

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MAESTRÍA EN MEDICINA ESTOMATOLÓGICA

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL
ANTI-*Helicobacter pylori* EN UN GRUPO DE PACIENTES CON
ENFERMEDADES DE LAS VÍAS DIGESTIVAS SUPERIORES**

**Tesis de Maestría presentada ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela
por la Odontólogo: Tatiana J. López C.,
para optar al título de
Magister Scientiarum en Medicina Estomatológica**

Caracas, Junio 2002

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MAESTRÍA EN MEDICINA ESTOMATOLÓGICA

EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL

ANTI-*Helicobacter pylori* EN UN GRUPO DE PACIENTES CON

ENFERMEDADES DE LAS VÍAS DIGESTIVAS SUPERIORES

Autor: Od. Tatiana J. López C.

Tutor: Od. Marianella Perrone

Caracas, Junio 2002

**Aprobado en nombre de la
Universidad Central de Venezuela
por el siguiente jurado examinador:**

(Coordinador) Nombre y Apellido

C.I.

Firma

Nombre y Apellido

C.I.

Firma

Nombre y Apellido

C.I.

Firma

Observaciones: _____

Caracas, Junio 2002

DEDICATORIA

**A Dios, a la Virgen y a todos los Santos
que cada mañana, tarde, noche y madrugada
han brindado su luz y protección
a cada uno de mis pasos y decisiones.**

AGRADECIMIENTOS

A Dios, la Virgen y Todos los Santos, hoy y siempre... MIL GRACIAS!!!... por estar a mi lado en los momentos en los cuales los he necesitado, proporcionando su luz y fortaleza y cuando no ha sido así, sé que también han estado ahí apoyando mis decisiones y guiando cada uno de mis pasos.

A mis padres Valdemar y Leticia por ser ellos uno de los pilares a los cuales me he aferrado en los momentos más difíciles de mi vida... Gracias por su apoyo incondicional durante el transcurrir de mis días... Los quiero.

A mis hermanos Valdemar José y Jesús Alfonso, por su apoyo, por soportar cada momento de alegría, de tristeza y mal humor por los cuales he pasado, por los deseos de seguir adelante y de superación que siempre nos han unido... Un beso....Los quiero.

A mi prima Heylin Salazar por su ayuda en la transcripción de los datos... sin ti no hubiese sido tan divertido... Gracias!!!.

A la Universidad Central de Venezuela “La Casa que Vence las Sombras” y en especial a la Facultad de Odontología, mi otra casa en el transcurrir de mi vida, gracias por la oportunidad brindada, por formarme como profesional y permitirme crecer como persona.

A la Dra. Marianella Perrone Castro, mi tutora en el desarrollo de esta investigación, MIL GRACIAS!!!... por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto, por su confianza, cooperación y apoyo en cada momento en los cuales a usted acudí. Además, por ser modelo a seguir en el área de la investigación.

A la **Dra. María Correnti**, asesora de esta investigación en el área Inmunológica, por sus consejos y comentarios oportunos en los momentos de la realización del trabajo de laboratorio, por su actitud y disposición a brindar sus conocimientos a toda persona que a ella se acerca... MIL GRACIAS!!!.

A los **Lic. Rosa Goncalves, Patrizia Mastromatteo, Mayra Avila, Armando Graterol y Diana Ortiz**, por ser mis compañeros y amigos, durante los pasos más difíciles de una investigación como son desde mi punto de vista, la toma y el procesamiento de las muestras, no tengo una palabra con la cual definirlos a cada uno de ustedes, para todos MIL GRACIAS!!!... por su profesionalismo, por hacer del laboratorio un lugar agradable para el trabajo, por su disposición en ayudarme en todo lo necesario para la culminación de esta investigación... en fin GRACIAS POR SU AMISTAD Y APOYO.

A todo el personal del Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario, a los **Drs. Claudio Tombassi y Pascual Candia** por su colaboración en la realización de las endoscopias para obtener las muestras gástricas.

A todos los pacientes que formaron parte de esta investigación y en especial a mis amigos **Oliana Alvarado, Sandra Briceño, Jeaneth López, Eva Núñez, José Adolfo Cedeño, Martha Fernández, Irlanda Rodríguez, José Luis Castro, Camila Sabatini, Javier Frías, Marco Aurelio Luna, Vicenza Caico, Mary Cruz Rodríguez, Esgleidys Escalona, Fraineth Alvarado, Nilda Rosas, Elsa Florenzano, Alexis Ghanem y Publio Alvarado**, quienes sirvieron de pacientes controles durante esta investigación, GRACIAS A TODOS POR SU VALIOSA COLABORACIÓN!!!.

A la **Lic. Aura Pacheco** por su colaboración en la toma de las muestras de sangre de los pacientes controles.

Al **Lic. Victor Hugo Aguilar** por todo su apoyo, colaboración y constancia en el procesamiento de los datos y obtención de los resultados de esta investigación.

A todo el personal del **Instituto de Hematología y Oncología de la U.C.V** y al personal del **Instituto de Investigaciones Odontológicas Raúl Vicentelli** por su colaboración en todo momento.

Al **Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico** por aportar el financiamiento para llevar a cabo esta investigación.

Gracias al silencio que siempre me aconsejo en los momentos más difíciles de la realización de mi tesis y sin pasar por alto a mi amiga soledad quien siempre estuvo a mi lado cuando más sola me sentía.

En fin a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron para que esta investigación cumpliera con sus objetivos. GRACIAS!!!.

INDICE DE CONTENIDOS

	Páginas
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de Gráficos	ix
Resumen	xv
Introducción	17
Justificación	21
Objetivos	26
Marco Teórico	28
Materiales y Métodos	83
Resultados	113
Discusión	170
Conclusiones	197
Referencias Bibliográficas	199
Anexos	218

LISTA DE GRÁFICOS

1. Gráfico de detección de *H. pylori* mediante la prueba de ureasa directa.
2. Gráfico de detección de *H. pylori* mediante cultivo microbiológico en muestras de estómago.
3. Gráfico de detección de *H. pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa.
4. Gráfico de la relación de la detección de *H. pylori* por prueba de ureasa y cultivo microbiológico en biopsias de estómago.
5. Gráfico de detección de *H. pylori* por cultivo microbiológico y la reacción en cadena de la polimerasa.
6. Gráfico de detección de *H. pylori* por prueba de ureasa directa y la reacción en cadena de la polimerasa.
7. Gráfico de detección de IgA sérica anti- *H. pylori* mediante el ensayo de ELISA.

8. Gráfico de detección de IgG sérica anti- ***H. pylori*** mediante el ensayo de ELISA.
9. Gráfico de detección de Inmunoglobulina A secretora (IgAs) anti-***H. pylori*** en saliva mediante el ensayo de ELISA (Protocolo IBHV).
10. Gráfico de detección de Inmunoglobulina A secretora (IgAs) anti-***H. pylori*** en saliva mediante el ensayo de ELISA (Kit Pyloriset EIA-A; Orión Diagnóstica).
11. Gráfico de la reacción en cadena de la polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de IgA sérica anti-***H. pylori*** en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA.
12. Gráfico de la reacción en cadena de la polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de IgG sérica anti-***H. pylori*** mediante el ensayo de ELISA.
13. Distribución de pacientes mediante la reacción en cadena de la polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de inmunoglobulina A secretora (IgAs) anti-***H. pylori*** en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA. (Protocolo IBHV).

14. Distribución de los pacientes positivos mediante la reacción en cadena de la polimerasa en biopsias de estómago e IgA secretora anti-***H. pylori*** en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA (Kit Pyloriset EIA-A; Orión Diagnóstica).
15. Gráfico de pacientes positivos para IgA sérica anti-***H. pylori*** mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de caries.
16. Gráfico de pacientes positivos para IgG anti-***H. pylori*** en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de caries.
17. Distribución de pacientes positivos para IgA secretora anti-***H. pylori*** en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de caries (Protocolo IBHV).
18. Gráfico de pacientes positivos para IgA secretora anti-***H. pylori*** en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de caries (Kit Pyloriset EIA-A: Orión Diagnóstica).

19. Gráfico de pacientes positivos para IgA anti-*H. pylori* en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación al uso de prótesis dentales.
20. Gráfico de pacientes positivos para IgG anti-*H. pylori* en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación al uso de prótesis dentales.
21. Gráfico de pacientes positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación al uso de prótesis dentales (Protocolo IBHV).
22. Gráfico de pacientes positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación al uso de prótesis dentales (Kit Pyloriset EIA-A; Orión Diagnóstica).
23. Gráfico de pacientes positivos para IgA anti-*H. pylori* en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de enfermedad periodontal.

24. Gráfico de pacientes positivos para IgG anti-*H. pylori* en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de enfermedad periodontal.
25. Distribución de pacientes positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación a la enfermedad periodontal (Protocolo IBHV).
26. Gráfico de pacientes positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación a la presencia de enfermedad periodontal (Kit Pyloriset EIA-A: Orión Diagnóstica).
27. Gráfico de pacientes positivos para IgA anti-*H. pylori* en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación a la higiene bucal.
28. Gráfico de pacientes positivos para IgG anti-*H. pylori* en muestras de suero mediante el ensayo de ELISA con relación a la higiene bucal.
29. Gráfico de pacientes positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación a la higiene bucal (Protocolo IBHV).

30. Gráfico de pacientes positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el ensayo de ELISA con relación a la higiene bucal (Kit Pyloriset EIA-A; Orión Diagnóstica).

RESUMEN

Helicobacter pylori es una bacteria Gram negativa en forma de espiral que habita en la mucosa gástrica. Este microorganismo actualmente es aceptado como un importante agente etiológico de la gastritis crónica, estrechamente relacionado con el desarrollo de la úlcera duodenal, la úlcera gástrica y es considerado un factor de riesgo en el cáncer gástrico. El microorganismo ha sido detectado en placa dental, saliva, estómago y heces, pero la hipótesis de que la cavidad bucal pueda ser un reservorio permanente, está todavía muy discutida. Ha surgido un interés en la generación de pruebas de detección no agresivas que permitan el estudio de la prevalencia e incidencia de ***H. pylori***, así como la Evaluación de la Respuesta Inmune Humoral ante la presencia de este microorganismo. Para evaluar la respuesta inmune humoral en pacientes con sintomatología gástrica, se evaluaron 39 pacientes provenientes del Hospital Clínico Universitario de la Universidad Central de Venezuela, quienes asistían para rutina endoscópica, y 20 pacientes asintomáticos (grupo control). Fueron tomadas muestras gástricas, muestras de sangre y saliva. Las muestras gástricas fueron unas sembradas en medios de cultivos selectivos y no selectivos, y otras procesadas por la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), mientras que las muestras de suero fueron procesadas por el ensayo inmunoenzimático (Kit Pyloriset EIA-A e

EIA-G; Orion Diagnóstica) y las de saliva por un ELISA casero. *H. pylori* fue detectado en 23/39 (59%) de los cultivos microbiológicos y en 24/39 (62%) por RCP. Los títulos de anticuerpos tanto de IgA e IgG en suero como los de la IgAs en saliva anti- *H. pylori* fueron elevados tanto para los pacientes sintomáticos como en los del grupo control. Podemos concluir que el ensayo inmunoenzimático (Kit Pyloriset EIA-A e EIA-G; Orion Diagnóstica) y la prueba de ELISA casera diseñada en el Laboratorio de Histoquímica del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas (Caracas-Venezuela) son métodos de diagnóstico no invasivos, sencillos y de fácil manejo, de esta forma se evita someter al paciente a una endoscopia digestiva, así mismo, sirven para el pronóstico y control de los pacientes con terapia medicamentosa instaurada.

INTRODUCCIÓN

Anteriormente se proponía que las alteraciones gástricas podían ser provocadas por una producción excesiva de ácido como consecuencia del daño continuo al estómago, causado posiblemente por una serie de factores como el stress, consumo de alcohol, café, hábitos tabáquicos, etc. Esta teoría fue adquiriendo mayor importancia hacia finales del siglo XVIII, cuando un microorganismo en forma de espiral fue observado por primera vez en la mucosa gástrica de animales y humanos. (Mastromatteo P., 2000)

A raíz de esto comienza a despertarse un gran interés por el estudio de las bacterias involucradas en la patología gástrica y es en 1975, cuando los investigadores Steer y Colin-Jones reportan la presencia de microorganismos Gram negativos con forma de espiral en las biopsias de enfermos con úlcera gástrica, y plantean que estas bacterias se encuentran bajo la capa de moco gástrico y en la propia mucosa gástrica. (López-Brea y col., 1995).

Los microorganismos identificados al principio fueron incluidos en el género ***Campylobacter*** por su estructura curvada y se le denominó

Campylobacter pyloridis, se considera desde 1989 como perteneciente a un nuevo género conocido como ***Helicobacter***, siendo su localización preferente el antro pilórico y por consiguiente su denominación correcta es la de ***Helicobacter pylori (H. pylori)***. (López-Brea y col., 1995).

Actualmente la infección por ***H. pylori***, ha tomado un papel relevante en lo referente a la patología gastroduodenal, a raíz de los trabajos de los australianos Warren y Marshall comunicados al mundo en 1983, lo cual ha supuesto uno de los hallazgos científicos de mayor interés en los últimos años. (López-Brea y col., 1995).

Recientemente se ha establecido que ciertas clases de gastritis crónicas y la enfermedad úlcero-péptica están asociadas con este microorganismo que es una bacteria Gram negativa en forma de espiral que se encuentra en la mucosa gástrica.

La infección por ***H. pylori***, tiene una distribución mundial, demostrado ello por los distintos estudios de seroprevalencia realizados. Por otra parte, la forma y fuente de transmisión ha sido fuertemente debatida y se han sugerido dos rutas posibles: la vía fecal-oral, la cual no es

interpersonal directa sino que depende principalmente de las condiciones ambientales, siendo la forma de transmisión característica de los países en vía de desarrollo, y la vía oral-oral, la cual depende fundamentalmente del contacto directo interpersonal, encontrada con mayor frecuencia en los países desarrollados. (Berroterán, 1999)

Estudios serológicos han sido diseñados para la detección de *H. pylori*, aunque no se ha llegado a un acuerdo general, se ha encontrado que los pacientes con gastritis, úlcera péptica y dispepsia presentan títulos elevados de IgA y de IgG, las cuales parecen correlacionarse con la infección. El diagnóstico se hace por varios métodos cuya sensibilidad varía pero en general tienen excelente especificidad. (López-Brea y col., 1995).

La introducción de técnicas serológicas en el diagnóstico y seguimiento de la infección por *H. pylori* representa un papel altamente prometedor como método válido, no invasivo y fácilmente reproducible, que puede complementar e incluso sustituir en determinadas ocasiones a otras técnicas diagnósticas más agresivas como por ejemplo las endoscopias digestivas, al tiempo que posibilitaría la instauración de un tratamiento

adecuado sin la necesidad de una confirmación microbiológica de la infección.

Todo lo anteriormente expuesto sirve de basamento para la realización de la presente investigación, y así tener como objetivo principal: Evaluar la Respuesta Inmune Humoral anti-*H. pylori*, determinando los niveles de Inmunoglobulina A secretora e Inmunoglobulina A y G sérica en Saliva y Suero respectivamente, de pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores, que acudieron al Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario de la Universidad Central de Venezuela.

Además, permitirá evaluar el valor diagnóstico del Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) en la detección de anticuerpos anti-*H. pylori*, y de esta forma proporcionar un método de diagnóstico no invasivo, que beneficie a los pacientes evitando el ser sometidos a una endoscopia digestiva, así mismo servir de pronóstico y control para los pacientes con terapia medicamentosa instaurada.

JUSTIFICACIÓN

H. pylori es aceptado actualmente como un importante agente etiológico de la gastritis crónica, estrechamente relacionado con el desarrollo de la úlcera duodenal, la úlcera gástrica y es considerado un factor de riesgo en el cáncer gástrico, en los estudios epidemiológicos de morbilidad y mortalidad por cáncer en Venezuela, el tercer lugar es ocupado por el carcinoma gástrico. (Capote, 1996).

El impacto de esta bacteria en el área médica continúa en ascenso con la sugerencia de que puede estar involucrada en el retardo del crecimiento en los niños y como posible factor etiológico en el desarrollo de cardiopatía isquémica (Farthing y col., 1998).

Por su parte Hveem y col., en 1999, reportaron que la infección por *H. pylori* está asociada con un incremento de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

Muchos aspectos de la patogénesis y epidemiología de esta infección permanecen aún sin dilucidar. Por ello ha surgido un interés en la

generación de pruebas de detección no agresivas que permitan el estudio de la prevalencia e incidencia de ***H. pylori***.

La aplicación de métodos de detección sensibles y específicos para el aislamiento de este microorganismo, así como la evaluación de la respuesta inmune humoral ante su presencia, permitirá ofrecer el potencial de una prueba no invasiva para el diagnóstico de esta importante infección.

La preocupación e interés por esta temática nace a raíz de la oportunidad brindada por el Instituto de Investigaciones Odontológicas Raúl Vicentelli para participar en el desarrollo del proyecto: Detección de ***H. pylori*** en muestras de saliva y placa dental de un grupos de pacientes con enfermedad de las vías digestivas superiores.

De ahí la necesidad de evaluar la Respuesta Inmune Humoral del ser humano anti-***H. pylori***, ya que el número de pacientes con patologías de las vías digestivas superiores ha ido incrementándose.

Además, a nivel Institucional es importante desarrollar líneas de investigación en esta área, pues sus resultados pueden contribuir al conocimiento y mejor manejo de la enfermedad, y a nivel Académico representa una oportunidad de gran valor para la Maestría en Medicina Estomatológica, la cual fue creada desde Marzo de 1995 como parte de los estudios de Postgrado de la Facultad de Odontología de la U.C.V., buscando la formación de profesionales altamente calificados en el área de la investigación y que a su vez sean capaces de actuar como multiplicadores del conocimiento.

Esta investigación forma parte de un macro proyecto que incluye y permite por primera vez el trabajo en conjunto del Instituto de Investigaciones Odontológicas Raúl Vicentelli (Facultad de Odontología de la U.C.V.), el Hospital Clínico Universitario (Servicio de Gastroenterología), el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología de la U.C.V, el Laboratorio de Microbiología del Instituto de Biomedicina del Hospital José María Vargas y el Centro para el control de Cáncer Gástrico “Luis Anderson” ubicado en San Cristóbal – Edo. Táchira.

El Laboratorio de Microbiología del Instituto de Biomedicina del Hospital José María Vargas en conjunto con el Servicio de Gastroenterología de

ese hospital han venido realizando desde 1988 estudios sobre la infección por ***H. pylori***. En 1991, se integró al grupo el Laboratorio de Genética Molecular del Instituto de Oncología y Hematología de la U.C.V., cuyos investigadores tienen una amplia experiencia en Inmunología y Biología Molecular, pudiéndose así iniciar los estudios desde el punto de vista serológico y análisis electroforético de cepas de ***H. pylori*** aislados de pacientes con úlcera duodenal, úlcera gástrica, gastritis o cáncer gástrico que asisten al Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario (U.C.V).

Debido al creciente interés en los modos de transmisión de ***H. pylori*** que sugieren que el ambiente bucal puede constituir una vía potencial para la adquisición de la infección, y la problemática de la reinfección, se propuso la integración de investigadores del área odontológica con formación en Microbiología que laboran en el Instituto de Investigaciones Odontológicas Raúl Vicentelli de la Facultad de Odontología de la U.C.V., el cual ha venido desarrollando investigaciones en la microbiota bucal, de tal manera de iniciar los estudios microbiológicos y moleculares de cepas de ***H. pylori*** en placa dental y la capacidad de respuesta del organismo humano ante la infección por este microorganismo.

Todo esto es de gran importancia para permitirle así al odontólogo su inserción en otras áreas y no limitarse sólo a la cavidad bucal, de esta forma enriquecer sus conocimientos e interrelacionarse con otros profesionales de la salud y poder brindar un enfoque multidisciplinario al paciente.

OBJETIVOS

General:

Evaluar la Respuesta Inmune Humoral anti-*H. pylori* en Pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores que asisten al Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario U.C.V. Caracas – Venezuela.

Específicos:

Evaluar la capacidad de Respuesta Inmune Humoral anti-*H. pylori* en pacientes que asisten al Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario.

Determinar los niveles de Inmunoglobulina A secretora en saliva anti-*H. pylori* en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores.

Determinar los niveles de Inmunoglobulina A sérica anti-*H. pylori* en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores.

Determinar los niveles de Inmunoglobulina G sérica anti-***H. pylori*** en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores.

Evaluar el valor diagnóstico del Ensayo inmunoenzimático (ELISA) en la detección de anticuerpos en Saliva y Suero anti-***H. pylori*** en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores.

Evaluar los niveles de inmunoglobulinas A y G séricas y de IgA secretora anti-***H. pylori*** de los pacientes con la presencia de caries dental, el uso de prótesis dental, su higiene bucal, enfermedad periodontal, hábitos tabáquico, consumo de alcohol, alimentación, tipo de agua de consumo y la presencia de enfermedad gástrica en la pareja.

MARCO TEÓRICO

Los trabajos publicados en 1983 por Warren y Marshall han implicado a *H. pylori* en la etiología de las patologías gastroduodenales. Recientemente se ha asociado con la aparición de algunas gastritis crónicas y la enfermedad úlcero-péptica, con lo cual el estudio de este microorganismo ha tomado gran importancia en los últimos años. Esta bacteria Gram negativa en forma de espiral habita en la mucosa gástrica.

H. pylori ha infectado cerca del 30% de la población de Europa Occidental y los Estados Unidos, y cerca del 80% de las poblaciones de muchos países en vías de desarrollo. Aunque constituye la principal causa de úlcera péptica y es un importante factor de riesgo para el adenocarcinoma gástrico y los linfomas, mucha gente con esta infección no presenta estas enfermedades, ya que el desarrollo de las mismas depende de factores como la virulencia de la especie de *H. pylori*, la susceptibilidad del huésped y los co-factores ambientales. Investigaciones acerca de los factores de virulencia bacteriana se han concentrado en determinar si ciertas especies de *H. pylori* son más virulentas que otras, y además cual es el método más fácil de identificación (Atherton, 1997).

H. pylori está fuertemente asociado con el desarrollo de gastritis crónica activa y úlceras duodenales y gástricas (Graham y col., 1991; Graham y col., 1992; Graham y col., 1993; Berstad y col., 1993; Thomsom, 1993). Particularmente en el caso de la gastritis tipo B en el antrum del estómago está bien establecida su asociación (Rugge y col., 1993).

Recientes evidencias sugieren un papel importante de este microorganismo en el desarrollo de carcinoma gástrico (Parsonnet y col., 1991), y ***H. pylori*** puede llegar a encontrarse en la mucosa de pacientes con gastritis crónica activa y en duodeno durante la inflamación duodenal. De manera excepcional se ha observado en mucosa antral histológicamente normal.

H. pylori se encuentra en varios reservorios dentro de los cuales se pueden mencionar los jugos gástricos, mucosa antral y fúndica del estómago (Vincent, 1995), y esófago con metaplasia gástrica (Ricaurte y col., 1995) del ser humano, el cual es el principal reservorio de este microorganismo.

Hasta ahora ha sido muy difícil establecer si el estómago es el único reservorio del microorganismo, no obstante, existen muchos estudios que apoyan la hipótesis de que ***H. pylori*** se encuentre en la cavidad bucal, la cual proporciona las condiciones de vida apropiadas para este microorganismo, como microaerofilia, nutrientes, humedad, etc. Además, se ha podido aislar la bacteria en alimentos, agua y animales los cuales podrían ser potentes reservorios de ella.

Los microorganismos pertenecientes al género ***Helicobacter*** son bacterias que tienen un gran interés en Medicina, sobre todo por su implicación en lo que se refiere a la patología gastroduodenal.

En 1893 Bizzozero reporta la presencia de bacterias espirilares en el estómago de perros y gatos, y esto es confirmado tres años más tarde por Salomón al encontrar “espiroquetas” en la capa de mucina de estómagos humanos y de animales (López-Brea y col., 1995).

En 1906, Kreintz y colaboradores dan a conocer el hallazgo de microorganismos similares a los citados anteriormente en enfermos con cáncer gástrico. Y es en 1938, cuando Doenges cita la presencia de

microorganismos espirales en el 43% de 242 estómagos estudiados. El mismo autor describe estas bacterias como densas con sólo dos o tres espirales y que pueden encontrarse algunas veces dentro de las células parietales gástricas (López-Brea y col., 1995).

Dos años más tarde, en 1940, Freedberg y Barron detectan la presencia de bacterias curvadas en el 40% de las muestras obtenidas de gastrectomías subtotales. Estos autores citan en su trabajo la asociación de estos microorganismos con las úlceras gástricas, la correlación entre las patologías gástricas y la presencia de bacterias curvadas comienza a tomarse en cuenta, sin embargo, no avanzan de manera importante los estudios sobre esto.

Para 1954, Palmer publica un estudio de 1000 biopsias de estómago, donde no encuentra bacterias espirales. Las posibles razones que se han citado para explicar este hecho, se basan en que las muestras de biopsia gástrica estudiadas fueron obtenidas de la curvatura mayor del estómago y no del antro pilórico, y también el hecho de que no se utilizara una tinción con plata que facilitara la coloración de las posibles estructuras bacterianas curvadas (López-Brea y col., 1995).

Años después en 1975, Steer y Colin-Jones reportan la presencia de microorganismos Gram negativos con forma de espiral en las biopsias de enfermos con úlcera gástrica, y plantean que estas bacterias se encuentran bajo la capa de moco gástrico y en la propia mucosa gástrica (López-Brea y col., 1995).

En 1980 Warren y Marshall realizan biopsias gástricas con el objeto de buscar bacterias curvadas en un grupo de pacientes australianos con gastritis y úlcera péptica, y es en 1983, cuando aparece la primera publicación haciendo referencia a los hallazgos obtenidos (López-Brea y col., 1995).

Los microorganismos encontrados son curvados y por consiguiente se propone que se denominen **CLO (*Campylobacter-like-organisms*)**, ya que ***Campylobacter*** etimológicamente significa bacteria curvada (***Campylo*** en griego significa “curvado”). El hallazgo de estas bacterias curvadas que previamente se tiñen y posteriormente se cultivan, se realiza siguiendo los esquemas de rutina microbiológica que en 1977 estableciera Skirrow para el cultivo de los microorganismos pertenecientes al género ***Campylobacter*** (López-Brea y col., 1995).

El género microbiano en el que se incluyen estas bacterias en 1983 es el de ***Campylobacter*** y la especie propuesta es la de ***pyloridis***. Así, uno de los primeros trabajos científicos de Marshall y Warren, que se publicó en la revista “The Lancet” fue titulado *Bacilos curvados no identificados en el estómago de enfermos con gastritis y úlcera péptica* (López-Brea y col., 1995).

En 1985, Marshall lleva a cabo personalmente la ingestión de estos microorganismos, que llama ***pyloric Campylobacter***, en un intento de demostrar los Postulados de Koch. Se produce un cuadro de gastritis con toda la sintomatología acompañante, así como en los datos anatomopatológicos, microbiológicos y terapéuticos que eran necesarios para demostrar el efecto patogénico de estas bacterias. En 1987, Morris también establece que la ingestión de un inóculo denso de estas bacterias conduce a un cuadro de infección gástrica. (López-Brea y col., 1995).

Estos descubrimientos se difunden por todo el mundo, y a partir de 1983 comienza la búsqueda de ***Campylobacter pyloridis*** en las muestras de biopsias gástricas de enfermos. Como fruto de esta búsqueda aparecen las primeras publicaciones y las comunicaciones a los congresos nacionales e internacionales (López-Brea y col., 1995).

Esta bacteria se incluyó en el género ***Campylobacter*** por su estructura curvada y se denominó ***Campylobacter pyloridis***, se considera desde 1989 como perteneciente a un género nuevo conocido como ***Helicobacter***, siendo su localización preferente el antro pilórico y por consiguiente su denominación correcta es la de ***Helicobacter pylori*** (López-Brea y col., 1995).

Desde el punto de vista anatómico, el estómago tiene una curvatura menor cóncava y una curvatura mayor convexa. La observación a simple vista descubre que el estómago cuenta con cuatro regiones:

El **cardias** es una región estrecha a nivel de la unión gastroesofágica que mide 2 a 3 cm de ancho.

El **fondo** es una región en forma de cúpula a la izquierda del esófago, que está llena a menudo de gas.

El **cuerpo** es la porción de mayor tamaño, y es la encargada de la formación del quimo (líquido viscoso que resulta del procesamiento del bolo alimenticio).

El **píloro** es una porción constreñida en forma de embudo, equipada con un esfínter grueso, el esfínter pilórico, que regula la descarga intermitente del quimo hacia el duodeno (Gartner y col., 1997) y es en esta zona del estómago donde se localiza preferentemente ***H. pylori***.

ETIOPATOGENIA

El mecanismo etiopatogénico de *Helicobacter pylori* consiste básicamente en la formación de colonias en el moco que reviste el epitelio gástrico, actuando específicamente en las uniones intercelulares epiteliales, donde, a expensas de la producción profusa de ureasa (proveniente de la urea que se encuentra entre estas células) metaboliza la denominada nube de amonio (Blanco, 1998), lo cual crea un microambiente alcalino que protege a la bacteria del ácido clorhídrico presente en el estómago y procede a adherirse a la superficie de las células epiteliales, tal vez, por una hemaglutinina de superficie de la bacteria, rompiendo de esta forma los enlaces intercelulares (Buck, 1990; Alarcón, 1995). En esta agresión interactúan muchos factores como: la producción de enzimas, factor activador de plaquetas, citotoxinas, activación de leucocitos (Atherton, 1997) producción de inmunoglobulinas (mayormente de la IgA), recambio de la expresión del antígeno de histocompatibilidad (HLA) tipo II, etc. (Alarcón, 1995; Campuzano y col., 1997), lo cual conlleva a lesiones en el citoplasma, degeneración celular y necrosis de estas (Buck, 1990; López y col., 1995).

A todo lo anteriormente dicho, se puede agregar que el análisis genómico reveló el gran mimetismo que existe entre *H. pylori* y el individuo. Esto explicaría la habilidad del microorganismo para evitar la eliminación inmunológica (Farthing y col., 1998).

Sin embargo, el desarrollo de la enfermedad depende también de la susceptibilidad del hospedero y la intervención de cofactores.

EPIDEMIOLOGIA DE LA INFECCION POR *Helicobacter pylori*

La infección por *H. pylori* es una de las infecciones crónicas más comunes a nivel mundial, la cual afecta a todo grupo etario, racial y a ambos sexos (Luzza y col., 1995; López y col., 1995; Vincent, 1995; Hultén y col., 1996).

La tasa de prevalencia de esta infección es del 40% al 50%, con una tendencia al descenso en los países desarrollados y más del 90% en los países en vías de desarrollo (Lin y col., 1997; Luzza y col., 1997). Estudios seroepidemiológicos efectuados en países desarrollados, demostraron que del 30% al 50% de los individuos mayores de 50 años tenían anticuerpos contra *H. pylori*. Otras investigaciones sugieren que más de los tres cuartos de la población de países en vías de desarrollo están infectados desde muy temprana edad (Mendall y col., 1995).

Obviamente la adquisición de esta bacteria muestra marcadas variaciones según la edad, zona geográfica, sexo, ocupación, nivel

socioeconómico y otros.

Prevalencia según la edad:

La adquisición de *H. pylori* ocurre preferentemente en la infancia (Luzza y col., 1997). Es más frecuente en individuos menores de 15 años y en niños pequeños (Mendall y col., 1995), e inclusive en algunas partes del mundo el riesgo de contraer dicha bacteria antes de los 5 años de edad es muy elevado y luego va decreciendo en los años subsiguientes.

La prevalencia de *H. pylori* en niños de países desarrollados es del 5 al 15% dependiendo de las condiciones socioeconómicas, se reporta una prevalencia del 10% en niños de países desarrollados y del 30% al 40% en esos mismos países pero en individuos con bajo nivel socio económico.

En cuanto a la tasa de adquisición en el adulto, algunas investigaciones han demostrado que varía del 1% anual para los países desarrollados y el 3% anual para los países en vías de desarrollo. Sin embargo, otros sugieren un 0,5% de incidencia en adultos de los países desarrollados (Mendall y col., 1995). No obstante debemos señalar que la edad y la situación geográfica están íntimamente relacionadas y que en los países desarrollados no es frecuente en niños, pero si aumenta con la adultez.

Hveem y col. en 1999 realizaron un estudio en Noruega con 66433 individuos en el cual observaron un marcado incremento de la prevalencia de *H. pylori* a medida que aumentaba la edad.

Prevalencia según la zona geográfica:

Altos índices de prevalencia han sido reportados en estudios a nivel mundial, sobre todo en los países en vías de desarrollo (Taylor, 1999). Como ejemplo de ellos, un estudio realizado en países del Africa, en donde los porcentajes de infección oscilaban entre 70% y 86% (Vincent, 1995). En Jordania y en La India también se encontró una alta prevalencia de infección por *H. pylori*. Así mismo, se han referido valores elevados en los países asiáticos y de América Central y del Sur. No obstante, en países desarrollados igualmente se han podido encontrar cifras significativas de frecuencia.

Un estudio realizado en Europa específicamente en Italia reportó 78% de prevalencia en la parte sur de Italia y 61% en la norte (Luzza y col., 1997).

Otros factores:

Entre la presencia de *H. pylori* y el nivel socio económico y el nivel de instrucción del individuo, existe una correlación inversa, observándose un

mayor índice de infección en poblaciones con condiciones inadecuadas de vida (Madinier y col., 1997, Taylor, 1999).

También están relacionados el número de individuos por familia y la posición según la edad, mientras mayor sea el grupo familiar y menores los individuos, mayores son las probabilidades de infección (Goodman y col., 1995). Por otra parte, no se ha encontrado relación entre la presencia de la bacteria y el sexo o la raza, solo algunos estudios aislados han hecho referencia a ellos, pero no son representativos para la población mundial.

VIAS DE TRANSMISION DE *Helicobacter pylori*

Las posibles rutas de transmisión son aún muy controversiales. En la amplia gama de literatura e investigaciones al respecto, encontramos una lista de posibilidades como lo son la vía fecal-oral, oral-oral, exposición a animales, agua, alimentos o fomites infectados con el microorganismo. Es por ello, que en la actualidad se realizan esfuerzos para dilucidar tan importante tópico.

Las rutas de transmisión que han tenido mayor apoyo son la fecal-oral y

oral-oral, ésta última es muy discutida, ya que los resultados de la gran variedad de estudios difieren unos de otros. (Lambert y col., 1995; Goodman y col., 1996; Vincent, 1995; Feldman y col., 1998).

Transmisión persona a persona:

Es una de las vías más aceptada desde tiempos atrás y en la actualidad mantiene vigencia (Ferguson y col., 1993, Hultén y col., 1996, Farthing y col., 1998). (Lin y col., 1994).

En una evaluación realizada en adultos internados por incapacidad física y mental, (que convivían por un largo tiempo) se encontraron altos niveles de anticuerpos contra *H. pylori* comparados con el grupo control de la población general, lo que soporta la hipótesis de que las vías de infección de esta bacteria son la fecal-oral u oral-oral (Lambert y col., 1995).

Se ha reportado la transmisión de *H. pylori* entre esposos. Sin embargo, no se ha podido concretar al respecto, ya que ambos están expuestos a otras vías comunes de infección (Feldman y col., 1998).

Igualmente la alta prevalencia entre familiares y en la población China y Australiana que utilizan palillos y platos comunes, sustentan la idea de la

transmisión persona a persona, por la ruta oral (Lin y col., 1994).

En África se apreció un alto riesgo de infección cuando los niños ingerían comida premasticada por sus madres (Vincent, 1995).

Se ha observado que en individuos que tomaban de un mismo vaso sin lavarlo previamente, se aumentaban las probabilidades de infección (Goodman y col., 1996), pero en contraste con esto, no es clara la asociación del uso de un mismo cepillo dental por varios individuos y la infección por ***H. pylori***.

También se ha demostrado un aumento de la seroprevalencia de la infección en Gastroenterólogos, los cuales realizan endoscopias y colonoscopias. Este descubrimiento soporta la transmisión persona a persona (Lyn y col., 1994).

Con respecto a la transmisión fecal oral, se consiguió un incremento en el riesgo de infección por ***H. pylori***, en algunos casos donde las madres limpiaban las heces de sus niños y rara vez se lavaban las manos con jabón después de hacerlo (Goodman y col., 1996).

Transmisión a través del agua:

Es probable que la ingesta de agua contaminada sea una de las vías de transmisión de esta bacteria para ciertas poblaciones. En un estudio realizado por Goodman y col. (1996), en niños de los Andes Colombianos, se determinó que los niños que nadaban en ríos, quebradas o piscinas a menudo o en algunas oportunidades, presentaron tres veces más probabilidades de infección, que los que lo hacían con menor frecuencia. También aumentaba el riesgo el consumo de agua de riachuelos o quebradas locales.

En Pueblo Joven, en Lima, Perú, fueron recolectadas 48 muestras de agua de diferentes localizaciones y se analizaron por medio de la reacción en cadena de la polimerasa, 10 de 20 muestras contaminadas provenían del agua municipal y 1 muestra era de agua potable comercial (Hulten y col., 1996). Los resultados confirmaron la presencia de *H. pylori* en las aguas de consumo.

Sin embargo, en otros estudios realizados en Taiwan, Turkia y Korea, no se halló relación entre el microorganismo y el agua (Feldman y col., 1998).

Transmisión a través de alimentos:

Ha sido reportado que la seropositividad de *H. pylori* en Chile aumenta

con el consumo de vegetales crudos. Quizás, esto esté relacionado con el agua contaminada utilizada para lavar los vegetales (Hopkins y col., 1993). Del mismo modo, niños de áreas rurales de Colombia que comían vegetales crudos, particularmente lechuga, tuvieron un aumento del riesgo a la infección (Goodman y col., 1996).

Transmisión a través de animales:

En cuanto a la transmisión por medio de animales se encontró este microorganismo en algunos primates como macacos y babuinos. En otros estudios, han sido encontrados gatos infectados resultando como posible reservorio de la bacteria para la infección en el humano (Feldman, 1998). No obstante, Goodman y col., (1996), no encontraron relación, solamente con los que tenían contacto con ovejas, en los cuales la prevalencia de *H. pylori* fue excesiva.

Transmisión a través de fomites:

Se han reportado casos de infección por medio de endoscopios no estériles y otros instrumentos utilizados en la consulta gastroenterológica, es decir por iatrogenia. (Graham y col., 1993; Feldman y col., 1998).

Los porcentajes de reinfección por *H. pylori* son variables y pueden oscilar entre el 1% al 8% (Hammer y col., 1992; Nguyen y col., 1993; Li y col.,

1996). La causa de esto tal vez obedezca a tratamientos incompletos o no efectivos, contacto con los medios de infección y algunos autores refieren que es posible que el microorganismo quede en cavidad bucal o como resultado del reflujo gástrico y esta sea una vía de reinfección (Clayton y col., 1993; Madinier y col., 1997).

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE *Helicobacter pylori*

Los criterios fundamentales para diferenciar géneros y especies microbianas son genotípicos y se basan en el ADN y en el ARN. Los estudios de secuenciación de 5S y 16S de ácido ribonucleico ribosómico demostraron que ***H. pylori*** era distinto del género ***Campylobacter*** (Romaniuk y col., 1987; Thompson y col., 1989). La diferenciación morfológica más importante del género ***Helicobacter*** es que tienen flagelos envainados que acaban en forma de protuberancia terminal (Goodwin y col., 1989). Citados por López-Brea y col., 1995.

H. pylori presenta de cuatro a seis flagelos unipolares, con una longitud cada uno de 2,5 micras y 30 nanómetros de grosor (Goodwin y col., 1989). La típica estructura que puede observarse a partir de la mucosa gástrica

humana, coloreada con la tinción de Gram, es curvada. Los cultivos mantenidos durante períodos largos de tiempo proporcionan formas redondeadas o cocoides (Jones y col., 1990). Citados por López-Brea y col., 1995.

H. pylori puede definirse como un bacilo curvado gram negativo, oxidasa, catalasa y ureasa positivo. Quizás la característica más importante que le diferencia de otros bacilos oxidasa y catalasa positivos, es la presencia de una potente ureasa que ha servido para realizar el diagnóstico de la infección producida por estos microorganismos a partir de las muestras de biopsia gástrica (Owen y col., 1985). Esta importante enzima puede proteger a ***H. pylori*** de los efectos letales del ácido gástrico mediante la formación de una “nube de amonio” que serviría para tamponizar su entorno vital (Ferrero y col., 1991; Goodwin y col., 1986; Marshall y col., 1990). Citados por López-Brea y col., 1995.

Greenberg y Canale-Parola en 1977 plantean que la morfología espirilar del género ***Helicobacter*** puede ser un importante atributo del microorganismo para atravesar el mucus gástrico y así colonizar. Citados por López-Brea y col., 1995.

La gran movilidad de estas bacterias es un hecho fundamental para lograr una colonización real en la mucosa gástrica y esta importante propiedad la desarrollan gracias a los flagelos que poseen. Estos se localizan en un extremo de la célula bacteriana y se disponen en forma de penacho, siendo un hecho característico de estos microorganismos el presentar flagelos envainados. Se ha sugerido que este aspecto es importante y lo aprovechan para protegerse de los factores del entorno, como por ejemplo la acidez gástrica (Ibrahim y col., 1985; Jones y col., 1988). Citados por López-Brea y col., 1995.

Ha quedado demostrado que estas bacterias se mueven con mayor efectividad en un medio con alta viscosidad que otros bacilos también curvados, y que puede ser su estructura espirilar la que probablemente aporta la ventaja de su movilidad en el moco gástrico viscoso (Hazell y col., 1986).

Por otro lado, Eaton y col., en el año 1989, plantearon que la movilidad es un factor de virulencia esencial, ya que las cepas de *H. pylori* no móviles no colonizan la superficie gástrica en el modelo de infección *in vivo* utilizando cerditos gnotobióticos. Citados por López-Brea y col., 1995.

Desde el punto de vista taxonómico *H. pylori* presenta las siguientes características:

Estructura: Subcelular

Reino: Procaryotae

Organismos: Eubacteria

Genero: Helicobacter

Especie: pylori

Morfológica y ultraestructuralmente *H. pylori* se caracteriza como se ha comentado anteriormente por ser una bacteria de forma espirilar o curvada. En los cultivos de larga data su forma es redondeada o cocoide (Campuzano y col., 1997; Farthing y col., 1998), la cual se caracteriza por presentar una cubierta de polisacáridos que la protege de las condiciones adversas del medio (Vincent, 1995).

Su tamaño oscila entre 2,0 a 3,5 μm de longitud aproximadamente y de 0,5 a 1,0 μm de diámetro. Sin embargo, ocasionalmente puede tener mayor diámetro que va de 0,9 a 1,2 μm (Buck, 1990). Algunos autores indican que esta bacteria posee de 1 a 6 flagelos (Buck, 1990) y otros de 4 a 6 (Campuzano y col., 1997). Dichos flagelos tienen un diámetro de 30 a 40 μm , son polares, terminan en una estructura bulbar de 100 μm de diámetro y están cubiertos de una membrana o vaina la cual se supone

que tenga una función de protección al filamento flagelar, de la despolimerización del ácido gástrico. Se insertan en el cuerpo de la célula bacteriana a través de un disco de 90 um. Presenta una pared celular lisa, un glucocalix y una cubierta capsular (Campuzano y col., 1997).

La bacteria tiene un genoma circular con más de 1,6 millones de pares de bases, de las cuales, 1590 secuencias de base han sido preestablecidas (Farthing, 1998).

Dentro de sus características químicas *H. pylori* posee un alto porcentaje de ácidos grasos saturados de 14 carbonos y una baja concentración de ácidos grasos saturados de 16 carbonos. (Campuzano, 1997).

Con relación a su actividad enzimática la bacteria posee actividad de fosfatasa, oxidasa y catalasa positiva, con una fuerte positividad de la ureasa (enzima de alto peso molecular, de 600 KD aproximadamente). Además, posee gamma glutamil transpeptidasa.

En sus condiciones de vida *H. pylori* se caracteriza por ser una bacteria Gram negativa, microaerofílica, con requerimientos de tensiones de 5 a

10% de CO₂, crece a 37°C, no obstante, otros autores han obtenido crecimiento de 42°C (Buck, 1990). También es necesario para su desarrollo una humedad relativa. Para su cultivo se utilizan preferentemente medios enriquecidos.

Su reservorio esencial es el estómago del humano, no obstante, hay estudios que demuestran su coexistencia en la cavidad bucal, más específicamente en placa dental y saliva. (Krajden y col., 1989; Majmudar y col., 1990; Shamens y col., 1989, Nguyen y col., 1993).

Dentro de sus factores de virulencia para describir el rol patógeno de *H. pylori* debemos tomar en cuenta: la capacidad de adherencia, actividad ureásica, toxicidad, factores inmunológicos, etc. A pesar de esto, la tendencia general es que aún no están totalmente esclarecidos los mecanismos de colonización e infección en el epitelio gástrico.

Para facilitar el estudio de los factores de virulencia los dividiremos en invasivos, de adherencia y tóxicos.

FACTORES INVASIVOS

Forma espirilar y motilidad:

Su forma espirilar que es la que exhibe en estómago y la motilidad son las que proporcionan la capacidad de desplazarse a través del moco gástrico, además, por sus flagelos y como característica propia suele movilizarse mejor que otros microorganismos espirilares, lo cual es un factor de virulencia determinante (Buck, 1990; Alarcón, 1995), ya que se ha evidenciado en un modelo animal *Gnotobiotic piglet*, que cepas no móviles de *H. pylori* no colonizan la mucosa estomacal (Eaton, 1989).

En la expresión de diversidad entre las cepas de dicha bacteria, destaca la producción de una proteína antigénica migratoria de aproximadamente 120 a 128 KD indicando una alta especificidad. Los flagelos además pueden intervenir en el fenómeno de adherencia al epitelio gástrico.

Durante su desarrollo *H. pylori* atraviesa por varias etapas y algunos microorganismos no pasan por la llamada fase flagelar, lo que hace que sean incompetentes para la colonización (Eaton y col., 1989; Alarcón, 1995).

Enzimas Bacterianas:

Ureasa:

Esta enzima puede ser localizada en el espacio periplásmico y en la membrana externa, posee un peso molecular de 600 KD (Campuzano y col, 1997).

Mecanismos de acción de la ureasa:

a) Genera nitrógeno nutricional en forma de amonio: gracias al NH_4^+ se produce un gradiente electrolítico que posiblemente sea utilizado como fuente energética, aunque, la existencia de cepas ureasa negativa y los inhibidores de la ureasa no sean los factores determinantes en la muerte bacteriana, confirman que el amonio no es indispensable para su supervivencia (fuera del huésped o “in vitro”) (Alarcón, 1995).

b) Protección contra los ácidos estomacales: parece cumplir una importante función al momento de iniciarse la infección. El microorganismo produce a través de la ureasa, una nube de amonio alcalinizando su ambiente, lo cual le servirá de protección contra el ácido gástrico, ya que luego se observa una relación de la bacteria con las células epiteliales del estómago y la mucina, dando como resultado un ambiente neutro (Buck, 1990; Alarcón, 1995).

c) Implicación en la patogénesis de la úlcera gástrica: Probablemente la ureasa es la encargada de los siguientes eventos:

- Incremento del flujo de iones de hidrógeno hacia la parte interna de la mucosa, atentando contra la barrera gástrica y promoviendo la hipoclorhidria y por lo tanto la ulceración.

- Activar la producción de gastrina y en consecuencia la elevación de los niveles de acidez.

En los pacientes infectados con *H. pylori* la cantidad de amonio en estómago (moco) es 4 veces mayor, lo cual produce alteraciones iónicas, por lo tanto, hipoclorhidria y lesiones gástricas.

El amonio (NH_3) puede alterar la microcirculación y participa en la producción de hiperplasia celular, gastritis atrófica crónica y tumores.

A pesar de todos estos indicios, aún faltan aclarar muchos puntos con respecto a los mecanismos de esta importante enzima que, aunque no es de la exclusividad de *H. pylori*, le confiere una especial característica.

Catalasa y Superóxido dismutasa:

Catalasa:

H. pylori tiene un alto nivel de catalasa, aunque pueden sucederse mutaciones a este nivel y pasar a ser catalasa negativo “in vitro”, lo que indica que tampoco es indispensable para su defensa, aunque por lo general colabora con la bacteria en la mucosa gástrica inflamada.

Superóxido dismutasa:

Destruye los radicales superóxido, produciendo peróxido de hidrógeno; pero aún no se conocen todos los mecanismos de esta enzima.

Proteasas y Lipasas:

Estas tienen la particularidad de degradar las proteínas del mucus y los lípidos y de romper la integridad de los lípidos en la mucosa. Además se han encontrado fosfolipasas A1, A2, C; las cuales, tienen efecto sobre la membrana celular del epitelio y la barrera hidrofóbica de los lípidos en la superficie del moco. También coadyuvan con la función de nutrición.

“Las fosfolipasas pueden estimular la inflamación a través de la cascada del ácido araquidónico” (Alarcón, 1995) que interviene en la génesis de las úlceras.

Otros factores:

Ciertas células de *H. pylori* tienen la facultad de inhibir el estímulo de la secreción de ácidos de las células parietales, aunque sólo se ha podido corroborar en conejos.

FACTORES DE ADHERENCIA

H. pylori se introduce entre las uniones intercelulares, adhiriéndose por medio de moléculas hidrofóbicas (90% de las cepas) y las adhesinas de la superficie bacteriana, lo cual neutraliza la barrera electrostática provocada por la fuerza de repulsión, resultado de la carga negativa de la superficie celular del individuo y del microorganismo. Todo este proceso por lo general comienza en el antro y es potenciado por el glucocalix, el cual además hace las veces de tamiz impidiendo el paso de macromoléculas nocivas, inclusive la de los antibióticos. Además colabora en la preservación estructural de la bacteria, ante las agresiones del medio.

También se encuentran involucradas en este fenómeno unas hemagglutininas de superficie de la bacteria (Buck, 1990), las cuales por medio de una unión específica con la N-acetil neuraminil lactosa, tienen la tarea de llevar a cabo el primer paso de la colonización.

Otros factores:

-Pilis

-Fosfatidiletanolamina: un receptor del antro estomacal con el que se establece una unión específica al microorganismo.

FACTORES TOXICOS**Citotoxina:**

Alrededor del 60% de las cepas de *H. pylori* elaboran una citotoxina vacuolizante (“in vitro”); una proteína de 87 KD es la mediadora de la toxina vacuolizante y la producción de la misma se asocia con una proteína antigénica de 120 a 128 KD. La producción de anticuerpos contra ellas, está relacionada con úlceras pépticas (Campuzano y col., 1997).

Hay unas cepas que producen esta proteína antigénica migratoria de 120 a 128 KD, lo cual le confiere a la bacteria una alta especificidad (Campuzano y col., 1997).

Estudios realizados en New Orleans demuestran una alta prevalencia de cepas de citotoxina positiva en gastritis crónica. Igualmente, otros estudios a nivel mundial aportaron una incidencia de citotoxicidad en cepas de *H. pylori* del 55% aproximadamente (Crabtree y col., 1993).

Existe un gen denominado Cag4 (gen asociado a la citotoxina), el cual, se vincula con la elaboración de la proteína de 120 -128 KD (Campuzano y col., 1997).

Un estudio reciente realizado por Prinz y col. en 1999, refiere que la presencia de factores de virulencia como los genotipos vacAs1 (variación alélica de la toxina A de factor vacuolizante) y cagAc (antígeno asociado a la citotoxina) está correlacionada con los grados de gastritis, en pacientes con *H. pylori*.

Hemolisina:

Algunas cepas de *H. pylori* tienen una hemolisina libre que es activa en los eritrocitos, contiene fosfolipasas y aún se desconoce su modo de acción.

Otros factores:

Deshidrogenasa alcohólica: ella produce una considerable cantidad de acetaldehído lo que genera una severa agresión sobre la mucosa, un ejemplo de ello es la disminución de las células productoras de somatostatina, una hormona citoprotectora de tejidos.

***Helicobacter pylori* EN CAVIDAD BUCAL**

Se piensa que ***H. pylori*** se transmite por vía fecal-oral ya que ha podido cultivarse a partir de las heces diarreicas de niños infectados en Gambia (Thomas y col., 1992), y ocasionalmente de adultos infectados en el Reino Unido (Gibson y col., 1994). ***H. pylori*** puede cultivarse fácilmente de la placa dental en indios (Desai y col., 1991), pero sólo raramente pueden encontrarse organismos viables en la boca de personas de los países occidentales (Krajden y col., 1989; Bernander y col., 1993). Citados por López-Brea y col., 1995.

Respecto a su reciente asociación con placa dental se sugiere que quizás el ambiente bucal pueda constituir una vía potencial para su transmisión (Krajden y col., 1989; Majmudar y col., 1990; Shamens y col., 1989, Nguyen y col., 1993).

La frecuencia de aislamientos de ***H. pylori*** en placa dental ha sido variable, así Krajden y col., en 1989, realizaron un estudio en 29 pacientes con gastritis producidas por esta bacteria y sólo en uno, es decir, el 3.4% fue posible aislar el microorganismo a nivel de su placa dental.

En Suecia, Bernander y col., en 1993, realizaron un estudio en 52 pacientes que tenían biopsia gástrica positiva para *H. pylori* por cultivo y no pudo ser demostrada su presencia por cultivo de la placa dental o saliva. Por el contrario, en el mismo año Nguyen y col., en una investigación en la que se procesaron muestras de placa dental supragingival y subgingival de 25 pacientes por la reacción en cadena de la polimerasa, se observó que de 18 (38,8%) pacientes que presentaron infección por la bacteria a nivel gástrico, corroborada histopatológicamente, 7 lo tuvieron también en placa dental. Todos los pacientes que resultaron negativos a la bacteria a nivel gástrico fueron igualmente negativos en placa dental, por lo que sugieren que la colonización de *H. pylori* no es exclusiva de la mucosa gástrica y que la cavidad bucal puede ser un reservorio del mismo, que posiblemente juegue un papel en la reinoculación en estómago después de ciertos tratamientos.

En un grupo de 19 pacientes con gastritis, fue aislado *H. pylori* en la cavidad bucal de 9 (47,4%) de ellos, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) (Hammer y col., 1992).

Banatvala y col., en 1993, en un estudio que realizaron en 21 niños de Bangladesh, señalaron que 18 de ellos tenían *H. pylori* en biopsias

gástricas y en placa dental, lo cual fue detectado por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Igualmente estos autores reportaron que 10 pacientes negativos al microorganismo en biopsias gástricas fueron positivos para *H. pylori* en placa dental.

Resultados similares son presentados por Olsson y col., (1993), quienes llevaron a cabo un estudio con pacientes del sur de Suecia, de los cuales 14 fueron negativos a *H. pylori* en estómago por cultivo y 13 fueron positivos en placa dental.

Por su parte, Li y col., (1995) realizaron un estudio de prevalencia de *H. pylori* en saliva, mediante la reacción en cadena de la polimerasa, de la cual, de 40 pacientes positivos en estómago, 30 fueron positivos en saliva y 3 negativos a nivel gástrico y positivos en saliva.

Del mismo modo Li y col. (1996) aplicaron la reacción en cadena de la polimerasa a 85 muestras de estómago y saliva; resultando 68 pacientes *H. pylori* positivos a nivel gástrico, de los cuales, 57 (84%) fueron positivos en saliva y de los 17 negativos en estómago, 3 fueron positivos en saliva. Recientemente, Campuzano y col. (1997) procesaron 300 muestras de placa dental, a través del cultivo microbiológico de pacientes

tomados al azar que no tenían un diagnóstico médico relacionado con gastritis o úlceras, resultando 6 (2%) positivas, a pesar de los inconvenientes que reportaron a causa de la diversidad bacteriana que existen en cavidad bucal en condiciones normales.

Este microorganismo ha sido también aislado de saliva por algunos investigadores (Hammer y col., 1992; Ferguson y col., 1993; Li y col., 1995).

Krajden y col. (1989), encontraron que de un total de 29 pacientes con cultivos positivos por *H. pylori*, ninguno fue positivo en saliva y sólo en una muestra de placa dental se logró evidenciar la presencia de la bacteria. Asimismo, en cultivos de placa dental y saliva de 52 pacientes en Suecia, no se pudo identificar el microorganismo, aún cuando en cultivos de muestras de estómago sí fue efectivo su aislamiento (Bernarder y col., 1993).

Ferguson y col. (1993), reportaron que de 9 pacientes con infección gástrica por el microorganismo, confirmado con cultivos, sólo en 1 se pudo aislar en saliva.

Estos estudios sugieren que la cavidad bucal en general y la placa dental en particular constituyen sitios de colonización de *H. pylori*, y pueden constituirse en importantes reservorios para el mismo. Pero algunos autores concluyen que la cavidad bucal no es un reservorio de *H. pylori*, ya que tiene una baja prevalencia en este medio, por lo tanto, no existe tal rol de la placa dental y la saliva en la transmisión de *H. pylori* (Hardo y col., 1995). Además explican que la diferencia entre los resultados se debe a los métodos de recolección de muestra, técnicas de cultivo, tipos de RCP y por la contaminación del reflujo esofagástrico. A pesar de ello, se hace necesario un estudio más amplio para la comprensión del fenómeno y su repercusión epidemiológica (Hardo y col., 1995).

La posible existencia de *H. pylori* en cavidad bucal ha sido explorada con técnicas de inmunoensayo, en las cuales se ha puesto de manifiesto las divergencias de criterio, resultando algunos con una alta positividad y otros con una elevada negatividad (Luzza y col., 1995; Fallone y col., 1996; Reilly y col., 1997; De Pascalis y col., 1999).

Olsson y col., en 1993, reportaron que este microorganismo estuvo presente en la placa dental de pacientes en los cuales no fue posible aislarlo en mucosa gástrica. Los datos de este estudio son sin embargo difíciles de interpretar porque los autores usan como método de detección

un test de ureasa y la cavidad bucal contiene muchas otras bacterias ureasa positivas, lo que podría determinar la aparición de falsos positivos. Reportes similares han sido realizados por Banatvala y col., en el mismo año.

Por otra parte Leimola - Virtanen y col. (1995) examinaron 29 biopsias de mucosa ulcerada de la cavidad bucal, con el fin de dilucidar el papel de ***H. pylori*** en el desarrollo de estas alteraciones, encontrando que la bacteria estuvo presente en 6 (20,7%) de las muestras analizadas. Un estudio similar fue realizado por Mravak - Stipetic y col. (1998) en 161 muestras de lesiones de la cavidad bucal en distintas localizaciones, 21 pacientes (13,04%) fueron ***H. pylori*** positivo y no se encontró relación entre el tipo de lesión, ni la localización. Por lo que se dedujo que el microorganismo no era un agente patógeno de la cavidad bucal.

Hardo y col. (1995), concluyen que no existe relación entre ***H. pylori*** y el índice de higiene oral, salud periodontal, uso de prótesis dentales o hábitos tabáquicos (Madinier y col., 1997).

Berroterán A., en Venezuela en el año 1999, realizó un estudio en 40 pacientes con enfermedades de las vías digestivas superiores, para detectar *H. pylori* en cavidad bucal, específicamente en placa dental mediante el cultivo microbiológico y la reacción en cadena de la polimerasa. De estas dos técnicas, el análisis estadístico demostró que la primera de ellas presentó mayor especificidad que la segunda, aún cuando la reacción en cadena de la polimerasa presentó mayor sensibilidad. Se demostró la presencia de *H. pylori* en placa dental mediante el cultivo en 7/40 (17,5%) de los pacientes y mediante la reacción en cadena de la polimerasa se detectó en 14/40 (35%) de los pacientes con afecciones gástricas.

El mecanismo por el cual *H. pylori* alcanza la cavidad bucal es desconocido. Es posible que el reflujo ocasional del reservorio gástrico permita la colonización de la cavidad bucal o también que ocurra de manera contraria.

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA DETECCIÓN DE INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori*

La detección de *H. pylori* en un paciente infectado es de suma importancia realizarlo en los estadios iniciales, puesto que ello afectará el curso terapéutico del tratamiento instaurado, impidiendo que la infección progrese a estadios más severos.

El diagnóstico de gastritis asociada a *H. pylori* se basa en diferentes técnicas que varían en su grado de agresividad, eficacia y disponibilidad en términos de costo-beneficio (Barthel y col., 1990).

Estas técnicas pueden agruparse en dos grandes categorías: técnicas invasivas, que requieren la obtención de muestras de mucosa gástrica tomadas por endoscopia digestiva alta, y técnicas no invasivas, que permiten el diagnóstico de la infección sin someter al paciente al procedimiento endoscópico.

Tanto las técnicas invasivas como las no invasivas pueden subdividirse en métodos directos, basados en la detección concreta de la bacteria (visualización microscópica, cultivo, aislamiento e identificación genética mediante procedimientos de biología molecular) y en métodos indirectos, en los que el diagnóstico se realiza bien a través de la detección de productos derivados de la actividad metabólica bacteriana (prueba rápida de ureasa, prueba del aire espirado o *urea breath test*) o bien mediante la determinación de la respuesta del hospedero a la infección (determinación de anticuerpos específicos anti-*H. pylori* en suero (Von Wulffen, 1992), saliva, jugo gástrico (Wirth y col., 1993) o cultivos de mucosa duodenal (Crabtree y col., 1991; Crabtree y col., 1992). Citados por López-Brea y col., 1995.

Estudios serológicos han sido diseñados para la detección de *H. pylori*, y aunque no se ha llegado a un acuerdo general, se ha encontrado que los pacientes con gastritis, úlcera péptica y dispepsia presentan títulos elevados de IgA y de IgG, las cuales parecen correlacionarse con la infección. El diagnóstico se hace por varios métodos cuya sensibilidad varía pero en general tienen excelente especificidad. (López-Brea y col., 1995).

La introducción de técnicas serológicas en el diagnóstico y seguimiento de la infección por ***H. pylori*** representa un papel altamente prometedor como método válido, no invasivo y fácilmente reproducible, que puede complementar e incluso sustituir en determinadas ocasiones a otras técnicas diagnósticas más agresivas como endoscopias digestivas, al tiempo que posibilitaría la instauración de un tratamiento adecuado sin la necesidad de una confirmación microbiológica de la infección.

Basándonos en lo anteriormente expuesto resulta obvia la importancia de aplicar métodos de detección sensibles y específicos para el diagnóstico de ***H. pylori*** y evaluar la respuesta inmune producida por este microorganismo.

RESPUESTA INMUNE ANTE LA PRESENCIA DE *Helicobacter pylori*

El contacto prolongado del hospedador vertebrado con *H. pylori*, conduce a la inducción de reacciones específicas de defensa denominada Respuesta Inmunológica.

Existen dos clases de respuesta inmunológica distintas: la producción de anticuerpos circulantes (Respuesta Inmune Humoral) y la producción de células sensibilizadas específicamente (Respuesta Inmune Celular). La respuesta inmunológica usualmente reduce la toxigenicidad y el poder invasor del microorganismo, inclusive el hospedador puede llegar a eliminar la infección. Sin embargo, en algunos casos el patógeno posee factores de virulencia que interfieren con la respuesta inmunológica o que le confiere resistencia frente a los diversos mecanismos del sistema inmune.

La colonización de la mucosa gástrica por parte de las bacterias Gram negativas conlleva a una respuesta inmune generalizada que induce anticuerpos específicos locales y sistémicos. Las investigaciones histológicas demostraron que los linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y granulocitos, dependiendo del estado inflamatorio, forman parte de la

reacción inflamatoria local de la mucosa gástrica humana durante la infección por *H. pylori*.

La respuesta de inmunoglobulinas del hospedador contra *H. pylori* está relacionada con la respuesta corriente a cualquier estado infeccioso: un voluntario que ingiere *H. pylori* y desarrolla una infección persistente hará seroconversión muy temprana de IgM (más o menos día 18) y luego (después de 60 días) IgA e IgG (Morris y col., 1989). Las personas con infección crónica son capaces de desarrollar títulos altos de IgA local y circulante y de IgG contra *H. pylori* (Morris y col., 1986; Rathbone y col., 1986; Evans y col., 1989). Citados por Campuzano y col., 1997.

La inmunidad determinada por anticuerpos en la mucosa, como respuesta inmunológica a la presencia de estas bacterias, no sólo se encuentra restringida a la producción de inmunoglobulinas (IgA), sino también a otras inmunoglobulinas que tienen un papel importante en el sistema inmunológico.

Los anticuerpos en suero encontrados en el organismo proporcionan la base para un medio indirecto de detección de la presencia del

microorganismo. Varios investigadores han documentado la presencia de anticuerpos tipo inmunoglobulinas G y A en individuos con ***H. pylori*** y a la inversa, con pocos o ningún anticuerpo en individuos con la mucosa gástrica en condiciones normales. (Booth y col., 1986; Cohen y col., 1989; Goodwin y col., 1987; Jones y col., 1986; Jones y col., 1984; Kaldor y col., 1986.). Citados por Buck G., 1990.

Existe una gran correlación entre los niveles altos de IgG e IgA contra ***H. pylori*** y la infección gástrica más inflamación (Chamberlain y col., 1990). Los anticuerpos se han demostrado tanto en el suero, jugo gástrico, saliva y tejidos infectados de los individuos positivos para ***H. pylori*** (Booth y col., 1986). Los títulos de los anticuerpos disminuyen después del tratamiento para intentar eliminar la bacteria y tienden a permanecer elevados por años (Vaira y col., 1988). Citados por Piñero, 1991.

En estudios sero-epidemiológicos prospectivos (Stemmerman y col., 1987; Sipponen y col., 1992) vinculan la colonización por ***H. pylori*** al desarrollo del cáncer gástrico, mostrando correlación estadística importante (35% a 89%) entre prevalencia de anticuerpo ***H. pylori*** (IgG específica) e incremento del riesgo a desarrollar malignidad gástrica. La concentración media de IgG específica se ha encontrado

significativamente más alta en los casos que en los controles. Se desprende que alrededor de 60% de los casos con cáncer gástrico pueden asociarse con la infección por ***H. pylori***. Citados por Paradisi C., 1994.

Jones y col., en 1986, estudiaron la producción de anticuerpos anti ***H. pylori***, su correlación clínica y su distribución en una población humana normal, mediante la utilización de pruebas histológicas y serológicas (pruebas de fijación de complemento, ELISA e inmunotransferencia). Los resultados mostraron una asociación entre los anticuerpos circulantes anti-***H. pylori*** y la presencia de los microorganismos en el estómago, así como también una asociación estrecha entre los anticuerpos circulantes y una gastritis histológica.

En 1993, en Venezuela, Correnti M y col., realizaron estudios para evaluar la respuesta humoral de IgG e IgA en pacientes con úlcera duodenal y comprobada infección por ***H. pylori*** mediante el método de inmunotransferencia, mostraron que los patrones de reactividad de anticuerpos IgG frente a los antígenos de superficie de ***H. pylori*** aislados de pacientes con úlcera duodenal son muy variables, a diferencia de la respuesta de la IgA, la cual se encuentra restringida a los antígenos de 74, 67 y 58 KDa en el 60% de los pacientes con úlcera duodenal. La presencia

persistente de IgA en estos pacientes reflejaría la actividad de la inmunidad local de la mucosa gastroduodenal y permitiría evaluar la infección en pacientes sintomáticos y asintomáticos. Sin embargo, la producción de IgG circulantes es importante para la defensa inmunológica del individuo frente a microorganismos invasivos. Las evidencias presentadas sugieren que ***H. pylori*** es un microorganismo capaz de promover una respuesta sistémica y local en pacientes infectados.

Chacón y col., en 1995, también en Venezuela, realizaron un ensayo inmunoenzimático para el serodiagnóstico de la infección por ***H. pylori*** y concluyeron que esta bacteria provoca un proceso crónico en pacientes con síntomas gastrointestinales de las vías digestivas superiores y es capaz de inducir una respuesta inmunológica sistémica y local en los individuos infectados. En este mismo estudio se determinó que la sensibilidad del ensayo para sueros obtenidos de pacientes con úlcera duodenal con infección con ***H. pylori*** comprobada fue de un 92%, lo cual indica que la prueba puede ser de gran utilidad en estudios iniciales de seroprevalencia.

Por su parte Luzzo F. y col., en 1995, realizaron un estudio en el cual trataron de valorar la precisión del diagnóstico de la infección por ***H. pylori***

en saliva, tomaron saliva y suero de 152 pacientes, los cuales fueron examinados para determinar la IgG e IgA mediante un ELISA casero, a todos los pacientes se les realizó endoscopia con biopsia y 131 pacientes (86%) resultaron positivos para *H. pylori* en la histología. Los títulos de IgG e IgA en saliva y suero fueron significativamente altos, estableciendo como conclusión que la IgG anti-*H. pylori* en saliva era un indicador sensible y seguro de la colonización gástrica por este microorganismo, con un valor predictivo altamente positivo. Sin embargo, indican que la medición de IgG anti-*H. pylori* en saliva no se compara favorablemente con la serología. También Luzzza y col., en este mismo año, evaluaron la respuesta inmune humoral sistémica y local, utilizando un ELISA para determinar anticuerpos específicos IgG e IgA en suero, saliva, muestras de estómago y mucosa rectal de pacientes infectados por *H. pylori*. Tomaron un total de 107 pacientes, los cuales fueron sometidos a endoscopia superior. Con relación a los títulos de IgG anti- *H. pylori* fueron más altos que los de IgA específica en suero. Por el contrario en saliva los títulos de IgA anti- *H. pylori* fueron más altos que los de IgG. En las muestras gástricas, los títulos de IgG e IgA fueron similares, la notable respuesta de IgA anti- *H. pylori* en saliva y muestras gástricas indica que la respuesta inmune humoral específica anti- *H. pylori* implica al sistema inmune secretor.

Veenendaal y col., (1995) realizaron un estudio para investigar el valor diagnóstico de los anticuerpos IgA e IgG a nivel local y sistémico mediante un ELISA, en un grupo de 209 pacientes con dispepsia severa, referidos para endoscopia gastrointestinal superior. El cultivo positivo o la identificación histológica de ***H. pylori*** en las muestras gástricas o ambos fueron utilizados para confirmar la infección. De 209 pacientes, resultaron positivos 137 a la infección por ***H. pylori***, el valor diagnóstico de anticuerpos sistémicos IgA e IgG anti-***H. pylori*** fue confirmado. La sensibilidad y especificidad de la IgA sistémica fue de 76.6% y 94.4% respectivamente, mientras la de la IgG fue de 97.1% y 98.6% respectivamente. Una moderada pero clínicamente importante correlación fue encontrada entre la respuesta inmune local y sistémica (IgA e IgG). La determinación de los niveles de la IgA local e IgG anti ***H. pylori*** es un test altamente sensible y específico para el diagnóstico de la infección.

En 1996, Simor y col., realizaron la evaluación del ensayo inmunoenzimático Helisal (Cortecs Diagnostics. Deeside. United Kingdom) para la detección de anticuerpos IgG anti-***H. pylori*** en saliva, fue comparado con el cultivo y el estudio histopatológico de muestras de biopsias de estómagos de 195 pacientes, 41 pacientes se les encontró úlcera péptica y uno tenía carcinoma gástrico. ***H. pylori*** fue detectado en 98 (49%) de las muestras gástricas. La sensibilidad fue de 81% y la

especificidad de 75%. Resultó negativo en 16 (38%) de 42 pacientes con úlcera péptica o con diagnóstico de malignidad gástrica. Estos resultados sugieren que el ensayo Helisal es moderadamente seguro para la detección de la infección por *H. pylori* en pacientes sintomáticos.

En este mismo año Christie y col., evaluaron la utilidad del suero y la saliva para el diagnóstico de IgG anti-*H. pylori* utilizando el ensayo Helisal (Cortecs Diagnostics) y llegaron a la conclusión de que la prueba en suero permanece siendo la mejor para el ambiente hospitalario mientras que la prueba en saliva puede cumplir un gran rol en estudios epidemiológicos y en el despistaje de pacientes dispepticos en la práctica general, especialmente en niños, en los cuales la venisección es más difícil.

Por su parte, Campuzano y col., en 1997 en Colombia, realizaron otro estudio para confirmar el uso de métodos no invasivos en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, se usó la Prueba de aglutinación de látex para la detección de anticuerpos contra *H. pylori* en suero de niños de 1 a 10 años y encontraron un 44% de positividad. Campuzano señala que la respuesta inmunogénica de IgA podría representar un marcador más específico de infección que la IgG o la IgM, así, un factor que podría ser

utilizable para el diagnóstico, es la presencia en la saliva de anticuerpos IgA que se unen a los antígenos del ***H. pylori***.

La respuesta específica de IgG anti-***H. pylori*** en suero, ha sido reportada altamente específica (99%) y sensible (96%), en niños en los cuales se ha detectado la colonización en el antro gástrico por este microorganismo (Drumm, 1993; Bourke y col. 1996),. La sensibilidad y especificidad varía considerablemente, sin embargo, depende del ensayo empleado (Drumm y col., 1990; Rowland y col., 1995; Crabtree y col., 1991). Citados por Rowland y col, 1998.

De Pascalis y col., en 1999 también evaluaron la respuesta inmune de IgG anti-***H. pylori*** en saliva de 70 pacientes utilizando el ensayo de ELISA, los pacientes fueron positivos a cultivo y mostraron altos títulos de anticuerpos, la sensibilidad y especificidad de la prueba fue de 84 y 90% respectivamente, estableciendo que la detección de anticuerpos IgG anti-***H. pylori*** en saliva puede ser considerada como una alternativa en el estudio de pacientes con dispepsia por la facilidad para la recolección de la muestra.

En los últimos años se han seguido realizando estudios para evaluar la importancia de la serología y el diagnóstico de la infección por *H. pylori* mediante el uso de saliva, así como para la realización de estudios de prevalencia de IgG e IgA específicas anti- *H. pylori* en pacientes con ciertas enfermedades como por ejemplo la enfermedad renal crónica (Zwolinska y col., 2000), además se ha evaluado el ensayo de ELISA y su uso para el seguimiento de pacientes que han presentado seroconversión a *H. pylori* positivos en ciertas poblaciones (Menegatti y col., 2000) y para confirmar la erradicación de *H. pylori* en pacientes con úlcera péptica (Figueroa y col., 2001) demostrando que la serología puede ser muy útil en el monitoreo de los resultados de las terapias antibióticas anti-*H. pylori*.

El desarrollo de pruebas serológicas estandarizadas para la detección de anticuerpos específicos para *H. pylori* presenta una serie de ventajas: es un ensayo de mucha utilidad para definir la epidemiología de la infección producida por este microorganismo, pudiera sustituir en muchos casos la utilización de métodos invasivos en estudios de población asintomática y en el seguimiento de los pacientes que son tratados con terapias antibióticas. (Figueroa y col., 2001).

Dependiendo de la preparación del antígeno la sensibilidad del ensayo serológico a sido reportada entre 81 y 100%. (Cohen y col., 1989; Evans y col., 1989; Goodwin y col., 1987; Morris y col., 1986). Citados por Buck G., 1990.

Con relación a la Inmunoglobulina A secretora (IgAs) anti- *H. pylori*, se ha tratado de confirmar su papel de protectora de las membranas mucosas, la IgA secretora al parecer tiene propiedades únicas que pueden explicar su predominancia en las mucosas. De hecho, algunos investigadores han señalado que los anticuerpos IgAs pueden inhibir por competencia la función activadora del complemento del anticuerpo IgG. Por otra parte, se ha publicado que la IgA activa la vía alterna del complemento y ello puede proporcionar cierta función protectora y promover la inflamación en cierto grado. Se han descrito receptores para IgA en células inflamatorias que tal vez promueven la destrucción de patógenos celulares (por ejemplo, bacterias, parásitos) por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos. (Stites y col., 1998)

La IgA aparece selectivamente en las secreciones seromucosas como la saliva, las lágrimas, la mucosidad nasal, el sudor, el calostro y las secreciones pulmonares, genitourinarias y del tubo digestivo, en donde es

obvio que su función es defender las superficies expuestas del organismo contra el ataque de los microbios. (Roitt, 2000).

Los aparatos respiratorio, digestivo y urogenital están protegidos inmunológicamente por acumulaciones subepiteliales de tejido linfoide que no están contenidas por una cápsula de tejido conjuntivo. Estas acumulaciones pueden presentarse como agrupaciones difusas de linfocitos, plasmocitos y fagocitos a través de todo el pulmón y la lámina propia de la pared intestinal o como un tejido más claramente organizado con folículos bien formados. En el hombre, estas últimas incluyen las amígdalas linguales, palatinas y faríngeas, las placas de Peyer del intestino delgado y el apéndice. Se suele estar de acuerdo en que este tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) forma un sistema secretor separado pero intercomunicado dentro del cual circulan células destinadas a la síntesis de IgA o IgE. En el intestino, el antígeno ingresa en las placas de Peyer a través de células epiteliales especializadas y estimula a los linfocitos antígenosensibles. Tras su activación éstos pasan a la linfa y después de viajar a través de los ganglios linfáticos mesentéricos y el conducto torácico, que los lleva al torrente sanguíneo, pasan hacia la lámina propia en donde se convierten en células productoras de IgA que por hallarse ampliamente distribuidas defienden una extensa región del

intestino con anticuerpos protectores. Las células también aparecen en el tejido linfático de los pulmones y en otras mucosas. (Roitt, 2000).

La IgA es el componente más importante del sistema inmune de las mucosas, contiene un polipéptido denominado componente secretor (CS), el cual puede existir unido a la IgA o en forma libre en los fluidos biológicos y puede observarse incluso en las secreciones de individuos que carecen considerablemente de IgA en suero y en sus secreciones. La función exacta del CS aún se desconoce, pero se presume que facilita el pasaje transepitelial de la IgA hacia las secreciones porque las células epiteliales de órganos tales como el intestino y el estómago lo expresan. (Goodman y col., 1994). Además algunos autores sugieren que el componente secretor libre (FCS, siglas en inglés), en fluidos biológicos puede tener un rol protector contra la diarrea e infecciones. (Ahnen y col., 1985). Citados por Kutukculer y col., 1998.

Esta ampliamente aceptado que *H. pylori* se adhiere al epitelio gástrico por medio de adhesinas específicas. (Noach y col., 1994; Nilus y col., 1994). Hay muchos estudios en progreso acerca del mecanismo y tipo de esta vinculación (Noach y col., 1994; Nilus y col., 1994). Se ha demostrado en estudios in vitro que la IgA presente en el calostro

humano inhibe la adhesión de *H. pylori* a las células de las superficies mucosas. (Falk y col., 1993). Citados por Kutukculer y col., 1998.

Basados en esto Kutukculer y col., en 1998, reportaron un estudio con la hipótesis de que la deficiencia del sistema inmune secretor de las mucosas puede ser un factor predisponente en la infección por *H. pylori* en el estómago, resultando en una enfermedad ulcero-péptica. Estos autores midieron las concentraciones de la IgAs en saliva y del componente secretor libre en saliva y fluidos gástrico de niños con gastritis asociadas a infección por *H. pylori* y de niños con dolor abdominal recurrente, llegando a la conclusión que contrario a su hipótesis, las concentraciones de IgAs y del CS libre en fluidos biológicos (saliva y fluidos gástrico) de niños con o sin infección por *H. pylori* no mostraron diferencias significativas, lo cual sugiere que los factores de defensa local no están involucrados en la patogénesis de la gastritis por la infección por *H. pylori* y que no hay deficiencias de IgAs y del CS en los fluidos biológicos de los niños infectados por *H. pylori*.

Wirth y col., en 1994, plantearon que una respuesta de IgAs en la mucosa gástrica anti-*H. pylori* puede suprimir el crecimiento de la bacteria sin la erradicación de la infección. Por lo tanto teóricamente, la deficiencia

de IgAs puede resultar en un crecimiento de *H. pylori* y posteriormente en un incremento del riesgo para desarrollar cáncer gástrico. Citado por Bogstedt, y col., 1996.

Bogstedt, y col., 1996, plantearon que estudios a largo plazo, todavía no están disponibles para responder la pregunta si el riesgo del desarrollo de úlcera o cáncer gástrico es mayor en individuos seropositivos con deficiencia de IgA comparados con controles seropositivos. Sin embargo, los títulos de anticuerpos IgG específicos anti-*H. pylori* fueron similares en los controles y en los individuos con deficiencia de IgA, lo cual sugiere que la severidad de la infección reflejada por la respuesta de anticuerpos sistémicos es similar.

Por otra parte, se ha planteado que el desarrollo de algunos títulos de inmunidad anti- *H. pylori* puede prevenir la reinfección por otras cepas, lo cual ya ha sido reportado en otros pacientes (Wadstrom., 1995). Citado por Bogstedt, y col., 1996.

Modelos animales han demostrado que es posible erradicar la infección por *H. pylori* en la mucosa gástrica mediante la administración bucal de

anticuerpos monoclonales (Czinn y col., 1993) o policlonales (Cordle y col., 1991) contra la bacteria. Inmunoglobulinas provenientes del calostro de vacas inmunizadas con diferentes patógenos han previamente también demostrado ser una fuente segura y efectiva de anticuerpos para terapias orales contra diferentes microorganismos en humanos. (Hammarstrom y col., 1994). Esto también se aplica para el tratamiento de pacientes que sufren la infección por ***H. pylori***. (Ando y col., 1991; Tarpila y col., 1996). Citados por Bogstedt, y col., 1996.

Bogstedt, y col., 1996, sustentan que el incremento de la concentración local de anticuerpos específicos alcanzado a través de la administración oral de anticuerpos anti- ***H. pylori*** puede ser utilizada como futura terapia para prevenir la adhesión de la bacteria a las células epiteliales, aumentar la eliminación de la bacteria o interferir con otros factores asociados con la patogenicidad del microorganismo.

Por todo lo anteriormente expuesto consideramos de importancia evaluar los niveles de anticuerpos IgAs anti- ***H. pylori*** en saliva para proporcionar un método de diagnóstico simple, sencillo y no invasivo, el cual nos permitiría confirmar el papel del sistema inmune secretor de las mucosas en la infección por ***H. pylori***.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. EQUIPOS DE LABORATORIO:

- Balanza
- Estufa
- Autoclave
- Vortex
- Centrífuga Eppendorf modelo 5415C
- Incubadora a 37°C
- Campana de flujo laminar
- Refrigerador
- Microscopio de luz
- Revco – 70°C
- Freezer – 20°C
- Nevera cava 4°C
- Baño ajustable a 55°C
- Genequant (Farmacia)
- Termociclador de RCP (MJ-RESEARCH)
- Horno microondas

- Cámara de electroforesis y accesorios (BIO-RAD mod. minsut DNA cel)
- Fuente de poder (BIO-RAD)
- Trasiluminador de luz UV (LKB. BROMMA mod. 2011)
- Cámara fotográfica para UV (Polaroid mod.D5H5)
- Espectrofotómetro de ELISA

2. INSTRUMENTAL:

- Espejo bucal
- Pinza algodонера
- Explorador
- Curetas de Grace
- Inyectadoras desechables de 5 ml.
- Torniquete
- Tubos vacutainer de 5 ml.
- Pinza para toma de muestras gástricas

3. MATERIALES:

3.1. MATERIALES DE LABORATORIO:

- Matraces
- Cilindros graduados
- Cápsulas de Petri
- Placas microtitulación de 12 x 8 pocillos coatados con antígenos inactivos de *H. pylori* para EIA-A y EIA-G. (Pyloriset)
- Placa Nunc MaxiSorp para ELISA IgAs
- Micropipetas ajustables automáticas (Gilson)
- Pipeta multicanal automática (Gilson)
- Puntas para pipetas con y sin filtro
- Tubos Eppendorf de 1.5 ml
- Criotubos de 2.0 ml. (Nalgene)
- Frascos pequeños de vidrio
- Asa de metal
- Mechero
- Algodón (rollos y tapones)
- Láminas portaobjetos
- Gradillas
- Bases metálicas para coloración de láminas

- Hisopos
- Máscara protectora
- Capilares de cuarzo
- Película Polaroid 067
- Papel absorbente
- Envoplast
- Marcadores indelebles
- Cartas gráficas para titulación de ELISA
- Guantes con y sin talco
- Agua destilada
- Bata de laboratorio

3.2. MATERIAL BIOLÓGICO:

- Biopsia del antro del estómago
- Muestras de placa dental
- Muestras de saliva
- Muestras de sangre

3.3. MEDIOS DE CULTIVO:

3.3.1 Agar Chocolate:

Composición para preparar 500 ml.

- 26 gr. de Agar infusión de cerebro-corazón (DIFCO): 8,0 g/l de Infusión de cerebro y corazón, a partir de sólidos, 5,0 g/l de Tejido animal digerido por enzimas pépticas, 16,0 g/l de Caseína digerida por enzimas pancreáticas, 5,0 g/l de Cloruro de sodio, 2,0 g/l de Dextrosa, 2,5 g/l de Fosfato disódico, 13,5 g/l de Agar.
- 500 ml de Agua destilada.
- 35 ml de Sangre humana.
- VITOX (OXOID): 0,1 mg. de Vitamina B-12, 100 mg. de L-Glutamina, 10 mg. de Sulfato de Adenina, 0,3 mg. de Guanina HCl, 0,13 mg. de Ácido p-aminobenzoico, 11 mg. de L-cistina, 2,5 mg. de MAD (Coenzima Y), 1 mg. de Cocarboxilasa, 0,2 mg. de Nitrato Férrico, 0,03 mg. de Tiamina HCL, 259 mg. de Cisteína HCL y 1 mg. de Dextrosa.

Se mezcló el agar cerebro-corazón con el agua destilada, se calentó en estufa para homogenizar la mezcla. Se esterilizó en autoclave a 121° C por 15 minutos aproximadamente. Posteriormente se dejó atemperar y se le añadió la sangre, se llevó de nuevo a la estufa a calentar, hasta que

tomó un color marrón similar al chocolate, se atemperó y se agregó el VITOX, luego fue servido en las cápsulas de Petri y al solidificar, se colocaron en el refrigerador.

3.3.2 Agar Sangre:

Composición para preparar 500 ml.

- 21,5 gr. de Agar Caldo Brucella: 10 g/l de Caseína hidrolizada por enzimas, 10 g/l de Dextrosa, 2,0 g/l de Extrato de levadura, 5,0 g/l de Cloruro de Sodio, 0,1 g/l de Bisulfato de Sodio y 15 g/l de Agar.
- 500 ml. de Agua Destilada.
- 35 ml de Sangre Humana.
- Vial de suplemento selectivo para *H. pylori* (OXOID): 5,0 mg. de Vancomicina, 2,5 mg. de Lactato de Trimetropim, 2,5 mg. de Cefsulodín, 2,5 mg. de Anfotericina B.

Se mezcló el agar brucela con el agua destilada, se sometió a calentamiento, alternando con agitación. Se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos, posteriormente se dejó atemperar, se agregó la sangre y el suplemento, se agitó y finalmente se sirvió en las cápsulas de Petri. Una vez solidificadas se colocaron en el refrigerador.

3.4. SOLUCIONES:

3.4.1 Soluciones Tampones:

Tampón Fosfato Salino (PBS):

- NaCl 8,5 gr.
- Na₂HPO₄ 0,795 gr.
- K₂HPO₄ 0,144 gr.
- Agua Destilada para completar 1 litro.

Buffer Tris Borato EDTA (TBE) 10X:

- Tris Base 108 gr.
- Ácido Bórico 27,5 gr.
- EDTA pH 8,0 20 ml.
- Agua Destilada para completar 1 litro.

TBE 1X:

- TBE 10X 100 ml.
- Agua Destilada para completar 1 litro.

Tampón Muestra para ADN: (electroforesis para ácidos nucleicos)

- Azul de Bromofenol 0,25%.

- Xilene Cyanol FF 0,25%
- Glicerol en agua 30%

3.4.2 Soluciones:

Extracción de ADN:

Proteinasa K:

- Proteinasa K 1000 µg.
- PBS 1 ml.

Solución de lisis:

- Tris-HCL 10mM, pH 8,0
- N-lauril-Sarcocin de Sodio 0,1%
- Agua destilada para completar 1 litro.

Para la extracción de ADN:

- Cloroformo : fenol : alcoholisoamílico (SIGMA).
- Cloroformo.
- Acetato de Amonio 3 M
- Etanol 100% (Merck)
- Etanol 75% (Merck)

- Agua libre de ADNasa y ARNasa. (Promega Corporativa)

Agarosa al 1,5%:

- Agarosa 1,5 gr.
- TBE 1X 100 ml.

3.4.3 Reactivos para tinción del gel:

Bromuro de Etidio 10 mg/ml.

- Bromuro de Etidio 10 mg.
- Agua Destilada 1 ml.

3.5. INICIADORES PARA RCP:

- Región del gen de ureasa A de *H. pylori* (DiaSorin).

Oligo A1 5' GCC AAT GGT AAA TTA GTT

Oligo A2 3' CTC CTT ATT TGT TTT TAC

3.6. PATRÓN DE PESO MOLECULAR:

- 100 Base Pair Ladder (Gibco BRL)

3.7. ESTUCHES PARA LA DETERMINACIÓN DE IgA e IgG MEDIANTE EL ENSAYO DE ELISA: (Kit Pyloriset EIA-A, EIA-G; Orion Diagnóstica)

• Tampón de Dilución de sueros	200 ml.
• Tampón de lavado, concentrado 10X	200 ml.
• Conjugado Enzimático Anti-IgG humana	15 ml.
• Conjugado Enzimático Anti-IgA humana	15 ml.
• Sueros calibradores 1,2,3 y 4	4 x 1 ml.
• Tampón sustrato	4 x 6 ml.
• Tabletas sustrato pNPP (en aluminio)	4 pcs
• Solución de parada NaOH 1M	20ml.

3.8. SOLUCIONES Y REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE IgA SECRETORA ESPECÍFICA ANTI-*Helicobacter pylori* MEDIANTE EL ENSAYO DE ELISA: (Protocolo desarrollado en el Laboratorio de Histoquímica del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

- Coating Buffer (buffer de acoplaje: carbonato) pH 9.6
- Solución de bloqueo PBST-BSA (buffer fosfato tween - albúmina sérica bovina) 0,5% 100 µl.
- Conjugado Enzimático Anti-IgA humana marcada con peroxidasa (Sigma) 100 µl.
- Solución de lavado PBS tween (buffer fosfato) 0,05%
- Solución de revelado 10 mg. OPD (ortoparafenildiamida) en 20 ml de buffer citrato pH 5,4 + 30 ul de H₂O₂
- H₂SO₄ (Acido sulfúrico) 2,5 N 30 µl.

4. MÉTODOS

MUESTRA

4.1 SELECCIÓN DE LOS PACIENTES:

Grupo de Estudio:

El estudio se llevó a cabo en un grupo de 39 pacientes adultos, de ambos sexos, procedentes de diferentes zonas del área metropolitana, que acudieron al Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario de la U.C.V. para la realización de estudio endoscópico, referidos por el Servicio de Triage del mismo, ya que presentaban sintomatología asociada a las vías digestivas como dolor estomacal, ardor, dispepsia, gastritis, etc.

Fueron excluidos pacientes que habían recibido terapia con antibióticos recientemente y pacientes con endoscopias previas en un lapso menor a tres meses.

Grupo Control:

Se seleccionaron 20 pacientes al azar sin antecedentes de molestias gastroduodenales o tratamiento anti *H. pylori* que acudieron a la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela.

A los pacientes controles no se les realizó la endoscopia, por lo tanto no se les tomó muestras de tejido estomacal.

Antes de proceder a la toma de la muestras a cada paciente se le realizó una pequeña entrevista utilizando un instrumento tipo encuesta, donde se registraron los datos personales (nombre, edad, sexo, procedencia, profesión u oficio, dirección, teléfono, etc.). También tipo de comida que consume (si es hecha en casa o no), si el agua que ingiere es filtrada, hervida o de chorro, si ingiere algún tipo de medicamento y cuáles, si tiene el hábito de fumar o consumir alcohol y en qué frecuencia, se interrogó acerca de si tiene pareja y si ésta presenta malestar gástrico o no.

Posteriormente se procedió a realizar el examen clínico intrabucal para determinar los siguientes datos: se realizó una evaluación de su higiene bucal, presencia de caries, uso o no de prótesis dentales y qué tipo, índice de placa e índice gingival de acuerdo a Silness y Loe (Nguyen y col., 1993).

4.2. PROCEDIMIENTOS DE LA TOMA DE MUESTRAS:

La recolección de placa dental y saliva se realizó previo a la endoscopia para evitar el posible arrastre de las bacterias estomacales mediante el instrumento de toma de muestra al momento de ser retirado.

Placa Dental:

Se tomó placa dental supra y/o subgingival de varias superficies dentarias, en pacientes edéntulos se tomó placa de la superficie interna de la prótesis, de manera de lograr una muestra representativa de toda la cavidad bucal. Para tal fin se usaron curetas periodontales estériles (Curetas de Gray) e inmediatamente se colocó la muestra en 2 tubos eppendorf, los cuales contenían 200 µl de solución fisiológica con el fin de preservar la muestra y facilitar la deposición de la misma en el contenedor, las mismas fueron transportadas al laboratorio para su posterior procesamiento.

Saliva:

Se colocó un rollo de algodón estéril en el piso de la boca, justo debajo de la lengua a cada paciente, durante 10 minutos, seguidamente el algodón se colocó dentro de una jeringa estéril y al presionar el émbolo la saliva era depositada en dos tubos eppendorf, uno para cultivo y el otro para centrifugar

la saliva a 10.000 RPM durante 10 minutos, se tomó el sobrenadante, el cual fue dividido en dos tubos eppendorf y posteriormente fueron congelados en el Revco a -70°C hasta el momento de su procesamiento para el ELISA.

Sangre:

Posteriormente se tomó la muestra de sangre en un tubo vacutainer, el cual era centrifugado a 3.000 RPM durante 10 minutos, se tomó el sobrenadante (suero), se dividió en dos tubos eppendorf y se congelaban en el Revco a -70°C hasta el momento de su procesamiento para el ELISA.

Estómago:

Luego al paciente se le realizaba la endoscopia, al llegar al antro estomacal se introducía la pinza para la toma de las muestras y se accionaba en las zonas apropiadas desde el punto de vista del gastroenterólogo, especialmente en aquellas zonas en las que el moco era abundante o se presentaban lesiones ulceradas.

Se obtenían 5 fragmentos de los cuales uno se introdujo en un recipiente con formaldehído al 10% para el estudio histopatológico, otro se colocaba en un tubo eppendorf que contenía un gel casero para la reacción de la ureasa y

los restantes fueron colocados en tubos eppendorf vacíos para posterior cultivo microbiológico y reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

Todas las muestras que no eran procesadas al momento fueron almacenadas a -70°C en una cava REVCO.

4.3 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

4.3.1 Cultivo Microbiológico:

Siembra de las Muestras:

Para este estudio se utilizaron dos tipos de medios de cultivo uno selectivo como es el agar-chocolate y otro no selectivo como lo es el agar sangre.

Se realizaron diluciones en solución salina fisiológica de las muestras de placa dental y saliva a una concentración 10^{-3} , luego de lo cual se procedió a sembrar en los medios selectivos y no selectivos utilizando la técnica de siembra por agotamiento para lograr el aislamiento bacteriano, la cual consiste en tomar una alícuota de la muestra (100 μl) con el asa de platino esterilizada previamente por calor directo y colocarla sobre el primer cuadrante de la placa de Petri, extendiéndola uniformemente sobre toda la

superficie, luego de lo cual se procedió a extender sobre los cuadrantes restantes sin tomar nuevamente alícuotas de la muestra. Posteriormente las placas fueron introducidas en campanas de anaerobiosis con sistemas generadores de CO₂ (Gaspack o Campygen Oxoid) y llevadas a la estufa a una temperatura de 37°C por 4 días, posteriormente se realizó la observación e identificación del microorganismo mediante las siguientes pruebas:

Pruebas de Identificación del Microorganismo:

Observación macroscópica:

Luego de 4 días de incubación de los medios conteniendo la muestra previamente sembrada, se realizaron observaciones macroscópicas de cada uno de los medios para determinar si existían o no manifestaciones características del crecimiento de ***Helicobacter pylori***.

Prueba de Hidrólisis de la Urea:

Se realizó empleando la prueba casera de ureasa, introduciendo un hisopo impregnado en las muestras tomadas directamente del estómago y con las colonias crecidas sobre la superficie de las placas de cultivo, procediendo a observar si existía o no cambio de color del medio en un lapso de 4 horas.

Prueba de la Catalasa:

Fue realizada colocando en un portaobjeto gotas de peróxido de hidrógeno, sobre el cual previamente se habían colocado las colonias crecidas sobre el medio de cultivo, características de *H. pylori*. La efervescencia era considerada signo de positividad.

Prueba de la Oxidasa:

Sobre un portaobjeto se colocaban discos para diferenciación de oxidasa (Difco) y sobre estos se frotaba el asa saturada de material del cultivo característico, si el disco cambiaba de color gris al pardo oscuro o negro se tomaba como positivo.

Coloración de Gram:

Se empleó una coloración modificada con fucsina, luego de realizar la técnica, se observó en un microscopio la lámina, en la cual se identificaba la bacteria como un bacilo de color rojo o fucsia, que a menudo adoptaba forma de gaviota.

Procedimiento utilizado para la coloración de Gram:

1. Se realizó un frotis delgado con el material que creció en las placas que se habían identificado macroscópicamente como colonias de *H. pylori*. Se dejaron secar espontáneamente.

2. La lámina fue pasada por la llama del mechero tres o cuatro veces de forma rápida.

3. Se colocó la lámina en un soporte de metal, el cual la mantenía inmóvil y horizontal.

4. Se añadió sobre el frotis Violeta de Genciana (Bioscience) y se espero 1 minuto. Se lavó la lámina con agua.

5. El frotis fue cubierto con solución de Yodo o Lugol (Bioscience) por espacio de 1 minuto. Se lavó con agua.

6. Posteriormente se colocó la lámina inclinada (con las manos) y se lavó con gotas de alcohol-acetona (Bioscience), hasta que no saliera colorante azul. Se lavó con agua.

7. Luego el frotis fue cubierto con Fucsina (Bioscience) por espacio de 1 minuto. Se lavó con agua.

8. El frotis fue colocado en posición vertical hasta que secó.

Observación Microscópica:

Se colocó una gota de aceite de inmersión (Interquímica S.A.) sobre la lámina y se observó al microscopio con el objetivo 100X y ocular de 10X. Las bacterias Gram positivas se observaron moradas y las Gram negativas rojas (Carmona, 1987).

4.3.2 Extracción de ADN de las biopsias:

Se agregó proteinasa K a cada muestra a una concentración final de 500 µl/ml en solución buffer de lisis. Se incubó a 55°C por 2 horas, controlando la digestión. Posteriormente se inactivó la proteinasa K por incubación a 95°C por 10 minutos. A continuación se añadió igual volumen de Cloroformo: Fenol :Alcohol Isoamílico (SIGMA) en una relación 25 : 24 : 1 y se mezclaron por 1 minuto en vortex. Para separar las fases acuosa y orgánica se centrifugó a 12.000 x g durante 15 minutos en una microcentrífuga (Eppendorf modelo 5415C). Se recolectó la fase acuosa y se eliminó el fenol residual agregando cloroformo a igual volumen. Seguidamente se centrifugó a 12.000 x g durante 10 minutos. Se tomó el sobrenadante y se procedió a precipitar el ADN por adición de 2 volúmenes de etanol 100% frío y 1/10 volumen de acetato de Na 3 M. Luego se centrifugó por 15 minutos a 12.000 x g a 4°C. El sedimento

obtenido se lavó con etanol 75% y seguidamente se resuspendió en agua libre de ARNasa y ADNasa (Promega Corporativa). Posteriormente se determinó con los capilares la concentración y pureza en $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, del ADN en el GENE QUANT (PHARMACIA).

Al dividir 1 entre la concentración, se obtenía como resultado la cantidad en μl de muestra a utilizar para la RCP.

4.3.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP):

1mM de dNTP (A, G, C, T)

6,25 ml de buffer 10X libre de MgCl_2

Iniciadores:

0,9 pmol A1 5'

0,9 pmol A2 3'

3 mM de MgCl_2

0,5 U Taq polimerasa (Perkin-Elmer)

H_2O destilada desionizada

A un volumen final de 50 μl . y una concentración de ADN de 1 μg .

Programa de la RCP

Posteriormente se colocó en el termociclador de RCP (BioRad), en el cual las mezclas pasaban por los ciclos siguientes:

1 minuto a 95°C

30 segundos a 94°C*

1 minuto a 45°C*

2 minutos a 72°C*

5 minutos a 72°C

* (Corresponden a 40 ciclos de amplificación).

Electroforesis:

Las muestras amplificadas fueron analizadas en gel de agarosa para ácidos nucleicos al 1,5% en TBE 1X teñido con 0,5 mg/ml de Bromuro de etidio, se colocaron 10 µl del producto amplificado + 3 µl del buffer de corrida, la corrida se hace utilizando una cámara de electroforesis (BIO-RAD mod. minsut DNA cel) a 100 voltios por 45 minutos, luego fueron visualizadas en un transiluminador de luz U.V (LKB. BROMMA mod. 2011). Los datos se fotografiaron para su registro permanente utilizando una cámara fotográfica para U.V (Polaroid mod. D5H5).

Los pesos moleculares de las bandas coloreadas fueron determinados por comparación con marcadores de peso molecular conocido (100 Pair Ladder).

El tamaño del amplificado:

5' codon **417** pares de bases (gen ureasa A *H. pylori*)
3' codon

4.3.4 Evaluación de la Respuesta Inmune Humoral anti-

***Helicobacter pylori*:**

La evaluación de la respuesta inmune humoral anti-*H. pylori* de los pacientes con sintomatología gástrica, se realizó utilizando el ensayo de ELISA.

Para determinar la IgA e IgG en suero se utilizó un kit comercial (Kit Pyloriset EIA-A, EIA-G; Orion Diagnóstica). Las lecturas de densidad óptica (DO) se realizaron a 405 nm. Los sueros se consideraron positivos cuando los títulos de los pacientes eran iguales o mayores de 250 unidades de densidad óptica para IgA sérica, e iguales o mayores de 300 unidades de densidad óptica para IgG sérica.

Para la IgA secretora en saliva se utilizaron dos pruebas, una casera diseñada por el Laboratorio de Histoquímica del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas, y en la segunda se utilizó sólo el antígeno preparado comercialmente del Kit Pyloriset EIA-A, Orion Diagnóstica, las lecturas de densidad óptica (DO) se realizaron a 492 nm. Las muestras de saliva se consideraron positivas cuando las DO eran iguales o mayores de 280 unidades de densidad óptica.

4.3.5 Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para determinar IgA e IgG sérica: (Kit Pyloriset EIA-A, EIA-G; Orion Diagnóstica)

1. Dilución de los sueros 1 a 200 en tampón de dilución de muestras.
2. Se pipeteaban 100 µl de cada calibrador y se colocaban en los pocillos de la placa de microtitulación.
3. Seguidamente se pipeteaban 100 µl de cada muestra diluida y se colocaban en los pocillos de la placa de microtitulación.
4. Se cubrían las tiras con las tapas de plástico incluidas en el kit y se incubaron a temperatura ambiente durante 60 minutos.
5. Se procedía luego a quitar la tapa, aspirar y lavar los pocillos 3 veces con tampón de lavado.

6. Se escurrían las tiras sobre papel absorbente para eliminar los residuos de tampón de lavado.
7. Posteriormente se procedía a incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente el conjugado enzimático, pipeteando 100 μ l del mismo y colocándolo en cada pocillo.
8. Se procedía luego a quitar la tapa, aspirar y lavar los pocillos 3 veces con tampón de lavado.
9. Se escurrían las tiras sobre papel absorbente para eliminar los residuos de tampón de lavado.
10. Luego se procedía a incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad el sustrato, pipeteando 100 μ l del mismo y colocándolo en cada pocillo.

11. Pasados los 30 minutos de incubación del sustrato se añadían 100 μ l de solución de parada a cada pocillo para detener la reacción enzimática.

12. Luego se procedía a medir la absorbancia de cada pocillo a 405 nm.

4.3.6 Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) para determinar IgA secretora específica anti-*Helicobacter pylori*: (Protocolo desarrollado por el Laboratorio de Histoquímica del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

1. Sensibilización: Se acopló el antígeno de *Helicobacter pylori* (2,5 μ g por pozo) diluido en Coating buffer (carbonato pH 9,6) durante 2 horas en una placa Nunc MaxiSorp.
2. Se aspiró.

3. Bloqueo: 100 μ l por pozo de PBST-BSA 0,5% (Solución Buffer-fosfato-tween- Albúmina sérica bovina), durante 2 horas.
4. Se aspiró.
5. Muestra: se incubaron las muestras de saliva durante una hora a 37°C, a una dilución 1/10 con PBST-BSA 0,5% y se agregó 100 μ l por pozo.
6. Se aspiró y se lavó 5 veces con PBS tween al 0,05%.
7. Conjugado: se agregó 100 μ l por pozo de Anti IgA marcada con peroxidasa diluido 1/1000 en PBST-BSA 0,5%. Se incubó en la estufa a 37°C por una hora.
8. Se aspiró y se lavó 5 veces con PBS tween al 0,05%.

9. Revelado: se reveló con una solución de 10 mg de OPD (ortoparafenildiamida) en 20 ml de buffer citrato pH 5,4 más 30 μ l de H_2O_2 .
10. Se dejó incubar 15 minutos en la oscuridad y se detiene la reacción con 30 μ l de H_2SO_4 2,5 N.
11. Se lee la absorbancia a 492 nm en el lector de ELISA.

ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados se sometieron al análisis estadístico descriptivo, representado con gráficos.

El análisis descriptivo para cada una de las variables se efectuó a través de porcentajes y frecuencias, ya que las variables son cualitativas y su nivel de medición es ordinal.

Además se aplicó la Prueba del “Coeficiente de Similitud General de Gower” para la comparación entre variables y la Prueba de Kruskal-Wallis que tiene una confiabilidad del 95%.

RESULTADOS

1. Caracterización de las colonias

Las colonias presentes sobre la superficie de los medios de cultivo específicos se caracterizaron por ser redondas, transparentes, pequeñas, semejantes a chispas de agua, las cuales son típicas de *Helicobacter pylori*.

En la observación microscópica se evidenció la presencia de formas bacilares cortas, Gram negativas semejantes en ocasiones a las alas de gaviota, características del microorganismo aislado.

2. Detección de *Helicobacter pylori* en biopsias de estómago mediante la prueba de ureasa directa: (Gráfico 1)

De las muestras de estómago evaluadas 22/39 (56%) resultaron positivas para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa y 17/39 (44%) resultaron negativas.

3. Detección de *Helicobacter pylori* en muestras de estómago mediante el cultivo microbiológico: (Gráfico 2)

De los cultivos microbiológicos realizados a las muestras de estómago evaluadas, 23/39 (59%) resultaron positivas y 16/39 (41%) resultaron negativas para *Helicobacter pylori*.

4. Detección de *Helicobacter pylori* en muestras de estómago mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa: (Gráfico 3)

De las muestras de estómago del grupo de estudio evaluadas mediante esta prueba, 24/39 (62%) resultaron positivas y 15/39 (38%) resultaron negativas para *Helicobacter pylori*.

En la foto No. 1 (ver anexos) se observa el patrón de bandas correspondientes a *H. pylori*, evidenciados mediante electroforesis en gel de agarosa.

En el carril No. 1 se observa el control negativo, en el No. 2 y 9, el marcador de peso molecular, en los No. 3, 5, 7, 10 y del 12 al 16 pacientes negativos a la infección, en el No. 8 el control positivo y en los No. 4, 6 y 11 los pacientes positivos a la infección, en los cuales se observa la expresión del gen ureasa que tiene 417 pares de bases.

5. Relación de la detección de *Helicobacter pylori* en biopsias de estómago mediante la prueba de ureasa directa y en muestras de estómago mediante el cultivo microbiológico: (Gráfico 4)

De las muestras de estómago evaluadas 22/39 (56%) resultaron positivas para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa y 23/39 (59%) resultaron positivas en la prueba de cultivo microbiológico.

Por lo tanto 19/39 (49%) de los pacientes resultaron positivos para ambas pruebas.

El análisis estadístico de Gower demostró que la relación que existe entre la prueba de ureasa directa y la presencia del microorganismo en cultivo es del 93% de especificidad para la detección del microorganismo.

6. Relación de la detección de *Helicobacter pylori* en biopsias de estómago mediante el cultivo microbiológico y la Reacción en Cadena de la Polimerasa: (Gráfico 5)

De los cultivos microbiológicos realizados a las muestras de estómago evaluadas 23/39 (59%) resultaron positivas y 24/39 (62%) resultaron positivas para *Helicobacter pylori* en la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Por lo tanto 16/39 (41%) de los pacientes resultaron positivos para ambas pruebas.

Según el análisis estadístico estas técnicas presentaron un 86% de especificidad para la detección del microorganismo.

7. Relación de la detección de *Helicobacter pylori* en biopsias de estómago mediante la prueba de ureasa directa y la Reacción en Cadena de la Polimerasa: (Gráfico 6)

De las muestras de estómago evaluadas 22/39 (56%) resultaron positivas para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa y 24/39 (62%) resultaron positivas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Por lo tanto 15/39 (38%) de los pacientes resultaron positivos para ambas pruebas.

Según el análisis estadístico estas técnicas presentaron un 88% de especificidad para la detección del microorganismo.

8. Detección de Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 7)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas mediante esta prueba, 37/39 (95%) resultaron positivas y 2/39 (5%) resultaron negativas para anticuerpos IgA sérica **anti-*Helicobacter pylori***.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas y 6/20 (30%) resultaron negativas para anticuerpos IgA sérica **anti-*Helicobacter pylori***.

En el análisis estadístico mediante la Prueba de Kruskal-Wallis al comparar ambos grupos se observó que existían diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$). Observándose un 95% de especificidad para esta prueba.

9. Detección de Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 8)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas mediante esta prueba, 34/39 (87%) resultaron positivas y 5/39 (13%) resultaron negativas para anticuerpos IgG **anti-*Helicobacter pylori***.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas y 13/20 (65%) resultaron negativas para anticuerpos IgG **anti-*Helicobacter pylori***.

En el análisis estadístico mediante la Prueba de Kruskal-Wallis al comparar ambos grupos se obtuvo un 87% de especificidad para esta prueba.

10. Detección de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) específica anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 9)
(Protocolo Laboratorio de Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas mediante esta prueba, 24/39 (62%) resultaron positivas y 15/39 (38%) resultaron negativas para anticuerpos IgAs **anti-*Helicobacter pylori***.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas y 10/20 (50%) resultaron negativas para anticuerpos IgAs **anti-*Helicobacter pylori***.

El análisis estadístico mediante la Prueba de Kruskal-Wallis demostró 62% de especificidad para esta prueba.

11. Detección de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) específica anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 10)
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas mediante esta prueba, 36/39 (92%) resultaron positivas y 3/39 (8%) resultaron negativas para anticuerpos IgAs **anti-*Helicobacter pylori***.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas y 3/20 (15%) resultaron negativas para anticuerpos IgAs **anti-*Helicobacter pylori***.

El resultado de la prueba de comparación no fue significativo ($p > 0,05$).

12. Distribución de pacientes positivos mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 11)

Se encontró que de los 24/39 (62%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en las biopsias de estómago evaluadas, 23/39 (59%) resultaron positivos para IgA sérica anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 1/39 (3%) de los pacientes positivos para la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en muestras de estómago no presento Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 82,3% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 96%.

13. Distribución de pacientes positivos mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 12)

Se encontró que de los 24/39 (62%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en las biopsias de estómago evaluadas, 22/39 (56%) resultaron positivos para IgG sérica anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 2/39 (6%) de los pacientes positivos para la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en muestras de estómago no presentó Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 67% de similitud y las pruebas demostraron una especificidad del 92%.

14. Distribución de pacientes positivos mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 13)

(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

Se encontró que de los 24/39 (62%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en las biopsias de estómago evaluadas, 17/39 (44%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto el 71% de los pacientes positivos para la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en muestras de estómago presento Inmunoglobulina A Secretora (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 81% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 70%.

15. Distribución de pacientes positivos mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA): (Gráfico 14)

(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

Se encontró que de los 24/39 (62%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa en las biopsias de estómago evaluadas, 22/39 (56%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 92% de los pacientes positivos para la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en muestras de estómago presento Inmunoglobulina A Secretora (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 82% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 92%.

16. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de caries: (Gráfico 15)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 20/37 (54%) presentaban caries dentales, 13/37 (35%) no presentaban caries y 4/37 (11%) eran edéntulos totales.

Del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 11/14 (79%) no presentaban caries dentales y 3/14 (21%) presentaban caries.

En el análisis estadístico no se observó que existía una relación significativa entre ellos (50%).

17. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de caries: (Gráfico 16)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 20/34 (59%) presentaban caries dentales, 11/34 (32%) no presentaban caries y 3/34 (9%) eran edéntulos totales.

Del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 1/7 (14%) presentaban caries dentales y 6/7 (86%) no presentaban caries.

En el análisis estadístico no se observó que existía una relación significativa entre ellos (50%).

18. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de caries dental: (Gráfico 17)
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 14/24 (58%) presentaban caries dentales, 7/24 (29%) no presentaban caries y 3/24 (13%) eran edéntulos totales.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 2/10 (20%) presentaban caries dentales y 8/10 (80%) no presentaban caries.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (52%).

19. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de caries: (Gráfico 18)
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 20/36 (56%) presentaban caries dentales, 12/36 (33%) no presentaban caries y 4/36 (11%) eran edéntulos totales.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 3/17 (18%) presentaban caries dentales y 14/17 (82%) no presentaban caries.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (51%).

20. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al uso de prótesis dental: (Gráfico 19)

De los pacientes del grupo de estudio 37/39 (95%) resultaron positivos para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 15/37 (41%) usaban prótesis dentales y 22/37 (59%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

Del grupo control, 14/20 (70%) muestras resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 1/14 (7%) usaba prótesis dental y 13/14 (93%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (65%).

21. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al uso de prótesis dental: (Gráfico 20)

De los pacientes del grupo de estudio 34/39 (87%) resultaron positivos para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 14/34 (41%) usaban prótesis dentales y 20/34 (59%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

Del grupo control, 7/20 (35%) muestras resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 7/7 (100%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (54%).

22. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al uso de prótesis dental: (Gráfico 21)
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 10/24 (42%) usaban prótesis dentales y 14/24 (58%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

Del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 10/10 (100%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (69%).

23. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al uso de prótesis dental: (Gráfico 22)
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 14/36 (39%) usaban prótesis dentales y 22/36 (61%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

Del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 1/17 (6%) usaba prótesis dental y 16/17 (94%) no utilizaban ningún tipo de prótesis dental.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (68%).

24. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de enfermedad periodontal: (Gráfico 23)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 5/37 (13%) presentaban enfermedad periodontal leve, 21/37 (57%) moderada, 7/37 (19%) severa y 4/37 (11%) eran edéntulos total.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de éstos pacientes 11/14 (79%) presentaban enfermedad periodontal leve, 3/14 (21%) moderada y ninguno presentó enfermedad periodontal severa.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (65%).

25. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de enfermedad periodontal: (Gráfico 24)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 5/34 (15%) presentaban enfermedad periodontal leve, 19/34 (55%) moderada, 7/34 (21%) severa y 3/34 (9%) eran edéntulos total.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 6/7 (86%) presentaban enfermedad periodontal leve, 1/7 (14%) moderada y ninguno presentó enfermedad periodontal severa.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (71%).

26. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de enfermedad periodontal: (Gráfico 25)
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 2/24 (8%) presentaban enfermedad periodontal leve, 13/24 (54%) moderada, 6/24 (25%) severa y 3/24 (13%) eran edéntulos total.

Del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 8/10 (80%) presentaban enfermedad periodontal leve, 2/10 (20%) moderada y ninguno presentó enfermedad periodontal severa.

En el análisis estadístico no se observó que existía una relación significativa entre ellos (50%).

27. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de enfermedad periodontal: (Gráfico 26)
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 4/36 (11%) presentaban enfermedad periodontal leve, 20/36 (56%) moderada, 8/36 (22%) severa y 4/36 (11%) eran edéntulos total.

Del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 14/17 (82%) presentaban enfermedad periodontal leve, 3/17 (18%) moderada y ninguno presentó enfermedad periodontal severa.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (66%).

28. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la higiene bucal: (Gráfico 27)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes ninguno presentaba buena higiene bucal, 24/37 (65%) presentó una higiene bucal regular y 9/37 (24%) presentó higiene bucal mala y 4/37 (11%) eran edéntulos total.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 8/14 (57%) presentaba buena higiene bucal, 6/14 (43%) presentó una higiene bucal regular y ninguno presentó higiene bucal mala.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (82%).

29. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la higiene bucal: (Gráfico 28)

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes ninguno presentaba buena higiene bucal, 22/34 (65%) presentó una higiene bucal regular y 9/34 (26%) presentó higiene bucal mala y 3/34 (9%) eran edéntulos total.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 4/7 (57%) presentaba buena higiene bucal, 3/7 (43%) presentó una higiene bucal regular y ninguno presentó higiene bucal mala.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (75%).

30. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la higiene bucal: (Gráfico 29)
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes ninguno presentaba buena higiene bucal, 14/24 (58%) presentó una higiene bucal regular y 7/24 (29%) presentó higiene bucal mala y 3/24 (13%) eran edéntulos total.

Del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 6/10 (60%) presentaba buena higiene bucal, 4/10 (40%) presentó una higiene bucal regular y ninguno presentó higiene bucal mala.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (71%).

31. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la higiene bucal: (Gráfico 30)
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes ninguno presentaba buena higiene bucal, 22/36 (61%) presentó una higiene bucal regular y 10/36 (28%) presentó higiene bucal mala y 4/36 (11%) eran edéntulos total.

Del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 10/17 (59%) presentaba buena higiene bucal, 7/17 (41%) presentó una higiene bucal regular y ninguno presentó higiene bucal mala.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (85%).

32. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al tipo de alimentación:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 19/37 (51%) ingerían comida elaborada en su casa, 11/37 (30%) en la calle y 7/37 (19%) en ambos sitios.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 9/14 (64%) ingerían comida elaborada en su casa, 5/14 (36%) en la calle.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (73%).

33. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al tipo de alimentación:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 16/34 (47%) ingerían comida elaborada en su casa, 11/34 (32%) en la calle y 7/34 (21%) en ambos sitios.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 5/7 (71%) ingerían comida elaborada en su casa, 2/7 (29%) en la calle.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (73%).

34. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al tipo de alimentación:
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 14/24 (58%) ingerían comida elaborada en su casa, 6/24 (25%) en la calle y 4/24 (17%) en ambos sitios.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 7/10 (70%) ingerían comida elaborada en su casa, 3/10 (30%) en la calle.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (56%).

35. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al tipo de alimentación:
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 19/36 (53%) ingerían comida elaborada en su casa, 10/36 (28%) en la calle y 7/36 (19%) en ambos sitios.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 12/17 (71%) ingerían comida elaborada en su casa, 5/17 (29%) en la calle.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (73%).

36. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al agua de consumo:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 11/37 (30%) ingerían agua hervida, 12/37 (32%) agua filtrada, 5/37 (14%) agua potable y 9/37 (24%) no daban ningún tratamiento al agua de consumo.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 4/14 (29%) ingerían agua hervida, 7/14 (50%) agua filtrada, 3/14 (21%) agua potable.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (74%).

37. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al agua de consumo:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 9/34 (26,4%) ingerían agua hervida, 12/34 (35,2%) agua filtrada, 4/34 (12%) agua potable y 9/34 (26,4%) no daban ningún tratamiento al agua de consumo.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 2/7 (29%) ingerían agua hervida, 4/7 (57%) agua filtrada, 1/7 (14%) agua potable.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (57%).

38. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al agua de consumo:
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 10/24 (42%) ingerían agua hervida, 6/24 (25%) agua filtrada, 3/24 (12%) agua potable y 5/24 (21%) no daban ningún tratamiento al agua de consumo.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 3/10 (30%) ingerían agua hervida, 5/10 (50%) agua filtrada, 2/10 (20%) agua potable.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (88%).

39. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al agua de consumo:
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 10/36 (28%) ingerían agua hervida, 11/36 (31%) agua filtrada, 5/36 (14%) agua potable y 10/36 (27%) no daban ningún tratamiento al agua de consumo.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 4/17 (23%) ingerían agua hervida, 10/17 (59%) agua filtrada, 3/17 (18%) agua potable.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (78%).

40. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al consumo de alcohol:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 11/37 (30%) consumían alcohol frecuentemente y 26/37 (70%) no lo consumían.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 10/14 (71%) consumían alcohol frecuentemente y 4/14 (29%) no lo consumían.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (75%).

41. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al consumo de alcohol:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 11/34 (32%) consumían alcohol frecuentemente y 23/34 (68%) no lo consumían.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 6/7 (86%) consumían alcohol frecuentemente y 1/7 (14%) no lo consumían.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (58%).

42. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al consumo de alcohol:
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 7/24 (29%) consumían alcohol frecuentemente y 17/24 (71%) no lo consumían.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 8/10 (80%) consumían alcohol frecuentemente y 2/10 (20%) no lo consumían.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (89%).

43. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al consumo de alcohol:
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 11/36 (31%) consumían alcohol frecuentemente y 25/36 (69%) no lo consumían.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 13/17 (76%) consumían alcohol frecuentemente y 4/17 (24%) no lo consumían.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (79%).

44. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al hábito tabáquico:

En cuanto al consumo de cigarrillos en pacientes de los cuales las muestras de suero resultaron positivas 37/39 (95%) para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 12/37 (32%) eran fumadores y 25/37 (68%) no lo eran.

De las muestras del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 8/14 (57%) eran fumadores y 6/14 (43%) no lo eran.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (76%).

45. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al hábito tabáquico:

En cuanto al consumo de cigarrillos en pacientes de los cuales las muestras de suero resultaron positivas 34/39 (87%) para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 12/34 (35%) eran fumadores y 22/34 (65%) no lo eran.

De las muestras del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 3/7 (43%) eran fumadores y 4/7 (57%) no lo eran.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (58%).

46. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al habito tabáquico:
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

En cuanto al consumo de cigarrillos en pacientes de los cuales las muestras de saliva resultaron positivas 24/39 (62%) para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 7/24 (29%) eran fumadores y 17/24 (71%) no lo eran.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 5/10 (50%) eran fumadores y 5/10 (50%) no lo eran.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (86%).

47. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secertora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación al habito tabáquico:
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

En cuanto al consumo de cigarrillos en pacientes de los cuales las muestras de saliva resultaron positivas 36/39 (92%) para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 13/36 (36%) eran fumadores y 23/36 (64%) no lo eran.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 8/17 (47%) eran fumadores y 9/17 (53%) no lo eran.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (79%).

48. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de sintomatología gástrica en la pareja:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 37/39 (95%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 6/37 (16.2%) tenían pareja que padecía de malestares gástricos, 22/37 (59.4%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 9/37 (24.3%) no tenían pareja.

Del grupo control, 14/20 (70%) resultaron positivas para anticuerpos **IgA anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 1/14 (7%) tenían pareja que padecía de malestares gástricos, 9/14 (64%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 4/14 (29%) no tenían pareja.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (72%).

49. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de sintomatología gástrica en la pareja:

De las muestras de suero del grupo de estudio evaluadas 34/39 (87%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori***, de estos pacientes 6/34 (18%) tenían pareja que padecía de malestares gástricos, 20/34 (58%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 8/34 (24%) no tenían pareja.

Del grupo control, 7/20 (35%) resultaron positivas para anticuerpos **IgG anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes ninguno tenía pareja que padecía de malestares gástricos, 5/7 (71%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 2/7 (29%) no tenían pareja.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (72%).

50. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de sintomatología gástrica en la pareja:
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 24/39 (62%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 2/24 (8%) tenían pareja que padecía de malestares gástricos, 15/24 (63%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 7/24 (29%) no tenían pareja.

De las muestras del grupo control, 10/20 (50%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes ninguno tenía pareja que padecía de malestares gástricos, 6/10 (60%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 4/10 (40%) no tenían pareja.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (90%).

51. Distribución de pacientes positivos para Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con relación a la presencia de sintomatología gástrica en la pareja:
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

De las muestras de saliva del grupo de estudio evaluadas 36/39 (92%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 6/36 (17%) tenían pareja que padecía de malestares gástricos, 22/36 (61%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 8/36 (22%) no tenían pareja.

De las muestras del grupo control, 17/20 (85%) resultaron positivas para anticuerpos **IgAs anti-*Helicobacter pylori*** de estos pacientes 1/17 (6%) tenía pareja que padecía de malestares gástricos, 10/17 (59%) su pareja no padecía de malestares gástricos y 6/17 (35%) no tenían pareja.

En el análisis estadístico se observó que existía una relación significativa entre ellos (76%).

52. Distribución de pacientes positivos mediante la prueba de ureasa directa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):

Se encontró que de los 22/39 (56%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa en muestras de estómago evaluadas, 21/39 (54%) resultaron positivos para IgA sérica anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 1/39 (3%) de los pacientes positivos para la prueba de ureasa en muestras de estómago no presentó Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 80% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 95%.

53. Distribución de pacientes positivos mediante la prueba de ureasa directa en muestras de estómago y la presencia de Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):

Se encontró que de los 22/39 (56%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa en muestras de estómago evaluadas, 21/39 (54%) resultaron positivos para IgG sérica anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 1/39 (3%) de los pacientes positivos para la prueba de ureasa en muestras de estómago no presentó Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 67% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 95%.

54. Distribución de pacientes positivos mediante la prueba de ureasa directa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

Se encontró que de los 22/39 (56%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa en muestras de estómago evaluadas, 11/39 (28%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 50% de los pacientes positivos para la prueba de ureasa en muestras de estómago no presentó Inmunoglobulina A Secretora (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 82% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 50%.

55. Distribución de pacientes positivos mediante la prueba de ureasa directa en biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):

(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

Se encontró que de los 22/39 (56%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en la prueba de ureasa directa en muestras de estómago evaluadas, 21/39 (54%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 95% de los pacientes positivos para la prueba de ureasa en muestras de estómago presento Inmunoglobulina A Secretora (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 80% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 95%.

56. Distribución de pacientes positivos en cultivo microbiológico de biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):

Se encontró que de los 23/39 (59%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en cultivos microbiológicos realizados a las muestras de estómago evaluadas, 23/39 (59%) resultaron positivos para IgA sérica anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto el 100% de los pacientes positivos para la prueba de cultivo microbiológico en muestras de estómago presentaron Inmunoglobulina A Sérica (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 81,2% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 100%.

57. Distribución de pacientes positivos en cultivo microbiológico de biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):

Se encontró que de los 23/39 (59%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en cultivos microbiológicos realizados a las muestras de estómago evaluadas, 23/39 (59%) resultaron positivos para IgG sérica anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto el total de los pacientes positivos para la prueba de cultivo microbiológico en muestras de estómago presentaron Inmunoglobulina G Sérica (IgG) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de suero.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 67% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 100%.

58. Distribución de pacientes positivos en cultivo microbiológico de biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):
(Protocolo Lab. Histoquímica Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas)

Se encontró que de los 23/39 (59%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en cultivos microbiológicos realizados a las muestras de estómago evaluadas, 12/39 (31%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 11/39 (28%) del total de los pacientes positivos para la prueba de cultivo microbiológico en muestras de estómago no presento Inmunoglobulina A Secretora (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 83% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 52%.

59. Distribución de pacientes positivos en cultivo microbiológico de biopsias de estómago y la presencia de Inmunoglobulina A Secretora (IgAs) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA):
(Kit Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica)

Se encontró que de los 23/39 (59%) pacientes positivos para *Helicobacter pylori* en cultivos microbiológicos realizados a las muestras de estómago evaluadas, 21/39 (54%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*Helicobacter pylori*.

Por lo tanto 91,3% del total de los pacientes positivos para la prueba de cultivo microbiológico en muestras de estómago presento Inmunoglobulina A Secretora (IgA) anti-*Helicobacter pylori* en muestras de saliva.

En el análisis estadístico de Gower presentaron un 83% de similitud, y las pruebas demostraron una especificidad del 91%.

DISCUSIÓN

La última década vió derrumbarse el postulado científico que sostenía la imposibilidad de infección bacteriana directa en la mucosa gástrica, debido al pH ácido del estómago. Aún cuando desde principios del siglo XX se tenían informes de bacterias presentes en el contenido gástrico de humanos con cáncer gástrico ulcerado y con úlceras pépticas benignas (Dooley C., 1993), y a pesar de conocerse desde 1893 la presencia de organismos espirilados en el estómago de mamíferos (Bizzozero B., 1893), este dogma motivó sostenido rechazo a la investigación bacteriológica gástrica. (Citados por Paradisi C., 1994).

En 1981 Warren y Marshall en Australia aislaron un bacilo con forma de espiral en biopsias gástricas de pacientes a los cuales se les realizó endoscopia, y demuestran que casi todos los pacientes con gastritis tipo B estaban infectados; y que la mayoría de ellos con úlceras pépticas o cáncer gástrico, eran portadores de bacterias. (Marshall B. y Warren J., 1984). Lograron cultivarla en 1982 y publicaron su hallazgo en 1983 (Warren J. y Marshall B. 1983) identificándolas inicialmente como parecidas al ***Campylobacter***

(CLO=Campylobacter like organisms). Al precisarse mejor las características únicas de estos microorganismos (principalmente su capacidad para producir ureasa) no compartidas por las especies **Campylobacter**, fue reclasificada en nuevo género denominado **Helicobacter pylori** en 1989. (Maddocks A., 1990). (Citados por Paradisi C., 1994).

H. pylori generalmente produce una infección inespecífica del tracto digestivo superior, con duración de unos pocos días. La colonización es sintomática en algunos individuos, pasando luego en la generalidad de las personas a una prolongada fase asintomática. La mayoría de los sujetos que lo alojan en la mucosa gástrica no muestran evidencia alguna de inflamación, y sólo un bajo porcentaje de los infectados desarrolla algún trastorno patológico. En el transcurso de años como portador de **H. pylori**, evoluciona hacia una gastritis crónica, aceptándose que representa un factor importante en el desarrollo de la gastritis tipo B y de la úlcera duodenal. (Paradisi C., 1994).

También se ha relacionado con el linfoma gástrico tipo MALToma y el cáncer gástrico. El impacto clínico de esta bacteria

continúa expandiéndose, con lo cual se ha sugerido que la misma podría estar relacionada con el retardo en el crecimiento de los niños y como un posible factor en el desarrollo de cardiopatías isquémicas (Farthing y col., 1998). Adicionalmente, el ser portador de la bacteria por largo tiempo puede estar asociado no sólo con causar pequeña estatura en niñas y en la población en general, sino que es un posible factor de riesgo en el desarrollo de desórdenes como vasoespasmos y posibles patologías inmunológicas en piel, tal como la urticaria (Vaira y col., 1999). De aquí la importancia de determinar las posibles vías de infección de esta bacteria, para poder tomar las medidas preventivas adecuadas y de esta forma establecer tratamientos coadyuvantes de las terapias convencionales contra este microorganismo.

La infección por *H. pylori* es una de las más comunes a nivel mundial que afecta a todos los grupos etarios, raciales y de ambos sexos (Feldman y col., 1998).

Las pruebas de diagnóstico para esta infección han sido clasificadas como de tipo invasivas y no invasivas, cada una de las cuales presentan una serie de ventajas y desventajas, lo cual hace

que sean más o menos apropiadas dependiendo de la situación clínica.

Las pruebas de tipo no invasivas obvian la necesidad del examen endoscópico debido a que este resulta un procedimiento engorroso y de difícil aplicación, sobre todo en el diagnóstico de pacientes comprendidos en edades tempranas y medianas de la vida (Marshall y col., 1987, Jones y col., 1986).

Dentro de este grupo tenemos los métodos serológicos y la prueba del aliento utilizando C13 o C14. Estas pruebas aportan una visión global de la infección por *H. pylori*, mientras que los métodos invasivos basados en la toma de una o más muestras de mucosa gástrica están asociados a un inherente riesgo de error de muestreo, debido a la distribución de forma irregular del microorganismo en el tejido gástrico, formando parte de este grupo encontramos el estudio histopatológico, el cultivo, la prueba de ureasa, la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación en placa.

En la actualidad no existe consenso sobre cual prueba comercial o de desarrollo propio deben ser empleadas para estudios a personas asintomáticas y en estudios de epidemiología a gran escala (Jensen y col., 1993).

Cada prueba de diagnóstico varía de acuerdo a la sensibilidad, especificidad, rapidez, simplicidad y costo, siendo estos los parámetros a considerar para el momento de la selección del método (Megrand, 1996; Hirsechl y col., 1993).

En relación a las pruebas serológicas, estas podrían ser de gran utilidad para el establecimiento del diagnóstico, sin embargo, diferencias de criterios presentados en la literatura indicaron una alta variabilidad en la preparación de los antígenos, lo que impide que se pueda establecer una comparación de los patrones electroforéticos y una definición clara de los antígenos que intervienen en la respuesta inmunológica de los pacientes infectados. El bajo costo de estas pruebas ha permitido que sean aplicadas en la rutina para el diagnóstico y evaluación de los pacientes en tratamiento.

En la presente investigación se evaluaron 39 muestras gástricas de pacientes con enfermedades de las vías digestivas superiores, los cuales tenían indicación de endoscopia, de estas muestras 22/39 (56%) resultaron positivas para la detección de *H. pylori* mediante la prueba de ureasa casera y 23/39 (59%) mediante el cultivo microbiológico.

Resultados semejantes han sido obtenidos por Li y col., en 1995, quienes lograron aislar la bacteria en 39 muestras de estómago de pacientes con sintomatología gástrica.

También Li y col., en el año 1996, lograron aislar la bacteria en el estómago de 47/71 (66%) pacientes. Estudios similares han sido realizados en Venezuela por Berroterán y col, en el año 2000, quien pudo identificar la bacteria en muestras de estómago de 24/40 (60%) por la prueba de ureasa y 18/40 (45%) por cultivo bacteriano.

Al comparar ambas pruebas, la de ureasa directa y el cultivo microbiológico se obtuvieron 19/39 (49%) de las muestras positivas para las dos pruebas, lo cual estableció una relación entre ambas,

encontrándose una especificidad del 93% en la detección del microorganismo.

También se evidenció la presencia del microorganismo en las muestras de estómago mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), observándose en 24/39 (62%) de las muestras. Al comparar esta prueba con la de la ureasa y el cultivo microbiológico se obtuvo que 22/39 (56%) resultaron positivas para la prueba de ureasa y 23/39 (59%) para el cultivo, mostrando una especificidad del 86% y 88% respectivamente, de éstas técnicas empleadas, se obtuvo mayor especificidad en las primeras que por RCP, aún cuando la reacción en cadena de la polimerasa presenta mayor sensibilidad.

Esto ha sido reportado por otros autores, quienes confirman lo referido anteriormente. De esta forma Van Zwet y col., (1993), señalan que el cultivo microbiológico es la técnica de mayor especificidad para el aislamiento bacteriano. Con respecto a la mayor sensibilidad de la RCP, esta ha sido señalada por autores tales como Valentine y col., (1991); Chuanfu y col., (1996).

Por otra parte, los investigadores Roosendall y col., en 1994 establecieron como desventaja de la RCP el riesgo de obtener falsos positivos, lo cual puede ser debido al ADN residual de la bacteria presente en el material endoscópico o por la contaminación durante el procesamiento de la muestra en el laboratorio. Sin embargo, recientemente se ha desarrollado un método de hibridación en placa que permite evaluar el producto amplificado y detectar de forma cuantitativa la positividad de la infección, aumentando así la especificidad de la RCP. (Lage y col., 1996). (Citados por Mastromatteo, P. 2000).

Cabe señalar, que *H. pylori* durante el proceso de colonización encuentra en el microambiente gástrico las condiciones ideales para su sobrevivencia y proliferación, las cuales son facilitadas por la presencia de la barrera de mucus que rodea al epitelio gástrico, cuya función principal consiste en impedir que se produzca el contacto de las paredes gástricas con el ácido clorhídrico. Sin embargo, esta barrera es degradada por la bacteria dada su migración hacia zonas intercelulares, lugar en el cual lleva a cabo su crecimiento y proliferación condicionando de esta forma la producción de metabolitos tóxicos, así como la activación de la respuesta inflamatoria por parte del hospedador, todos estos eventos generan daños

ultraestructurales en el tejido gástrico pasando a ser un microambiente desfavorable para el propio organismo, limitando así su crecimiento y proliferación, lo cual podría explicar la baja prevalencia de la infección en etapas como gastritis crónica activa y cáncer gástrico, observándose en algunos casos la ausencia total del microorganismo en pacientes con gastritis crónica atrófica acompañada de metaplasia intestinal. (Kohli y col., 1994). (Citado por Mastromatteo, P. 2000).

La colonización de la mucosa gástrica por parte de las bacterias Gram negativas conlleva a una respuesta inmune generalizada que induce anticuerpos específicos locales y sistémicos.

La inmunidad determinada por anticuerpos en la mucosa, como respuesta inmunológica a la presencia de estas bacterias, no sólo se encuentra restringida a la producción de inmunoglobulinas (IgA), sino también a otras inmunoglobulinas que tienen un papel importante en el sistema inmunológico.

Por estas razones antes expuestas en la presente investigación se evaluó la respuesta inmunológica humoral anti-*H. pylori* en un

grupo de pacientes con enfermedades de las vías digestivas superiores.

Nuestros resultados demostraron que los títulos de IgA anti-*H. pylori* en suero fueron elevados en 37/39 (95%) de los pacientes, demostrando un 95% de especificidad para esta prueba. De estos pacientes con anticuerpos IgA anti-*H. pylori*, 21 (54%) resultaron positivos en la detección de *H. pylori* mediante la prueba de ureasa directa, 23 (59%) en cultivo microbiológico y 23 (59%) por la reacción en cadena de la polimerasa. Es importante destacar que en esta investigación, de los pacientes controles 14/20 (70%) resultaron positivos para IgA anti-*H. pylori* en suero.

Con relación a los títulos de IgG anti-*H. pylori* en suero también fueron elevados en 34/39 (87%) de los pacientes, demostrando un 87% de especificidad para esta prueba. De estos pacientes con anticuerpos IgG anti-*H. pylori*, 21 (54%) resultaron positivos en la detección de *H. pylori* mediante la prueba de ureasa directa, 23 (59%) en cultivo microbiológico y 22 (56%) por la reacción en cadena de la polimerasa. Es importante destacar que de los pacientes controles 7/20 (35%) resultaron positivos para IgG anti-*H. pylori* en suero.

El total de pacientes que presentaron títulos elevados tanto de IgA como de IgG anti-*H. pylori* en suero fueron 34/39 (87%), mientras que de los controles fueron 7/20 (35%).

La positividad de los controles se podría explicar basados en lo expuesto por Campuzano y col., en 1997, quienes plantearon que a pesar de haber muchos estudios que tratan de evidenciar la presencia de *H. pylori* en personas sintomáticas en las que está indicada la gastroduodenoscopia, las investigaciones en personas asintomáticas proporcionan un cuadro más completo de prevalencia de la infección, ya que *H. pylori* se aísla frecuentemente de personas asintomáticas que se consideran normales o de individuos que no tienen síntomas relacionados con dispepsia o úlcera. Así mismo, Campuzano y col., coinciden con Dodey y col., (1988) quienes plantearon que las personas asintomáticas menores de 30 años de edad se encuentran infectadas por *H. pylori* en un 20%, podemos destacar que la edad de los pacientes controles de esta investigación oscilaba entre los 20 y 30 años de edad.

En cuanto a los resultados obtenidos de IgA e IgG séricas en el grupo de pacientes de esta investigación, resultados similares

obtuvieron Granberg y col., en 1993 quienes realizaron un estudio para evaluar la calidad del ensayo inmunoenzimático (EIA) (Kit Pyloriset; Orion Diagnóstica). Tomaron un total de 195 pacientes, obteniendo que de los 104 pacientes *H. pylori* y gastritis positivos, 84 (81%) presentaron anticuerpos IgA anti-*H. pylori* y 97 (93%) presentaron anticuerpos IgG anti-*H. pylori*, mientras que en nuestros resultados, aún siendo elevados los títulos de IgA e IgG, fueron contrarios, ya que hubo mayor número de pacientes con anticuerpos IgA anti-*H. pylori* que con anticuerpos IgG. De los pacientes *H. pylori* negativos y sin gastritis que en total fueron 46 (24%), 3 (6%) fueron positivos para IgA y 2 (4%) para IgG. La sensibilidad y especificidad para el Pyloriset EIA-A fue de 80% y 89%, mientras que para el EIA-G fue de 92% y 84% respectivamente.

Igualmente, Luzzza y col., en 1995, realizaron un estudio en el cual tomaron saliva y suero de 152 pacientes, los cuales fueron examinados para determinar la IgG e IgA mediante un ELISA casero, a todos los pacientes se les realizó endoscopia con biopsia y 131 pacientes (86%) resultaron positivos para *H. pylori* en la histología. Los títulos de IgG e IgA en saliva y suero fueron significativamente altos. La sensibilidad y especificidad para la IgG en suero fue de 97% y 91%, y para la IgA fue de 80% y 52% respectivamente.

También Luzza y col., en este mismo año, utilizaron un ELISA para determinar anticuerpos específicos IgG e IgA en suero de pacientes infectados por *H. pylori*. Tomaron un total de 107 pacientes, los cuales fueron sometidos a endoscopia superior. Con relación a los títulos de IgG anti-*H. pylori* fueron más altos que los de IgA específica en suero, al contrario de nuestros resultados donde como fue mencionado anteriormente hubo mayor número de pacientes con anticuerpos IgA anti-*H. pylori* que con anticuerpos IgG anti-*H. pylori*.

Por su parte Veenendaal y col., (1995) realizaron un estudio para investigar el valor diagnóstico de los anticuerpos IgA e IgG a nivel local y sistémico mediante un ELISA, en un grupo de 209 pacientes con dispepsia severa, referidos para endoscopia gastrointestinal superior. El cultivo positivo o la identificación histológica de *H. pylori* en las muestras gástricas o ambos fueron utilizados para confirmar la infección. De 209 pacientes, resultaron positivos 137 a la infección por *H. pylori*, el valor diagnóstico de anticuerpos sistémicos IgA e IgG anti-*H. pylori* fue confirmado. La sensibilidad y especificidad de la IgA sistémica fue de 76.6% y 94.4% respectivamente, mientras que la de la IgG fue de 97.1% y 98.6% respectivamente.

Gosciniak, en 1997, también determinó niveles de IgA e IgG en suero, saliva y jugo gástrico, mediante un ELISA, obteniendo con relación al suero títulos elevados en los pacientes ***H. pylori*** positivos, aunque en sus resultados los títulos de IgG fueron mayores que los de IgA. La sensibilidad y especificidad fue de 98% y 88% para IgG y de 79% y 82% para IgA respectivamente.

En 1998 Luzza y col., evaluaron los niveles de IgA e IgG anti-***H. pylori*** mediante un ensayo inmunoenzimático y los relacionaron con el grado de gastritis de 152 pacientes, de los cuales 131 (86%) resultaron positivos para ***H. pylori***, los títulos tanto de IgA como de IgG fueron altos en estos pacientes, similar a lo obtenido en esta investigación.

Oksanen y col., en el año 2001 publicaron los resultados de un estudio donde al igual que en esta investigación se evaluaron los títulos de IgA e IgG por el ensayo inmunoenzimático comercial EIA, demostrando que la sensibilidad y especificidad del EIA al compararlo con el estudio histopatológico fue de 100% y 96%-97% respectivamente.

La detección de anticuerpos contra *H. pylori* es un método confiable para demostrar la infección actual o pasada por esta bacteria. En vista de que la infección es a menudo de por vida, una prueba positiva generalmente significa infección activa, sin embargo como las pruebas que determinan los anticuerpos contra *H. pylori* permanecen positivas por mucho tiempo después del tratamiento exitoso para erradicar la infección, un resultado positivo no puede asegurar si el paciente ha sido adecuadamente tratado y tuvo erradicación de la infección. La determinación cuantitativa de los títulos de anticuerpos puede ser de gran utilidad en establecer la eliminación de la infección y es el método de elección en las pesquisas de pacientes infectados por la bacteria en la población general (Piñero y col., 2000).

En cuanto a la determinación de la IgA secretora fueron utilizados dos ensayos diferentes con el fin de comparar su sensibilidad y especificidad. El primero de ellos consistió en una prueba casera diseñada por el Laboratorio de Histoquímica del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas, el antígeno empleado en esta prueba es preparado en el laboratorio y los anti-anticuerpos pertenecen a la casa comercial Sigma.

En el segundo ensayo se utilizó sólo el antígeno preparado comercialmente del Kit Pyloriset, los reactivos restantes fueron los mismos usados en el primer ensayo, es decir, la diferencia fundamental consistió en el tipo de antígeno utilizado.

Al respecto se pudo observar diferencias importantes en los resultados encontrados para cada ensayo, en el caso de la prueba casera, de las muestras de saliva de los pacientes evaluados 24/39 (62%) fueron positivas para anticuerpos IgAs anti-*H. pylori*, de estos pacientes 11 (28%) resultaron positivos a la prueba de ureasa, 12 (31%) al cultivo y 17 (44%) a la reacción en cadena de la polimerasa, mientras que con el kit comercial (Pyloriset EIA-A; Orion Diagnóstica) se obtuvo que 36/39 (92%) de las muestras de saliva de los pacientes resultaron positivas para anticuerpos IgAs anti-*H. pylori*, de estos pacientes 21 (54%) fueron ureasa positiva, 21 (54%) positivos al cultivo y 22 (56%) a la reacción en cadena de la polimerasa.

Posiblemente este porcentaje tan elevado de positividad 36/39 (92%) pueda representar la aparición de falsos positivos, por lo que esta prueba requiere de mayores estudios para su validación. Es necesario destacar que esta prueba fue incluida en esta investigación

con fines experimentales, tratando de proponer nuevos ensayos diagnósticos para la detección de *H. pylori*. Sin embargo, los resultados demuestran que no es aconsejable su uso dado los elevados niveles de positividad reportados.

Debemos destacar que en la literatura consultada no se encontraron estudios similares con los cuales comparar los resultados obtenidos en esta investigación, por lo cual es aconsejable continuar con las investigaciones para de una vez establecer el papel que juega la saliva como medio para evaluar los anticuerpos IgAs anti- *H. pylori* de una manera simple, sencilla y no invasiva, lo cual nos permitiría confirmar el papel del sistema inmune secretor de las mucosas en la infección por esta bacteria.

Se han realizado estudios que demuestran que el sistema inmune secretor de las mucosas esta involucrado en la defensa del organismo contra esta bacteria, así, Wirth y col., en 1994, plantearon que una respuesta de IgAs en la mucosa gástrica anti-*H. pylori* puede suprimir el crecimiento de la bacteria sin la erradicación de la infección. Citado por Bogstedt, y col., 1996.

También modelos animales han demostrado que es posible erradicar la infección por ***H. pylori*** en la mucosa gástrica mediante la administración bucal de anticuerpos monoclonales (Czinn y col., 1993) o policlonales (Cordle y col., 1991) contra la bacteria. Citados por Bogstedt, y col., 1996.

Ikewaki y col., 2000 coinciden con estos autores al concluir en su estudio realizado en ratones que la terapéutica de vacunación oral induce a una respuesta inmune en la mucosa suficiente como para erradicar a largo plazo la infección con ***H. pylori***. También Bogstedt y col., 1996, sustentan que el incremento de la concentración local de anticuerpos específicos alcanzado a través de la administración oral de anticuerpos anti- ***H. pylori*** puede ser utilizada como futura terapia para prevenir la adhesión de la bacteria a las células epiteliales, aumentar la eliminación de la bacteria o interferir con otros factores asociados con la patogenicidad del microorganismo.

En el año 1996, Hayashi y col., realizaron un estudio para detectar IgAs anti- ***H. pylori*** en jugo gástrico y de IgA en suero, utilizando el ensayo inmunoenzimático ACELISAs, los resultados de este estudio sugieren que los anticuerpos IgAs son principalmente

producidos por la respuesta inmune local en la mucosa gástrica, lo cual puede sustentar el porque fue algo difícil determinar la IgAs en saliva en esta investigación, además que la prueba casera era una prueba que estaba en proceso de estandarización. Es importante destacar que en un estudio realizado por Ishihara y col., (2001), plantearon la antigenicidad compartida entre *Campylobacter rectus* y ***Helicobacter pylori***, y que esto puede afectar el diagnóstico serológico de la infección por ***H. pylori*** especialmente cuando la saliva es utilizada.

Sin embargo, en ambas pruebas utilizadas para IgAs hubo un elevado porcentaje de positividad para el grupo control, 10/20 (50%) de los pacientes presentaron anticuerpos IgAs anti- ***H. pylori*** en la prueba casera, mientras que con el kit comercial 17/20 (85%) resultaron positivas.

Estos resultados pueden reflejar la presencia de falsos positivos o contactos anteriores de este grupo de pacientes con la bacteria, que aún cuando no presentan sintomatología gástrica podrían reflejar un reto antigénico previo.

Como ha sido señalado, la tasa de adquisición de la infección ocurre a más temprana edad en países en vías de desarrollo que en países desarrollados, y aún cuando no todos esos pacientes desarrollan la infección, la incidencia de ***H. pylori*** es mucho mayor en este tipo de población, por lo que resulta lógico pensar que exista un porcentaje mayor de pacientes que sin sintomatología, presentan evidencias de infección por esta bacteria.

En Venezuela, Piñero y col., (2000), realizaron un estudio en niños sanos de una población rural y encontraron anticuerpos IgG contra ***H. pylori*** en el 66% de los pacientes menores de 10 años, lo cual corrobora lo planteado por otros autores (Morris y col., 1987; Klein y col., 1994) que afirman que existe una alta frecuencia de infección a temprana edad en países en desarrollo, colocándolos en un mayor riesgo de generar gastritis y poder desarrollar adenocarcinoma y/o linfoma gástrico.

Debemos destacar que los pacientes del grupo control eran estudiantes del 5to. año de odontología u odontólogos, y se ha referido la transmisión de este microorganismo persona a persona, ya sea por la vía oral-oral o fecal-oral, porque la bacteria se ha

encontrado tanto en la placa dental como en las heces. Honda y col., (2001) sustentan que los odontólogos son un grupo de alto riesgo para contraer la infección por *H. pylori* por la vía oral-oral, ya que en el estudio por ellos realizado todos los odontólogos mostraron títulos altos de IgG anti-*H. pylori*. Al contrario de lo planteado por Lin y col., (1998) quienes realizaron un estudio en un grupo de odontólogos, estudiantes de odontología y asistentes dentales, y observaron que la prevalencia de anticuerpos anti-*H. pylori* no mostraba un incremento significativo con los años de práctica o el tiempo de contacto con los pacientes, llegando a la conclusión de acuerdo con sus resultados que la infección por *H. pylori* en los profesionales dentales es poco común.

Se han relacionado otros aspectos odontológicos con la presencia del microorganismo en cavidad bucal, tales como el índice de caries dental, el uso de prótesis dentales, enfermedad periodontal y la higiene bucal.

A este respecto en nuestra investigación, se pudo evidenciar que los pacientes con anticuerpos IgA e IgG sérica e IgAs anti- *H. pylori*, presentaron elevados porcentajes de caries, aún cuando la

relación no fue estadísticamente significativa entre las variables IgA e IgG sérica y caries, mientras que sí hubo una relación estadísticamente significativa entre títulos elevados de IgAs y la presencia de esta lesión, mientras que en los controles con títulos elevados de IgA e IgG sérica e IgAs, el mayor porcentaje no presentaba caries. Aún cuando los resultados reportados por algunos autores como: Nguyen y col., (1993), Hardo y col., (1995), Madinier y col., (1997), Li y col., (1997) y Berroterán y col., (2000), señalan que no existe ninguna asociación entre la presencia de *H. pylori* y caries dental, en nuestra investigación se pudo demostrar una relación estadísticamente significativa entre los niveles de IgAs y caries dental. Una posible explicación para este resultado podría ser el hecho de que estos pacientes pudiesen tener una higiene bucal regular, lo que conllevó al establecimiento de la lesión cariosa. Unido a ello es posible sugerir que mayores acúmulos de placa dental podrían representar un foco permanente de estimulación antigénica. Si consideramos que *H. pylori* puede residir a este nivel, ya que ha sido propuesto que la placa dental podría representar un reservorio para la bacteria, el elevado título de IgAs observada en estos pacientes pudiese ser el resultado de estos continuos depósitos de placa dental, que inicialmente constituyeron la causa de la lesión cariosa.

Con relación al uso de prótesis dental se pudo observar que el mayor porcentaje de los pacientes con elevados niveles de anticuerpos IgA e IgG sérica e IgAs anti- *H. pylori*, no utilizaban prótesis dental, estadísticamente la relación fue significativa entre las variables, por lo que en nuestra investigación no se puede establecer una asociación entre el uso de prótesis y la frecuencia de la infección por *H. pylori* determinada por niveles de anticuerpos contra este microorganismo. Hardo y col., (1995), Li y col., (1997) y Lin y col., (1998), son de la misma opinión y refieren que no existe relación entre el uso de prótesis dental y el incremento en la incidencia de *H. pylori*.

Resultados contrarios fueron obtenidos por Berroterán y col., (2000), quien pudo evidenciar que los pacientes portadores de prótesis presentaron la bacteria en mayor proporción que aquellos que no eran portadores. Una posible explicación entre estas diferencias, radicaría en el tipo y número de pacientes evaluados en el presente trabajo y el reportado por otros autores. Al respecto, una recomendación sería ampliar el número de pacientes con prótesis dental a evaluar, lo que permitiría establecer mejor esta relación.

Referente a los índices gingivales y de higiene bucal, los controles con anticuerpos IgA e IgG sérica e IgAs anti- ***H. pylori***, presentaron en mayor porcentaje enfermedad periodontal leve y una higiene bucal buena, mientras que los pacientes presentaron en mayor porcentaje enfermedad periodontal moderada y una higiene bucal regular, observándose una relación significativa estadísticamente entre las variables IgA e IgG sérica con los índices gingivales y de higiene bucal, mientras que se observó una relación significativa estadísticamente entre las variables IgAs con los índices gingivales y de higiene bucal. Estos resultados estarían relacionados con los reportados para caries dental, donde fue posible evidenciar una relación significativa entre los pacientes con higiene bucal regular y elevados títulos de IgAs. Resultados contrarios son sustentados por las investigaciones de Nguyen y col., (1993), Hardo y col., (1995), Madinier y col., (1997), Li y col., (1997) y Berroterán y col., (2000), quienes señalan que no existe ninguna asociación entre la presencia de ***H. pylori***, la enfermedad periodontal y la higiene bucal. Se han realizado estudios que reportan la eficacia del uso de enjuagues bucales como el Listerine en la eliminación de la presencia de ciertos microorganismos como *Staphilococos aureus*, *Streptococos pyogenes*, ***Helicobacter pylori***, *Candida albicans*, *Streptococos mutans* entre otros. (Kasuga y col., 1997; Okuda y col., 1998), lo cual sugiere el papel que puede cumplir el odontólogo en la indicación del uso de

enjuagues bucales y profilaxis dentales, como tratamientos coadyuvantes de las terapias convencionales contra este microorganismo.

Relacionando aspectos como el tipo de alimentación de los pacientes de este estudio, se pudo observar que aquellos que consumían alimentos preparados en su casa, exhibieron un mayor porcentaje de positividad para anticuerpos anti-***H.pylori***. Este resultado es similar al obtenido por Berroterán y col., (2000), quien obtuvo alta positividad de infección por ***H. pylori*** en los pacientes que ingerían comida en su casa. Posiblemente esto se deba al tipo de alimento ingerido, ya que por lo general los venezolanos que comen en sus casas tienen una dieta rica en vegetales crudos, los cuales en ocasiones no son bien lavados o pudieran estar lavados con aguas contaminadas por ***H. pylori***.

Este aspecto estaría apoyado en los hallazgos de Hopkins y col., (1993) y Goodman y col., (1996), quienes han reportado un aumento en la incidencia de ***H. pylori*** en aquellos pacientes que ingerían vegetales crudos. Aunque en un estudio reportado por

Shinchi y col., en 1997, plantean que el consumo de vegetales frescos puede proteger contra la infección por *H. pylori*.

Con respecto a la relación entre el agua de consumo y la prevalencia de *H. pylori*, en esta investigación se encontró que el mayor porcentaje de pacientes ingerían agua filtrada. Klein y col., (1991) demostraron que el agua de consumo puede ser una vía importante de adquisición del microorganismo en países en vías de desarrollo, especialmente en aquellos casos en los que las condiciones sanitarias la hacen vulnerable a ser contaminada.

También en esta investigación se relacionaron los elevados títulos de anticuerpos IgA e IgG sérica e IgAs anti- *H. pylori*, con los hábitos tabáquicos y la ingesta de alcohol, encontrándose que la mayoría de los pacientes no presentaban ninguno de estos hábitos, mientras que los controles si fumaban y consumían alcohol frecuentemente. Resultados similares han sido reportados por Hardo y col., (1995) y Madinier y col., (1997). A diferencia de estas observaciones, recientemente, Rajashekar y col., (2000), reportaron que la infección por esta bacteria es más común en pacientes fumadores que no fumadores. En estudios recientes se ha planteado

que posiblemente la ingesta moderada de alcohol pueden facilitar la eliminación de la infección por *H. pylori* (Brenner y col., 1999), igualmente Stemer, en el 2002, plantea que el vino tinto posee un efecto anti-*H. pylori*, a pesar que el consumo de alcohol puede tener un rol en el desarrollo de ciertos tumores en el tracto gastrointestinal.

En cuanto a las vías de transmisión, se ha planteado la transmisión persona a persona como una de las que más importancia ha tomado en los últimos tiempos, se ha hecho referencia a la posible contaminación entre cónyuges (Feldman y col., 1998) a pesar que en nuestra investigación no se estableció una relación entre ellos, ya que el mayor porcentaje de pacientes con anticuerpos IgA e IgG sérica e IgAs anti- *H. pylori*, sus parejas no presentaban patologías de las vías digestivas superiores o molestias a nivel gástrico.

CONCLUSIONES

- Los títulos de Inmunoglobulina A secretora en saliva anti-*H. pylori* en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores fueron elevados en 24/39 (62%) de los pacientes mediante el ELISA casero.
- Los títulos de Inmunoglobulina A sérica anti-*H. pylori* en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores fueron elevados en 37/39 (95%) de los pacientes.
- Los títulos de Inmunoglobulina G sérica anti-*H. pylori* en pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores fueron elevados en 34/39 (87%) de los pacientes.
- Pacientes asintomáticos pueden presentar títulos elevados de anticuerpos anti- *H. pylori*.
- El ensayo inmunoenzimático ELISA (Kit Pyloriset EIA-A e EIA-G; Orion Diagnóstica) y la prueba de ELISA casera diseñada en el Laboratorio de Histoquímica del Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas (Caracas-Venezuela), son métodos de diagnóstico no invasivos, sencillos y de fácil manejo para la detección de

anticuerpos anti-*H. pylori* en Suero y Saliva de pacientes con Enfermedades de las Vías Digestivas Superiores.

- Los pacientes con elevados títulos de IgA e IgG séricas, y de IgAs anti-*H. pylori* en saliva, presentaron elevados porcentajes de caries dental, enfermedad periodontal moderada e higiene bucal regular. Mientras que los controles no presentaron elevados porcentajes de caries dental, enfermedad periodontal leve e higiene bucal buena.
- Los pacientes y controles con elevados títulos de IgA e IgG séricas, y de IgAs anti-*H. pylori* en saliva, en mayor porcentaje no utilizaban prótesis dental.
- Los pacientes con elevados títulos de IgA e IgG séricas, y de IgAs anti-*H. pylori* en saliva, en mayor porcentaje no presentaban hábitos tabáquicos o de consumo de alcohol, mientras que los controles si presentaban estos hábitos.
- De los pacientes y controles con elevados títulos de IgA e IgG séricas, y de IgAs anti-*H. pylori* en saliva, el mayor porcentaje ingería comida elaborada en su casa, el tipo de agua de consumo era filtrada y las parejas de estos pacientes no presentaban enfermedad gástrica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón C.T. Aspectos patogénicos de la infección por ***Helicobacter pylori***. En López-Brea, M. ***Helicobacter pylori*** Microbiología, Clínica y Tratamiento (pp117-137). España. Ediciones Mosby/Doyma Libros.(1995).
- Atherton, J. The clinical relevance of strain types of ***Helicobacter pylori***. ***Gut***. (1997) 40:701-703.
- Banatvala, N., López C.R., Owen R., Abdi Y., Davies G., Hardie J., Feldamn R. ***Helicobacter pylori*** in dental plaque. ***Lancet***. (1993) 341:380.
- Bernander, S; Dalen, J; Gastrin, B; Hedenborg, L; Lamke, L; Ohrn, R. Absence of ***Helicobacter pylori*** en dental plaques in ***Helicobacter pylori*** positive dyspeptic patients. ***Eur J Clin Microbiol Infect Dis***. (1993) 12: 282-285.
- Berroterán, A. Detección de ***Helicobacter pylori*** en muestras de saliva y placa dental de un grupo de pacientes con enfermedad de las vías digestivas superiores. ***Tesis de Maestría en Medicina Estomatológica***. (1999).

- Berroterán, A., Perrone, M., Correnti, M., Cavazza, M., Tombazzi, C., Lecuna, V., Goncalvez, R. Prevalencia de ***Helicobacter pylori*** en el estómago y placa dental de una muestra de la población en Venezuela. ***Acta Odontológica Venezolana***. (2000). Vol.39 No. 2; 35-42.

- Berstad, K y A. Berstad. ***Helicobacter pylori*** infection in peptic ulcer disease. ***Scand. J. Gastroenterol.*** (1993) 28:561-567.

- Blanco V, R.T. ***Helicobacter pylori*** Nuevo enfoque diagnostico y terapéutico. ***Suplemento Médico***. p. 6. Octubre 1998.

- Bogstedt, A., Nava, S., Wadstrom, T., Hammarstrom, L. ***Helicobacter pylori*** infections in IgA deficiency: lack of role for the secretory immune system. ***Clin Exp Immunol.*** 105:202-204. 1996.

- Brenner, H., Berg, G., Lappus, N., Kliebsch, U., Bode, G., Boening, H. Alcohol consumption and ***Helicobacter pylori*** infection: results from the German National Health and Nutrition Survey. ***Epidemiology***. 1999. May; 10 (3):214-8.

- Buck, G.E.: "***Campylobacter pylori*** and Gastroduodenal disease". ***Clinical Microbiology Reviews***. 3(1):1-12,1990.

- Campuzano, S.E.; Lombana, Y.; Arguello E.; Herrera, M. "Aislamiento de ***Helicobacter pylori*** en placa dental". ***Tribuna Médica***. 86(1):27-38,1997.

- Campuzano, S.E.; Lombana, I.; Arguello E.; Herrera, M. "Detección de anticuerpos IgG contra ***Helicobacter pylori*** en niños de 1 a 10 años". ***Tribuna Médica***. 86(2):61-70,1997.

- Capote, G.L. Aspectos Epidemiológicos del cáncer en Venezuela. ***División de Oncología del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social***. (1996).

- Carmona, O. Hans C. J. Gram Médico que marcó época con su famoso método de coloración. Folleto de Laboratorio Bristol. (1987).

- Chacón E. P., Correnti, M., Salma, N., Serrano, N., Piñero R., Cavazza, M.E., Urrestarazu, M.I. Ensayo Inmunoenzimático para el serodiagnóstico de la infección de ***Helicobacter pylori***. ***GEN***. (1995) Vol. 49, N° 3:208-211.

- Christie J., McNulty, C., Shepherd, N., Valori, R. Is saliva serology useful for diagnosis of ***Helicobacter pylori***? ***Gut***. (1996) Vol. 39, 27-30.

• Chuanfu, Li., Tuanzhu, Ha., Donald, A., Fergusson, Jr., Chi, D., Rongguo, Z., Nikihil, R., Patel, M., Guha, K., Eapen, T. "A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva and feces." ***Digestive Diseases and Sciences***. Vol 41. No 11. 2142-2149. 1996

• Clayton C.L.; Klenthous H.; Morgan D.; Puckey L.; Tabaqchali S.: "Rapid Fingerprinting of *Helicobacter pylori* by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis". ***Journal of Clinical Microbiology***. 31 (6):1420-1425. 1993

• Crabtree, J.E.; Wyatt, J.I.; Sobala, G.M.; Millu, G.; Tompkins, D.S.; Primrose, J.N.; Morgan, A.G: "Systemic and mucosal humoral responses to *Helicobacter pylori* in gastric cancer". ***Gut*** 34:1339-1343. 1993.

• Correnti, M.; Urrestarazu, M.; Serrano, N.; Piñero, R.; Cavazza, M.: "Estudio de la respuesta inmune humoral en pacientes con úlcera duodenal infectados con *H. pylori*". ***Boletín de la Soc. Vzlna. de Micro.*** 13. N 1 y 2. 1993.

• De Pascalis R.; Del Pezzo M.; Nardone G.; Budillon G.; Lavitola A.: "Performance characteristics of enzyme-linked immunosorbent assay for

determining salivary immunoglobulin G response to *Helicobacter pylori*".
Journal of Clinical Microbiology. Feb. 430-432.1999.

- Eaton, K; Morgan, D; Krakowka, S.: "***Campylobacter pylori*** virulence factors in Gnotobiotic Piglets". ***Infection and Immunity***. 57(4):1119-1125. 1989.

- Fallone C.; Elizov M.; Cleland P.; Thompson J.; Wild G.; Lough J.; Faria J.; Barkun A.: "Detection of ***Helicobacter pylori*** infection by saliva IgG testing". ***American Journal of Gastroenterology***. 91(6):1145-1149. 1996.

- Farthing M. J. ***Helicobacter pylori*** infection: an overview. ***British Medical Bulletin***. (1998) 54 (Nº1):1-6.

- Feldman, R.A.; James A.; Eccersley P.; Hardie J.: Epidemiology of ***Helicobacter pylori***: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio. ***British Medical Bulletin***. 54 (Nº1):39-53. 1998.

- Ferguson, D., Chuanfu, L., Patel, N., Mayberry, W., Thomas, E. Isolation of ***Helicobacter pylori*** from saliva. ***J. Clin Microbiol.*** (1993) 31:2802-2804.

- Figueroa, G., Troncoso, M., Toledo, M., Acuna, R. Application of serology to confirm the eradication of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer patients. **Rev. Med. Chil.** (2001) 128 (10):1119-1126.

- Gartner L. y J. Hiatt. **Histología. Texto y Atlas.** Mc. Graw-Hill Interamericana, México, (1997) 331-357.

- Graham, D., Adam, E., Reddy, G.T., Agarwal, J., Agarwal, R., Evans, D. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India. **Digestive diseases and Sciences.** (1991) 36: 1084-1088.

- Graham, D., Lew, G., Malaty, H., Evans, D., Klein, P., Alper, L., Genta, R. Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. **Gastroenterology.** (1992) 102: 493-496.

- Graham, D. y M. Guo. *Helicobacter pylori*: current status. **Gastroenterology.** (1993) 105: 279-282.

- Goodman, K.J.; Correa, P.; Tengana, H.J.; Ramirez, H.; DeLany, J.P.; Guerrero, O.; Lopez, M.; Collazos, T: "*Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a populations-based study of transmission pathways". **American Journal Epidemiology.** 144(N 3): 290-299. 1996.

- Gosciniak, G. IgG and IgA Antibodies in *Helicobacter pylori* Infections. **Zentralbl-Bakteriol.**(1997) Nov; 286(4):494-502.

- Hammer, M., Tyszkiewicz, T., Wadstrom, T., O' Toole, P. Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. **J Clin Microbiol.** (1992) 30:54-58.

- Hardo P.G; Tugnait A.; Hassan F.; Lynch D.; West A.; Mapstone N.; Quirke P.; Chalmers D.; Kowolik M.; Axon A.: "*Helicobacter pylori* infection and dental care". **Gut.** 37:44-46.1995

- Hirsechl, A.; Bransdatter, G.; Dragosis, B., Henstschel, E.; Kundi, M.; Rotter, M.: "Kinetic of specific IgG antibodies for monitoring the effect of anti-*Helicobacter pylori* chemotherapy". **J. Infect. Dis.** 168:763-766.1993.

- Honda, K., Ohkusa, T., Takashimizu, I., Watanabe, M. Amagasa, M. High risk of *Helicobacter pylori* infection in young Japanese dentists. **J. Gastroenterol-Hepatol.** 2001. Aug; 16(8):862-5.

- Hopkins, R., Vial, P.; Ferreccio, C.; Ovalle J.; Prado P.; Sotomayor V.; Russell R.; Wasserman S.; Morris G.: Seroprevalence of *Helicobacter*

pylori in Chile: Vegetables May Serves as One Route of Transmission.
Journal of Infectious Diseases. 168:222-226. 1993.

- Hulten, K.; Han, S.W.; Enroth, H.; Klein,P.D.; Opekun, A.R.; Gilman, R.H.; Evans, D.G.; Engstrand, L.; Grahan, D.Y.; El Zaatari, F.S.K.: “***Helicobacter pylori*** in the drinking water in Peru”. *Gastroenterology*, 110:1031-1035, 1996.

- Hveem K., Kruger, O., Asberg A. The prevalence of ***Helicobacter pylori*** infections in a general population, its relationship to global health and to cardiovascular risk factors. ***Gastroenterology***. 116 (4):A 66. 1999.

- Ikewaki, J., Nishizono, A.,Goto, T., Fujioka, T., Mifune, K. Terapeutic oral vaccination induces mucosal immune response sufficient to eliminate long-term ***Helicobacter pylori*** infection. ***Microbiol-Immunol***. 2000; 44(1):29-39.

- Ishihara, K., Miura, T., Ebihara, Y., Hirayama, T., Kamiya, S., Okuda, K. Shared antigenicity between ***Helicobacter pylori*** and *Campylobacter rectus* strains. ***FEMS-Microbiol-Lett***. Apr.1; 197(1):23-7.

- Jensen, A., Anderson, L., Wachmann, C. Evaluation of eighth commercial kits for *Helicobacter pylori* IgG antibody election APM IS. 110: 795-801. 1993.

- Jones, D.M., Eldrige, J., Fox, A. J., Sethi P., Whorwell P. J. Antibody to the gastric *Campylobacter*-like organism, clinical correlations and distribution in the normal population. *J Med Microbiol.* (1986) Vol. 22:57-62.

- Kasuga, Y., Ikenoya, H., Okuda, K. Bactericidal effects of mouth rinses on oral bacteria. *Bull-Tokyo-Dent-Coll.* Nov; 38(4):297-302. 1997.

- Klein, P., Gilman, R., Graham D., Gaillour, A., Opekun, Smith E. Water source as a risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet.* 1991; 337/8756; 1503-1506.

- Krajden, S., Fuksa M., Anderson, J., Kempston, J., Boccia, A., Petrea, C., Babida, C., Karmali, M., Penner, J.L. Examination of human stomach biopsies, saliva and dental plaque for *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* (1989) 27: 1397-1398.

- Kutukculer, N., Aydogdu, S., Caglayan, S., Yagci, R. Salivary and Gastric Fluid Secretory Immunoglobulin A and Free Secretory Component Concentrations in Children with ***Helicobacter pylori***-positive Gastritis. ***Journal of Tropical Pediatrics***. 178-180. Vol 44. June 1998.

- Lambert, J.R; Lin S-K; Sievert, W; Nicholson, L; Schembri, M.; Guest, C.: High prevalence of ***Helicobacter pylori*** antibodies in an Institutionalized Population: Evidence for Person-to-Person Transmission. ***American Journal of Gastroenterology***. Vol 90, No 12, 1995.

- Leimola-Virtanen, R; Happonen R.; Syrjanen S.: "Cytomegalovirus (CMV) and ***Helicobacter pylori*** (HP) found in oral mucosal ulcers". ***Journal of Oral Pathology and Medicine***. 24: 14-17.1995.

- Li, C., Musich, P., Ha, T., Ferguson, D., Patel, N., Chi, D., Thomas, E. High prevalence of ***Helicobacter pylori*** in saliva demonstrated by a novel PCR assay. ***J Clin Pathol***. 48: 662-666. 1995.

- Li, Ch.; Ha, T.; Ferguson, D.; Chi, D.; Zhao, R.; Patel N.R; Krishnaswamy G.; Thomas E.: "A newly developed PCR assay of ***Helicobacter pylori*** in gastric biopsy, saliva and feces". ***Digestive Diseases and Sciences***. 44 (11): 2142-2149. 1996.

- Lin, S.H.; Lambert, J.R.; Schembri, M.A.; Nicholson, L.; Korman, M.G.:
“***Helicobacter pylori*** prevalence in endoscopy and medical staff”. ***Journal of Gastroenterology and Hepatology***. 6:319-324, 1994.

- Lin, S.K.; Lambert, J.R.; Schembri, M.A.; Nicholson, L.; Johnson, I.H.:
“The prevalence of ***Helicobacter pylori*** in practising dental staff and dental students”. ***Australian Dental Journal***. 43:(1); 35-39.1998.

- López-Brea, M. y cols. ***Helicobacter pylori***. Microbiología, Clínica y Tratamiento. Mosby / Doyma Libros, España. (1995).

- Lopez-Brea, M.; Alarcon, T.; Megraud, F.: “Diagnosis of ***Helicobacter pylori*** infection”. ***Current opinion in Gastroenterology***, 13:13-19, 1997.

- Luzzi, F.; Imeneo, M.; Maletta, M.; Monteleone, G.; Doldo, P.; Biancone, L.; Pallone, F.: “Isotypic analysis of specific antibody response in serum, saliva, gastric and rectal homogenates of ***Helicobacter pylori***-infected patients”. ***FEMS Immunology and Medical Microbiology***. 10:285-288, 1995.

- Luzzi, F.; Maletta, M.; Imeneo, M.; Doldo, P.; Marasco, R.; Biancone, L.; Pallone, F.: “Salivary specific IgG is a sensitive indicator of the humoral

immune response to *Helicobacter pylori*". *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 10:281-284, 1995.

- Luzzza, F.; Maletta, M.; Imeneo, M.; Marcheggiano, A.; Iannoni, C.; Biancone, L.; Pallone, F.: "Salivary-Specific Immunoglobulin G in the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Dyspeptic Patients". *American Journal of Gastroenterology*. Vol 90, No 10,1820-1823, 1995.

- Luzzza, F.; Maletta, M.; Imeneo, M.; Marcheggiano, A.; Biancone, L.; Pallone, F.: "Mucosal and systemic antibody levels against *Helicobacter pylori* do not parallel gastric inflammatory changes". *Ital-J-Gastroenterol-Hepatol*. Feb; 30 (1):36-9, 1998.

- Madinier, I.M.; Fosse, T.M.; Monteil, R.A.: Oral carriage of *Helicobacter pylori* a review". *Journal of Periodontology*. 68:2-6. 1997.

- Majmudar, P., Shah, S.M., Dhunjibhoy, K.R., Desai, H.G. Isolation of *Helicobacter pylori* from dental plaques in healthy volunteers. *Indian J Gastroenterol*. (1990) 9: 271-272.

- Marshall, B., Armstrong, A., Graham, T., Norker, N., Wee, S. Antibacterial action of bismuth in the relation to campylobacter colonization and gastritis. ***Digestion***. (1987) 37:suppl 2, 16-30.

- Mastromatteo, P. Evaluación de la infección por ***H. pylori*** en patologías de las vías digestivas superiores y su asociación con los oncogenes N-ras, K-ras y el gen supresor de tumor p53. ***Tesis de Grado***. 2000.

- Megrand, F., Brarsens, M., Denis, F., Belbouri, A., Hoo, D.,: Seroepidemiology of campylobacter pylori infection in various population. ***J. Clin Microbiol.*** 27:1870-3. 1989.

- Mendall, M.A.; Northfield, T.C.: Transmission of ***Helicobacter pylori*** infection. ***Gut***. 37:1-3. 1995.

- Menegatti, M., Figura, N., Farinelli, S., Landi, F.; Acciardi, C.; Ricci, C., Holton, J., Gatta, L., Crosatti, M., Polacci, R., Miglioli, M., Vaira, D.: "***Helicobacter pylori*** seroconversion in asymptomatic blood donors: a five-year follow-up". ***Dig.Dis.Sci.*** Aug, 45(8): 1653-9. 2000.

- Mravak-Stipetic, M., Gall-Troselj, K., Lukac, J., Kusic, Z.; Pavelic K.; Pavelic J.: "Detection of *Helicobacter pylori* in various oral lesions by nested polymerase chain reaction (PCR)". **Journal of Oral Pathology and Medicine**. 27: 1-3. 1998.

- Nguyen, A. M., Engstrand, L., Genta, R.M., Graham, D.Y., El-Zaatari, F. A. Detection of *Helicobacter pylori* in dental plaque by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. **J Clin Microbiol**. (1993) 31: 783-785.

- Oksanen, A., Sipponen, p., Sarna, S., Rautelin, H., Serologic diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in outpatients aged 45 years or less. **Eur-J-Clin-Microbiol-Infect-Dis**. Aug; 20(8):554-7. 2001.

- Okuda, K., Adachi, M., Iijima, K. The efficacy of antimicrobial mouth rinses in oral health care. **Bull-Tokyo-Dent-Coll**. Feb; 39(1): 7-14. 1998

- Olsson, K., Wadstrom, T., Tyszkiewicsa, T. *H. pylori* in dental plaques. **Lancet**. (1993) 341:956-957.

- Paradisi, C. Infeccion gastrica por *Helicobacter pylori*. Riesgo tumoral?. **GEN**. (1994) vol 48. No. 3.172-178.

- Parsonnet, J., Friedman, G., Vandersteen, D., Chang, J., Vogelman, N., Orentreich, N., Sibley, R. ***Helicobacter pylori*** infection and the risk of gastric carcinoma. ***N Engl J Med.*** (1991) 325:1127-1131.
- Piñero, R. ***Helicobacter pylori.*** ***GEN.*** (1991) Vol. 45, No. 3, 225-230.
- Piñero, R., Plasencio, A., Avila, M., Urrestarazu, M., Serrano, N., Correnti, M., Cavazza, M. ***Helicobacter pylori*** en niños de “El Clavo”, una población rural venezolana. ***GEN.*** (2000) Vol. 54, No. 1, 12-17.
- Rajashekar, V., Bhasin, D., Ray, P., Vaiphei, K. ***Helicobacter pylori*** infection in chronic smokers with non ulcer dyspepsia. ***Trop-Gastroenterol.*** 2000; 21:71-72.
- Reilly, T.; Poxon, V.; Sanders, D.; Elliot, T.; Walt, R.: “Comparison of serum, salivary and rapid whole blood diagnostic test for ***Helicobacter pylori*** and their validation against endoscopy based test”. ***Gut.*** 40:454-458. 1997.
- Ricaurte, O.; Flejou, J.F.; Vissuzaine, C.; Goldfain, D.; Rotemberg, A.; Cadiot, G.; Potet, F.: “***Helicobacter pylori*** infection in patients with

Barret's esophagus: a prospective immunohistochemical study". **Journal Clinical Pathology**. 49:176-177. 1996.

- Rowland, M.; Drumm, B. Clinical significance of **Helicobacter** infection in children. **British Medical Bulletin**. (1998) 54 (Nº1):95-103.

- Roitt, I. **Inmunología. Fundamentos**. Editorial Médica Panamericana. Argentina. 9na. Edición. Capítulo 3, 8. 2000.

- Rugge, M., Di Mario, F., Cassaro, M., Baffa, R., Farinati, F., Rubio, J., Ninfo, V. Pathology of the gastric antrum and body associated with **Helicobacter pylori** infection in non ulcerous patients: is the bacterium a promoter of intestinal metaplasia?. **Histopathology**. Oxford. (1993) 22:9-15.

- Shamens, B., Kradjen, S., Fuksa, M., Babida, C., Penner. J.L. Evidence for the occurrence of the same strain of **Campylobacter pylori** in the stomach and dental plaque. **J Clin Microbiol**. (1989) 27:2849-2850.

- Shintani, K., Ishii, H., Imanishi, K., Kono, S. Relationship of cigarette smoking, alcohol use, and dietary habits with **Helicobacter pylori** infection in Japanese men. **Scand-J-Gastroenterol**. Jul; 32(7):651-5. 1997.

- Simor, A., Lin, E., Saibil, F., Cohen, L., Louie, M., Pearen, S., Donhoffer, H., Evaluation of Enzyme Immunoassay for Detection of Salivary Antibody to *Helicobacter pylori*. **J Clin Microbiol.** (1996) Vol 34, No. 3, 550-553.

- Stemer, E. Alcohol consumption and the gastrointestinal tract. **Isr-Med-Assoc-J.** 2002 Mar; 4(3):200-2.

- Stites, D., Stobo, J., Wells, J., **Inmunología Básica y Clínica.** Editorial El Manual Moderno, S.A. México. 6ta. Edición. Capítulo 12. 156-163. 1988.

- Taylor, D.: "Invited commentary: Dynamics of *Helicobacter pylori* infection in childhood". **American Journal of Epidemiology.** 150 (3): 231-232. 1999.

- Thomsom, A. *Helicobacter pylori* and gastroduodenal pathology. **Can J Gastroenterol.** (1993) 7:353-358.

- Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M., Ricci, C., Landi, F., Ali, A., Gatta, L., Acciardi, C., Farinelli, S., Crosatti, M., Berardi, S., Miglioli, M., "New

immunological assays for the diagnosis of ***Helicobacter pylori*** infection”.

Gut. 45(Suppl):123-127, 1999.

- Valentine, J., Arthur, R., Mobley, H., Dick, J., “Deteccion of ***Helicobacter pylori*** by using the polymerase chain reaction”. ***Journal of Clinical Microbiology***. 29 (4):689-695, 1991.

- Van Zwet, A., Thijs, J., Kooistra-Smid, A., Schirm, J., Snijder, J., “Sensitivity of culture compared with that of polymerase chain reaction for deteccion of ***Helicobacter pylori*** from antral biopsy samples”. ***Journal of Clinical Microbiology***. 31 (7):1918-1920, 1993.

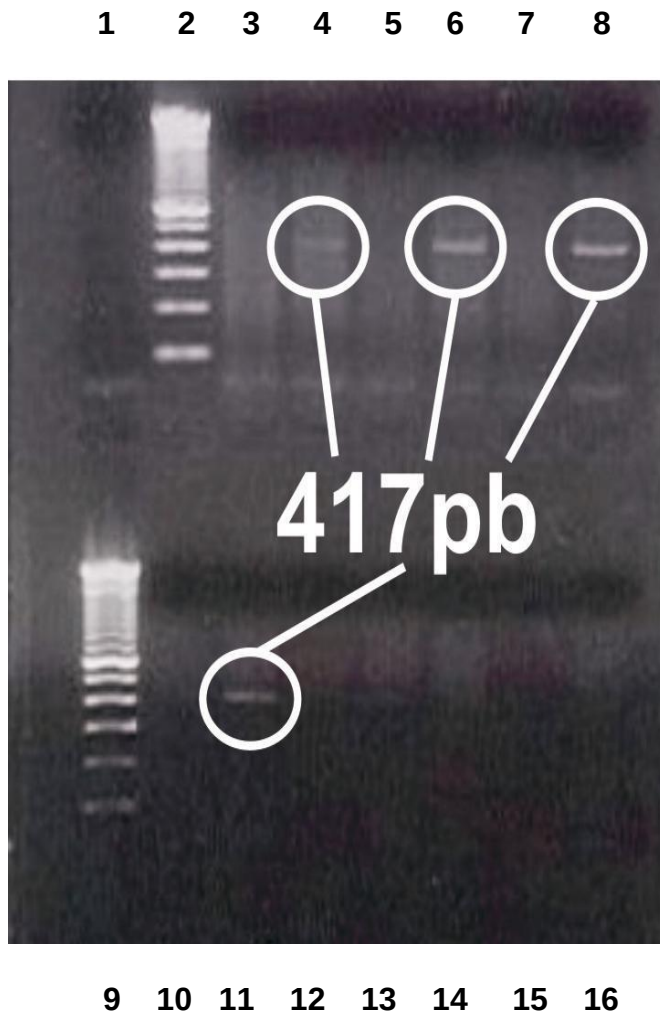
- Vincent, P. “Transmission and adquisition of ***Helicobacter pylori*** infection: evidences and hypotesis”. ***Biomed and Pharmacotherapy***. 49:11-18, 1995.

- Veenendal, R., Gotz, J., Schroijsen V., Kurban, F., Bernards, A., Veselic, M., Peña, A., Lamers, C. “Diagnosis of ***Helicobacter pylori*** infection by specific gastric mucosal IgA and IgG pylori antibodies”. ***J Clin Pathology***. 48:990-993, 1995.

- Zwolinska, D., Magier, K., Miler, M., Szprynger, K., Szczepanska, M., Makulska, I. Prevalence of ***Helicobacter pylori***-specific IgG and IgA in children and adolescents with chronic renal failure”. ***Pol-Merkuriusz-Lek.*** Apr., 8 (46):272-3, 2000.

ANEXOS

Detección de *H. pylori* en muestras de estómago mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP). (Foto No. 1)



Muestras:

- 1: Control negativo.
- 2, 9: Marcador de PM: (Pair Ladder 100 Kb.).
- 8: Control positivo.
- 3, 5, 7, 10, 12 al 16: Pacientes negativos a la infección.
- 4, 6, 11: Pacientes positivos para la infección.