de oído medio (*PCR* y *ELISA*) en pacientes sanos fue de 5% (P2), la frecuencia de detección en pacientes con OME fue de 30% $p < 0.005$ (P1) por lo que la diferencia de proporciones para el cálculo es de 25% (0.25). Esta diferencia para un α unilateral de 0.025 y un β de 0.20 da de acuerdo a las tablas da un tamaño de muestra de 60.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión

1. Todos los pacientes pediátricos con diagnóstico de otitis media con efusión.
2. Candidatos para colocación de tubos de ventilación (OME de más de 6 meses de evolución con o sin hipoacusia, OME de menos de 6 meses de evolución con pérdida auditiva mayor a 30 dB).
3. Que hayan contestado el Cuestionario clínico de Orenstein para menores de 7 años y de Nelson para mayores 7 años.
4. Que hayan firmado el consentimiento informado para el estudio.

Criterios de No Inclusión

1. Pacientes con antecedente de haber recibido tratamiento previo para el *H. pylori*: Omeprazol, Claritromicina, Amoxicilina y Metronidazol.
2. Pacientes que no acepten participar en el estudio.

Criterios de exclusión

1. Pacientes con expedientes incompletos.
2. Pacientes en los que una vez realizada la miringotomía no se obtenga muestra suficiente para la prueba de PCR y ELISA (mayor 0.2ml).
3. Aquellas muestras obtenidas de la efusión del oído medio que no se mantengan a 4 grados de temperatura.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Al tratarse el presente estudio de un diseño observacional no se aplica la clasificación de variable dependiente e independiente por lo que solo describimos las variables a estudiar.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
Edad	Tiempo que ha vivido una persona desde su nacimiento	Se establecerá el tiempo que ha vivido una persona en años y meses.	Cuantitativa discreta	De intervalo
Género	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer	Se establecerá de acuerdo a sus características fenotípicas en Masculino o Femenino	Cualitativa	Nominal
Presencia de <i>H. pylori</i>	Determinación de la Presencia de fragmentos <i>H. pylori</i> detectados en la efusión del oído medio	Se establecerá por la presencia de fragmentos detectados por PCR o ELISA	Cualitativa	Nominal
ELISA	Prueba de Ensayo Inmunoenzimático por absorberencia de antígenos para determinar la presencia <i>H. pylori</i>	Determina la presencia de fragmentos de proteína de <i>H. pylori</i> .	Cualitativa	Nominal

PCR	Reacción en cadena de polimerasa para determinar la presencia de fragmentos de material genético de <i>H. pylori</i>	Determinación del Gen de Ure C de <i>H. pylori</i>	Cualitativa	Nominal
Hipoacusia	Perdida Auditiva por debajo del Umbral normal de audición de 20 dB	Se establecerá por medio de una Audiometría mayores de 4 años o Potencial Auditivo Evocado del Tallo Cerebral (PEATC) menores de 4 años Superficial 40-60 Moderada 61-80 Severa 81-90 Profunda >91	Cualitativa	Nominal
ERGE	Enfermedad caracterizada por el reflujo del contenido gástrico hacia el esófago y/o faringe, laringe.	Se valorará por medio del Cuestionario de Orenstein para menores de 7 años: Negativo un puntaje ≤ 6 , sospechoso entre 6-7 y positivo cuando es ≥ 7 puntos. y el cuestionario de Nelson para mayores de 7 años: Positivo se requiere una calificación ≥ 3 .	Cualitativa	Nominal Ver anexo 1 y 2.

ANALISIS ESTADÍSTICO

Se calcularón las medidas de tendencia central y dispersión adecuadas para el tipo de variable, con objeto de llevar a cabo la parte descriptiva.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Procedimientos:

El estudio se llevo a cabo en el Departamento de Otorrinolaringología Pediátrica del Hospital de Pediatría CMN Siglo XIX, durante el periodo comprendido de Marzo de 2011 a Julio de 2014. Se captaron los pacientes con el diagnóstico de OME en la consulta externa; una vez que se determinó si el paciente era candidato a cirugía, se realizó, dependiendo de su edad el Cuestionario Clínico Modificado de Orenstein (menores de 7 años) o el de Nelson (mayores de 7 años).

El presente estudio se trata de la continuación de un trabajo previo que no completo el tamaño de muestra, por lo que se tomaron los datos de todos los pacientes desde Marzo de 2011 hasta la fecha para así completar un tamaño final de muestra de 69 pacientes.

El algoritmo para toma de muestra de secreción del oído medio:

1) En sala de quirófano con paciente en decúbito dorsal, bajo anestesia general, orointubado, bajo normas de asepsia; se realizó antisepsia del conducto auditivo externo llenándolo con alcohol etílico al 70% durante un minuto, luego se aspiró, y se colocaron campos estériles, posteriormente se llenó nuevamente con solución salina y se aspiraron los residuos de solución del CAE (Figura 1).

2) Bajo visión microscópica se realizó una punción de timpanocentesis en los cuadrantes inferiores de la membrana timpánica, utilizando un agujero para punción 17G x 1 1/2 pulgadas (38 mm), con doble capuchón de silastic, conectada a una trampa colectora realizando aspiración de moco (Figura 2).

FIGURA 1.

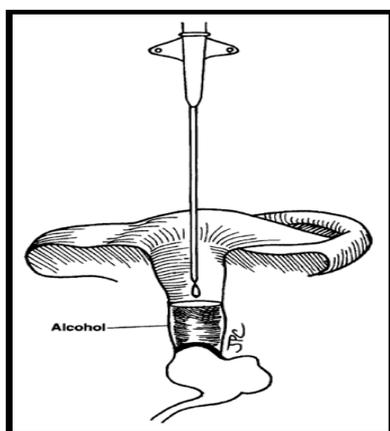
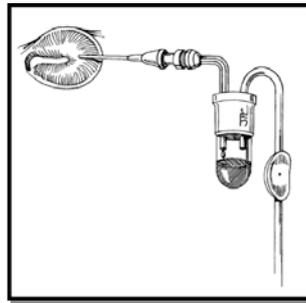


FIGURA 2.



3) Se colocó la muestra en medio de transporte adecuado cuya cantidad fue de por lo menos 0.2 ml; en un tubo de 1,5 mL, el cual fue identificado con nombre completo del paciente, número de afiliación, fecha, tipo de muestra y secreción de oído medio ya sea derecho e izquierdo. Luego de realizada la timpanocentesis se realizó la miringotomía (Figura 3 a y b) y colocación de tubo de ventilación completando el procedimiento quirúrgico para el cual el paciente fue programado (Figura 4). Al término del procedimiento quirúrgico se transportó la muestra en una hielera con congelante o hielo granulado a una temperatura de 4 grados. Fueron almacenadas bajo refrigeración y al reunirse todas las muestras; en una sola serie se realizaron las pruebas de *PCR* y *ELISA*.

FIGURA 3 a y b.

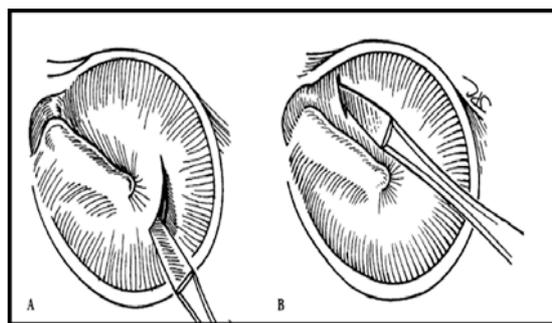
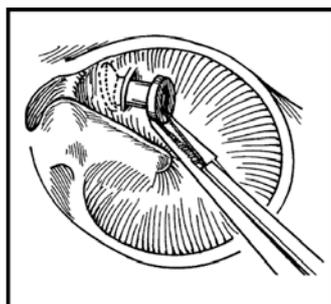


FIGURA 4.



PCR

Después de obtener la extracción de DNA cromosomal por método de GES de la muestra de efusión, se procedió a realizar la amplificación del mismo por medio de *PCR*, con un protocolo estandarizado que se menciona a continuación:

1. Centrifugar la suspensión a máxima velocidad por 5 minutos.
2. Desechar el sobrenadante y resuspender el paquete celular en 100 ml de TE.
3. Adicionar 400 ml de GES, mezclar suavemente a temperatura ambiente y colocar en hielo.
4. Adicionar 200 ml de solución de acetato de amonio, previamente enfriado, mezclar y dejar en hielo durante 5 minutos.
5. Adicionar 680 ml de cloroformo, mezclar y centrifugar a máxima velocidad por 5 minutos.
6. Remover la fase acuosa y adicionar 320 ml de isopropanol, mezclar y dejar precipitar durante 5 minutos.
7. Centrifugar a máxima velocidad por 1 minuto.
8. Lavar el paquete celular con 800 ml de etanol al 70% y centrifugar por 1 minuto a máxima velocidad.
9. Dejar secar por 10 minutos en incubación a 43°.
10. Disolver con 100 ml de TE.
11. Verificar la pureza del DNA por medio de electroforesis. Mezclar 5 ml de la muestra con 1 ml de buffer de muestra. La electroforesis se corre en geles de agarosa al 1% a 100v el tiempo que sea necesario para observar las bandas.
12. Almacenar a - 20°.

Después de obtener la extracción de DNA cromosomal por método de GES; de la muestra de efusión; se procedió a realizar la *PCR*, cuyas concentraciones y volúmenes usados se señalan en la tabla 1.

Tabla 1. Volúmenes y concentraciones usadas para PCR

CONCENTRACION FINAL	50 ml	25 ml
Buffer de PCR 10x con cloruro de magnesio 50 mM 1x	5 ml	2.5 ml
Buffer de PCR 10x sin cloruro de magnesio 1x	5 ml	2.5 ml
Cloruro de magnesio 50 mM 1.5 Mm	1.5 ml	0.75 ml
Cloruro de magnesio 25 mM 1.5 mM	3.0 ml	1.5 ml
Mezcla de dNTPs 10 mM 0.2 mM c/u	4.0 ml	2.0 ml
Mezcla de primers 25 mM c/u 0.5 mM	1 ml + 1 ml	0.5 ml
Ta DNA polimerasa 5U/ml 2.5 unidades	0.5 ml	0.25 ml

Para finalizar el procedimiento se realizó la determinación de la secuencia de nucleótidos específica para el DNA obtenido, a fin de determinar su concordancia con la secuencia conocida para *H. pylori*. Que se mencionan en la Tabla 2.

Tabla 2. Secuencia de nucleótidos para *H. pylori*

Gen/ Alelo	Nombre del primer	Secuencia de nucleótidos	Tamaño (pb)
glmM (Urea C)	glmMfor	5'GGATAAGCTTTTAGGGGTGTTAGGG3'	296
	glmMrev	5'GCTTACTTTCTAACACTAACGCGC3'	296

ELISA

Para la prueba de ELISA las muestras son homogeneizadas, diluidas y adosadas en una microplaca que contenía antígenos anti *H. pylori*. Estos al estar en contacto; reaccionan con la enzima desarrollándose un color (amarillo) proporcional a la presencia de anticuerpos de la bacteria, teniendo como principio la detección de anticuerpos específicos anti *H. pylori* tipo IgG e IgM.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio se apegó a las normas que dicta el reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, el cual pertenece al grupo de estudios sin riesgo (título segundo de los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, capítulo único, artículo 17 apartado I). De acuerdo con la “Declaración de Helsinki” y sus posteriores modificaciones para los trabajos de investigación biomédica en sujetos humanos, y al Instructivo Operacional de la Comisión de Investigación Científica y de los Comités de Investigación de Instituto Mexicano del Seguro Social quien lo ubica como un estudio tipo A, sin riesgo, en su apartado 17 capítulo I.

FACTIBILIDAD

Este estudio se considera factible ya que contamos con los recursos para realizarlo, así como el volumen de pacientes con la patología en estudio.

Recursos Materiales:

- a. Tubo de 1.5 mL para transporte de muestra.
- b. Hielera con congelante o hielo granulado a 4 grados.
- c. Pruebas de *PCR* para las secreciones de la efusión.
- d. Prueba de *ELISA* para las secreciones de la efusión.
- e. Equipo Medico del Instituto Mexicano del Seguro Social.
- f. Material necesario para la punción aspiración: Jeringa de insulina con punzocat No. 17 G x 11/2 pulgadas (38 mm).
- g. Computadora
- h. Impresora.
- i. Material de papelería.

Recursos Humanos:

- a. Los involucrados en la realización de este estudio.

Recursos Financieros:

- a. La realización de este estudio utilizo los recursos propios del IMSS sin requerir financiamiento adicional.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

N o.	Actividad	Marzo 2014	Abril 2014	Mayo 2014	Junio 2014	Julio 2014	Agosto 2014	Sept 2014	Oct 2014	Nov 2014	Dic 2014	Enero 2015
1, 2, 3	Elaboración, registro y enmienda del Protocolo	X	X	X								
4	Recolección de la información				X	X	X	X	X			
5	Análisis de Resultados									X	X	X
6	Elaboración y entrega de Documento Final											X

RESULTADOS

Durante el periodo de Marzo de 2011 a Julio del 2014, se reunieron un total de 69 pacientes con diagnostico de Otitis Media con Efusión, que fueron sometidos a colocación de tubos de ventilación, de los cuales 21 fueron mujeres (30.4%) y 48 hombres (69.6%), con una mediana de edad de 5 años (rango de 1 a 13 años). Del total de pacientes 15 (21.7%) tenían colocación de tubos de ventilación previa y 54 (78.3%) no.

Del total de pacientes con otitis media crónica con efusión 22 (31.8%) tenían asociación con alguna comorbilidad, las cuales se describen en la siguiente tabla.

Tabla 3. Comorbilidades asociadas a los pacientes con OME.

COMORBILIDAD	TOTAL (PORCENTAJE)
Sin comorbilidad	47 (68.2%)
Secuelas de Labio y Paladar Hendido	9 (13%)
Síndrome de Down	7 (10.1%)
Síndrome de Goldenhar	2 (2.9%)
Otras	4 (5.8%)
TOTAL	69 (100%)

En cuanto a los resultados con respecto al tipo de hipoacusia se mencionan en la Tabla 4.

Tabla 4. Tipo de Hipoacusia

TIPO DE HIPOACUSIA	TOTAL
Normal	4 (5.8%)
Superficial	33 (47.8%)
Moderada	32 (46.4%)
TOTAL	69 (100%)

Los cuestionarios se aplicaron de acuerdo a la edad del paciente, en busca de sintomatología clínica de ERGE, correspondiendo a los Menores de 7 años el cuestionario de Orenstein el 53.6 % que corresponde a 37 pacientes y para los mayores de 7 y hasta 14 años el cuestionario de Nelson que corresponde al 46.4% (32 pacientes).

Gráfico 1. Tipo de Cuestionario

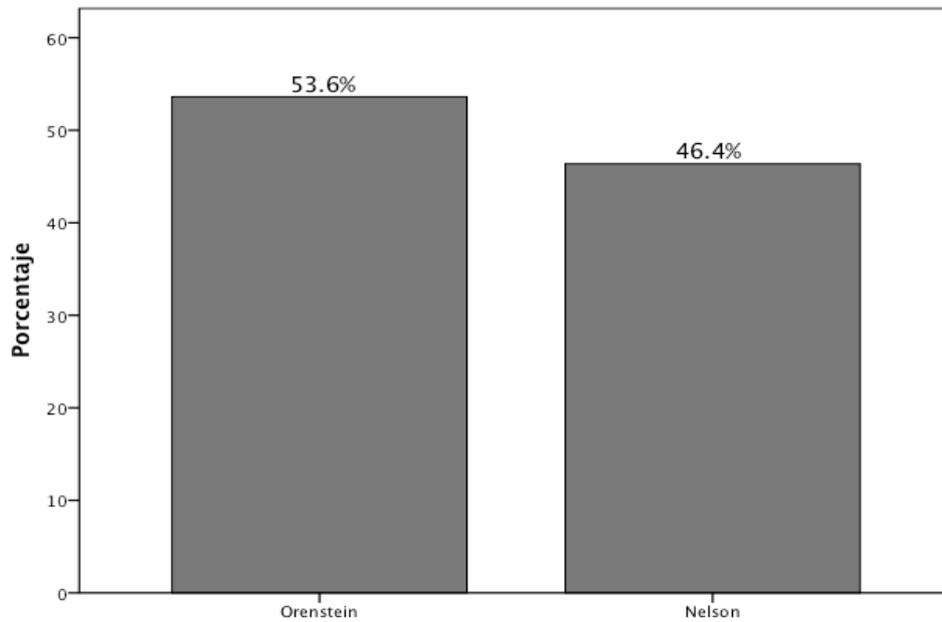
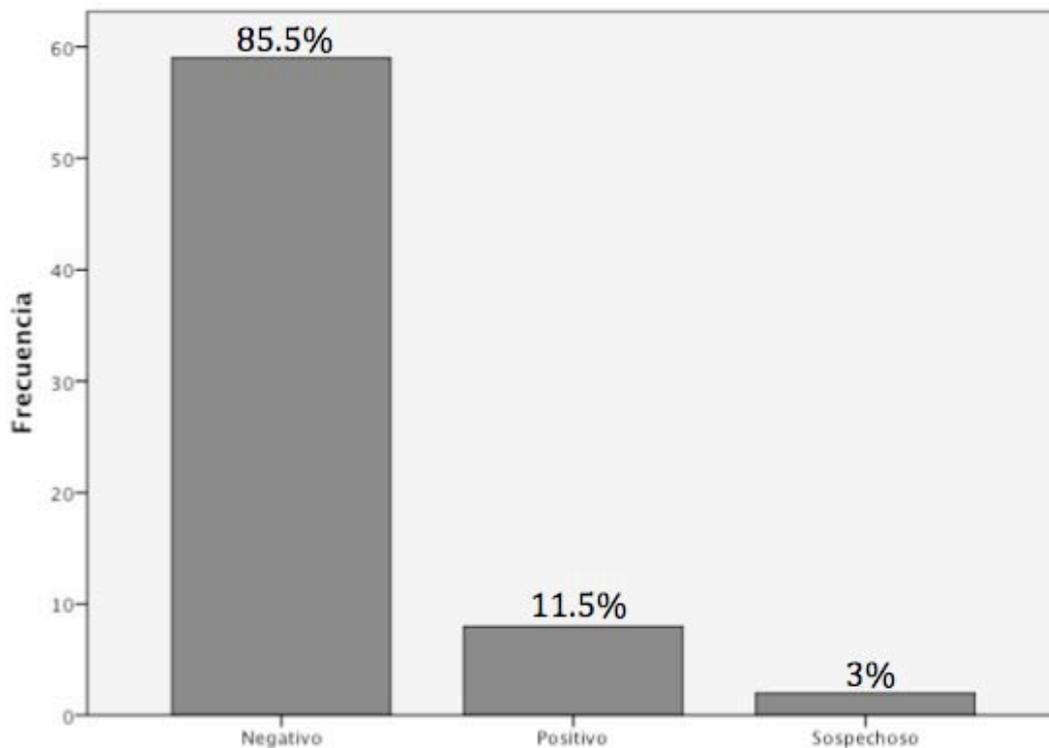


Gráfico 2. Resultados del Cuestionario



Los resultados de los cuestionarios el 85.5% (59 pacientes) fue Negativo, de los cuales 54.2% (32 pacientes) <7 años y 45.8% (27 pacientes) >7 años, 11.5% (8 pacientes) 50% (4 pacientes) <7 años y 50% (4 pacientes) >7 años, 3% (2 pacientes) 50% (1 paciente) <7 años y 50% (1 paciente) >7 años.

Con respecto a los resultados de la PCR y ELISA para *H. pylori*, en la efusión del oído medio, se obtuvieron 8 resultados positivos de 69 pacientes, lo que equivale al 5.7%, por ELISA, y únicamente 2 positivos de 69 pacientes lo que equivale al 2.9% por PCR y ELISA.

Todos los pacientes con resultados del cuestionario positivos es decir, los 8 pacientes señalados en la gráfica 2, fueron positivos para *H. pylori* por ELISA y en dos de estos también se encontró DNA de este microorganismo en la efusión por PCR. En ninguno de los pacientes con cuestionarios negativos ni sospechosos se encontró positividad por ELISA o PCR para *H. pylori*.

DISCUSIÓN

La Otitis Media Crónica con Efusión (OME), es uno de los motivos principales de consulta dentro de la población pediátrica y durante años se ha buscado correlacionar dicha entidad con la Enfermedad por Reflujo Gastroesofágico (ERGE), sin embargo hasta el momento no existe evidencia contundente al respecto.

El *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) se encuentra relacionado con el ERGE en un 20% de los pacientes ⁷ y es probablemente la infección bacteriana crónica más común en los seres humanos alrededor del mundo. Hasta la fecha el modo exacto de transmisión y el reservorio natural para *H. pylori* es desconocido pero se sabe que la vía de transmisión más frecuente es la oral- oral y fecal-oral.

La presencia de *H. pylori* en la efusión del oído medio, se ha estudiado anteriormente, encontrándose con una frecuencia que va en un rango del 14 al 18%, mismos que difieren de nuestro estudio en el que encontramos la presencia de *H. pylori* en un 5.7% determinado mediante ELISA y de un 2.9% corroborado por PCR y ELISA, un total de 8 pacientes que equivale a un 11.5 %, rango discretamente menor de lo reportado en la literatura.

La positividad de la prueba de ELISA indica que existe memoria inmunológica en la muestra obtenida del paciente, esto secundario a una infección gástrica que desencadenó la formación de anticuerpos tipo IgG e IgM, los cuales permanecen hasta 6 meses o inclusive un año, después del tratamiento médico.

Por el contrario la PCR positiva indica la existencia de DNA de la bacteria en la efusión del oído medio, lo que evidencia que los dos pacientes con PCR y ELISA positivos, tenían infección activa. Estos pacientes deben, sin la menor duda, estudiarse acuciosamente ya que podemos afirmar que están infectados por la bacteria y deberán ser valorados por un gastroenterólogo quien deberá determinar si requerirán tratamiento de erradicación, así mismo este refuerza la conclusión de que el ERGE, no se encuentra relacionado con el *H. pylori*, como se ha mencionado en estudios anteriores. Por lo tanto nuestro filtro mediante la aplicación de los cuestionarios en búsqueda de ERGE resulta ser de utilidad para el manejo integral y envío con el especialista , evitando así la patología

inflamatoria de la vía aéreo-digestiva provocada por quemadura secundaria a ERGE

¿Pero que pasa con los pacientes que solo tienen positividad para *H. pylori* por ELISA? Si el ELISA detecta memoria inmunológica, ¿es posible que la respuesta inmune producida por la bacteria sea tan potente para que encontremos anticuerpos positivos en la efusión del oído medio, que es un compartimento tan aislado? Curiosamente todos estos pacientes (incluyendo a los positivos por PCR) tienen resultados positivos, en los cuestionarios de pesquisa para el ERGE. De tal forma, que nosotros consideramos como una posibilidad que, estos anticuerpos (IgG e IgM para *H. pylori*) están presentes en las secreciones gástricas como parte de esta respuesta inmunológica y la vía por la cual llegan al oído medio pudiera ser el ERGE, ya que es la explicación con mayor sentido biológico que podemos darle a este hecho. Sin embargo, tomando en cuenta que el rol del *H. pylori* en el ERGE es menor del 20%, no podemos descartar que estos pacientes solo positivos por ELISA tengan estos anticuerpos como parte de una respuesta sistémica que llegó hasta la efusión que ya se encontraba en el oído medio, ya sea por vía hematogena o por contigüidad de la nasofaringe, ya que el ERGE es una entidad que debe de estudiarse de manera integral, por medio de estudios especializados tales como gamagrama, manometría o phmetría, con un especialista tal como el Gastroenterólogo quien determinara la presencia o ausencia de la enfermedad y así poder buscar una relación con respecto a la OME y la presencia de *H. pylori*, por lo que habrá que replantear si los pacientes como OME y presencia de *H. pylori* en la efusión, tienen relación con ERGE o bien si solo se trata de una colonización por contigüidad de una cavidad infectada por primoinfección como puede ser el tracto respiratorio.

En la actualidad, una de las explicaciones fisiopatológicas de la OME es el ERGE. Incluso en algunas escuelas (observación meramente basada en la experiencia) a los niños con problemas de oído recurrentes ya sea OMA u OME, se les proporciona tratamiento anti-ERGE. Este estudio parece demostrar, que esto sería una prescripción inadecuada, ya que solo el 11.5% tienen cuestionarios clínicos positivos para ERGE, cosa que en la práctica convencional sinceramente no se investiga, al menos no con una herramienta estandarizada y validada.

Tal vez, estas conclusiones no estén del todo sustentadas por las debilidades propias de nuestro estudio pero nos permite plantear una serie de preguntas que deben ser contestadas con otro tipo de estudio derivado de éste. Por lo menos, podemos concluir que el porcentaje de pacientes con OME que realmente tiene sintomatología clínica de ERGE es menor a lo que habíamos pensado, menos del 10%. Consideramos adecuado utilizar este instrumento clínico en los pacientes para determinar como medida de pesquisa de ERGE a quienes pudieran requerir una valoración especializada por un gastroenterólogo, no solo para determinar si realmente presentan ERGE (recordemos que los cuestionarios tienen mayor especificidad, es decir, detectan mejor a los verdaderos no enfermos) sino para realizarles pruebas especiales para determinar infección por *H. pylori*. Por lo menos en el caso de estos pacientes positivos, es indudable que requerían tratamiento de erradicación.

CONCLUSIONES

- 1.- La presencia de signos y síntomas de ERGE evaluados por medio de cuestionarios en los pacientes con OME es menor al 10%.
- 2.- No puede demostrarse el rol de *H. pylori* en la OME.
- 3.- Los pacientes con signos y síntomas clínicos positivos de ERGE por medio de instrumentos validados, deben ser referidos al especialista (Gastroenterólogo), para diagnóstico de ERGE
- 4.- Los pacientes positivos mediante PCR y ELISA para *H. pylori* en la efusión deberán ser valorados por el especialista (Gastroenterólogo), para determinar su presencia en la vía digestiva.
- 5.- Se requieren otro tipo de estudios para contestar las interrogantes surgidas a partir del presente trabajo, que tiene como principales fuentes de probables sesgos, el tamaño de muestra y el sesgo del recuerdo aplicable a los resultados de los cuestionarios.

BIBLIOGRAFIA

1. Finkelstein A. Update on Otitis Media with Effusion: Bibliografic Review. Rev Otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello. 2006. 60: 247-255
2. Hammaren M. Tarkkanen J. Analysis of factors for childhood persistent middle ear effusion. Acta Oto-Laryngologica. 2005; 125: 1051-1054
3. Paradise. Otitis Media Aguda recurrente y Otitis Media con Efusión. JAMA.2002. 288: 2589-2591
4. Joong Ho. A Clinical Manifestations and Risk Factors of children Receiving triple ventilating tube insertions for treatment of recurrent otitis media with effusion. Pediatrics. 2006. 117-119.
5. Tasker A. Reflux of gastric juice and glue ear in children. Lancet. 2002; 359: 493
6. Patrick J. Gastric Reflux is uncommon in acute post-tympanostomy otorrhea. Otolaryngology Head Neck Surgery. 2005. 4: 523-526.
7. Ozcan C. Does Helicobacter pylori Have a Role in the development of chronic otitis media ith effusion? A preliminary study. 2009. 35: 526-531
8. Setsuko M. Detection of Helicobacter pylori in the meddle ear fluid of patients with otitis media with effusion. Otolaryngology Head Neck Surgery. 2005. 133: 791-794.
9. Judith E.C. Association of reflux with otitis media in children. Otolaryngology Head Neck Surgery. 2005. 133: 357-361.
10. Yilmaz T, Ceylán M. Akyon A, Ozcakyr O, Gursel B, Turkey A. *Helicobacter Pylori*: A Possible Association with Otitis Media with Effusion. Otolaryngol Head Neck Surg 2006; 134:772-777
11. Fancy T. Otitis Media with Effusion: A possible role for Helicobacter pillory? Otolaryngology Head Neck Surgery. 2009. 140: 256-258
12. Melake N.A Incidence of Helicobacter pylori infection and their clarithromycin-resistant strains in otitis media with effusion regarding phenotypic and genotypic studies. Saudi Pharmaceutical Journal. 2012.
13. Aydin E. Role of Nasopharyngeal reflux in the etiology of otitis media with effusion. Journal Otolaryngology Head Neck Surgery. 2011. 40: 499-503

14. Bitar M. Does *Helicobacter pylori* colonize the nasopharynx of children and contribute to their middle ear disease? *Acta Oto-Laryngologica*. 2006. 126: 154-159.
15. Graham d. *Helicobacter*. 2009. Wley-Blackwell. Vol 40: 499-503
16. Al saab F. Linking Laryngopharyngeal Reflux to otitis media with effusion: Pepsinogen study of Adenoid tissue and Middle Ear Fluid. *Journal Otolaryngology Head Neck Surgery*. 2008. 37: 565-571
17. Sone M. Prediction o gastroesophageal reflux in otitis media with effusion in adults. *Acta Oto-Laryngologica*. 2007. 127: 470-473.
18. Zer Toros S. Investigation of gastric pepsinogen in middle ear fluid of children with glue ear. *Acta Oto-Laryngologica*. 2010. 130: 1220-1224
19. Cirincione V. Impacto del reflujo gastroesofágico y faringolaríngeo en la vía aérea superior. *Act Argent Pediatr*. 2007. 105: 253-259.
20. Kutluhan A. Possible Role of *Helicobacter pylori* in the etiopathogenesis of chronic otitis media. *Otology and Neurotology*. 2005. 26: 1125-1127
21. McCoul E. A prospective Study of the Effect of Gastroesophageal Reflux Disease Treatment on Children with Otitis Media. *Arch Otolaryngol Head Neck Surgery*. 2011. 137: 35-41.
22. Hiltz S. American Gastroenterological Association Medical Position statement n the Management of gastroesophageal Reflux disease. *Gastroenterology*. 2008. 135: 1383-1391.
23. Alvarez A. Diagnóstico de infección por *Helicobacter Pylori* en niños y adolescents mediante determinación de IgG. *Rev. Soc. Ven. Microbiol*. 2002. vol 22.
24. Soemohardjo S. The detection of *Helicobacter pylori* in gastricMucosal biopsy specimens by PCR using primers derived from ure C gene in patients with dispepsia. *Indones J Gastroenterol Hepatol dig Endos*. 2007. 8:40-43.
25. Perez-Perez G. Transient and persistent *Helicobacter pylori* colonization in native American Children. *J. Clin Microbiol*. 2003. 41(6): 2401
26. Günter B. *Helicobacter pylori* specific Immune Responses of children. Implications for future vaccination Stretegy. *American Society for microbiology*. 2002. pp.1126-1128.

27. Fauconnier LA, Burette. Rapid Colorimetric Hybridization Assay for detecting amplified helicobacter pylori DNA in gastric biopsy specimens. J. Clin. Microbiol. 1996. 34: 530-533
28. Muharemm D. Investigation of Helicobacter pillory in the middle ear of the patients with chronic otitis media by CLO test and ¹⁴CUrea breath test. Otol and Neurotol. 2006. 27: 871-873.
29. Hsin-Ching Lin. Difference of Helicobacter pylori Colonization in recurrent inflammatory and simple Hyperplastic Tonsil tissues. Arch Otolaryngol Head Neck Surgery. 2010. 136: 468-478.
30. Orenstein SR, Shalaby TM, Jeffrey RM, Cohn F. Reflux Symptoms in 100 Normal Infants: Diagnostic Validity of the Infant Gastroesophageal Reflux Questionnaire. Clin Pediat (Phila) 1996; 35:607-614.
31. Orenstein SR, Shalaby TM, Jeffrey RM, Cohn F. Symptoms and Reflux in Infants: Infant Gastroesophageal Reflux Questionnaire Revised (I-GERQ-R) Utility for Symptom Tracking and Diagnosis. Current Gastroenterol Reports 2010, 12, (6); 431-436.
32. Deal L, Benjamin DG, Gresen DA, Harland SW, Peters SB, Fraga PD, et al. Age-Specific Questionnaires Distinguish GERD Symptom Frequency and Severity in Infants and Young Children: Development and Initial Validation. J Pediat Gastroenterol Nutrit 2005; 41:178-185.
33. Nelson SP, Chen EH, Syniar GM, Christoffel KK. Prevalence of symptoms of gastroesophageal reflux during childhood: A pediatric practice-based survey. Pediatric Practice Research Group. Arch Pediat Adolesc Med 2000; 54: 150-154.
34. Browner WS, Black D, Newman BT, Hulley BS. Estimación del tamaño de muestra y de la potencia. In: Hulley BS, Cummings RS. Diseño de la investigación clínica. Edit. Doyma 2ª. Edición 1995 pp: 153-165.
35. MICELI FLORES, Ricardo. "Detección de *Helicobacter pylori* por PCR y ELISA en niños con otitis media con efusión". Director Nuria E. Boronat Echeverria. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Otorrinolaringología Pediátrica Instituto Mexicano del Seguro Social.. 2011

ANEXOS



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XIX
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRIA**



**CUESTIONARIO MODIFICADO DE ORESNTEIN (I-GERQ ORENSTEIN 1992, NIÑOS
MENORES DE 7 AÑOS)
ANEXO I**

Consta de 35 preguntas. Las respuestas positiva vale entre 1 a 3 puntos dependiendo de la pregunta. Se toma como negativo un puntaje ≤ 6 , sospechoso entre 6-7 y positivo cuando es ≥ 7 puntos.

DATOS DEL PACIENTE	
Nombre del paciente	
No. De Afiliación	
Edad	
Sexo	

CUESTIONARIO	PUNTOS
1. ¿Su niño vomita o regurgita > 1 vez/día?	1
2. ¿Su niño vomita o regurgita > 3 veces/día?	2
3. ¿Su niño vomita o regurgita > 5 veces/día?	3
4. ¿La cantidad es > de una cucharada cafetera?	1
5. ¿La cantidad es entre una cucharada cafetera y una sopera?	2
6. ¿La cantidad es igual o más que una cucharada sopera?	3
7. ¿Su vomito es con fuerza o en proyectil?	1
8. ¿La regurgitación es dolorosa?	2
9. ¿Su niño, de acuerdo a su opinión, llora mucho?	1
10. ¿Su niño llora más de 1 hora al día?	1

11. ¿Su niño llora más de 3 horas al día?	2
12. ¿Su niño llora durante y después del comer?	3
13. ¿Rechaza el alimento aun cuando está hambriento?	1
14. ¿Su niño eructa con dificultad?	1
15. ¿Su ganancia de peso es adecuada?	1
16. ¿Su respiración es ruidosa?	1
17. ¿Su niño tiene episodios en los que deja de respirar y se pone azul o morado?	2
18. ¿Su niño tiene episodios en los que deja de respirar y tose?	2
19. ¿Su niño tiene episodios en los que deja de respirar se pone morado y tose?	2
20. ¿Su niño ha tenido neumonía?	1
21. ¿Su niño ha tenido bronquitis?	1
22. ¿Su niño ha tenido tos durante más de 3 meses?	1
23. ¿Su niño tiene hipo más frecuente de lo normal?	1 (si la respuesta es sí, pase a la siguiente pregunta, si es no pase a la pregunta 24 y 25, si es no pase a la 26)
24. ¿Su niño tiene hipo más de 1 vez al día?	1
25. ¿Su niño tiene episodios de hipo más que duren más de 5 minutos al día?	1
26. ¿Son heces normales?	1
27. ¿Su niño sufre de periodos de diarrea crónica?	1
28. ¿Su niño sufre de constipación crónica?	1
29. ¿Pasa un día entero sin evacuar?	1

30. ¿Pasa más de 2 días sin evacuar?	2
31. ¿Hay antecedentes de reflujo en tu familia?	1
32. ¿Tiene otros hijos?	SI/NO
33. ¿Algún hermano/hermana tiene reflujo o antecedentes de reflujo?	1
34. ¿Hay alergia en tu familia?	1
35. ¿Tú piensas que tu hijo tiene reflujo patológico?	1
Puntuación Total:	
Resultado:	Negativo () Sospechoso () Positivo ()

Salvatore S, Hauser B. Gastroesophageal Reflux Disease in Infants: How Much is Predictable with Questionnaires, pH-metry, Endoscopy and Histology? J of Pediat Gastroenterol and Nutrit 2005; 40:210–215²⁷.



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XIX
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRIA**



**CUESTIONARIO INFANTIL DE SINTOMAS GASTROINTESTINALES DE NELSON
PARA ERGE (NIÑOS DE 7 A 16 AÑOS)
ANEXO II**

Consta de 7 preguntas. Cada respuesta vale de 0 a 3 puntos dependiendo de la pregunta. Para considerarse positivo se requiere una calificación ≥ 3 .

SINTOMAS	PUNTOS
1. ¿Vomitaste o regresaste alimentos en la última semana?	3
2. ¿Sentiste náuseas o ganas de vomitar en la última semana?	2
3. ¿Tuviste sensación de dolor o ardor en el pecho en la última semana?	2
4. ¿Tuviste dolor de estómago en la última semana?	0
5. ¿Tuviste dolor de estómago arriba del ombligo en la última semana?	0
6. ¿Tuviste sabor amargo en la boca o sensación de vomito en la boca en la última semana?	1
7. ¿Te dolió o molesto al pasar alimentos o bebidas en la última semana?	2
Puntaje Total	
Resultado	Negativo () Positivo ()

Nelson SP, Chen EH, Syniar GM, Christoffel KK. Prevalence of symptoms of gastroesophageal reflux during childhood: A pediatric practice-based survey. Pediatric Practice Research Group. Arch Pediatr Adolesc -2000; 154: 150-154³¹.



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XIX
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRIA
INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS
ANEXO III**



DATOS DEL PACIENTE	
Nombre del paciente	
No. De Afiliación	
Fecha de la toma de muestra (día/mes/año)	
Edad (años/meses)	
Genero	Masculino () Femenino ()

1. Tiempo de evolución _____.
2. Fecha de Última toma de antibiótico _____.
3. Tomo tratamiento médico contra *H. Pylori* (Omeprazol, claritromicina, amoxicilina y metronidazol):
Si () No ()
4. Grado y tipo de hipoacusia:
Normoacusia () Conductiva ()
Superficial () Sensorial ()
Moderada ()
Severa ()
Profunda ()
5. Umbral auditivo actual _____.
6. Colocación de tubos de ventilación previos:
Si () No ()
¿Cuántos? _____.
7. Comorbilidades:
Si () No ()
¿Describir? _____.
8. Prueba de PCR:
Positivo () Negativo ()
9. Cuestionario Infantil de Oresnstein Modificado de ERGE:

Positivo () Negativo ()

10. Cuestionario Infantil de Síntomas Gastrointestinales de Nelson:
Positivo () Negativo ()



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
PARA PARTICIPAR EN EL
PROYECTO DE INVESTIGACION CLINICA.
ANEXO IV**

En Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XIX, México D.F a ____de ____de 20____. Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado **“DETERMINACION DE HELICOBACTER PYLORI POR LA PRUEBA DE PCR Y ELISA EN NIÑOS CON OTITIS MEDIA CON EFUSION”**, registrado ante el comité local de investigación en salud con el número R-2011-3603-1. El objetivo de este estudio es determinar la presencia de la bacteria *H. pilory* presente en las secreciones gástricas, en el moco del oído medio de los pacientes con la enfermedad conocida como otitis media con efusión y relacionar la presencia de esta bacteria con síntomas de reflujo gastroesofágico mediante la aplicación de un cuestionario adecuado para la edad del paciente (menores y mayores de 7 años).

Se me ha explicado que solo aquellos pacientes pediátricos que padecen otitis media con efusión que sean candidatos a colocación de tubos de ventilación serán incluidos en el estudio y que el procedimiento al que serán sometidos los pacientes (miringotomía y colocación de tubos de ventilación) es parte del tratamiento de los pacientes con esta enfermedad que de todas maneras tiene que realizarse independientemente del estudio. La determinación del *H. pilory* se realiza por medio de una técnica de laboratorio en el moco obtenido por aspiración del oído medio, que de todas formas se extrae del oído antes de la colocación del tubo. El cuestionario que se aplicará a los pacientes consiste en una serie de preguntas que los padres, tutores o el propio paciente en el caso los niños mayores de 7 años deberán contestar. Por lo tanto, entiendo que la realización del presente estudio no implica riesgos adicionales, a los propios del procedimiento terapéutico que requiere mi hijo, que me fueron explicados en su momento para programar la cirugía y que se asientan en la carta de consentimiento informado correspondiente. Los resultados del estudio se informarán a los padres o tutores y en caso de que mi hijo (a) tenga la presencia de la bacteria en el moco del oído medio y/o el cuestionario arroje una puntuación positiva para sospechar enfermedad por reflujo gastroesofágico los pacientes serán enviado a la especialidad correspondiente para una evaluación integral. Los investigadores; *Dra. Nuria E. Boronat Echeverría* y la tesista *Dra. Aisha Kennedy Padilla*, se han comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que se presente acerca de los procedimientos que serán realizados

Se me ha explicado también que en caso de no querer participar en el estudio, el procedimiento quirúrgico para el tratamiento de la otitis media con efusión de mi hijo(a) de todas formas será realizado en el momento adecuado y de ninguna manera se verá afectada la atención médica que recibo en el instituto. El investigador me ha dado seguridades de que no se me identificara en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Firma del padre o tutor

Asesor: Dra. Nuria E. Boronat Echeverría

Tesista: Dra. Aisha Kennedy Padilla