



Universidad de Granada

**Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología**

**Prevalencia de la colonización de *Helicobacter pylori*
en estudiantes de Odontología**

**María Andrades Ortega
Granada 2010**

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: María Andrades Ortega
D.L.: GR 3593-2010
ISBN: 978-84-693-4361-6

D. JOSÉ LIÉBANA UREÑA, CATEDRÁTICO DE MICROBIOLOGÍA DE LAS FACULTADES DE MEDICINA Y DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio del Tribunal D^a María Andrades Ortega sobre el tema “ Prevalencia de *Helicobacter pylori* en estudiantes de Odontología” ha sido realizada bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica y científica del autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedor del título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, a 10 de Mayo de 2010

Fdo. Don José Liébana Ureña

D^a MARÍA DEL CARMEN BERNAL ZAMORA, PROFESOR TITULAR DE MICROBIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio del Tribunal D^a María Andrades Ortega sobre el tema “ Prevalencia de *Helicobacter pylori* en estudiantes de Odontología” ha sido realizada bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica y científica del autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedor del título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, a 10 de Mayo de 2010

Fdo. Dña María del Carmen Bernal Zamora

D^a ANA MARÍA CASTILLO PÉREZ, PROFESOR TITULAR DE MICROBIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio del Tribunal D^a María Andrades Ortega sobre el tema “ Prevalencia de *Helicobacter pylori* en estudiantes de Odontología” ha sido realizada bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica y científica del autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedor del título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, a 10 de Mayo de 2010

Fdo. Dña Ana María Castillo Pérez

Del presente trabajo se ha presentado la comunicación:

XXII Reunión de la Sociedad Andaluza de Microbiología y Parasitología Clínicas.
Noviembre 2009. Jaén.

- Prevalencia de *Helicobacter pylori* en los alumnos de la facultad de Odontología en la Universidad de Granada.

ÍNDICE

1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. Reseña histórica	4
2.2. Taxonomía	6
2.3. Características microbiológicas generales	7
2.4. Helicobacter pylori	7
2.5. Factores de virulencia y patogenicidad	8
2.5.1. Estructura bacteriana	9
2.5.2. Envoltura celular, membrana externa y lipopolisacárido	9
2.5.3. Flagelos	10
2.5.4. Ureasa	10
2.5.5. Sistemas antioxidantes	12
2.5.6. Adhesinas	13
2.5.7. Proteínas tipalpha y HP-MP1	13
2.5.8. Citotoxina vacuolizante VacA	13
2.5.9. CagA	14
2.5.10. Hop Q	15
2.6. Manifestaciones clínicas	16
2.6.1. Gastritis agudas	16
2.6.2. Gastritis crónicas	16
2.6.3. Úlcera duodenal	17
2.6.4. Úlcera gástrica	18
2.6.5. Cáncer gástrico	18
2.6.6. Linfoma gástrico tipo MALT	18
2.7. Epidemiología y transmisión	19
2.7.1. Rutas de transmisión	20
2.7.2. Distribución de la colonización de Hp en el mundo	20
2.7.3. Prevalencia en España	22
2.7.4. Interpretación de los datos de prevalencia	23
2.8. Diagnóstico de la infección	24
2.8.1. Métodos invasivos	24
2.8.2. Métodos no invasivos	26

2.9. Tratamiento	29
3. MATERIAL Y MÉTODOS	32
3.1. Población estudiada	33
3.2. Métodos	33
3.2.1. Encuesta	33
3.2.2. Exploración bucodental	36
A. Índice de placa	37
B. Índice gingival	39
3.2.3. Detección de antígeno de Hp en heces	40
A. Técnica 1. Inmunoensayo de flujo lateral	41
B. Técnica 2. Inmunocromatografía de un solo paso	44
3.2.4. Detección de anticuerpos frente a Hp en suero	46
A. Detección de anticuerpos totales	46
B. Detección de anticuerpos tipo Ig A	47
3.2.5. Test del aliento	49
3.2.6. Métodos estadísticos	50
4. RESULTADOS	52
4.1. Grupo 1. Alumnos de primer curso de Odontología	53
4.2. Grupo 2. Alumnos de quinto curso de Odontología	61
4.3. Grupo 3. Grupo control	68
4.4. Resumen de variables epidemiológicas de todos los grupos	75
4.5. Relación del test del aliento con distintas variables	77
4.6. Índice de placa e Índice gingival	79
4.7. Test del aliento, índice de placa e índice gingival	79
4.8. Concordancia entre los distintos métodos estadísticos	80
4.9. Resultados de la detección de antígeno en heces	81
4.10. Resultados de la detección de anticuerpos	81
4.11. Resultados del test del aliento	82
5. DISCUSIÓN	83
6. CONCLUSIONES	93
7. BIBLIOGRAFÍA	95

1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Helicobacter pylori (Hp) es una bacteria que se puede encontrar en la mucosa gástrica humana y se relaciona con diferentes enfermedades digestivas. Sin embargo, son numerosos los individuos que están colonizados sin presentar sintomatología alguna. Se estima que la prevalencia de Hp en la población mundial es del 50%. Un 7% de estos casos presentará patología gastroduodenal relacionada con la bacteria. Estas cifras revelan la importancia de esta infección y justifican el interés despertado por el conocimiento de su epidemiología.

Se considera que su adquisición es por contacto interpersonal, no se conoce con exactitud cual es su reservorio, aunque parece ser que la cavidad oral podría ser uno de ellos. El contacto con animales o con aguas contaminadas también se han considerado ocasionalmente como fuentes potenciales de colonización, las cuales son más frecuentes en los países en desarrollo. La prevalencia de esta bacteria disminuye cuando aumenta el nivel socioeconómico.

Para este estudio se han seleccionado estudiantes de Odontología de la Facultad de Granada de primer y quinto curso, así como un grupo control. Tras firmar el consentimiento informado, se les realizó una encuesta epidemiológica, una exploración bucodental, una extracción de sangre para evaluar los niveles de anticuerpos frente a Hp, muestra de heces para realizar test inmunocromatográficos y la prueba del aliento. Los resultados fueron sometidos a tratamiento estadístico.

Se pretende valorar si las actividades prácticas que desarrollan los estudiantes de la Facultad de Odontología, suponen un factor de riesgo de colonización por Hp. De ser cierta esta hipótesis deberán establecerse nuevas barreras mecánicas para evitar su transmisión.

De acuerdo con lo expuesto, se proponen para nuestro trabajo los siguientes objetivos:

1. Comparar los resultados de las distintas técnicas diagnósticas utilizadas: las dos inmunocromatográficas que detectan antígeno en heces, entre ellas y ambas y las técnicas serológicas con el test del aliento.
2. Determinar la prevalencia de colonización de Hp en estudiantes de Odontología, comparándola con otro grupo de universitarios de similares características no relacionado con el área odontológica.
3. Relacionar los hábitos individuales de los estudiantes y su salud bucodental con la colonización por Hp.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Reseña histórica

El ser humano convive con Hp desde hace al menos 50.000 años, pero es a finales del siglo XIX cuando se encuentran las primeras referencias a este microorganismo. El investigador italiano Giulio Bizzozero (Figura 1) describió la presencia de bacterias espirales en el estómago de perros y gatos en 1893.



Figura 1. Giulio Bizzozero

En 1899 el profesor Walery Jaworski (Figura 2), de la Universidad de Jagiellonian en Cracovia, estudió sedimentos de lavados gástricos obtenidos de humanos, en ellos observó que además de bacterias alargadas existían otras con una característica forma espiral, a las cuales llamó *Vibrio rugula*. Este investigador fue el primero en sugerir la participación de este microorganismo en procesos gastroduodenales. Aunque dicho trabajo fue incluido en el Manual de enfermedades gástricas, no tuvo mucho impacto, debido a que estaba escrito en polaco.



Figura 2. Walery Jaworski

Hp se cultivó por primera vez en Australia por los médicos australianos Barry Marshall y Robin Warren (Figura 3) en 1982, a partir de muestras de mucosa gástrica de pacientes con úlcera y gastritis. Demostraron que Hp es el causante de gastritis y úlceras de estómago, rebatiendo así teorías vigentes durante décadas, que atribuían las úlceras estomacales al estrés, la hipersecreción ácida y a otros factores. Este descubrimiento mejoró considerablemente las posibilidades de tratamiento.

Robin Warren nacido en 1937, patólogo de Perth (Australia), comprobó como las bacterias colonizaban la parte inferior del estómago en el 50% de las biopsias que tomaba. Observó que en la mucosa gástrica, cerca del lugar de colonización de estas bacterias siempre había signos de inflamación.

Por su parte, Barry Marshall, nacido en 1951, se interesó por los hallazgos de Warren y juntos iniciaron un estudio con muestras de 100 pacientes. Tras varios intentos Marshall tuvo éxito a la hora de cultivar estas bacterias a partir de algunas biopsias. Su trabajo conjunto dio lugar al descubrimiento de que el microorganismo estaba presente en casi la totalidad de los sujetos que experimentaban gastritis y úlcera péptica. Basándose en estos resultados, propusieron que Hp estaba implicado en la etiología de dichas enfermedades (Warren y Marshall 1983).



Figura 3. Robin Warren y Barry Marshall

La comunidad médica fue muy reticente a reconocer el hecho de que esta bacteria fuese la causante tanto de úlceras estomacales como de gastritis, ya que se creía que las bacterias no podían sobrevivir mucho tiempo en el medio ácido del estómago. Para reafirmar la idea Marshall bebió un cultivo de Hp, desarrollando una gastritis y recuperando la bacteria de su propia mucosa estomacal; con esto, satisfizo tres de los cuatro postulados de Koch (Marshall y cols 1984).

Su identificación, en 1982, es considerada como uno de los episodios científicos más relevantes de los últimos años. Los dos investigadores demostraron que los pacientes podían ser curados sólo si se erradicaba la bacteria del estómago. Gracias al descubrimiento pionero de Marshall y Warren la úlcera péptica ya no es una enfermedad crónica sino un cuadro clínico que puede curarse con un breve régimen de antibióticos e inhibidores de la secreción ácida (Marshall y cols. 1985; Morris y cols 1987).

En el año 2005, se concedió el Premio Nobel de Medicina a los doctores Barry Marshall y Robin Warren por su labor de investigación y sus importantes descubrimientos sobre Hp.

2.2. Taxonomía

En los primeros estudios realizados con esta bacteria, se pensó que podía ser una nueva especie dentro del género *Campylobacter* por su aspecto en la tinción de Gram y su requerimiento microaerofílico, aunque presentaba ciertas características atípicas (Marshall y cols. 1987). Sin embargo, los estudios genómicos, especialmente el análisis de secuencias del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr) 16S, permitieron demostrar que *Campylobacter* y *Helicobacter* eran dos géneros diferentes.

Desde 1989 se le considera la especie tipo de un nuevo género, *Helicobacter* en el que existen más de 24 especies descritas.

Desde su cultivo en 1982 ha recibido diferentes denominaciones hasta adquirir el nombre definitivo:

CLO (*Campylobacter like organism*).

GCLO (*Gastric Campylobacter like organism*).

Campylobacter pyloridis.

Campylobacter pyloric.

Campylobacter pylori.

Helicobacter pylori: (1989) especie tipo de un nuevo género, *Helicobacter*.

2.3. Características microbiológicas generales

El género *Helicobacter* pertenece a la subdivisión *Proteobacteria*, orden *Campylobacterales*, familia *Helicobacteraceae*. Existen más de 20 especies en el género (Dewhirst y cols. 2005)

Las bacterias de este género son bacilos gram negativos, curvados y microaerófilos. Tienen de 4 a 8 flagelos polares que son fundamentales para su movilidad. Son flagelos con una vaina que tiene una estructura lipídica como la de la membrana externa, y cuya misión parece ser la de protegerlos de su degradación por el medio ácido.

Las especies del género *Helicobacter* se desarrollan bien a 37 °C y algunas pueden hacerlo a 42 °C en una gran variedad de medios suplementados con suero o sangre entre el 5% y el 10%. Pueden requerir períodos de incubación hasta de una semana (Solnick y cols. 2001). Además, estas especies crecen típicamente en condiciones de microaerofilia y no hay desarrollo en condiciones de aerobiosis.

Las especies de *Helicobacter* son quimiorganotrofas. Son asacarolíticas (no fermentan ni oxidan azúcares) aunque Hp si fermenta la glucosa. Utilizan, al menos parcialmente, las vías metabólicas de Entner-Doudoroff de pentosas fosfato, y el ciclo de ácidos tricarboxílicos, pero no la vía del glioxilato. No hidrolizan gelatina, almidón, caseína o tirosina, son rojo de metilo y Voges-Proskauer negativos.

La actividad de oxidasa está presente en todas las especies, y las cepas de la mayoría de ellas producen catalasa. Muchas especies producen ureasa, fosfatasa alcalina o ambas y no hay producción de pigmentos.

2.4. *Helicobacter pylori*

Esta bacteria mide entre 2 y 4 µm de largo por 0,5 a 1 µm ancho y posee de 2 a 6 flagelos unipolares de aproximadamente 3 µm de longitud. Puede aparecer con forma helicoidal o como bacilos, las formas cocoides se presentan preferentemente *in vitro* después de un cultivo prolongado o como resultado del tratamiento con agentes antimicrobianos. Estas formas cocoides no pueden ser cultivadas *in vitro* (Dunn y cols. 1997).

Hp muestra un crecimiento óptimo a concentraciones del 2% al 5% de O₂, del 5% al 10% de CO₂ y una humedad relativa alta. La temperatura óptima de crecimiento es de 37

°C, aunque puede desarrollarse en un rango de 35 a 39 °C, y para su cultivo se requieren medios de cultivo suplementados con sangre o suero, los cuales actúan como fuentes adicionales de nutrientes y protegen de los efectos tóxicos de los ácidos grasos de cadena larga.

Para el aislamiento primario, es recomendable adicionar mezclas de antibióticos como el suplemento de Dent, que contiene vancomicina, trimetoprim, cefsoludina y anfotericina B o el suplemento selectivo de Skirrow que contiene vancomicina, trimetoprim, polimixina B y anfotericina B.

Las colonias de Hp son pequeñas, con diámetro aproximado de 1 a 2 mm, traslúcidas, cremosas y ligeramente brillantes. Una vez que el cultivo alcanza la fase estacionaria, rápidamente hay cambio a formas cocoides. Para facilitar la observación de las colonias, las placas pueden ser suplementadas con cloruro de trifeniltetrazoilo (TTZ) a una concentración final de 0,004%. En presencia de éste, las colonias aparecen oscuras por la reducción del mismo y desarrollan un brillo dorado.

2.5. Factores de virulencia y patogenicidad

La infección por Hp produce frecuentemente gastritis crónica. Sin embargo las complicaciones principales (úlcera péptica, adenocarcinoma y linfoma gástrico) se desarrollan sólo en una minoría de personas infectadas, predominantemente en hospedadores adultos (Ernst y cols. 2000).

Los factores de virulencia son productos bacterianos o estrategias que contribuyen a la patogenicidad. Uno de los retos de los estudios sobre Hp es la identificación de los factores de virulencia predictivos de la progresión de la infección.

Se han propuesto numerosos factores de virulencia y aunque se han asociado con un mayor riesgo de enfermedad péptica ulcerosa, adenocarcinoma gástrico o linfoma MALT, ninguno de ellos implica por sí mismo el desarrollo de una enfermedad en concreto (Kusters y cols. 2006). Esta asociación aumenta cuantos más factores acumula la bacteria. Por otro lado, el valor predictivo de los mismos se cree limitado debido a que, presumiblemente, la patogenicidad depende de interacciones multifactoriales entre los propios factores de virulencia bacterianos y factores inmunológicos del hospedador, factores fisiológicos e influencias ambientales que modulan la respuesta inmune del hospedador (Höcker y cols. 2003)

Hp origina una fuerte respuesta inmune, humoral y celular en la mucosa gástrica que no consigue eliminar la infección y es responsable de muchos de los daños de ésta. Tras la colonización, libera sustancias tóxicas que estimulan la respuesta inmunológica local en la que fundamentalmente participan los neutrófilos. Después se produce una amplificación de la respuesta inflamatoria por la interacción de linfocitos, neutrófilos, macrófagos, células mastoides y no inmunes que liberan gran cantidad de mediadores químicos. La úlcera péptica, el adenocarcinoma y el linfoma gástrico son complicaciones de esta inflamación crónica.

A continuación se describen los principales factores de virulencia.

2.5.1. Estructura bacteriana

La propia estructura en espiral de la bacteria le permite introducirse a través de la capa de moco gástrico actuando de forma similar a un sacacorchos y favoreciendo por lo tanto el acercamiento a las células epiteliales gástricas (Montecucco y cols. 2001).

2.5.2. Envoltura celular, membrana externa y lipopolisacárido

La composición de la envoltura celular de Hp consiste en una membrana interna, periplasma con peptidoglicano y una membrana externa. Ésta última está constituida por fosfolípidos y lipopolisacáridos. Además contiene glucósidos de colesterol, los cuales son muy raros en una bacteria.

El lipopolisacárido (LPS) está compuesto por tres partes: el lípido A hidrofóbico, la región antigénica-O polisacáridica e hidrofílica y el núcleo polisacárido que conecta las otras dos. Como en todas las bacterias gram negativas, el lípido A es el componente responsable de las propiedades inmunológicas y endotóxicas (Aspinall 1996).

La respuesta autoinmune inducida por esta bacteria genera autoanticuerpos que contribuyen al desarrollo de gastritis atróficas. La capacidad que tiene Hp para evadir la respuesta inmunológica origina que la infección se cronifique.

El LPS de Hp es mucho menos activo inmunológicamente que el de otras bacterias gram negativas. Comparaciones estructurales con el lípido A de *Escherichia coli* demuestra que el de Hp tiene menos ácidos grasos, un fosfato menos y la longitud de las cadenas de ácidos grasos del lípido A es mayor (Moran y cols. 1992). Estas diferencias predicen el menor poder inmunogénico.

El antígeno polisacárido O participa en la adherencia de la bacteria a las células epiteliales gástricas. Ésta es reconocida específicamente por una lectina que une β -galactósidos (Fowler y cols. 2006)

Aunque Hp es un patógeno extracelular, puede encontrarse en el interior de las células epiteliales gástricas (Lozniewski y cols. 2003).

Por otra parte el LPS puede afectar a la integridad de la mucosa mediante la modulación de la actividad del pepsinógeno I en el estómago. La pepsina posee una alta capacidad mucolítica y puede ayudar a inducir ulceración duodenal. Además aumenta la producción de IL1b, cuyo polimorfismo está asociado con un mayor riesgo de cáncer (Basak y cols. 2005).

2.5.3. Flagelos

Hp posee de 2 a 6 flagelos monopolares que le confieren una gran movilidad y le permiten llegar a la mucosa y no ser eliminado por los mecanismos defensivos del hospedador. Cada uno de ellos está compuesto por dos flagelinas, FlaA y FlaB, las cuáles son homopoliméricas. FlaB se localiza en la base del flagelo, mientras que la más abundante, FlaA, se encuentra en el exterior. La eliminación de ambas flagelinas da como resultado la pérdida de la movilidad, pero sin embargo conservan una capacidad de adherencia similar a la del tipo silvestre.

2.5.4. Ureasa

La ureasa es la enzima más abundante producida por Hp siendo esencial para la colonización, como se ha demostrado en experimentos utilizando cepas con ureasa no funcional (Bauerfeind y cols. 1997).

Al contrario de lo que se puede pensar, Hp es extremadamente sensible al medio ácido. Su hábitat natural se encuentra debajo de la capa mucosa, donde el pH se aproxima a la neutralidad. El mecanismo que utiliza para protegerse del pH ácido de la capa mucosa durante la colonización, o de las bajadas de pH que pueden ocurrir por daños mecánicos en las mucosas, se basa en acumular una gran cantidad de ureasa en el citoplasma, en el espacio periplásmico y en su superficie (Eaton y cols. 1991).

La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea presente en el estómago en amonio y dióxido de carbono (Figura 4). El amonio producido aumenta el pH, con lo que Hp tiene el adecuado incluso aunque el pH externo sea extremadamente bajo.



Figura 4. Reacción química catalizada por la ureasa

La regulación de esta enzima se produce mediante un transportador (UreI) dependiente de pH. El transportador permite la entrada de urea pero, una vez que el pH alcanza el valor 6-7, se inactiva, ya que un grado excesivo de alcalinidad mataría a la bacteria (Weeks y cols. 2000).

La ureasa tiene un efecto tóxico en las células epiteliales gástricas y es un importante inmunógeno que estimula una fuerte respuesta inflamatoria.

El amonio liberado origina una necrosis del tejido profundo (Murakami y cols. 1990); colabora con el desarrollo de gastritis atrófica crónica humana y facilita el incremento de infecciones virales y la carcinogénesis; debido a que se asocia a alteraciones en la síntesis de ADN (Megraud y cols. 1992). También origina la formación de cloramina, elevadamente tóxica, que debido a su lipofilia y bajo peso molecular, atraviesa la membrana plasmática celular (Suzuki y cols. 1998)

Asimismo, la formación de monocloraminas con el ácido hipocloroso que liberan los polimorfonucleares (PMN), que contribuyen a la lisis celular y a la úlcera, puede servir de protección frente al sistema inmune. La concentración de amonio en el estómago de pacientes infectados es significativamente mayor que la encontrada en sujetos no infectados, disminuyendo tras la erradicación de Hp (Chittajallu y cols. 1991).

Por otro lado, se ha observado que la unión de Hp a través de la ureasa a las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad II (MHCII) origina un incremento en la apoptosis de las células gástricas. Como la IL-8 origina la sobreexpresión de MHC-II este proceso facilita aún más la unión de la ureasa (Fan y cols. 2000)

La ureasa se ha utilizado para el desarrollo de vacunas debido a que está formada por dos subunidades, UreA y UreB, que son inmunodominantes proteicos (Nomura y cols. 2005).

2.5.5. Sistemas antioxidantes

Hp es una bacteria microaerofílica muy vulnerable a la toxicidad del oxígeno (O₂). Durante el proceso de colonización promueve una fuerte respuesta inflamatoria mediada por neutrófilos y macrófagos, que generan una gran cantidad de metabolitos reactivos de oxígeno (MRO). Se ha comprobado que estas moléculas también son producidas por las células epiteliales gástricas en respuesta a la infección, aumentando su concentración en la mucosa gástrica (Nardone y cols. 2004). Hp cuenta con mecanismos para la detoxificación de los MRO, así como de reparación de los daños sufridos, que favorecen su supervivencia en el tejido inflamado. Estos mecanismos son adaptables y están interconectados entre sí (Wang y cols. 2006). Entre los sistemas enzimáticos de detoxificación de los MRO están la enzima superóxido dismutasa, que cataliza la transformación del superóxido en peróxido de hidrógeno; la catalasa, que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno; las peroxirredoxinas, que catalizan la reducción del peróxido de hidrógeno, peroxinitrito y otros hidroxiperóxidos orgánicos a sus correspondientes alcoholes (Wood y cols. 2003). Y la flavoproteína MdaB, una NADPH quinona reductasa, que la bacteria expresa cuando debe compensar la pérdida de los principales componentes antioxidantes. Además, el sistema tiorredoxina cataliza los procesos de oxidación-reducción, tiol-dependientes, de un gran número de enzimas detoxificadoras de MRO llevadas a cabo por NADPH. La actividad enzimática de la catalasa, superóxido dismutasa y las peroxirredoxinas está incrementada en las cepas *cagA* positivas (Briede y cols. 2005).

A veces los sistemas de detoxificación no son suficientes y puede existir daño oxidativo. Para ello Hp cuenta con mecanismos para reparar el ADN dañado, como las proteínas RecA, UvrABC, endonucleasa III (Nth), MutS y RuvC. Los daños oxidativos producidos en las proteínas son reparados por la metionin sulfóxido reductasa.

La proteína NAP, codificada por el gen *napA*, fue identificada en principio como una proteína que participa en la activación de los neutrófilos. Pero además tiene otras funciones. La de bacterioferritina para captar los iones ferrosos libres intracelulares que pueden dañar el ADN bacteriano y a su vez la protege del estrés oxidativo (Buda y cols. 2003). Puede actuar como una adhesina cuando se secreta o expresa en la superficie bacteriana, pues tiene afinidad por las ceramidas presentes en las membranas plasmáticas celulares (Olzack y cols. 2002).

2.5.6. Adhesinas

Hp se une a las células receptoras del hospedador, las células epiteliales gástricas, de una forma específica mediante un elevado número de adhesinas utilizando múltiples receptores (Beswick y cols. 2005). Entre ellos hay glicerofosfolípidos, sulfátidos, componentes de la matriz extracelular (como laminina o colágeno) y secuencias péptidas de N-acetil-lactosamina o de glicoconjugados (Millar-Podraza 2005). Una sola clase de anticuerpos no inhibe por completo la adhesión de la bacteria a las células, por lo que se considera que la adherencia se realiza a través de múltiples adhesinas y receptores al mismo tiempo. De algunas de las adhesinas se tienen datos que muestran su papel potencial como factores de virulencia.

Hp puede modular la expresión de las moléculas de adhesión por parte del hospedador como las mucinas MUC5AC y MUC6 y las adhesinas VCAM1 y caderinas, implicadas en la patogenia de la inflamación y en la carcinogénesis (Chan 2006).

2.5.7. Proteínas tipalpha y HP-MP1

Las proteínas tipalpha y HP-MP1 tienen una potente actividad carcinogénica a través de la inducción del factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la activación de factor nuclear kappa β (NF- $\kappa\beta$) (Chan y cols. 2005). Estudios previos indican que NF- $\kappa\beta$ es esencial para promover la inflamación asociada al cáncer (Kim y cols. 2005).

2.5.8. Citotoxina vacuolizante VacA

La proteína VacA es una toxina codificada por el gen *vacA*, que induce vacuolización en las células epiteliales, la muerte celular y la destrucción de la integridad epitelial. Posee una estructura hexamérica y se ensambla en la bicapa lipídica celular del hospedador formando un canal selectivo de aniones. Produce un gradiente de pH que atrae sustancias alcalinas al interior haciendo que se capte agua por ósmosis, lo que origina la vacuolización alrededor del núcleo y más tarde el estallido y muerte celular. En el citosol interfiere con el tráfico vesicular de los lisosomas (Cover y cols. 2005).

Este efecto lo producen más de la mitad de los aislamientos de Hp y son más frecuentes en pacientes con úlcera péptica y cáncer gástrico que en pacientes que sólo padecen gastritis (Boquet y cols. 2003). Otros estudios no encuentran esta relación. Una explicación posible es que el gen *vacA*, que está presente en todas las cepas de la bacteria, tiene una estructura mosaico con varias formas posibles de presentación. Cuatro en la secuencia señal, que son s1a, s1b, s1c y s2, y tres en la región media, m1, m2a y m2b. De

la combinación de éstos podrían generarse distintos genotipos que podrían tener comportamientos más o menos agresivos (Van Door y cols. 1998).

VacA puede llevar a la muerte celular programada de forma independiente a la vacuolización, pues induce la liberación de citocromo C de las mitocondrias a través de la activación de proteínas proapoptóticas Bax y Bak (Yamasaki y cols. 2006). También puede participar en el proceso de la apoptosis a través de la activación del receptor Fas/ CD95, a través de diversas caspasas y de la ruptura de la membrana mitocondrial que, al afectar a la concentración de ATP celular, altera el ciclo celular.

La presencia de VacA puede inducir la expresión de factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y provocar el desarrollo de procesos tumorigénicos. El VEGF está implicado en la neo angiogénesis a través del sistema TLR2/TLR9 y se encuentra sobreexpresado en distinto grado en carcinomas humanos dependiendo del tipo de cepa bacteriana, lo que podría explicar en parte el distinto potencial patogénico (Caputo y cols. 2003).

VacA amplifica la respuesta inflamatoria de la mucosa gástrica aumentando la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), en las células T, neutrófilos y macrófagos, que a su vez pueden activar la producción de VEGF. Aunque no estén perfectamente definidos los mecanismos por los que la respuesta inmune inducida por Hp contribuye a la carcinogénesis gástrica, la sobreexpresión de COX-2 y VEGF, la activación de NF- κ B y el aumento de citoquinas proinflamatorias originan alteraciones morfológicas que llevan al desarrollo de gastritis atrófica y metaplasma gastrointestinal (Montecucco y cols. 2003).

Por otro lado VacA interrumpe la maduración en los macrófagos, por lo que la bacteria sobrevive dentro de los mismos (Zheng y cols. 2003)

2.5.9. CagA

La presencia del gen *cagA* se asocia más con síntomas graves, como son la gastritis severa, la atrofia de la mucosa, alto riesgo de úlcera y cáncer gástrico. De hecho las cepas procedentes de pacientes con úlcera, en un porcentaje superior al 90% son *cagA* positivas. Pero, al igual que ocurre con el resto de factores de virulencia, en muchas ocasiones no hay asociación entre el genotipo de *cagA* y el estado clínico.

El gen *cagA* se encuentra localizado en una región del cromosoma que se conoce como isla de patogenicidad (PAI). Las islas de patogenicidad son segmentos de ADN que contienen más de un gen de virulencia con la peculiaridad de que una simple delección lleva a la pérdida de al menos dos genes de virulencia con segmentos de ADN de más de 30 kb.

Tienen un papel fundamental en la contribución a la virulencia de las bacterias patógenas que los contienen y en el desarrollo de la enfermedad (Schmidt y cols. 2004). CagPAI tiene un tamaño de 37 a 40 kb. Su contenido en G+C es del 35% en contraste con el 39% del cuerpo del genoma. Como muchos genes de virulencia los genes de la cagPAI no se expresan constitutivamente, sino que responden a señales ambientales. Están regulados por complejos mecanismos que pueden activarse o no dependiendo de las condiciones microambientales como el nivel de oxígeno, la osmolaridad, la fase de crecimiento bacteriano, el pH, presencia o no de ácidos grasos volátiles de cadena corta, etc (Durant y cols. 2000).

La cagPai de Hp codifica un sistema de secreción de proteínas tipo IV (SSTIV) que inyecta CagA y peptidoglicanos en las células epiteliales del hospedador. La traslocación de la proteína depende de la presencia del canal de urea protón dependiente UreI. Ante un descenso de pH CagA se mueve del centro a la porción periférica del citoplasma (Wu y cols. 2005). La proteína inyectada interactúa con un número elevado de moléculas de la célula hospedadora. La diana molecular de cagA más estudiada es la fosfatasa SHP-2. El gen *PTNP 11* codifica la SHP-2 y se han encontrado mutaciones y polimorfismos en este gen asociados a carcinogénesis gástrica. La propia activación de SPH-2 por CagA puede contribuir a la proliferación celular excesiva. Además, los cambios que se producen en la expresión génica en las células epiteliales tras la infección con Hp suelen ser dependientes de este sistema de secreción codificado por la cagPAI (Shibata y cols. 2005).

Hay una correlación entre la integridad de la cagPAI y la gravedad de la enfermedad, ya que mutaciones puntuales llevan a la pérdida del sistema de secreción tipo IV por lo que no se puede traslocar la proteína CagA (Selbach y cols. 2002). La proteína CagA traslocada aumenta la producción de IL8, pero este potencial es diferente entre bacterias. La expresión de IL-8 por las células epiteliales lleva a la expresión de CD74, la cadena invariante del MHC II, que actúa como receptor de Hp, favoreciendo más su colonización (Beswick y cols. 2005). Así mismo, los productos de cagPAI están asociados con un aumento de la producción de citoquinas como IL-1b, TNF- α y del factor nuclear de transcripción NF κ B (Brandt y cols. 2005).

2.5.10. HopQ

Intentando identificar nuevos factores de virulencia se realizó un estudio con microarray usando el genoma completo de Hp y se describieron 10 genes que se transmiten conjuntamente con la cagPAI y se cree que pueden contribuir a la virulencia de las cepas cagA+ (Salama y cols. 2000). Uno de ellos es hopQ, situado en el locus omp27. Los alelos de hopQ pueden clasificarse en dos grandes familias. El hecho de que sean más frecuentes

en pacientes cagA+/s1vacA de pacientes con úlcera péptica que en cagA-/s2-vacA de pacientes sin úlcera sugiere que la variación de los genotipos hopQ en cepas de Hp puede ser un factor que contribuye a la diferente presentación clínica de la infección (Cao y cols. 2002).

2.6. Manifestaciones clínicas

2.6.1 Gastritis aguda

La unión de Hp a las células epiteliales origina una respuesta inmunitaria de tipo agudo por parte del hospedador, denominada “gastritis aguda” que se caracteriza por un cuadro anatomopatológico específico y unas manifestaciones clínicas de breve duración, tras la cual el paciente puede evolucionar hacia la curación o desarrollar una gastritis crónica activa. Sólo algunos pacientes desarrollarán enfermedad, como úlcera péptica, linfoma gástrico asociado a mucosas (MALT) o adenocarcinoma gástrico. La mayoría de los pacientes infectados crónicamente permanecerán asintomáticos (Sohnick JV y cols. 2001)

Esta gastritis aguda inicial suele pasar inadvertida, por lo que la mayoría de los casos se han descrito tras la ingesta voluntaria de inóculos de Hp o en relación con epidemias en el seno de estudios de secreción ácida gástrica que precisaron intubación. Habitualmente dura menos de 7 días y es autolimitada, por lo que los pacientes no acuden al médico o, si lo hacen no se les realiza una endoscopia. Histológicamente la fase aguda se caracteriza por la degeneración de la superficie epitelial y por la existencia de un infiltrado neutrofílico constituido por agregados de leucocitos polimorfonucleares, acompañados por edema y eritema de la mucosa (López- Brea y cols. 1997).

2.6.2. Gastritis crónica

La gastritis crónica es uno de los procesos inflamatorios más frecuentes del ser humano y actualmente Hp es considerado como el agente causante de esta enfermedad. La bacteria puede ser identificada en biopsias gástricas mediante tinción de Giemsa o de hematoxilina-eosina y en presencia de mucha cantidad microorganismos.

En las biopsias de los pacientes adultos portadores de la infección se demuestra la existencia de lesiones focales de las células epiteliales, así como una respuesta inflamatoria de la lámina propia, consistente en una infiltración por células mononucleares y granulocitos, patrón anatomopatológico que se conoce como “gastritis crónica activa”. Una característica de la gastritis asociada a Hp es la presencia de agregados linfocitarios con un centro

germinal. Estos folículos linfoides o agregados linfoides pueden verse en el 54 % de los casos de gastritis; no obstante, si se realiza un estudio exhaustivo pueden llegar a encontrarse en todos los casos de gastritis asociada a la bacteria. Con el tiempo se produce atrofia glandular, consistente en la pérdida del grosor del tejido glandular como consecuencia de las lesiones repetidas, lo que da lugar a un adelgazamiento de la mucosa gástrica. Como consecuencia de la pérdida de las estructuras glandulares pueden producirse erosiones o ulceraciones de la mucosa, con destrucción de la capa glandular y/o asociación de un proceso inflamatorio crónico. La prevalencia de la infección disminuye conforme aumenta el grado de atrofia glandular, al desarrollarse cierto grado de hipoclorhidria, así como metaplasia intestinal, que impide que el microorganismo pueda adherirse y, al mismo tiempo, porque las glucoproteínas secretadas por las zonas metaplásicas pueden dar lugar a un microambiente más hostil para el desarrollo de Hp (The European *Helicobacter pylori* Study Group. 1997).

La gastritis es una enfermedad progresiva que se inicia en el antro y se extiende hacia el cuerpo, y se asocia con una transformación del epitelio corporal de tipo fúndico (secretor de ácido) en un epitelio glandular pilórico (no secretor); estos cambios se asocian con la edad y son la causa de la reducción en la secreción ácida.

La prevalencia de infección en las gastritis demostradas endoscópicamente es del 60-90% (media 76%) mientras que si el diagnóstico es histológico, es del 75-96%. Sólo un pequeño porcentaje de los pacientes infectados (15-20%) desarrollarán una patología más específica.

2.6.3. Úlcera duodenal

La prevalencia de la colonización en la úlcera duodenal es superior al 98%, aceptándose como posibles etiologías la tumoral y la ingesta de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). El mecanismo de producción de la úlcera no está totalmente dilucidado. Se ha postulado que la gastritis crónica que afecta preferentemente al antro altera los mecanismos defensivos de la mucosa gástrica y aumenta su vulnerabilidad a la acción del ácido gástrico. En estos enfermos, la masa de células parietales es normal o está aumentada, por lo que la secreción ácida está incrementada; este hecho, junto con la incapacidad duodenal para neutralizarla por la reducción de la producción de bicarbonato, determina que la hiperacidez ejerza efecto lesivo directo sobre la mucosa duodenal o indirecto induciendo la aparición de metaplasia gástrica, lo que permite la colonización por Hp que favorece a su vez la aparición de úlcera. En la evolución de este proceso intervienen también la virulencia de las cepas infectantes, la respuesta del hospedador y los factores genéticos y ambientales (López Brea y cols. 2005)

2.6.4. Úlcera gástrica

La colonización de la infección por Hp en pacientes con úlcera gástrica oscila alrededor del 80%, pero si se eliminan los casos asociados a la toma de AINEs alcanza casi el 100%.

La úlcera gástrica se produce cuando se rompe el equilibrio existente en la barrera mucosa, al aumentar la multiplicación bacteriana y la respuesta inflamatoria, permitiendo que factores agresivos como el ácido y la pepsina actúen sobre el epitelio y provoquen erosiones y úlceras en la mucosa gástrica.

Las lesiones secundarias a la colonización por Hp se localizan preferentemente en la curvatura menor y se asocian a una pangastritis, con afectación de la zona secretora del cuerpo gástrico, por lo que cursan con hipoclorhidria o con una secreción normal; además es frecuente la existencia de atrofia glandular y metaplasia intestinal, especialmente en el antro, lo que refleja una infección de largo tiempo de evolución (López-Brea y cols 2005).

2.6.5. Cáncer gástrico

El adenocarcinoma gástrico constituye el 90% de los tumores gástricos. Se ha demostrado una asociación positiva entre la prevalencia de Hp y las tasas del mismo.

La hipótesis patogénica es que con el tiempo, en pacientes colonizados a edades precoces se produciría una pangastritis, que evolucionaría hacia la atrofia con disminución de la secreción ácida gástrica y aparición paulatina de la metaplasia intestinal; por acción de los mutágenos inflamatorios y los nitritos de las bacterias desarrolladas en la actividad gástrica como consecuencia de la hipoclorhidria se propiciará la aparición de displasia y en función de la vulnerabilidad individual del hospedador podría aparecer el cáncer gástrico (Correa y cols. 1995)

2.6.6. Linfoma gástrico tipo MALT

El tejido MALT (tejido linfoide asociado a mucosas) forma parte del sistema inmunitario frente a los antígenos en contacto directo con la mucosa.

El estómago es el lugar más frecuente de aparición de linfomas extraganglionares (50-90% de ellos son MALT). Los síntomas son poco específicos (ardor, dolor abdominal, anorexia, vómitos) y normalmente tienen una evolución de meses o años.

La prevalencia de Hp en el linfoma gástrico tipo MALT es del 80% – 100% y se relaciona con estímulos antigénicos prolongados.

2.7. Epidemiología y transmisión

Se estima que la colonización por Hp afecta aproximadamente al 50% de la población mundial (Kivi y cols. 2006, Carroll y cols. 2004), aunque cursan de forma asintomática en la mayoría de los casos (Torres y cols. 2005).

En 1994, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer clasificó a Hp como carcinógeno tipo I (Eslick y cols.2006). Entre un 10% y un 15% de de los individuos infectados por esta bacteria sufrirán úlcera péptica y hasta un 1-3% podrían desarrollar cancer gástrico. En conjunto en torno al 7 % de las personas podrán verse afectadas por patología gastroduodenal relacionada con la bacteria (Torres y cols. 2005). Estas cifras revelan la importancia de esta infección y justifican el interés despertado por el conocimiento de su epidemiología, factores ambientales de riesgo y forma de transmisión. Para intentar aclarar algunos de estos aspectos se han llevado a cabo estudios de prevalencia poblacional. La sistemática utilizada para su ejecución ha sido variable y en general se ha sustentado en el uso de pruebas no invasivas.

Los niveles de prevalencia detectados pueden verse influenciados por factores metodológicos tales como el tamaño muestral del grupo estudiado y la técnica diagnóstica empleada.

Los estudios poblacionales llevados a cabo con el test del aliento presentan la ventaja de indicar cifras reales de colonización mientras que la seroprevalencia sólo indica contacto con la bacteria (Sanz y cols. 2007).

Sin embargo, pese a los posibles sesgos provocados por diferencias metodológicas, las principales variables que influyen en la prevalencia detectada frente a esta bacteria dependen de cuestiones externas como la edad del grupo estudiado o las condiciones socio-sanitarias. La falta de estructuras sanitarias, el hacinamiento, los bajos estándares socioeconómicos y educativos se asocian a tasas más elevadas de prevalencia.

2.7.1. Rutas de transmisión

Aunque no se conoce con seguridad el modo de transmisión de la bacteria (Axon y cols. 2006), se ha postulado que ésta puede ocurrir por las vías gastro-oral, oral-oral y fecal-oral (Czinn y cols. 2005). Hp se encuentra con frecuencia en el vómito de las personas colonizadas (donde puede sobrevivir durante horas). La saliva también contiene bacilos, pero las heces sólo albergan formas viables cuando el tracto gastrointestinal está acelerado (Megraud 2003).

Algunos autores apuntan que la transmisión persona a persona constituye el principal mecanismo de propagación de la bacteria. (Pérez- Pérez y cols. 2004). Sin embargo existen diferencias entre países desarrollados y en vías de desarrollo. En los primeros el mecanismo de contagio más frecuente podría ser por contacto interpersonal directo vía oral-oral, mientras que en los segundos predominaría la ruta oro-fecal (Magalhaes y cols. 2006).

En ocasiones se ha observado la asociación de Hp con otros enteropatógenos (Kikuchi y cols. 2005) y con procesos de gastroenteritis (Frenck y cols. 2003). Los cuadros diarreicos pueden facilitar la excrección de la bacteria. Una vez fuera del tracto digestivo, el bacilo puede mantenerse viable durante periodos cortos de tiempo. El ADN bacteriano se ha detectado en aguas fluviales y se cree que es factible la supervivencia del microorganismo en ambientes acuáticos (Bellack y cols. 2006), por lo que se ha planteado la posibilidad de difusión a través de aguas contaminadas (Nurgalieva y cols. 2002). Esta forma de transmisión estaría restringida a entornos sanitarios deprimidos.

2.7.2. Distribución de la colonización de Hp en el mundo

Existen dos patrones de seroprevalencia (Figura 5): el primero de ellos incluye aquellas poblaciones con una elevada tasa de colonización durante la infancia y con cifras de prevalencia próximas al 80% en la edad adulta; el segundo se caracteriza por un bajo nivel de seroprevalencia en la niñez junto con un incremento gradual en función de la edad (Fallone y cols. 1999). El primer patrón es típico de regiones del tercer mundo, mientras que el segundo corresponde a países desarrollados.

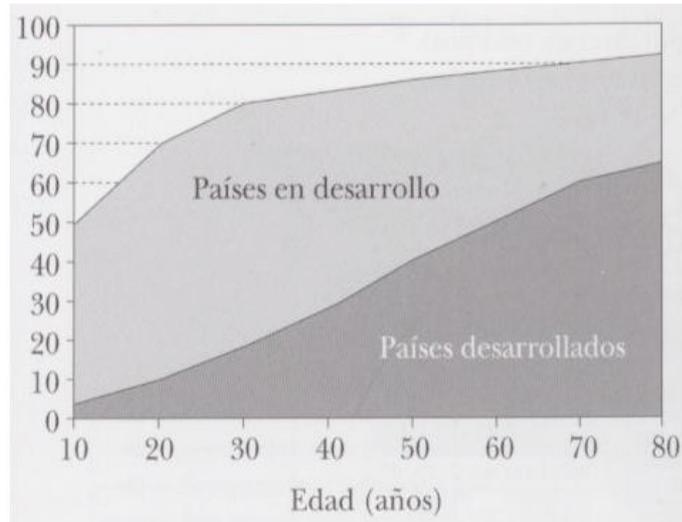


Figura 5. Curvas de prevalencia dependiente de la edad frente a Hp en países desarrollados y en vías de desarrollo.

En el caso de países en desarrollo estas curvas muestran un incremento de la prevalencia brusco en los primeros años de edad (superior al 50% en la infancia y la adolescencia) seguido de un aplanamiento ya en etapas adultas. En los países desarrollados se observa un aumento continuo de prevalencia a lo largo de la vida (Logan y cols. 2001). No obstante, la división entre zonas desarrolladas y no desarrolladas no siempre coincide con una distribución geográfica estricta. En países industrializados la prevalencia puede ser superior entre inmigrantes provenientes de zonas desfavorecidas, alcanzando entre miembros de comunidades específicas cifras del 95-100% (Dore y cols. 1999). Por el contrario, en naciones más pobres la seroprevalencia en individuos pertenecientes a una clase social urbana y acomodada presenta un patrón dependiente de la edad, que tiende a ser similar al registrado en regiones occidentales (Alaganantham y cols. 1999). Aunque las diferencias apreciadas entre estos estudios quizá no estén exentas de influencias derivadas de factores metodológicos estas variaciones parecen revelar diferencias en los patrones de adquisición de la infección en distintas zonas geográficas (Figura 6).



Figura 6. Prevalencia de colonización por Hp en adultos en distintas partes del mundo

2.7.3. Prevalencia en España

En nuestro medio, la prevalencia en individuos sanos es alta y se sitúa en torno al 50 % (Martín de Argila y cols. 1996). En un estudio realizado en 1997 en una muestra de la población general residente en la Comunidad de Madrid, con edades comprendidas entre 18 meses y 19 años se comprobó que el 15,9% de los niños menores de 4 años había experimentado ya un contacto con el bacilo. Los porcentajes de seroprevalencia se elevaron con la edad de forma que los jóvenes de 10 a 19 años presentaban el doble del valor respecto a los menores de 4 años. Un segundo estudio de similares características pero con un rango de edad más amplio (2 a 60 años) llevado a cabo 2 años más tarde en el mismo laboratorio y empleando la misma técnica serológica (III Encuesta de serovigilancia de la CM 2002) nuevamente reveló un incremento de prevalencia relacionado con la edad. Estos niveles son intermedios entre los típicos de las regiones en desarrollo y los informados en otras naciones industrializadas.

El crecimiento de la colonización edad-dependiente muy posiblemente se deba a un efecto cohorte que refleje una caída en la tasa de adquisición de la infección en las sucesivas generaciones, a medida que las condiciones socioeconómicas han ido mejorando.

Algunos autores han comprobado niveles mayores de prevalencia entre niños institucionalizados (Quirós y cols. 1994).

2.7.4. Interpretación de los datos de prevalencia

Ciertos factores dependientes tanto del microorganismo como del hospedador pueden influir en la evolución de esta colonización hacia un estado crónico asintomático o hacia el desarrollo de manifestaciones clínicas. Por este motivo, los datos obtenidos a partir de los trabajos de seroprevalencia, aunque pueden servir para clarificar la extensión de esta colonización, deben interpretarse con cautela.

En ocasiones se dan aparentes contradicciones entre los niveles de prevalencia y la incidencia real de patología digestiva (Crew y cols. 2006).

En África, pese a los elevados niveles de colonización en individuos de todas las edades, las tasas de cáncer gástrico permanecen bajas (Bravo y cols. 2006). Para explicar esta cuestión se han postulado factores relacionados con la virulencia variable de diferentes cepas, el polimorfismo genético humano y el tipo de dieta (Segal y cols. 2001). No obstante, algunos autores sugieren que estas discrepancias pueden deberse a ciertos sesgos de determinados estudios llevados a cabo en entornos muy limitados a la asistencia sanitaria (riesgo de infradiagnóstico de cáncer) y una esperanza de vida corta (que evita la posibilidad de desarrollo de tumores en edades tardías)(Agha y cols. 2005).

En Asia, la infección es más frecuente en países poco desarrollados como India, Bangladesh, Pakistán o Tailandia (con niveles de seroprevalencia en adultos en entre el 55 y el 92%) (Singh y cols. 2006). Sin embargo, otras naciones como China y Japón, con cifras inferiores de seroprevalencia en adultos (44 y 55%, respectivamente), presentan unas mayores tasas de cáncer gástrico (32-59 y 80-115 por 100000 habitantes. Una posible justificación para estos hechos vendría dada por diferencias en la virulencia de las distintas cepas (prevalencia de cepas CagA positivas). Mientras que en Japón casi la totalidad de los pacientes infectados lo están por cepas Cag A positivas, en naciones occidentales una considerable proporción de estos casos está originado por CagA negativas (Danesh y cols. 2000). Dado que tanto la mayoría de los que sufren procesos menos graves (gastritis, úlcera gastroduodenal o gástrica) como los que presentan cuadros malignos albergan cepas CagA positivas esta hipótesis también ha sido cuestionada (Chiba y cols. 2006).

Es previsible que haya una tendencia al descenso de la prevalencia de la infección por Hp esto sólo se podrá lograr si se favorecen las transformaciones globales que propicien un desarrollo sanitario, social, económico y cultural que interfiera en la transmisión de la bacteria.

2.8. Diagnóstico de la infección

La colonización por Hp puede determinarse mediante métodos invasivos (que requieren realización de endoscopia con toma de biopsia gástrica) o no invasivos (métodos para los que no se requiere realización de endoscopia).

A la hora de elegir uno u otro método hay que tener en cuenta el fin (epidemiológico, diagnóstico o de seguimiento), el centro sanitario en el que nos encontraremos (experiencia del personal y disponibilidad de medios) y características del paciente (prevalencia de Hp en la población, edad del paciente, medicación previa, etc). Mientras que todos los métodos pueden servir para constatar la colonización por Hp (con diferentes porcentajes de sensibilidad y especificidad), la endoscopia con toma de biopsia para estudio histológico permitirá además diagnosticar la enfermedad. Por otra parte, el cultivo es imprescindible para poder conocer la sensibilidad de los antimicrobianos con el fin de aplicar el tratamiento más efectivo en cada paciente, y también para conocer los porcentajes de sensibilidad en cada población (Alarcón y cols. 1999).

2.8.1. Métodos invasivos

Histología y visión macroscópica

El estudio histológico de la biopsia permite conocer las lesiones de la mucosa además de detectar la infección

La confirmación histológica de la inflamación de la mucosa es fundamental para el diagnóstico de la gastritis y su clasificación. Además permite detectar zonas de metaplasia intestinal (Correa y cols. 1999).

La técnica de tinción es fácil, rápida, de bajo coste y de alta utilidad en el estudio de la infección por el microorganismo. Se han utilizado diferentes tinciones como la de Gram, Giemsa, Carbofuchina, o tinciones inmunohistoquímicas. La visión microscópica tiene una sensibilidad y especificidad menor que la del cultivo (López Brea y cols. 2007)

Recientemente se ha utilizado hibridación *in situ* que permite detectar a la bacteria y la resistencia a claritromicina directamente en las biopsias gástricas (Morris y cols. 2005).

Se ha descrito la posible observación *in vivo* de Hp durante la endoscopia, mediante endomicroscopía confocal, que permite observar a la bacteria en su nicho natural (Kiesslich y cols. 2005)

La mejor muestra para el estudio histológico es la biopsia del antro gástrico. Se recomienda también una muestra de cuerpo gástrico o de la zona de transición si el paciente ha tomado últimamente medicación supresora de ácido.

Prueba de la ureasa

Esta enzima le capacita a la bacteria para la colonización y para la persistencia en la cavidad gástrica. La prueba de la ureasa permite detectar la presencia de la descomposición de la urea en anhídrido carbónico y amoníaco, que se demuestra con un cambio de color en el medio, ya que contiene un indicador de pH.

La prueba de la ureasa rápida se puede realizar directamente con la muestra de biopsia gástrica, existen diferentes reactivos comerciales que contienen urea a diferentes concentraciones y un indicador de pH y varían en el diseño (Morio y cols. 2004).

Los resultados de sensibilidad y especificidad son en general superiores al 80% y 90%. La seguridad diagnóstica de la prueba depende del número de muestras de la localización de la biopsia utilizada, de la carga bacteriana y del tratamiento previo con antibióticos o con inhibidores de la bomba de protones, además de la prevalencia de Hp en la población (Tseng y cols. 2005).

Cultivo de *Helicobacter pylori*

El aislamiento mediante cultivo es el método más específico en el diagnóstico del microorganismo y presenta ventajas, como permitir el estudio de sensibilidad a los diferentes antimicrobianos, la caracterización de factores de virulencia y la posibilidad de tipado de cepas con fines epidemiológicos. No obstante, su sensibilidad varía en relación con la recogida, transporte y almacenamiento de la muestra, los medios de cultivo utilizados y las condiciones de incubación. Hp es un microorganismo lábil y el procesamiento de la muestra debe realizarse de una forma rápida una vez que ha sido obtenida (Ndip y cols. 2003).

Es capaz de desarrollarse en distintos medios de cultivo, si bien requieren suplementos como sangre y derivados (Jiang y cols. 2000). Para evitar los contaminantes que pueden acompañar a Hp en la biopsia es necesaria la utilización de antimicrobianos.

Es una bacteria microaerófila que requiere para su crecimiento una atmósfera con las siguientes características: 5-10% de O₂, 5-10% de CO₂ y 80-90% de N₂ a 35-37°C con una humedad del 95%.

La identificación se realiza mediante visión en fresco con un microscopio de contraste de fases para ver la morfología, o bien mediante tinción de Gram. Las pruebas positivas de catalasa, ureasa y oxidasa confirman la identificación como Hp.

La muestra más habitual para el cultivo es la mucosa gástrica pero también se han utilizado otras como jugo gástrico, la prueba del hilo (string test) o vómitos. Puntualmente también se ha cultivado de muestras extragástricas como placa dental, esófago, recto y vejiga urinaria.

Métodos moleculares

En los últimos años se han desarrollado numerosas técnicas que permiten detectar la presencia de ADN de Hp directamente en la biopsia gástrica, pero también en otro tipo de muestras como heces, saliva o agua (Simala-Grant y cols. 2004).

La mayoría de las técnicas se basan en la PCR tanto clásica como en tiempo real y presentan diferentes objetivos de diagnóstico, siendo los fundamentales los siguientes:

- Detección de genes específicos de la bacteria.
- Detección de factores de virulencia.
- Detección de mecanismos de resistencia.
- Como métodos de tipado para comparar aislamientos cultivados del mismo paciente o de familiares (Prouzet-Mauleon y cols. 2005).

2.8.2. Métodos no invasivos

Son de gran utilidad en la evaluación del seguimiento del tratamiento y en estudios epidemiológicos.

Determinación de anticuerpos

Hp provoca una respuesta inmunitaria, tanto local como sistémica, que comienza con un aumento transitorio de Ig M, y posteriormente un aumento de Ig G e Ig A que persisten durante la infección.

Existen numerosos métodos serológicos para detectar anticuerpos anti- *Helicobacter*, principalmente Ig G. Los resultados pueden variar de acuerdo con la clase de antígeno y la técnica serológica que se utilice, pero además dependen del método diagnóstico considerado como referencia, así como de la población estudiada (Marchildon y cols 2003).

Además la presencia de anticuerpos en suero no permite distinguir infección actual y antigua.

Se han utilizado varias clases de antígenos, que van desde células enteras o sonicadas hasta antígenos parcial o altamente purificados (ureasa, etc.). La detección de anticuerpos específicos contra algunas proteínas del microorganismo, como CagA y VacA puede tener especial interés en estudios sobre virulencia. Puesto que la detección de anticuerpos depende del antígeno utilizado, considerando la heterogeneidad genética de Hp y las variaciones geográficas, algunos autores recomiendan el uso de mezclas de antígenos procedentes de varias cepas para mejorar la sensibilidad de estas técnicas así como su valoración en cada medio.

La técnica más utilizada es el EIA cuantitativo, que permite, además del diagnóstico primario, la monitorización del tratamiento, aunque se deben analizar simultáneamente los dos sueros del paciente (pre y postratamiento) y se observará un descenso significativo en el título de anticuerpos después de 3-6 meses de tratamiento si se ha producido la erradicación.

Los métodos serológicos cualitativos muestran peores resultados y los métodos rápidos no se recomiendan.

Las técnicas que detectan anticuerpos en saliva y en orina son atractivas, ya que estas muestras son fáciles de obtener, pero en ellas, la concentración de anticuerpos es más baja que en suero. Los resultados prometedores de algunos trabajos no se han confirmado en estudios multicéntricos por lo que no se recomiendan en el diagnóstico.

Los métodos basados en la técnica del Western Blot se utilizan para el estudio de la respuesta frente a antígenos concretos, como CagA y VacA (López- Brea y cols. Procedimientos en Microbiología Clínica. SEIMC).

Prueba del aliento (Urea Breath Test:UBT)

Es un método indirecto para detectar la ureasa de Hp. Si la bacteria se encuentra en el estómago, va a hidrolizar la urea ingerida previamente (marcada con ^{13}C o ^{14}C) y se va a liberar CO_2 marcado que se absorbe, difunde a sangre, es transportado a los pulmones y liberado con el aliento. Se considera uno de los métodos no invasivos más seguros. La descripción del método se realizó utilizando un isótopo radioactivo (^{14}C) pero actualmente se realiza con isótopo no radioactivo (^{13}C). Algunas condiciones en la realización de la técnica no están completamente estandarizadas como el tipo de comida, la dosis de urea, el tiempo en el que se recogen las muestras o incluso el punto de corte (Pathak y cols. 2004).

El test del aliento indica una colonización actual por parte de la bacteria, ya que en una infección pasada el resultado sería negativo. Por esto es útil en el seguimiento del tratamiento realizado de 4 a 6 semanas después de finalizado.

El método tiene una excelente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico. Además es una prueba global que valora la presencia de Hp en todo el estómago, no es dependiente de las condiciones de transporte de la muestra, ni de la experiencia del personal técnico.

Recientemente, se está utilizando un analizador de espectrofotometría de infrarrojos que permite la realización de la técnica en la consulta del clínico en pocos minutos y los resultados se correlacionan con los obtenidos mediante espectrofotometría de masas (Kato y cols. 2004)

Antígeno en heces

Es un método directo que permite la detección de antígeno de Hp en muestras de heces (Andrews y cols. 2001). Existen varios sistemas comerciales que permiten detectar la presencia de antígeno en heces con anticuerpos policlonales o monoclonales.

Se ha descrito como una técnica válida para establecer el diagnóstico inicial, verificar la eficacia del tratamiento en las cuatro o seis semanas posteriores a su realización y comprobar la reaparición de una infección. Se trata de un ensayo cualitativo (no cuantitativo). La técnica aporta una información muy valiosa por la fácil obtención y conservación de las muestras, se puede realizar en cualquier laboratorio de microbiología y no necesita la colaboración del paciente (como en el caso de la prueba del aliento). Es muy útil en niños pequeños. Puede utilizarse tanto para el diagnóstico de colonización por Hp como para el seguimiento después del tratamiento erradicador.

El primer kit comercializado (Premier Platinum HpSA) es un ELISA con anticuerpos policlonales. Posteriormente se desarrolló un ELISA basado en anticuerpos monoclonales (Amplified IDEIA HpStAR o Femtolab).

Actualmente también existen ensayos rápidos de inmunocromatografía basados en anticuerpos monoclonales, que tienen la ventaja de ser rápidos (en 10 minutos) y fáciles de realizar.

Los kits que utilizan anticuerpos monoclonales presentan mejores resultados de sensibilidad (de 88% a 98% según los estudios).

Por lo tanto, en función de los estudios actualmente disponibles, el sistema más recomendable es el sistema de EIA con anticuerpos monoclonales por sus mejores resultados en cuanto a sensibilidad de la técnica y por la buena reproducibilidad (López Brea y cols. 2007).

2.9. Tratamiento

En general se recomienda que una vez determinada la colonización por Hp, el tratamiento debe ser ofrecido a todos aquellos pacientes que presenten síntomas gastroduodenales, aún en ausencia de enfermedad ulcerosa. Si ésta existiera la indicación sería absoluta (American Gastroenterological Association. 1998).

Es aconsejable la realización previa de endoscopia con toma de biopsia para histología y cultivo microbiológico con estudio de resistencias antibióticas, lo que facilitará la instauración de un tratamiento correcto desde la primera pauta.

El hallazgo de gastritis por Hp en ausencia de úlcera péptica y de sintomatología específica, durante la realización de una endoscopia por otro motivo, supone un dilema para el digestivo. En esta situación no existe evidencia de beneficio para el paciente (López- Brea y cols. 2007).

Se ha especulado con la relación entre el reflujo gastroesofágico y la colonización por Hp y sobre la conveniencia de tratar previamente el reflujo antes que la infección. En la actualidad se aconseja erradicar la bacteria previamente a la instauración de tratamiento prolongado con inhibidores de la bomba de protones (IBP) (Moayyedi y cols. 2006) (Greenwald y cols 2004)

El tratamiento de los familiares colonizados asintomáticos como prevención de colonizaciones posteriores ha sido recomendado por algunos autores sin que exista evidencia de su beneficio.

El tratamiento ideal es aquel que consigue tasas de erradicación elevadas, superiores al 90%, de corta duración para asegurar el cumplimiento y con mínimos efectos secundarios.

El tratamiento para Hp es la triple terapia que consiste en la administración combinada de dos antibióticos y un antisecretores o sales de bismuto (Collins y cols. 2006).

La combinación de omeprazol, amoxicilina y claritromicina es la primera pauta de elección en adultos, con tasas de erradicación en los primeros estudios en torno al 90, pero que han disminuido claramente en los últimos años. Hay estudios que corroboran una relación directa entre sensibilidad a claritromicina y tasa de erradicación. Ésta puede ser la explicación de los mejores resultados que se obtienen con pautas que combinan metronidazol o tinidazol (Martínez 2007).

La respuesta a la terapia se ve influida por la duración de la misma. En general, los mejores resultados se han obtenido con pautas de dos semanas, aunque existen discrepancias en este sentido, habiéndose obtenido resultados aceptables con pautas de una semana de duración.

La respuesta al tratamiento debe ser monitorizada con el test del aliento realizado entre las cuatro y ocho semanas después de la finalización del mismo.

En el caso de fracaso terapéutico, será la presencia o no de sintomatología digestiva la que indique la instauración de una segunda pauta de tratamiento.

El aumento de resistencias contra el limitado número de antibióticos utilizados en el tratamiento de la infección compromete el éxito terapéutico.

La adición de un IBP sigue siendo objeto de controversia. Determinados estudios sugieren que la adición de éstos potencian la acción antibiótica; sin embargo, en otros trabajos, no se han demostrado diferencias entre tratar con dos antibióticos solamente o en combinación con un antisecretor (Mártinez 2007).

En el caso de fracaso del tratamiento con persistencia de la sintomatología o en caso de enfermedad ulcerosa previa es obligatorio repetir el tratamiento. De forma empírica se puede utilizar una combinación antibiótica no realizada previamente, pero es preferible en esta situación realizar endoscopia con toma de biopsia para cultivo de y estudio de resistencias antibióticas. El tratamiento orientado garantiza un mayor porcentaje de éxito terapéutico.

Otra de las razones de fracaso es la falta de adhesión al tratamiento.

Algunos de los antibióticos efectivos frente a Hp son: tetraciclina, quinolonas, rifampicina y rifaximina (Quesada y cols. 2004).

Las quinolonas, como el ciprofloxacino pueden tener indicación en las pautas de rescate. La rifamixina es un nuevo antibiótico semisintético derivado de la rifampicina, que ha demostrado buena actividad tanto *in vivo* como *in vitro* frente a esta bacteria, sin efectos secundarios en tratamientos cortos y que puede ser utilizado en tratamientos de rescate (Gasbarrini y cols. 2006).

Se ha propuesto el uso de probióticos de cara a conseguir un aumento de la tasa de erradicación de Hp y en los últimos años se han multiplicado los estudios en este campo (Dixon y cols. 2003).

Se ha demostrado que *Lactobacillus reuteri* posee una proteína en su superficie celular que inhibe la unión de Hp a los receptores de glicolípidos de membrana, lo que da lugar a una competencia con el receptor que impide la colonización (Mukai y cols. 2002).

Estudios clínicos han demostrado la disminución de los valores de Urea C¹³ tras la administración de *Lactobacillus acidophilus* y la erradicación de la bacteria en 6 de 14 pacientes a los que se administró solamente este probiótico. Resultados similares se han comunicado tras la administración de *Lactobacillus gasseri* (Gotteland y cols 2006).

La interacción entre Hp y *Clostridium butyricum* se ha estudiado *in vitro* e *in vivo* en animales de experimentación, demostrándose un efecto bactericida del ácido butírico sobre Hp superior al de otros ácidos orgánicos y que conlleva la curación de la infección crónica tras la administración de *C. butyricum* durante cinco semanas (Quasim y cols. 2002).

En este mismo sentido concluyen determinados estudios realizados con *L. acidophilus* añadidos al yogur en el que obtuvieron disminución del crecimiento de colonias de Hp.

Se ha demostrado la actividad *in vitro* de *Bacillus subtilis* frente a Hp, debido a la producción de anticoumacina A, una sustancia con propiedades antibióticas y efecto antiinflamatorio (Canducci y cols. 2002).

Por otra parte, en trabajos publicados se ha descrito que la adición de yogur conteniendo *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* a la triple terapia convencional mejora de forma muy significativa la tasa de erradicación (98 frente a 78) (Wendakoon y cols. 2002).

Además, numerosos estudios demuestran que la utilización de probióticos como *Lactobacillus* spp y *Sacharomyces boulardii* previenen de forma significativa la aparición de efectos colaterales durante el tratamiento (Cremonini y cols. 2002).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Población estudiada

Participaron en nuestro estudio 53 alumnos de primer curso (grupo 1) y 41 de quinto curso (grupo 2) de la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada y 40 alumnos de la misma Universidad no relacionados con el ámbito sanitario como grupo control (grupo 3), con una edad comprendida entre los 18-19 años, los del grupo 1 y 22-25 los de los grupos 2 y 3. La recogida de muestras y de datos se efectuó durante el curso académico 2006/2007.

A todos los participantes que se ofrecieron voluntariamente a colaborar en el trabajo de investigación, se les informó del propósito del estudio y de las condiciones necesarias para formar parte de él. Ellos dieron su consentimiento por escrito. En todos los casos se contó con la autorización expresa de los decanos de los centros universitarios implicados.

3.2. Métodos

A todos los pacientes se les realizó un cuestionario, una exploración bucodental y se les tomó muestra de heces para detección de antígeno de Hp, muestra de sangre para la detección de anticuerpos totales y anticuerpos tipo Ig A en suero y se les sometió al test del aliento. A los resultados obtenidos se les aplicó los métodos estadísticos oportunos.

3.2.1. Encuesta

A todos los alumnos que participaron en el estudio se les plantearon una serie de cuestiones; además de datos personales, se les preguntó sobre posibles factores de riesgo para ser colonizado por Hp y por situaciones en las que podrían verse alterados los resultados y en su caso el paciente sería excluido, como por ejemplo tomar antibióticos dos semanas antes del examen. En la Figura 7 se refleja el cuestionario que se pasó a los participantes del estudio.



LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA INVESTIGACIÓN
DE *Helicobacter pylori*

1- Nombre:

2- Apellidos:

3- Fecha de nacimiento:

4- Sexo: Femenino Masculino

5- Curso de la titulación que está realizando que cursa:

6- Año en que empezó la licenciatura: _____

7- Años de prácticas clínicas (si procede):

8- Haga una cruz si padece alguna de estas enfermedades:

- Gastritis
- Úlcera péptica
- Carcinoma gástrico
- Diabetes
- VIH
- Úlceras orales aftosas
- Anemia por déficit de vitamina B12

9- ¿Padece alguno de sus familiares cercanos o su pareja una enfermedad gastrointestinal? En caso afirmativo indique quién y cual:

10- Haga una cruz si ha tomado las dos últimas semanas alguno de estos medicamentos:

- Antibióticos
- Inhibidores de la bomba de protones
- Sales de bismuto
- Warfarina
- Digoxina
- Cisapride
- Antihistamínicos
- Teofilinas

11- ¿Es alérgico a alguno de estos medicamentos?

- Macrólidos
- Inhibidores bomba de protones
- 5-Nitroimidazol

12- ¿Está tomando algún otro medicamento? ¿Cuál?

13- ¿Es grupo sanguíneo B?

14- ¿Fuma? no sí
(Considere sí, si fuma 10 o más cigarrillos al día)

15- Bebe: no
(Considere sí, si bebe más de 33 cl de cerveza o similar al día)

16- ¿Se cepilla los dientes?
no regularmente
una vez al día
dos o más veces al día

17- ¿Utiliza aparatología de ortodoncia?

Sí
No

Las muestras recogidas sólo servirán para investigar *H. pylori*. Los datos personales y resultados se conservaran en la más estricta confidencialidad. Los participantes podrán obtener un informe de la analítica llevada a cabo debidamente firmado y sellado por el director del trabajo y el director de la cátedra correspondiente.

Gracias por participar en este estudio:
José Liébana Ureña - Microbiología.
María Andrades Ortega

Figura 7. Cuestionario

3.2.2. Exploración bucodental

A todos los alumnos se les efectuó una exploración bucodental en la propia Facultad de Odontología, en el gabinete de Propedéutica (Figura 8). El material que se utilizó consistía en guantes y mascarillas desechables, servilletas de papel, sondas de exploración periodontal, espejos y revelador de placa (Figura 9).



Figura 8. Exploración bucodental



Figura 9: Material para la exploración bucodental

Todas las exploraciones se realizaron por dos odontólogos (A) y (B). La concordancia de los resultados se evaluó con el índice Kappa, se obtuvieron unos resultados superiores a 0,80, lo que indica que la concordancia fue buena.

Las variables que se estudiaron en la exploración oral fueron el índice de placa y el índice gingival.

A. Índice de placa (IP) (O'Leary y cols 1972)

Para calcular el índice de placa, los alumnos masticaron una tableta de eritrosina 12 mg. (plac-control) (Figura 10) hasta su total disolución. La existencia de placa se pone de manifiesto porque ésta se tiñe de rojo (Figura 11).



Figura 10. Revelador de placa bacteriana



Figura 11. Placa teñida de rojo

Para calcular el índice de placa se anotó la presencia o ausencia de placa en las caras mesial, distal, vestibular y lingual. La puntuación final se determinó contando el número total de caras con placa, dividido entre la cantidad total de caras presentes en la boca y multiplicado por 100 (Figura 12).

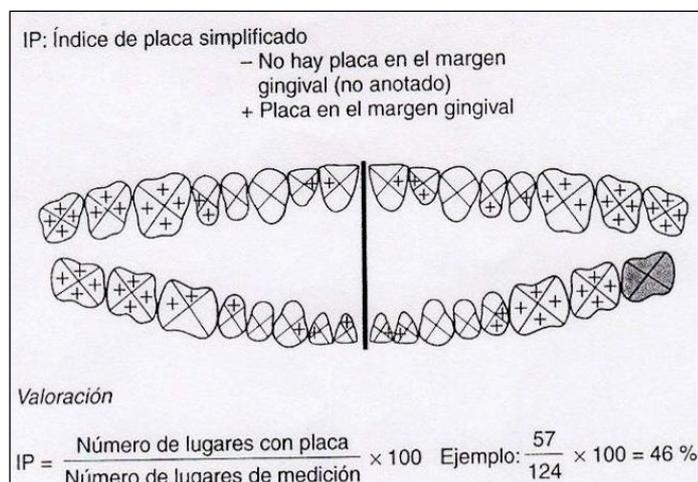


Figura 12. Cálculo del índice de placa

B. Índice gingival. (Ainamo y Bay, 1975)

Se observó si las cuatro superficies dentales sangraban al sondaje (Figura 13). De esta manera, la afectación por gingivitis pudo expresarse porcentualmente (Figura 14).



Figura 13. Sangrado gingival

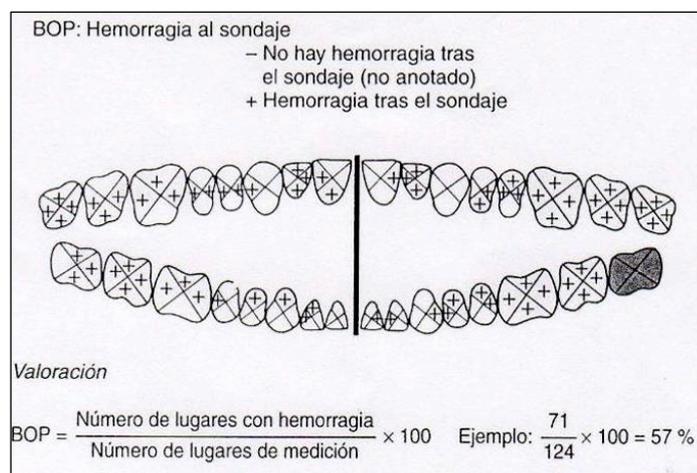


Figura 14. Cálculo del índice gingival

3.2.3. Detección de antígeno de Hp en heces

Las técnicas inmunocromatográficas utilizadas de detección de antígenos permiten comprobar la presencia de microorganismos o de fragmentos de los mismos en las muestras clínicas. Su desarrollo se inició con el propósito de poder acelerar el diagnóstico de las enfermedades. Son técnicas especialmente útiles en aquellos casos en que el microorganismo causal crece lentamente o bien, no lo hace en los medios de cultivo.

Estas técnicas inmunocromatográficas se fundamentan en la afinidad antígeno-anticuerpo. De forma que si se dispone de anticuerpos específicos se pueden detectar los antígenos correspondientes. Los anticuerpos específicos empleados en estas técnicas son obtenidos como antiseros de animales inmunizados, que serían anticuerpos policlonales, o por producción *in vitro* mediante hibridomas con la obtención de anticuerpos monoclonales. Estos últimos pueden utilizarse solos o combinando diferentes anticuerpos dirigidos contra dos o más epítomos diferentes.

Fundamento de la Inmunocromatografía:

Sobre una membrana de nitrocelulosa o *nylon* se encuentran absorbidos en la línea de reacción anticuerpos contra el antígeno que se investiga y sobre la línea control anticuerpos anti-conjugado, de forma que cuando la muestra contiene antígeno, este fluye por la membrana quedando retenido en la línea de reacción. El conjugado, que también es un anticuerpo específico frente al antígeno que se investiga, está marcado con una molécula de oro coloidal, que también fluye por la membrana, es retenido por el antígeno en la línea de reacción y por el anticuerpo en la línea control (Figura 15). En el caso de muestras negativas que no contienen antígeno, el conjugado es retenido únicamente en la línea control. Hemos empleado dos técnicas de detección de antígeno.

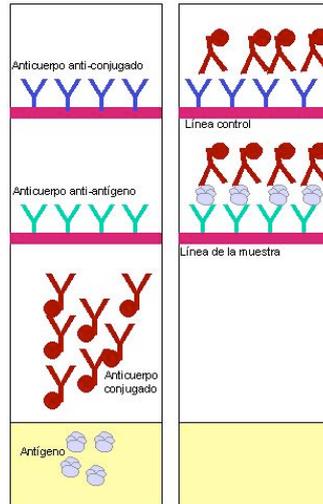


Figura 15. Fundamento de la inmunocromatografía

En nuestro estudio se han empleado 2 técnicas inmunocromatográficas para detección de antígeno de Hp en heces.

A. Técnica 1. Inmunoensayo rápido de flujo lateral

Esta técnica permite detectar antígenos de Hp en la materia fecal humana. (ImmunoCard STAT!®HpSA® (Ref 750720) Meridian Bioscience® Inc. Milán. Italia.)

Procedimiento:

1. Antes de empezar, los reactivos y las muestras se atemperan hasta alcanzar la temperatura ambiente (Figura16).



Figura 16. Dispositivos necesarios para la inmunocromatografía

2. Se toma con un aplicador adjunto a la tapa del frasco una pequeña porción de heces (aproximadamente 5-6 mm de diámetro).
3. Se agita durante 15 segundos (Figura 17).



- Figura 17. Dispersión de la muestra en el diluyente mediante agitación automática
4. Se rompe la punta del frasco de diluyente de la muestras y se añaden 4 gotas en la ventana redonda indicada por una flecha (Figura 18).

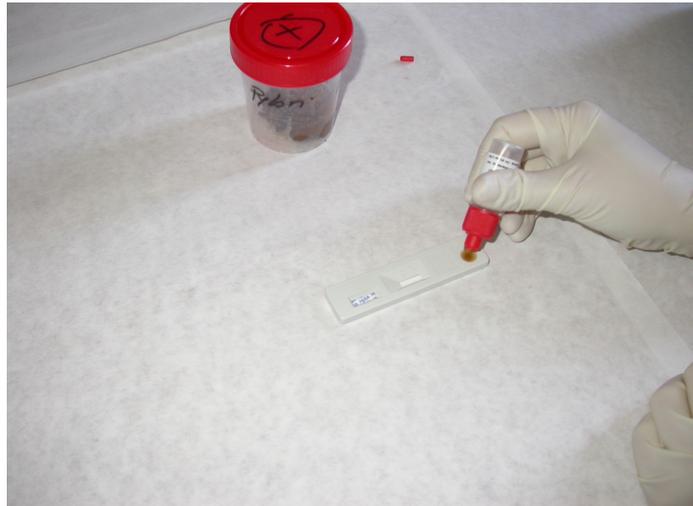


Figura 18. Adición de la muestra al dispositivo de reacción

5. Se incuba a temperatura ambiente durante 5 minutos.

6. Se leen los resultados 1 minuto después.

Interpretación de los resultados:

Resultado negativo: Aparece una línea azul (línea de control) en la ventana del dispositivo contigua a la letra "C" (Figura 19).



Figura 19. Resultado negativo

Resultado positivo: además de la línea azul (Línea de Control), aparece también otra de color rojo (línea de resultado) en la ventana del dispositivo contigua a la letra "T" (Figura 20).

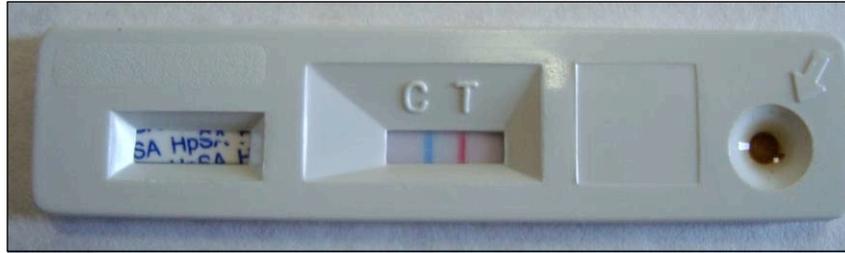


Figura 20. Resultado positivo

B. Técnica 2. Inmunocromatografía de un solo paso

Permite la detección cualitativa de Hp en heces. (Letitest (ref PG820127F) Letidiagnosticos. Madrid.)

Procedimiento:

1. Se toma una pequeña cantidad de heces con el aplicador y se introduce en el tampón cerrando el tubo.
2. Se agita el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión (Figura 21).

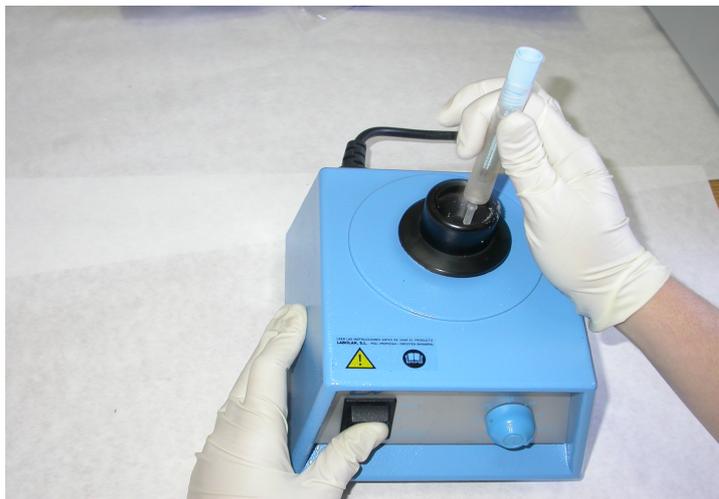


Figura 21. Agitación automática del tubo de dilución con la muestra

4. Se depositan 5 gotas en la ventana de adición de la muestra (Figura 22)



Figura 22. Adición de la muestra

5. Se leen los resultados a los 10 minutos

Interpretación de los resultados

Negativo: Una sola línea de color rojo aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra “C” (Figura 23).

Positivo: Además de la línea de control rojo, también aparece otra en la zona marcada con la letra “T” (Figura 23).



Figura 23. Resultado negativo y positivo

3.2.4. Detección de anticuerpos frente a Hp en suero

Todos los sueros de los participantes en el estudio fueron testados por una técnica de aglutinación que detecta anticuerpos totales (Helicogen) y los positivos se procesaron por una técnica de enzimoimmunoensayo para determinar la existencia de anticuerpos Ig A.

A. Detección de anticuerpos totales

Todos los sueros de los participantes en el estudio fueron testados por una técnica de aglutinación que detecta anticuerpos totales (Helicogen) y los resultados positivos se procesaron por una técnica de enzimoimmunoensayo para determinar la existencia de anticuerpos Ig A.

Fundamento

Si en el suero existen anticuerpos se unirán al reactivo constituido por una suspensión desecada de partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme sensibilizadas con antígeno de Hp. Si debido a la presencia de anticuerpo anti-Hp en el suero se produce la unión Ag-Ac la suspensión de látex pierde su aspecto uniforme haciéndose evidente una clara aglutinación.

Procedimiento:

1. Se dejan que los reactivos alcancen la temperatura ambiente.
2. Se pipetea 30 µl de tampón de dilución junto a la gota de látex desecado.
3. Se dosifican 10 µl de suero directamente sobre la gota de tampón de dilución. Se mezcla bien aspirando y expulsando como mínimo cinco veces con la misma pipeta y se dosifica una gota de cada control junto a la gota de reactivo látex desecado.
4. Se agita el portaobjetos en un agitador rotatorio (80-100 rpm) durante 3 minutos.
5. Se observa la presencia o ausencia de aglutinación

Interpretación de los resultados:

Resultado positivo: presencia de aglutinación. Esto indica un nivel detectable de anticuerpos específicos anti-Hp en el suero, pero no distingue entre la forma activa o pasiva de la enfermedad o una colonización del paciente. Un resultado positivo no indica necesariamente un trastorno gastrointestinal.

Resultado negativo: ausencia de aglutinación, indica que el paciente no tiene niveles detectables de anticuerpos específicos anti-Hp. Esto puede suceder cuando se analiza un paciente en una fase precoz del desarrollo de la enfermedad, antes de que se haya producido la respuesta inmunológica.

B. Detección de anticuerpos tipo Ig A

Se realizó mediante una técnica de de ELISA para la detección cualitativa y cuantitativa de anticuerpos Ig A anti-Hp en suero humano (bioelisa HELICOBACTER IgA (Ref 3000-1142) Biokit S.A. 08186 Lliçà d'Amunt. Barcelona).

Fundamento

Es un test de ELISA para la detección cualitativa y cuantitativa de anticuerpos Ig A Anti-Hp en suero humano.

Se añaden muestras diluidas de suero en los pocillos de una microplaca recubiertos con antígenos de Hp y se incuban. Si la muestra presentaba anticuerpos anti-Hp, éstos se combinan con los antígenos fijados al pocillo. A continuación, se lavan los mismos para eliminar la muestra residual y se añaden anticuerpos anti-IgA humanos marcados con una enzima (conjugado). El conjugado se fijará a las IgA anti-Hp que se han unido a los antígenos del pocillo durante la primera incubación. Se lava nuevamente el pocillo para eliminar el material no unido y se incubó con sustrato de enzima conteniendo cromógeno. Esta solución desarrollará un color azul si la muestra presentaba IgA anti-Hp que cambia a amarillo al parar la reacción mediante la adición de sulfúrico. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de IgA anti-Hp presente en la muestra. La concentración de anticuerpos en la muestra puede determinarse a partir de una curva de calibración.

Procedimiento:

1. Se pipetea 100 μ l de cada calibrador en dos pocillos de la microplaca.
2. Se pipetea 100 μ l de cada muestra diluida en los pocillos correspondientes. Se deja vacío un pocillo para el blanco del sustrato.
3. Se cubre la placa con una lámina adhesiva y se incuba durante 45 minutos a 37 °C.
4. Se desecha la lámina adhesiva. Se aspira el contenido de los pocillos y se llenan completamente con solución de lavado diluida. Se repite el proceso de aspiración y lavado 3 veces más. Después del último lavado se golpea la placa invertida sobre el papel absorbente para eliminar cualquier exceso de líquido en los pocillos.
5. Se transfieren 100 μ l de conjugado a cada pocillo, a excepción del destinado al blanco de sustrato.
6. Se cubre la placa con una lámina adhesiva incubando durante 45 minutos a 37°C.
7. Se desecha la lámina adhesiva. Se aspira y lava la placa como en el punto 4.
8. Se añaden 100 μ l de sustrato a todos los pocillos, incluso el blanco.
9. Se incuba durante 10 minutos a temperatura ambiente.
10. Se añaden 100 μ l de solución de parada a cada pocillo guardando la misma secuencia y con los mismos intervalos que en la adición del sustrato.
11. Se ajusta el cero del lector de microplacas con el pocillo del blanco a 450 nm y se lee la absorbancia de cada uno de los pocillos en el plazo máximo de 30 minutos. Se recomienda hacer la lectura biocromática utilizando un filtro de referencia de 620-630 nm.

Interpretación de los resultados:

Se calcula la absorbancia promedio del calibrador número 2. El valor que se obtiene es el umbral.

Resultado positivo: las muestras que presenten un valor de absorbancia igual o superior al valor umbral.

Resultado negativo: las muestras que presenten un valor de absorbancia inferior al valor umbral.

3.2.5. Test del Aliento

Se usó el kit comercializado UBTest de Otsuka Pharmaceutical S.A. (ref. 918615) (Figura 24).



Figura 24. Material necesario para la realización del test del aliento

Los alumnos acudieron por la mañana a la realización de la prueba, en ayunas por un mínimo de 8 horas. Se les hizo descansar durante diez minutos antes de la prueba y durante el transcurso de la misma permanecieron sentados.

Metodología

1. Se toma una primera muestra para lo cual se expulsa el aire expirado a través de una pajita en un tubo exetainer, hasta la aparición de aire condensado en el interior.
2. A continuación se les administra una solución de 4,2 gr de ácido cítrico disuelto en agua, con un edulcorante para mejorar el sabor. Con esta solución se toma un comprimido de urea marcada.
3. Después de la ingestión, se enjuaga la boca 2 ó 3 veces con agua con el fin de eliminar cualquier cantidad residual de ^{13}C -Urea en la boca.
4. Se cambia de posición a decúbito lateral izquierdo durante 5 minutos y posteriormente permanecen sentados hasta el segundo muestreo.
5. Transcurridos 20 minutos de la ingestión de la solución, se recoge la segunda muestra respiratoria en la bolsa debidamente etiquetada.

Interpretación de los resultados

Las bolsas utilizadas en la prueba se enviaron a Barcelona al laboratorio Otsuka Pharmaceutical S.A. La lectura de una muestra basal y otra posterior, se realiza por espectrometría de masas. El resultado se expresa en unidades delta, que es el tanto por mil de la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de la prueba respecto a unos valores de referencia. Esta relación se obtiene al inicio de la prueba y después de la ingesta de la urea marcada, siendo el resultado final la diferencia entre ambos. Valores superiores a 5 unidades delta se consideran positivos.

3.2.6. Métodos estadísticos

El estudio realizado es un estudio transversal, basado en distintos grupos poblacionales de alumnos de la Universidad de Granada.

Para los test estadísticos realizados se ha utilizado el programa SPSS versión 14.0 . Se han elegido los test estadísticos paramétricos, en todos los contrastes de hipótesis, bien porque se cumplía la condición de distribución

normal de las variables aleatorias en estudio o bien porque la muestra a estudio presentaba un tamaño mayor de 30.

Los test estadísticos empleados en el contraste de hipótesis fueron:

- Índice kappa: cuando se trata de medir el grado de acuerdo entre varios métodos cuando las variables cualitativas son dicotómicas.
- t- Student: cuando una variable aleatoria era cualitativa dicotómica y la otra cuantitativa
- Chi- Cuadrado de Pearson: cuando ambas variables aleatorias eran cualitativas, con dos o más categorías.
- Test exacto de Fischer: cuando las variables son cualitativas y la muestra es pequeña.
- Análisis de correlación de Pearson y curva de regresión cuando las variables eran cuantitativas.

4. RESULTADOS

4.1. Grupo 1. Alumnos de primer curso de Odontología

Datos epidemiológicos

Formado por 53 alumnos pertenecientes al primer curso de la facultad de Odontología de los cuales 38 eran mujeres y 15 hombres con una edad media de 18,2 años.

A través de una encuesta se recogieron distintas variables como: edad, sexo, antecedentes familiares de enfermedad gástrica, presencia de grupo sanguíneo B, el consumo de tabaco (considerándose fumador aquel que fuma más de 10 cigarrillos al día), el de alcohol (considerándose bebedor aquel que bebe más de 33 cl de cerveza al día) y la utilización de ortodoncia. Los datos de las variables quedan recogidas en la tabla 1 y en la tabla 2 se expresan los porcentajes obtenidos en cada variable para este grupo.

Tabla 1. Datos epidemiológicos del grupo 1

Número	Sexo	Edad	Antecedentes familiares	Grupo sanguíneo B	Fumador	Consumidor de alcohol	Ortodoncia
1	M	18	NS/NC	SI	NO	NO	NO
2	F	18	NS/NC	NO	NO	NO	NO
3	F	19	SI	SI	SI	SI	SI
4	F	18	NS/NC	NS/NC	NO	SI	SI
5	F	18	NO	NO	NO	SI	NO
6	F	18	NS/NC	NO	NO	NO	NO
7	F	18	NO	NO	NO	NO	NO
8	M	18	NO	NO	NO	NO	NO
9	M	19	NS/NC	NO	NO	SI	NO
10	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	NO
11	F	18	SI	NO	NO	SI	NO
12	F	18	NO	NO	NO	SI	NO
13	F	18	NS/NC	NO	NO	NO	SI
14	F	18	NO	SI	NO	SI	NO
15	M	18	SI	NO	NO	SI	NO
16	F	18	NS/NC	NO	NO	NO	SI
17	F	18	SI	NO	NO	SI	NO
18	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	NO
19	F	18	NO	NO	NO	NO	SI
20	F	18	NO	SI	NO	NO	NO
21	M	18	NS/NC	SI	NO	SI	NO
22	F	18	SI	SI	NO	NO	NO
23	M	19	NS/NC	NS/NC	SI	SI	NO
24	F	19	NS/NC	NO	NO	SI	SI
25	F	18	NS/NC	NS/NC	NO	SI	NO
26	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	SI
27	M	18	NO	NO	NO	SI	NO
28	M	18	NO	NO	NO	SI	NO
29	M	18	NO	SI	NO	NO	NO
30	F	19	NS/NC	NO	NO	NO	NO
31	F	18	SI	NO	SI	SI	SI
32	M	18	NO	NO	NO	SI	NO
33	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	SI

34	F	18	SI	NO	SI	NO	NO
35	F	18	NS/NC	NS/NC	NO	SI	NO
36	M	19	NO	NO	NO	SI	NO
37	M	18	NO	NO	NO	SI	NO
38	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	SI
39	M	18	NS/NC	NS/NC	NO	SI	NO
40	F	18	SI	NO	NO	SI	NO
41	F	18	SI	SI	SI	SI	SI
42	M	18	SI	NO	NO	SI	NO
43	F	19	NS/NC	NO	NO	SI	SI
44	F	18	NS/NC	NS/NC	NO	SI	SI
45	F	18	NO	NO	NO	NO	SI
46	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	SI
47	F	18	NO	NO	SI	SI	NO
48	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	NO
49	F	19	NO	NO	NO	SI	NO
50	M	18	NS/NC	NS/NC	NO	SI	SI
51	F	18	NO	NO	SI	SI	NO
52	F	18	NS/NC	NO	NO	SI	NO
53	F	18	NO	NO	SI	SI	SI

Tabla 2. Resumen de variables grupo 1

Sexo	Masculino	15 (28,3%)
	Femenino	38 (71,7%)
Edad	18 años	45 (84,9%)
	19 años	8 (15,1%)
Antecedentes familiares	Si	10 (18,9%)
	No	18 (34,0%)
	Ns/Nc	25 (47,1%)
Grupo sanguíneo B	Si	8 (15,1%)
	No	38 (71,7%)
	Ns/Nc	7 (13,2%)
Fumador	Si	8 (15,1%)
	No	45 (84,9%)
Consumidor de alcohol	Si	39 (73,6%)
	No	14 (26,4%)
Ortodoncia	Si	17 (32,1%)
	No	36 (67,9%)

Exploración bucodental

Los resultados del examen bucodental para determinar el índice de placa e índice gingival se refleja en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la exploración bucodental del grupo 1

Número	Índice de placa	Índice gingival
1	23,21%	0,00%
2	22,32%	8,03%
3	21,40%	9,00%
4	0,80%	7,25%
5	22,32%	5,35%
6	11,67%	19,64%
7	6,70%	2,10%
8	4,08%	0,00%
9	26,78%	7,14%
10	6,45%	1,61%
11	10,48%	5,64%
12	5,62%	2,10%
13	15,17%	12,50%
14	1,78%	6,66%
15	52,67%	0,89%
16	0,00%	0,00%
17	6,25%	5,35%
18	5,91%	2,67%
19	57,50%	19,16%
20	10,17%	0,00%
21	11,71%	2,67%
22	7,14%	14,28%
23	5,61%	1,29%
24	21,42%	9,82%
25	1,66%	6,66%
26	12,50%	11,60%
27	29,83%	3,22%
28	26,72%	8,62%
29	33,59%	18,75%
30	20,00%	16,60%
31	13,88%	19,44%
32	7,51%	1,30%
33	20,68%	15,51%
34	15,51%	37,03%
35	7,14%	1,78%
36	44,16%	8,33%
37	12,50%	58,92%
38	20,53%	7,14%
39	18,75%	5,35%
40	23,21%	8,03%
41	20,50%	8,56%
42	14,65%	12,93%
43	19,64%	4,46%
44	20,53%	1,78%
45	23,21%	0,00%

46	20,37%	13,88%
47	16,40%	6,25%
48	12,06%	7,75%
49	5,35%	0,89%
50	30,00%	18,30%
51	5,35%	14,28%
52	15,17%	5,64%
53	19,64%	7,14%

Para detectar la presencia de Hp se han utilizado distintas técnicas diagnósticas: métodos de detección de antígenos en heces, determinación de anticuerpos y test del aliento.

Detección de Hp en heces

Se han usado dos técnicas distintas de detección de antígeno de Hp en heces; un inmunoensayo rápido de flujo lateral (técnica 1) y una inmunocromatografía de un solo paso (técnica 2). Los resultados obtenidos con ambas técnicas quedan expresados en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la determinación de antígeno en heces en el grupo 1

		Técnica 2 (n=53)		
		Positivo	Negativo	Total
Técnica 1 (n=53)	Positivo	17	2	19
	Negativo	4	30	34
	Total	21	32	53

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral

Técnica 2: Inmunocromatografía de un solo paso

Treinta muestras (56,6%) fueron negativas y 17 (32,1%) positivas por ambas técnicas. Se obtuvieron 6 resultados discordantes; 4 positivos por la inmunocromatografía de uno solo paso que fueron negativos por el inmunoensayo rápido de flujo lateral y 2 positivas por ésta última técnica que fueron negativas por la técnica inmunocromatográfica de un solo paso.

En las figuras 25 y 26 quedan expresados los porcentajes obtenidos por los métodos de detección de antígenos de Hp en heces utilizados en las 53 muestras del grupo 1.

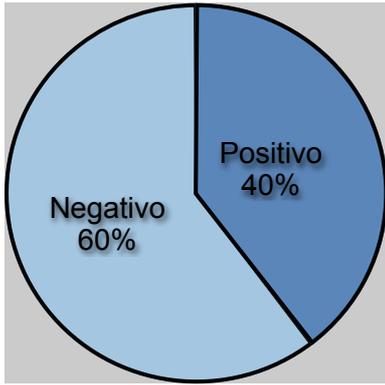


Figura 25. Resultados técnica 1

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral

Técnica 2: Inmuncormatografía de un solo paso

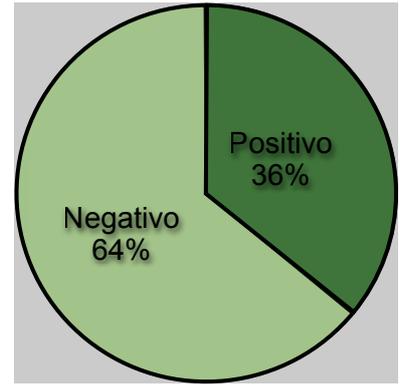


Figura 26. Resultados técnica 2

Detección de anticuerpos en suero

Todos los sueros han sido sometidos a una técnica de determinación de anticuerpos totales frente a Hp y los que resultaron positivos se procesaron por una técnica de enzimoensayo para determinar la existencia de anticuerpos Ig A específicos.

El 52,8% del grupo 1 dieron positivo en la técnica de detección de anticuerpos totales y el 32,1% de ellos en la que detecta Ig A (Tabla 5). Once muestras en las cuales se detectaron anticuerpos totales frente Hp fueron negativas a la segunda técnica que determina anticuerpos tipo Ig A.

Tabla 5. Resultados de la detección de anticuerpos del grupo 1

	Detección de anticuerpos	
	Ac totales +	Ac Ig A
Grupo 1 (n = 53)	28 (52,8%)	17 (32,1%)

Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A

Test del aliento

En la tabla 6 se observan los resultados del test del aliento del grupo 1.

Tabla 6. Resultados del test del aliento del grupo 1

	Test del aliento	
	Positivo	Negativo
Grupo 1 (n = 53)	17 (32,1%)	36 (67,9%)

A modo de resumen la tabla 7 muestra todos los resultados obtenidos por los distintos métodos de detección de Hp utilizados.

Tabla 7. Resultados de las técnicas diagnósticas utilizadas en el grupo 1

Número	Detección de antígeno		Detección de anticuerpos		Test del aliento
	Técnica 1	Técnica 2	Ac totales	Ac IgA	
1	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+
4	-	-	+	-	-
5	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	+
7	-	-	-	-	-
8	-	-	+	-	-
9	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	-	+	+	-	-
15	+	+	+	+	+
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-
18	+	+	+	-	-
19	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	+	-	-
22	-	-	-	-	-
23	+	-	+	-	-
24	-	+	+	+	+
25	-	-	-	-	-
26	+	+	+	+	+
27	+	+	+	+	+
28	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-
30	-	+	+	-	-
31	-	-	-	-	-

32	-	-	-		-
33	-	-	+	-	-
34	-	-	-		-
35	+	+	+	+	+
36	-	-	-		-
37	+	+	+	-	-
38	+	+	+	-	-
39	-	-	-		-
40	-	-	+	+	+
41	+	+	+	+	+
42	-	-	-		-
43	+	+	+	+	-
44	-	-	-		-
45	+	-	+	+	+
46	+	+	+	+	+
47	-	-	-		-
48	+	+	+	+	+
49	-	-	-		-
50	+	+	+	+	+
51	-	+	+	+	+
52	+	+	+	-	-
53	+	+	+	+	+

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral ,Técnica 2: Inmunocromatografía de un solo paso, Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A.

En la figura 27 se observa la distribución de los resultados de las muestras del grupo 1.

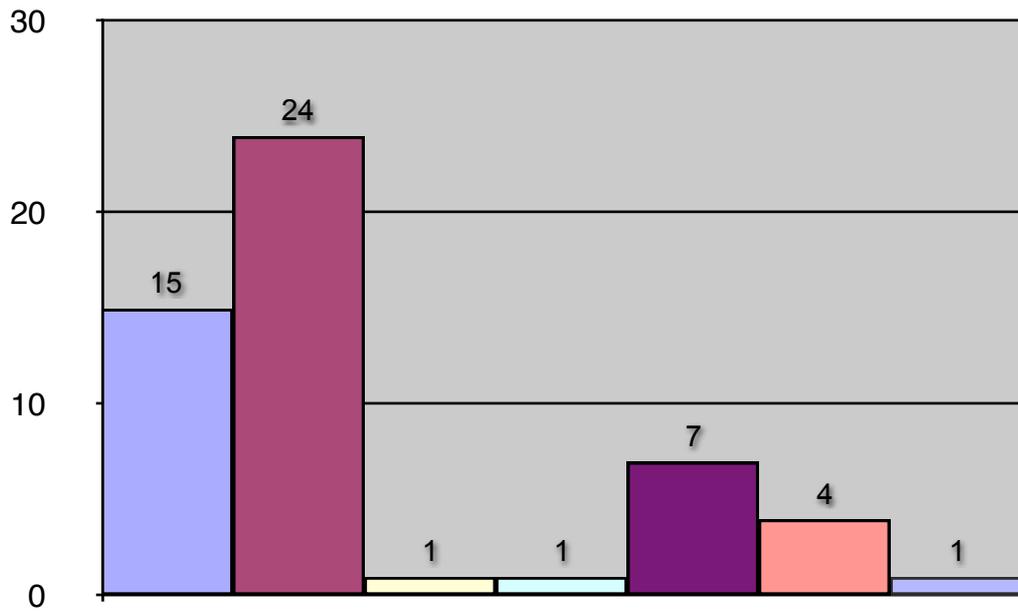
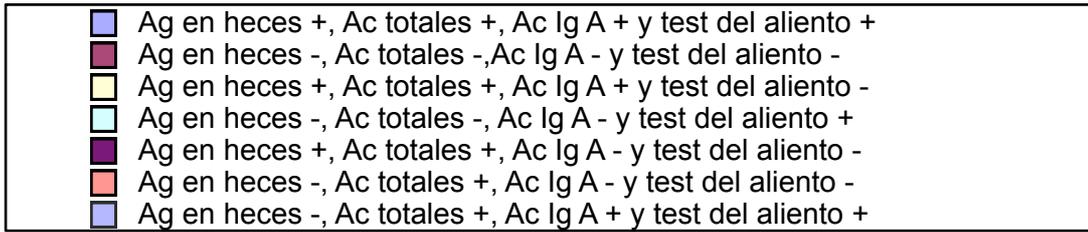


Figura 27. Distribución de los resultados del grupo 1

4.2. Grupo 2. Alumnos de quinto curso de Odontología

Datos epidemiológicos

Formado por 41 alumnos pertenecientes al quinto curso de la facultad de Odontología; 27 mujeres y 14 hombres con una edad media de 22,9 años .

Los datos de las variables quedan recogidas en la tabla 8 y en la tabla 9 se expresan los porcentajes obtenidos en cada variable para este grupo.

Tabla 8. Datos epidemiológicos del grupo 2

Número	Sexo	Edad	Antecedentes familiares	Grupo sanguíneo B	Fumador	Consumidor de alcohol	Ortodoncia
1	F	22	NO	NO	SI	NO	NO
2	F	23	SI	NS/NC	SI	SI	NO
3	F	23	NO	NO	NO	SI	NO
4	F	23	SI	NS/NC	SI	SI	NO
5	F	23	SI	NS/NC	NO	SI	SI
6	F	24	SI	NO	NO	NO	NO
7	F	23	NS/NC	NS/NC	NO	SI	SI
8	F	23	NS/NC	NS/NC	NO	SI	NO
9	F	23	NO	NO	SI	NO	NO
10	M	22	NO	NO	NO	SI	NO
11	M	25	NO	NS/NC	NO	NO	NO
12	M	23	SI	NO	SI	SI	NO
13	M	23	SI	NO	NO	SI	SI
14	M	23	NS/NC	NS/NC	NO	NO	NO
15	M	22	NO	NO	NO	SI	NO
16	M	22	SI	NO	NO	NO	NO
17	M	22	SI	NO	NO	SI	NO
18	M	23	NO	NO	SI	SI	NO
19	M	23	NO	NO	NO	SI	SI
20	M	24	SI	NS/NC	NO	SI	SI
21	M	23	SI	SI	NO	NO	NO
22	M	22	SI	NO	SI	SI	NO
23	M	23	NO	NO	NO	SI	NO
24	F	23	SI	NO	NO	SI	NO
25	F	22	SI	SI	NO	SI	NO
26	F	22	NO	NO	NO	SI	SI
27	F	23	SI	NO	NO	SI	NO
28	F	24	NO	NO	NO	SI	SI
29	F	24	NO	NO	NO	SI	NO
30	F	23	NS/NC	NS/NC	NO	NO	NO
31	F	23	NO	NO	NO	NO	SI
32	F	23	SI	SI	NO	SI	SI
33	F	22	NO	NO	NO	NO	NO
34	F	22	NO	NO	NO	NO	NO
35	F	23	NO	NO	NO	NO	NO
36	F	23	SI	SI	NO	SI	NO
37	F	23	SI	SI	NO	NO	NO
38	F	24	NO	NO	SI	SI	NO

39	F	22	SI	NO	NO	SI	SI
40	F	22	SI	NS/NC	NO	SI	NO
41	F	24	SI	NO	NO	SI	NO

Tabla 9. Resumen de variables grupo 2

Sexo	Masculino	14 (34,1%)
	Femenino	27 (65,9%)
Edad	22 años	12 (29,3%)
	23 años	22 (53,7%)
	24 años	6 (14,6%)
	25 años	1(2,4%)
Antecedentes familiares	Si	20 (48,8%)
	No	17 (41,5%)
	Ns/Nc	4 (9,8%)
Grupo sanguíneo B	Si	5 (12,2%)
	No	26 (63,4%)
	Ns/Nc	10 (24,4%)
Fumador	Si	8 (19,5%)
	No	33 (80,5%)
Consumidor de alcohol	Si	28 (68,3%)
	No	13 (31,7%)
Ortodoncia	Si	10 (24,4%)
	No	31 (76,6%)

Exploración bucodental

La tabla 10 muestra los resultados de la exploración bucal en el grupo 2

Tabla 10. Resultados de la exploración bucodental del grupo 2

Número	Índice de placa	Índice gingival
1	9,37%	6,25%
2	8,92%	0,00%
3	14,65%	4,31%
4	46,42%	4,46%
5	0,00%	0,00%
6	0,00%	0,00%
7	0,00%	0,00%
8	6,45%	1,10%
9	6,32%	0,00%
10	4,26%	0,00%
11	6,45%	4,03%
12	3,57%	89,00%
13	0,00%	0,00%
14	9,37%	0,00%
15	0,00%	6,25%
16	3,57%	0,00%
17	20,31%	0,00%
18	6,81%	1,00%
19	4,50%	0,00%
20	8,17%	0,00%
21	9,14%	3,51%
22	0,00%	0,00%
23	7,81%	0,00%
24	0,94%	1,78%
25	7,24%	1,49%
26	3,72%	0,00%
27	0,00%	0,00%
28	4,16%	0,00%
29	8,92%	0,00%
30	0,00%	0,00%
31	4,19%	0,00%
32	5,37%	0,00%
33	13,39%	8,03%
34	7,12%	2,96%
35	1,97%	0,00%
36	12,34%	3,56%
37	9,56%	2,82%
38	4,77%	0,00%
39	0,00%	0,00%
40	11,50%	5,70%
41	9,37%	0,00%

Detección de Hp en heces

Los datos obtenidos por los métodos de detección de Hp en heces se muestran en las siguientes tablas y figuras (tabla 11, figura 27 y figura 28).

Tabla 11. Resultados de la determinación de antígeno en heces en el grupo 2

		Técnica 2 (n=41)		
		Positivo	Negativo	Total
Técnica 1 (n=41)	Positivo	17	1	18
	Negativo	8	15	23
	Total	25	16	41

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral

Técnica 2: Inmuncromatografía de un solo paso

15 muestras (36,6%) fueron negativas y 17 (41,5%) positivas por ambas técnicas. Se obtuvieron 9 resultados discordantes; 8 positivos por la técnica 2 que fueron negativos por la 1 y 1 positivo por ésta última técnica que fué negativo por la técnica 2.

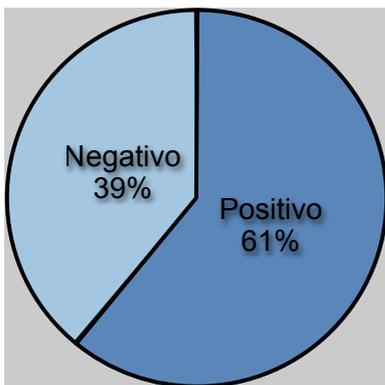


Figura 28. Resultados técnica 1

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral

Técnica 2: Inmuncormatografía de un solo paso

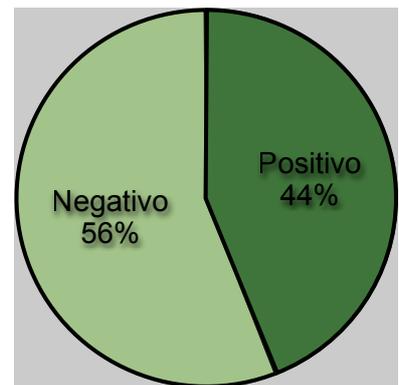


Figura 29. Resultados técnica 2

Detección de anticuerpos en suero

Las pruebas de detección de anticuerpos determinaron que el 48,8% y el 41,5% de los alumnos del grupo 2 presentaban anticuerpo totales e Ig A respectivamente (Tabla 12). 3 alumnos a los que se les determinó anticuerpos totales anti-Hp no presentaron anticuerpo tipo Ig A.

Tabla 12. Resultados de la detección del grupo 2

	Detección de anticuerpos	
	Ac totales +	Ac Ig A
Grupo 2 (n = 41)	20 (48,8%)	17 (41,5%)

Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A

Test del aliento

Los resultados del test del aliento en este grupo se muestra la tabla 13.

Tabla 13. Resultados del test del aliento del grupo 2

	Test del aliento	
	Positivo	Negativo
Grupo 2 (n = 41)	17 (41,5%)	24 (58,5%)

En la tabla 14 se observan a modo de resumen los resultados obtenidos por los métodos de detección de Hp utilizados.

Tabla.14. Resultados de las técnicas diagnósticas utilizadas en el grupo 2

Número	Detección de antígeno		Detección de anticuerpos		Test del aliento
	Técnica 1	Técnica 2	Ac totales	Ac IgA	
1	-	-	+	-	-
2	+	-	+	+	+
3	-	-	-	-	-
4	-	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
7	+	-	-	-	-
8	+	+	+	-	-
9	+	-	+	+	+

10	-	-	-		-
11	+	-	-		-
12	+	+	+	+	+
13	-	-	-		-
14	+	+	-		-
15	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	+
17	-	-	-		-
18	-	-	-		-
19	-	-	-		-
20	-	-	-		-
21	+	+	+	+	+
22	+	+	+	-	-
23	-	-	-		-
24	+	+	-		-
25	+	+	+	+	+
26	+	-	+	-	-
27	+	-	-		-
28	-	-	-		-
29	+	+	+	+	+
30	+	-	+	+	+
31	-	-	-		-
32	+	-	+	+	+
33	+	+	+	+	+
34	-	-	-		-
35	+	+	-		-
36	+	+	+	+	+
37	+	+	+	+	+
38	-	-	-		-
39	+	+	+	+	+
40	-	-	-		-
41	-	-	-		-

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral, Técnica 2: Inmunocromatografía de un solo paso, Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A.

En la figura 30 se observa la distribución de los resultados de las muestras del grupo 2.

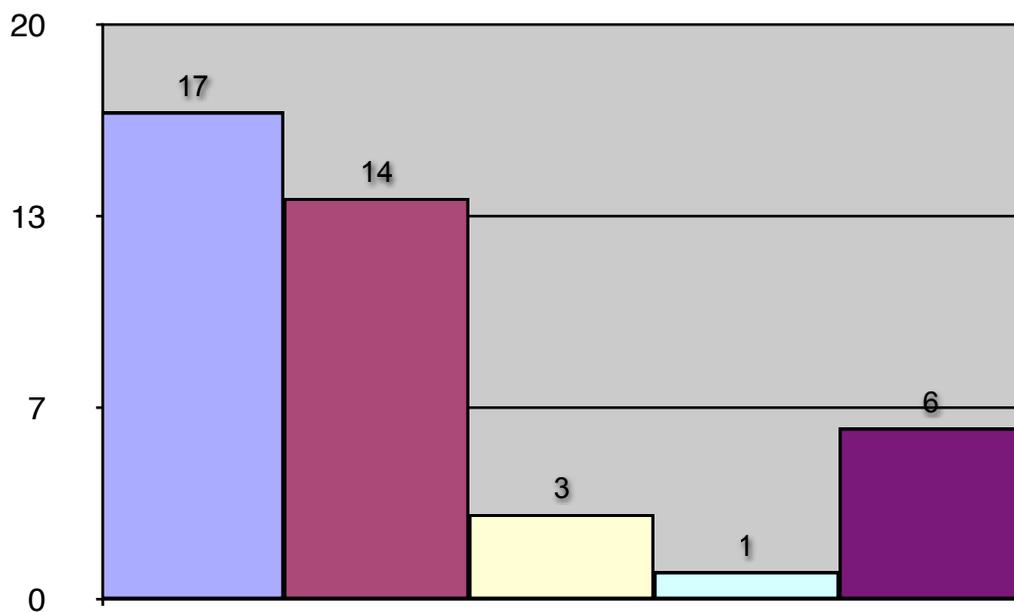
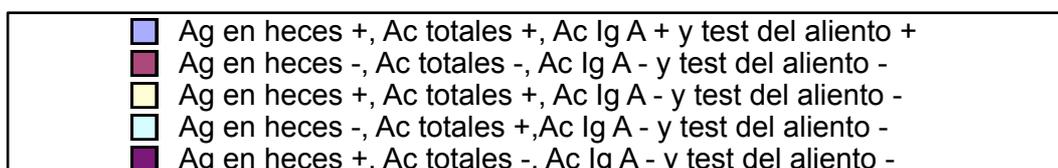


Figura 30. Distribución de los resultados del grupo 2

4.3. Grupo 3. Grupo control

Datos epidemiológicos

Formado por 40 alumnos de distintas facultades de la Universidad de Granada no relacionadas con ciencias de la salud; 22 de sexo femenino y 18 de masculino con una edad media de 23,2 años .

Los datos de las variables quedan recogidas en la tabla 15 y en la tabla 16 se expresan los porcentajes obtenidos en cada variable para este grupo.

Tabla 15. Datos epidemiológicos del grupo 3

Número	Sexo	Edad	Antecedentes familiares	Grupo sanguíneo B	Fumador	Consumidor de alcohol	Ortodoncia
1	F	22	SI	NO	NO	NO	NO
2	F	25	NO	NO	NO	NO	NO
3	M	24	NO	NO	SI	SI	SI
4	F	24	NS/NC	NO	NO	SI	NO
5	M	23	SI	SI	SI	SI	SI
6	F	23	NS/NC	SI	NO	SI	NO
7	F	22	NS/NC	NO	SI	SI	NO
8	M	24	NS/NC	NO	NO	SI	NO
9	M	23	NO	NO	SI	SI	SI
10	F	23	NO	NO	SI	SI	SI
11	F	23	NO	NO	NO	SI	SI
12	F	25	NO	NO	NO	SI	SI
13	F	23	NS/NC	NO	NO	NO	NO
14	M	24	NS/NC	NO	SI	SI	NO
15	F	23	NO	NO	NO	NO	NO
16	F	23	NO	NO	NO	NO	NO
17	M	23	NO	NO	NO	SI	NO
18	F	22	SI	SI	NO	SI	NO
19	F	23	NO	SI	NO	SI	NO
20	M	24	NS/NC	NO	NO	SI	NO
21	M	23	NO	NO	NO	SI	NO
22	M	23	NO	NO	NO	NO	NO
23	F	23	SI	SI	SI	SI	NO
24	F	24	NO	NO	SI	SI	NO
25	F	23	NS/NC	SI	SI	SI	SI
26	M	23	NS/NC	SI	SI	SI	SI
27	F	24	NO	NO	NO	NO	NO
28	F	23	NO	NO	NO	NO	NO
29	F	23	NS/NC	NO	NO	SI	NO
30	M	22	NO	NO	NO	SI	NO
31	M	22	NS/NC	NO	NO	SI	NO
32	F	22	NS/NC	NO	NO	SI	NO
33	F	25	NO	NO	NO	SI	NO
34	F	23	NS/NC	NO	SI	SI	NO
35	M	23	NO	NO	SI	SI	SI

36	M	23	NO	NO	NO	NO	NO
37	M	23	SI	NO	NO	NO	NO
38	M	22	NS/NC	SI	SI	SI	SI
39	M	24	SI	SI	SI	SI	SI
40	M	23	SI	SI	NO	SI	NO

Tabla 16. Resumen de variables grupo 3

Sexo	Masculino	18 (45%)
	Femenino	22 (55%)
Edad	22 años	7 (17,5%)
	23 años	22 (55%)
	24 años	8 (20%)
	25 años	3 (7,5%)
Antecedentes familiares	Si	7 (17,5%)
	No	19 (47,5%)
	Ns/Nc	14 (35%)
Grupo sanguíneo B	Si	10 (25%)
	No	30 (75%)
	Ns/Nc	0
Fumador	Si	14 (35%)
	No	26 (65%)
Consumidor de alcohol	Si	30 (75%)
	No	10 (25%)
Ortodoncia	Si	11 (27,5%)
	No	29 (72,5%)

Exploración bucodental

Los datos obtenidos en la exploración bucal de este grupo quedan expuestos en la tabla 17.

Tabla 17. Resultados de la exploración bucodental del grupo 3

Número	Índice de placa	Índice gingival
1	10,15%	0,78%
2	9,60%	2,62%
3	17,85%	2,67%
4	17,85%	2,67%
5	19,81%	6,30%
6	16,70%	8,03%
7	12,50%	14,06%
8	10,93%	0,00%
9	29,46%	9,82%
10	19,64%	8,92%
11	16,79%	4,31%
12	36,60%	3,57%
13	16,93%	0,80%
14	14,28%	2,67%
15	7,14%	12,50%
16	8,12%	1,64%
17	7,39%	2,10%
18	6,45%	3,22%
19	8,90%	19,64%
20	4,46%	7,14%
21	3,34%	2,29%
22	4,72%	3,95%
23	16,11%	13,91%
24	7,37%	2,81%
25	21,80%	4,80%
26	14,64%	3,69%
27	19,64%	8,43%
28	6,45%	9,14%
29	8,90%	7,25%
30	6,78%	1,27%
31	6,45%	9,82%
32	7,25%	12,50%
33	5,35%	1,64%
34	19,64%	2,92%
35	2,10%	9,37%
36	2,67%	8,92%
37	4,08%	14,65%
38	26,78%	26,80%
39	52,67%	6,45%
40	3,34%	10,48%

En las siguientes tablas y figura se muestran los resultados obtenidos por los diferentes métodos diagnósticos (tabla 18, figura 29 y figura 30).

Tabla 18. Resultados de la determinación de antígeno en heces en el grupo 3

		Técnica 2 (n=41)		
		Positivo	Negativo	Total
Técnica 1 (n=41)	Positivo	12	0	12
	Negativo	0	28	28
	Total	12	28	40

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral

Técnica 2: Inmunocromatografía de un solo paso

En este grupo de muestras no hubo ningún resultado discordante.

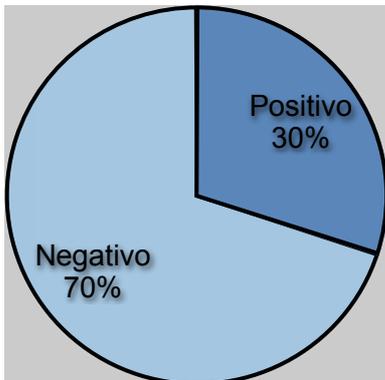


Figura 31. Resultados técnica 1

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral

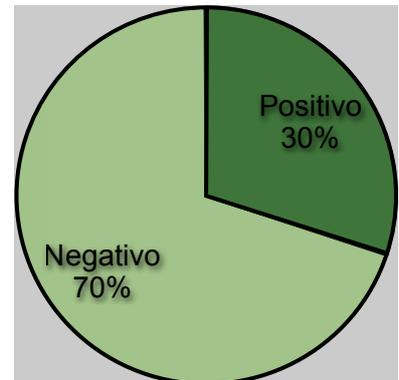


Figura 32. Resultados técnica 2

Técnica 2: Inmunocromatografía de un solo paso

Detección de anticuerpos en suero

Las pruebas de detección de anticuerpos determinaron que el 45,% y el 25,0% de los alumnos del grupo 3 presentaban anticuerpos totales e Ig A respectivamente (Tabla 19). 8 de los alumnos a los que se les determinó anticuerpos totales anti-Hp no presentaron anticuerpos Ig A.

Tabla 19. Resultados de la detección de anticuerpos del grupo 3

	Detección de anticuerpos	
	Ac totales +	Ac Ig A
Grupo 3 (n = 40)	18 (45,0%)	10 (25,0%)

Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A

Test del aliento

Los resultados del test del aliento en este grupo se muestra la tabla 20.

Tabla 20. Resultados del test del aliento del grupo 3

	Test del aliento	
	Positivo	Negativo
Grupo 3 (n = 40)	14 (35,0%)	26 (65,0%)

En la tabla 21 se observan los resultados del grupo 3 al ser sometidos a las distintas técnicas diagnósticas

Tabla 21. Resultados de las técnicas diagnósticas utilizadas en el grupo 3

Número	Detección de antígeno		Detección de anticuerpos		Test del aliento
	Técnica 1	Técnica 2	Ac totales	IgA	
1	-	-	-		-
2	-	-	-		-
3	+	+	+	+	+
4	+	+	+	-	-
5	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+
7	-	-	-		-
8	-	-	-		-
9	-	-	+	-	-
10	-	-	-		-
11	-	-	-		-
12	-	-	-		-
13	-	-	-		-
14	-	-	+	-	+
15	-	-	-		-
16	-	-	-		-
17	-	-	-		-
18	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+

20	-	-	+	-	+
21	-	-	-		-
22	-	-	-		-
23	+	+	+	+	+
24	+	+	+	-	-
25	+	+	+	+	+
26	+	+	+	+	+
27	-	-	-		-
28	-	-	-		-
29	-	-	+	-	-
30	-	-	-		-
31	-	-	-		-
32	-	-	-		-
33	-	-	-		-
34	-	-	+	-	+
35	-	-	-		-
36	-	-	-		-
37	-	-	-		-
38	+	+	+	+	+
39	+	+	+	+	+
40	-	-	+	-	+

Técnica 1: Inmunoensayo rápido de flujo lateral, Técnica 2: Inmunocromatografía de un solo paso, Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A.

En la figura 33 se observa la distribución de los resultados de las muestras del grupo 3.

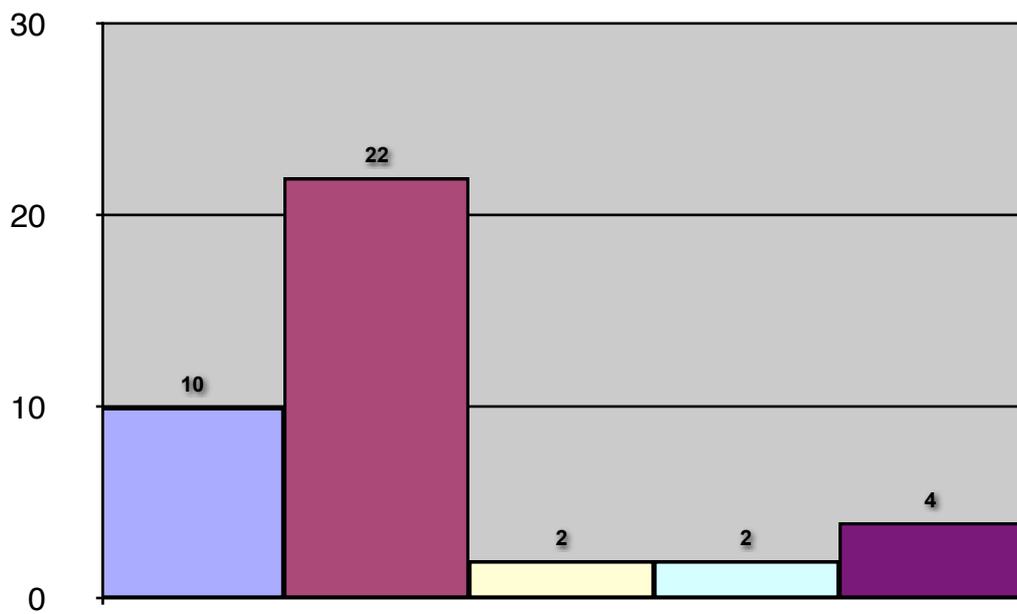
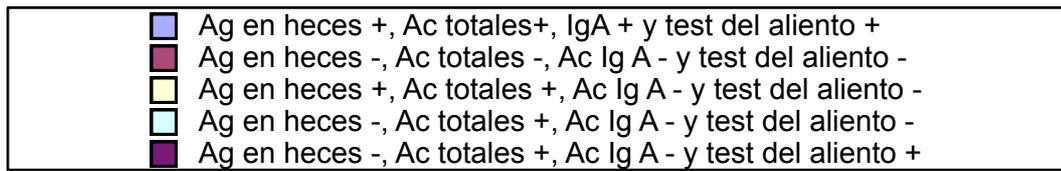


Figura 33. Distribución de los resultados del grupo 3

4.4. Resumen de variables epidemiológicas de todos los grupos

En las tablas 22-27 se resumen los parámetros epidemiológicos recogidos en las encuestas de los tres grupos estudiados. No hay diferencias estadísticamente significativas entre las variables registradas (sexo, antecedentes familiares, grupo sanguíneo B o no B, consumo de tabaco, de alcohol y utilización de ortodoncia).

Tabla 22. Sexo de todos los grupos

Grupo	Masculino	Femenino
Grupo 1 (n=53)	15 (28,3%)	38 (71,7%)
Grupo 2 (n=41)	14 (34,1%)	27 (65,9%)
Grupo 3 (n= 40)	18 (45%)	22 (55,5%)

Tabla 23. Antecedentes familiares de todos los grupos

	Antecedentes familiares		
	Si	No	Ns/Nc
Grupo 1 (n=53)	10 (18,9%)	18 (34,0%)	25 (47,2%)
Grupo 2 (n=41)	20 (48,8%)	17 (41,5%)	4 (9,8%)
Grupo 3 (n= 40)	7 (17,5%)	19 (47,5%)	14 (35%)

Tabla 24. Grupo sanguíneo de todos los grupos

	Grupo sanguíneo B		
	Si	No	Ns/Nc
Grupo 1 (n=53)	8 (15,1%)	38 (71,7%)	7 (13,2%)
Grupo 2 (n=41)	5 (12,2%)	26 (63,4%)	10 (24,4%)
Grupo 3 (n= 40)	10 (25%)	30 (75%)	0

Tabla 25. Consumo de tabaco de todos los grupos

Grupo	Consumo de tabaco	
	Si	No
Grupo 1 (n=53)	8 (15,1%)	45 (84,9%)
Grupo 2 (n=41)	8 (19,5%)	33 (80,5%)
Grupo 3 (n= 40)	14 (35%)	26 (65%)

Tabla 26. Consumo de alcohol de todos los grupo

Grupo	Consumo de alcohol	
	Si	No
Grupo 1 (n=53)	39 (73,6%)	14 (26,4%)
Grupo 2 (n=41)	28 (68,3%)	13 (31,7%)
Grupo 3 (n= 40)	30 (75%)	10 (25%)

Tabla 27. Utilización de ortodoncia de todos los grupos

Grupo	Ortodoncia	
	Si	No
Grupo 1 (n=53)	17 (32,1%)	36 (67,9%)
Grupo 2 (n=41)	10 (24,4%)	31 (75,6%)
Grupo 3 (n= 40)	11 (27,5%)	29 (72,5%)

4.5. Relación del test del aliento con distintas variables

Para el estudio de las variables cualitativas (sexo, grupo sanguíneo, antecedentes familiares, el consumo de alcohol, el consumo de tabaco y la ortodoncia) se utilizó el test de Chi-cuadrado, concluyendo que no existe relación estadísticamente significativa entre el sexo ni la ortodoncia con nuestro test de referencia (tablas 28 y 29).

Tabla 28. Relación del sexo con el test del aliento

		Test del aliento		p
		Negativo	Positivo	
Sexo	Masculino	27	20	0,412
	Femenino	59	28	

Tabla 29. Relación de la ortodoncia con el test del aliento

		Test del aliento		p
		Negativo	Positivo	
Ortodoncia	Si	21	17	0,176
	No	65	31	

Sin embargo si se relacionó de forma positiva con significación estadística el grupo sanguíneo B, la existencia de antecedentes familiares y el consumo de alcohol con el test del aliento (tablas 30, 31 y 32).

Tabla 30. Relación del grupo sanguíneo B con el test del aliento

		Test del aliento		p
		Negativo	Positivo	
Grupo sanguíneo B	Si	5	18	0,000
	No	70	24	
	Ns/Nc	11	6	

Tabla 31. Relación de los antecedentes familiares con el test del aliento

		Test del aliento		p
		Negativo	Positivo	
Antecedentes familiares	Si	16	21	0,002
	No	43	11	
	Ns/Nc	27	16	

Tabla 32. Relación del consumo de alcohol con el test del aliento

		Test del aliento		p
		Negativo	Positivo	
Consumo de alcohol	Si	65	45	0,009
	No	21	3	

En el caso del tabaquismo se observan indicios de significación (tabla 33).

Tabla 33. Relación del consumo de tabaco con el test del aliento

		Test del aliento		p
		Negativo	Positivo	
Consumo de tabaco	Si	27	23	0,0058
	No	59	25	

4.6. Índice de placa e índice gingival

Se han comparado ambos índices entre los distintos grupos. Estos datos se reflejan en la tabla 34. Entre el índice de placa del grupo 1 con los del grupo 2 y de éstos últimos con el grupo 3 hay diferencia estadísticamente significativa. Entre el grupo 1 y el grupo 3 hay indicios de significación.

Tabla 34 . Comparación del Índice de placa e índice gingival entre los distintos grupos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Grupo 1 (n=53)		0,000	0,143
Grupo 2 (n=41)	0,000		0,002
Grupo 3 (n= 40)	0,242	0,000	

 Índice de Placa
 Índice Gingival

4.7. Test del aliento, índice de placa e índice gingival

En la tabla 35 se muestra la correlación de la técnica que se tomó como referencia; el test del aliento y el índice de placa e índice gingival en los distintos grupos.

Entre el índice de placa y el test del aliento se observa que hay una significación estadística cuando se toma como muestra los resultados de los tres grupos. Si se separan se obtiene que en el grupo 1 y en el grupo 3 hay indicios de significación sin embargo en el grupo 3 no hay diferencias entre el test del aliento y el índice de placa.

En el caso del índice gingival no se observan diferencias estadísticas en ninguno de los grupos.

Tabla 35. Correlación entre el test del aliento y el índice de placa e índice gingival

	Test del aliento			
	Total (n=134)	Grupo 1 (n=53)	Grupo 2 (n=41)	Grupo 3 (n=40)
Índice de placa	0,0427	0,078	0,5193	0,0601
Índice gingival	0,9952	0,737	0,3369	0,1884

	Significación estadística
	Indicios de significación
	No hay significación

4.8. Concordancia entre los distintos métodos diagnósticos

Para ello se ha utilizado el índice kappa. Según este índice la concordancia entre las dos inmunocromatografías de detección de antígenos en heces empleadas , es buena (0,7677).

Al comparar el test del aliento con las dos técnicas inmunocromatográficas y con las de detección de anticuerpos se obtuvieron los resultados recogidos en la tabla 36.

Tabla 36. Concordancia del test del aliento con las inmunocromatografías y las técnicas de detección de anticuerpos

	Detección de antígeno		Detección de anticuerpos	
	Técnica 1	Técnica 2	Anticuerpos totales	Ac Ig A
Test del aliento	Moderada (0,5961)	Moderada (0,5966)	Moderada (0,5917)	Buena (0,8850)

4.9. Resultados de la detección de antígeno en heces

Los resultados obtenidos por las 2 técnicas de detección de antígeno en heces no fueron comparados entre los distintos grupos debido a la variabilidad de los resultados entre la técnica 1 y 2.

4.10. Resultados de la detección de anticuerpos

En la tabla 37 se observan los resultados de las dos técnicas utilizadas para la detección de anticuerpos de Hp.

Tabla 37. Resultados de la detección de anticuerpos

	Detección de anticuerpos	
	Ac totales	Ig A
Grupo 1 (n = 53)	28 (52,8%)	17 (32,1%)
Grupo 2 (n= 41)	20 (48,8%)	17 (41,5%)
Grupo 3 (n=40)	18 (45,0%)	10 (25,0%)

Ac totales: anticuerpos totales, Ac Ig A: anticuerpos Ig A

Se compararon los resultados de las distintas técnicas utilizadas para la detección de anticuerpos, de los distintos grupos. Se utilizó como test estadístico el de chi-cuadrado. En todas las combinaciones de grupos se observó que no había diferencias estadísticamente significativa entre los resultados; ni en la determinación de anticuerpos totales ni en la de Ig A (tabla 38).

Tabla 38. Comparación de los resultados de detección de anticuerpos entre los distintos grupos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Grupo 1 (n=53)		0,335	0,285
Grupo 2 (n=41)	0,116		0,395
Grupo 3 (n= 40)	0,199	0,083	

4.11. Resultados del test del aliento

En la tabla 39 se observan los resultados del test del aliento de los 3 grupos.

Tabla 39. Resultados del test del aliento

	Test del aliento	
	Positivo	Negativo
Grupo 1 (n = 53)	17 (32,1%)	36 (67,9%)
Grupo 2 (n= 41)	17 (41,5%)	24 (58,5%)
Grupo 3 (n=40)	14 (35,0%)	26 (65,0%)

Se compararon los resultados de los distintos grupos entre ellos para lo que se utilizaron dos test estadísticos el chi-cuadrado y el de Fischer, éste último útil para muestras pequeñas y desequilibradas (distinto tamaño para las dos proporciones). En todas las combinaciones de grupos se observó que no había diferencia estadísticamente significativa entre los resultados del test del aliento por ninguno de los dos test estadísticos utilizados (tabla 38).

Tabla 40. Comparación del test del aliento entre los distintos grupos

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Grupo 1 (n=53)		0,348	0,767
Grupo 2 (n=41)	0,391		0,550
Grupo 3 (n= 40)	0,826	0,649	

	Test de Chi Cuadrado
	Test de Fischer

5. DISCUSIÓN

Desde que en 1982 Barry Marshall y Robin Warren aislan a partir de muestras de mucosa gástrica Hp y describen su asociación con gastritis y enfermedad ulcerosa (Marshall BJ 1983), el interés por esta bacteria ha ido en aumento y muchos investigadores la han estudiado en todo el mundo, describiendo su prevalencia tanto en pacientes con patología gástrica como en individuos sanos.

A pesar de que como ocurre con otras enfermedades de tan alta incidencia, es difícil establecer cifras exactas, se estima que la infección por Hp afecta a más de la mitad de la población mundial (Kivi M y cols. 2006)

La distribución de la colonización de Hp a nivel mundial no es uniforme. Existe una clara diferenciación en la prevalencia entre los países desarrollados y aquéllos en vías de desarrollo. Así pues, se aprecian cifras bajas en países como Francia (25%), hasta otras superiores al 80% en otros como Nigeria o India (Holcombe y cols. 2002, Graham y cols. 2001). Estas diferencias parecen deberse fundamentalmente a la incidencia de la infección durante la infancia, edad en la que se infecta la gran mayoría de niños en las regiones en vías de desarrollo (Czinn SJ 2005). Sin embargo, en los países desarrollados la prevalencia es baja en las primeras décadas de la vida, para ir aumentando progresivamente a partir de la 4ª y 5ª década (Taylor y cols. 2001).

La prevalencia en los países desarrollados es aproximadamente del 50% en la edad adulta. En nuestro país se observa un incremento continuo de la colonización de Hp con la edad, con cifras cercanas al 50% en adultos (Carrol y cols. 2004). Sin embargo, los datos publicados son un tanto dispares, comunicándose cifras que van desde el 36% en una determinada comarca de Valencia (Alfonso y cols. 2005) hasta el sorprendente 84% referido por Carballo al área de Guadalajara (Carballo y cols. 2005). Tal vez una cifra más acorde al desarrollo de nuestro país sea la referida por Martín de Argila, que obtiene una prevalencia del 53% en la zona de Madrid (Martín de Argila y cols. 2006) en un estudio en el que participaron 381 individuos mediante la detección de anticuerpos IgG en suero. En otro trabajo similar realizado en 267 personas en Barcelona se obtuvo un 52,4%. Estos resultados son similares a los obtenidos en otros países con características socio económicas semejantes (Martín de Argila y cols. 2006).

Probablemente el principal factor epidemiológico de riesgo sea el bajo nivel económico e higiénico-sanitario; de ahí que la infección, como ya se ha comentado, sea mucho más frecuente en regiones no desarrolladas (Vaira y cols. 2008). Estudios realizados en países industrialmente avanzados también confirman este hecho: Graham en U.S.A. (Graham y cols. 2001), Murray en el Reino Unido (Murray y cols. 2007) o Haeckel en

Alemania (Haeckel 2006) encuentran una clara relación entre la infección por Hp y clase social baja en general y hacinamiento, bajo nivel educacional o malas condiciones sanitarias en particular.

Múltiples revisiones han confirmado que las condiciones socioeconómicas de la infancia determinan la prevalencia de Hp (Gold BD y cols 2001). La influencia de estos factores en los adultos no está tan bien caracterizada pero se cree que contribuyen en la persistencia de la colonización (Malaty y cols 2004). En nuestro estudio esta variable no tiene ninguna influencia porque todos los participantes siempre han estado en un entorno económico e higiénico-sanitario adecuado.

Aunque se sabe que los humanos son el principal reservorio, en la actualidad la vía de transmisión no está dilucidada, lo cual sería importante para la prevención. Se acepta, aún sin poder descartar otras rutas, que el contagio se realiza mediante un mecanismo de persona a persona, o a través de la vía fecal-oral, bien a través de la vía oral-oral, ambas posiblemente mediadas por diversos vectores como fómites, saliva, alimentos o aguas contaminadas (Logan y cols. 2006). La transmisión vertical y la vía sexual no parecen jugar un papel relevante en el contagio de la infección (Blecker y cols. 2004) (Pérez-Pérez y cols 2001).

El hábitat natural de Hp es la mucosa gástrica humana fundamentalmente, sobre todo, la antral (Lee 2004), aunque ha sido cultivado o detectado mediante técnicas de PCR a nivel de placa dental, saliva y heces (Li y cols 2005). La cavidad oral de las personas es el principal reservorio extra gástrico (Siddiq y cols 2004), la existencia de Hp en placa dental (Mujmadar y cols. 2000) y en saliva hizo que nos planteáramos la posibilidad de que los estudiantes de Odontología, al tener un contacto tan cercano con la cavidad oral de sus pacientes, podrían tener unas tasas de colonización de Hp superior al resto de la población.

Para confirmar esta hipótesis hemos estudiado tres grupos de población para ver si la realización de prácticas con pacientes durante la licenciatura de Odontología incide en que aumente la colonización de Hp en los alumnos. Para tener una referencia de la situación basal antes del comienzo de las citadas prácticas hemos estudiado a 53 alumnos de primer curso de la facultad de Odontología con una edad media de 18,2 años, que constituye el grupo 1 de nuestro trabajo. El grupo 2, formado por 41 alumnos de quinto curso de la misma facultad con una edad media de 22,9 años, es en el que se espera una mayor prevalencia de Hp. Como grupo control (grupo 3), hemos utilizado a 40 alumnos de facultades no relacionadas con el ámbito sanitario con una media de edad similar a la del grupo 2, para así

poder comparar ambos grupos y eliminar el posible factor de confusión de la edad, ya que como se ha visto con la misma aumenta la prevalencia.

A todos los participantes en el estudio se les realizó una encuesta epidemiológica; los resultados de la misma fueron sometidos a tratamientos estadísticos y se determinó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros recogidos en las encuestas (sexo, antecedentes familiares, grupo sanguíneo B o no B, consumo de tabaco, de alcohol y utilización de ortodoncia) en los distintos grupos. Así se eliminan posibles variables que pueden influir en los datos de prevalencia.

La colonización por Hp puede determinarse mediante métodos invasivos y no invasivos (Glupczynski 1999). Todos ellos presentan ventajas e inconvenientes.

Las técnicas de detección de antígeno de Hp en heces se han descrito como válidas para establecer el diagnóstico inicial, verificar la eficacia del tratamiento en las cuatro o seis semanas posteriores a su realización y comprobar la reaparición de una infección. Se trata de un ensayo cualitativo. La técnica aporta una información muy valiosa por la fácil obtención y conservación de las muestras, se puede realizar en cualquier laboratorio de microbiología y no necesita la colaboración del paciente (como en el caso de la prueba del aliento). Puede utilizarse tanto para el diagnóstico de colonización por Hp como para el seguimiento después del tratamiento erradicador (López- Brea y cols 2006).

En este estudio se han utilizado dos métodos inmunocromatográficos que detectan antígenos de Hp en heces.

En poblaciones con baja prevalencia de colonización por Hp puede ser recomendable comprobar los resultados positivos de las técnicas que detectan antígeno con las que detectan anticuerpos o prueba del aliento (Ito y cols. 2005).

Las técnicas de detección de anticuerpos tienen como principal inconveniente que no pueden diferenciar la colonización actual, de la exposición previa al microorganismo. El rendimiento de las mismas puede verse afectado por el método diagnóstico considerado como referencia, la clase de anticuerpo, el tipo de antígeno y la técnica utilizada, así como por la población estudiada (Herbrink y cols 2000).

Una importante ventaja de estos métodos, es que sus resultados no se ven afectados por el tratamiento reciente con antibióticos o inhibidores de la bomba de protones,

que pueden inducir falsos negativos con otros métodos (Dzieranowska-Fangrat y cols. 2006).

La técnica más utilizada es el EIA cuantitativo, que permite, además del diagnóstico primario, la monitorización del tratamiento. Para ello se recomienda realizar pruebas cuantitativas con los dos sueros del paciente (pre y postratamiento) analizados simultáneamente. En pacientes con altos títulos pretratamiento se observa un descenso significativo en el título de anticuerpos después de 3-6 meses de tratamiento efectivo. Este descenso sólo se mantiene en pacientes curados (Makristathis y cols 2004).

Las técnicas que detectan anticuerpos en saliva y en orina son atractivas, ya que estas muestras son fáciles de obtener, pero en ellas, la concentración de anticuerpos es más baja que en suero (Kou Fc y cols 2005, Sonmezoglu M y cols 2005).

La prevalencia de anticuerpos tipo IgG en adultos sanos en España es alta, por lo que su detección en el diagnóstico de la infección por Hp origina un elevado porcentaje de falsos positivos, ya que esta técnica no determina colonización actual y por tanto, hacen falta técnicas complementarias para llegar a un diagnóstico correcto (III Encuesta de Serovigilancia de la CM 2002). Un meta-análisis de 21 sistemas comerciales de detección de IgG mostró una sensibilidad del 85% y una especificidad del 79 (López- Brea y cols 2006).

Nuestros sueros han sido analizados por una técnica de aglutinación que determina anticuerpos totales frente a Hp y los que fueron positivos se procesaron a continuación por una técnica de enzimoimmunoensayo para determinar la existencia de anticuerpos Ig A específicos.

La prueba del aliento tiene una excelente sensibilidad y especificidad para el diagnóstico y seguimiento del tratamiento antimicrobiano con la ventaja de ser una prueba global que valora la presencia de Hp en el estómago y no se ve sometido al sesgo que pueden tener otras pruebas por la distribución parcheada de la bacteria en el estómago. También tienen otras ventajas, como el ser una prueba no invasora y no depender de las condiciones de transporte, ni de la experiencia del personal técnico. Indica una colonización actual por la bacteria ya que en una infección pasada el resultado sería negativo. Por esto es útil como seguimiento del tratamiento realizado 4 a 6 semanas después de finalizado (López- Brea y cols. 2006).

La prueba del aliento ha mostrado el mejor valor de sensibilidad entre cuatro métodos no invasivos estudiados en todos los grupos de edades y muy buena especificidad en un estudio multicéntrico europeo (Megraud 2005). El Consenso Canadiense lo recomienda como el mejor método no invasivo y el Consenso de Grupo Europeo lo recomienda como un método diagnóstico excelente. Sin embargo algunos autores aconsejan la confirmación de un resultado positivo aislado en poblaciones con baja prevalencia de infección, con un método que mida un parámetro diferente como es el antígeno en heces (Jones y cols 2005).

Por esta razón en nuestro estudio además del test del aliento hemos utilizado dos técnicas inmunocromatográficas de detección de antígeno de Hp en heces y una de determinación de anticuerpos totales anti-Hp en suero; los positivos a esta última también se sometieron a una técnica de detección de Ac específicos Ig A.

Las técnicas de diagnóstico no invasivas son las más adecuadas para los estudios epidemiológicos. La prueba más utilizada es la detección de anticuerpos séricos, tipo IgG frente a Hp mediante enzoinmunoanálisis. Otros autores prefieren el test del aliento tras la toma oral de urea marcada con ^{13}C por presentar una mayor especificidad y no precisar venopunción (Vandenplas y cols. 2002). Ambas técnicas poseen una alta sensibilidad (superior al 95%) (Marshall 2005), pero a favor de la segunda estaría el hecho de que podría detectar infecciones agudas o muy recientes en las que todavía no se hubiera producido la seroconversión. Por contra, la mayor accesibilidad, rapidez de interpretación y menor coste hacen de la primera la más utilizada en los estudios sobre población sana.

En el último consenso de Maastrich en 2005 se consideró que la determinación de antígeno de Hp puede ser aceptable en el mismo nivel que la prueba del aliento (Malfertheiner y cols 2006).

Por todas estas razones, ya que cada técnica tiene sus ventajas y sus inconvenientes, en este estudio se han utilizados tres métodos diagnósticos no invasivos y se han comparado entre ellos utilizando el índice kappa.

Según este índice la concordancia entre las dos inmunocromatografías empleadas de detección de antígenos en heces, es buena (0,7677), la del test del aliento con las técnicas de detección de antígenos y con la de detección de anticuerpos totales moderada (0,596 y 0,591 respectivamente) y buena con la técnica que detecta anticuerpos tipo Ig A (0,885).

En nuestro estudio en el 76,1% de las muestras se obtuvo concordancia en los resultados; 42 fueron positivas a todas las técnicas analíticas a las que fueron sometidas; detección de antígeno en heces, determinación de anticuerpos totales y de anticuerpos tipo Ig A y test del aliento y otras 60 fueron negativas a la totalidad de ellas.

En 32 muestras (23,8%) se obtuvieron resultados discordantes entre los distintos métodos.

En 7 casos (5,2%) se detectaron anticuerpos totales frente a Hp pero el resto de las técnicas fueron negativas, esto puede deberse a que el individuo haya tenido contacto con la bacteria en el pasado pero en el momento del análisis no estuviera colonizado.

En 6 muestras (4,5%) la única prueba positiva fue la de detección antígeno de Hp en heces. En otros 12 casos (9,0%) además de detectarse antígeno frente a Hp, la técnica de determinación de anticuerpos totales fué positiva.

En 11 de estos 18 casos las dos técnicas de detección de antígeno en heces fueron positivas por lo que se considerarían falsos negativos del test del aliento. En otros 7 casos sólo una de las técnicas inmunocromatográficas de detección de antígeno fué positiva; debido a que estas técnicas presentan muy buena especificidad pero datos variables de sensibilidad (de 57,7% a 96,6%) (Manes y cols. 2005), se considerarían falsos negativos de otras técnicas que tengan una menor especificidad.

En 4 muestras se detectaron anticuerpos totales anti-Hp en suero y el test del aliento también fué positivo, lo que podría explicarse por el hecho de que el test del aliento es una prueba global que valora la presencia de la bacteria en el estómago sin ser dependiente de las condiciones de transporte de la muestra ni de la experiencia del personal técnico. La existencia de anticuerpos totales en ausencia de anticuerpos específicos Ig A puede deberse a que el individuo esté en una fase temprana de la colonización y los anticuerpos totales detectados podrían ser una mezcla de Ig G, Ig M e Ig A con una proporción de cada uno de ellos no detectable por el método que hemos utilizado.

Tres muestras tuvieron un perfil único; una de ellas fue positiva a todas las técnicas utilizada menos a la de detección de antígenos en heces, en otra la única prueba negativa fue el test del aliento y en otro caso se detectaron anticuerpos totales y anticuerpos tipo Ig A frente a Hp siendo el test del aliento y la técnica de determinación de antígeno en heces negativas. Aunque hemos tomado el test del aliento como técnica de referencia existen

casos de falsos positivos y falsos negativos ya que ninguno de los métodos de diagnóstico de Hp puede utilizarse como *gold standard* utilizado únicamente (López Brea y cols. 2007).

Una vez que sabemos los resultados obtenidos es importante determinar los factores que influyen en la adquisición de la infección y su persistencia.

En la encuesta epidemiológica realizada a todos los individuos se han recogido distintas variables para estudiar una posible relación de las mismas con Hp.

Se determinó que no existía una relación estadísticamente significativa entre el sexo de los individuos ni la ortodoncia con el que hemos empleado como referencia. El sexo no parece ser una variable de riesgo esencial ya que, aunque hay trabajos que encuentran una mayor prevalencia en hombres (Murray y cols 2007), son mayoría aquéllos que no encuentran diferencias significativas entre ambos sexos.

Ciertos determinantes genéticos sí pueden influir en la adquisición de la bacteria (Azuma y cols 2005). Diversos estudios constatan la asociación entre Hp y la presencia de grupo sanguíneo B (Pearch y cols 2007). Nosotros hemos obtenido datos que confirman esta hipótesis de mayor susceptibilidad de colonización por aquellos sujetos que presentan grupo sanguíneo B.

La existencia de historia familiar de úlcera péptica y cáncer gástrico, la bibliografía no la relaciona con una mayor tasa de colonización (Giannuzzi y cols. 2001) sin embargo, nosotros si hemos encontrado esta concordancia, pero el tamaño de muestra que se ha utilizado es pequeño debido a que algunos de los participantes en el estudio no contestaron a esta variable en la encuesta.

La influencia de los hábitos individuales en la prevalencia de Hp es motivo de controversia ya que es muy difícil controlar todas las variables de confusión.

En nuestro estudio se obtuvo una relación directa estadísticamente significativa entre Hp y el consumo de alcohol; los bebedores habituales presentan índices de colonización mayores, sin embargo, en la bibliografía científica no encuentran asociación de Hp con el alcohol (González-Carbajal M y cols 2004).

Diversos estudios han investigado la asociación de Hp con el tabaco con resultados controvertidos (Pillay y cols. 2007; Moayyedi y cols. 2002). Nosotros hemos obtenido

indicios de significación. Esta variable es muy difícil de relacionar debido a que se ha visto que tiene una gran influencia el número de cigarrillos consumidos.

Como se ha expuesto anteriormente todos los participantes en el estudio han sido sometidos a una exploración bucodental donde se les han determinado ciertos parámetros como el índice de placa y el índice gingival. Al comparar el índice de placa del grupo 1 con los del grupo 2 y de éstos últimos con el grupo 3 se observa que hay diferencias estadísticamente significativas en esta variable debido a que los individuos del grupo 2 están muy concienciados con la higiene bucodental y el índice de placa que presentan es muy bajo.

Al comparar el índice gingival en los distintos grupos no se encontraron diferencias significativas.

Si consideramos en global la correspondencia entre el índice de placa y los resultados del test del aliento vemos que hay concordancia significativa desde el punto de vista estadístico, a mayor índice de placa mayor es la probabilidad de positividad de la prueba del aliento. Hay estudios que avalan esta afirmación, se ha asociado significativamente el número de superficies dentales con placa con Hp (Pearch y cols 2007).

Como ya hemos mencionado antes en nuestro estudio hemos tomado como prueba de referencia el test del aliento, y los resultados del mismo son los que hemos utilizado para comparar la prevalencia de colonización entre los distintos grupos.

Los porcentajes de positividad obtenidos por el test del aliento en los grupos estudiados fueron 32,1% en los alumnos de primero, 41,5% en los de quinto curso y 35% en el grupo control. Aunque se observa un aumento de la prevalencia en los estudiantes de Odontología de quinto curso con respecto a los de primero superior a la que existe con el grupo control este resultado no es estadísticamente significativo.

En la literatura científica existe bibliografía que apoya nuestra primera hipótesis. Un estudio realizado con 60 dentistas japoneses y 60 controles determinó la prevalencia de Hp mediante estudio de anticuerpos llegando a la conclusión de que los dentistas tienen un alto riesgo de estar colonizados ya que la prevalencia fue muy superior a los controles 70% frente al 38%, pudiendo ser la vía oral-oral una forma de transmisión bastante frecuente (Honda y cols. 2001).

Sin embargo existen numerosos trabajos que estudian la tasa de colonización en dentistas y estudiantes de odontología mediante la determinación de los anticuerpos IgG

anti-Hp y los resultados que se obtienen tampoco son estadísticamente significativos aunque presenten una mayor tasa de colonización (Matsuda y cols. 2002; Banatvala y cols. 2005; Matsuda y cols 2005). Al haberse obtenido los datos mediante técnicas de detección de anticuerpos no nos permite distinguir entre colonización actual o pasada.

Probablemente por la formación que han adquirido en los años de la licenciatura, en relación tanto a su propio cuidado dental, como a las medidas de prevención en el gabinete odontológico, los alumnos de quinto curso al tener bajos índices de placa la colonización por Hp es menor.

Por otra parte, diversos estudios han encontrado una mayor prevalencia en profesionales de la salud, sobre todo en gastroenterólogos y especialmente en endoscopistas (Chong y cols. 2004), en los que el riesgo de infección se correlaciona directamente con el número de endoscopias realizadas. Estos hallazgos son puestos en entredicho por otros investigadores, que o bien no encuentran diferencias significativas entre dichos grupos y controles (Pristautz y cols. 2004), o bien concluyen que la supuesta exposición ocupacional es un riesgo menor en comparación con la condición socio-económica (Matysiak-Budnik y cols. 2004).

En un artículo publicado en Arabia Saudi utilizaron el test del aliento para determinar la prevalencia en los estudiantes de medicina y no observaron mayor índice de colonización entre los que habían hecho las prácticas ni al compararlo con los que no las habían realizado ni con la población general (Almadi y cols. 2007).

Hay diversos estudios que constatan nuestra hipótesis de que los estudiantes de Odontología debido a su trabajo podrían tener más riesgo de colonización. En Australia realizaron un estudio con 217 pacientes y llegaron a la conclusión de que Hp se asocia significativamente con el incremento de años trabajados en aquellos individuos que tengan una ocupación de contacto directo con el público (Pearch y cols 2007). En el ámbito sanitario se analizó una población compuesta por 285 individuos entre los que había enfermeras, médicos residentes, estudiantes de enfermería y estudiantes de Medicina, constatándose que el aumento de prevalencia por Hp está relacionado con el tiempo trabajado (Wilhoite y cols. 2003).

En nuestro estudio la buena higiene de los alumnos de 5º curso ha podido ser la responsable de que los resultados no hayan sido los esperados ya que hay estudios que constatan que las buenas prácticas higiénicas son esenciales para prevenir la transmisión por Hp (Pearce y cols 2005).

6. CONCLUSIONES

1. La concordancia entre las dos inmunocromatografías empleadas en heces, para la detección de antígenos de *Helicobacter pylori* es buena.
2. Considerando el test del aliento como técnica de referencia se obtiene una concordancia moderada con las técnicas de detección de antígenos en heces de *Helicobacter pylori* y con la de anticuerpos totales y buena con la de la presencia de Ig A.
3. La prevalencia de *Helicobacter pylori* en los estudiantes de quinto curso de Odontología es superior a la de los alumnos de primero y a la del grupo control; pero esta diferencia no es estadísticamente significativa
4. El índice de placa de los alumnos de quinto curso es significativamente inferior al de los otros grupos. Aunque las prácticas realizadas en la Facultad aumentan la prevalencia de *Helicobacter pylori*, la buena higiene bucodental de estos alumnos podría ser la causa de que los porcentajes de colonización de los mismos sea inferior a la esperada.
5. El índice de placa dental, el consumo de alcohol, la existencia de antecedentes familiares de úlcera péptica o cáncer gástrico y el grupo sanguíneo B se relaciona de forma positiva con la prevalencia de *Helicobacter pylori*.
6. Mientras el consumo de tabaco y la presencia de *Helicobacter pylori* se relacionan con indicios de significación estadística, esta no existe al referirse al uso de aparatología de ortodoncia.

7.BIBLIOGRAFÍA

Agha A, Graham DY. Evidence-based examination of the African enigma in relation to *Helicobacter pylori* infection. Scand J Gastroenterol 2005; 40: 523-9.

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. Int Dent J. 1975 Dec;25(4):229-35.

Alaganantham TP, Pai M, Vaidehi T, Thomas J. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in an urban, upper class population in Chennai. Indian J Gastroenterol 1999; 18: 66-68.

Alarcón T, Domingo D, López Brea M. Antibiotic resistance problems with *Helicobacter pylori*. Intern J Antimicrob Agents 1999;12: 19-26.

Alfonso V, González-Granda D, Alonso C, Ponce J, Bixquert M, Oltra C et al. Los pacientes con úlcera duodenal transmiten el *Helicobacter pylori* a sus familiares? Rev Esp Enferm Dig 2005; 87: 109-113.

Almadi MA, Aljebreen AM, Tounesi FA, Abdo AA. *Helicobacter pylori* prevalence among medical students in a high endemic area. Saudi Med J 2007; 28: 896-8.

American Gastroenterological Association. Medical Position Statement: Evaluation of dyspepsia. Gastroenterology 1998; 114: 579-581.

Andrews J, Marsden B, Brown D, Wong VS, Wood E, Kelsey M. Comparison of three stool antigen test for *Helicobacter pylori* detection. J Clin Pathol 2001; 56: 769-771.

Aspinall GO y Monteiro MA. Lipopolysaccharides of *Helicobacter pylori* strains P466 and MO19: structures of the O antigen chain and core oligosaccharide regions. Biochemistry 1996; 35: 2489-2497.

Axon A. *Helicobacter pylori*: what do we still need to know? J Clin Gastroenterol 2006; 40: 15-9.

Banatvala N, Abdi Y, Clements L, Herbert AM, Davies J, Bagg J, Shepherd JP, Feldman RA, Hardie JM. *Helicobacter pylori* infection in dentist a case control study. Scand J Infect Dis 2005; 27 (2): 149-51.

Basak C, Pathak S, Bhattacharyya A, Mandal D, Pathak S, Kundu M. NF-kappaB and C/EBDPbeta driven interleukin-1beta gene expression and PAK1-mediated caspase-1 activation play essential roles in interleukin-1beta release from *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide-stimulated macrophages. J Biol Chem 2005; 280: 4279-88.

Bauerfeind P, Garner R, Dunn B, Mobley H. Synthesis and activity of *Helicobacter pylori* urease and catalase at low pH. *Gut* 1997; 40: 25-30.

Bellack NR, Koehoorn MW, MacNab YC, Morshed MG. A conceptual model of water's role as a reservoir in *Helicobacter pylori* transmission: a review of the evidence. *Epidemiol Infect* 2006; 134: 439-49.

Beswick E, Das S, Pinchuck I et al. *Helicobacter pylori* induced IL-8 production by gastric epithelial cell up-regulates CD 74 expression. *J Immunol* 2005;175: 171-176.

Beswick E, Suarez G, Reyes V. *Helicobacter pylori* and host interactions that influence pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5599-5605.

Blecker U, Lanciers S, Keppens E, Vandenplas Y. Evolution of *Helicobacter pylori* positivity in infants born from positive mothers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 19: 87-90.

Boquet P, Ricci V, Galmiche A, Gauthier N. Gastric cell apoptosis and *Helicobacter pylori*: has the main function of VacA finally been identified? *Trends Microbiol* 2003; 11: 410-413.

Brandt S, Kwok T, Harting R, Koning W, Backert S. NF- κ B activation and potentiation of proinflammatory response by *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 9300-5.

Bravo LE, van Doorn LJ, Realpe JL, Correa P. Virulence associated genotypes of *Helicobacter pylori*: do they explain the African enigma? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2839-42.

Briede J, Pot R, Kuipers E, van Vliet A, Kleinjans J, Kusters J. The presence of the *cag* pathogenicity island is associated with increased superoxide anion radical scavenging activity by *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 44: 227-232.

Buda F, Ensing B, Gribnau M, Baerends E. O₂ evolution in the Fenton reaction. *Chemistry* 2003; 9: 3436-44.

Canducci F, Cremonini F, Armuzzi A, Di Caro S, Gabrielli M, Santarelli L, Nista E, Lapascu A, De Martini D, Gasbarrini A. Probiotics and *Helicobacter pylori* eradication. *Dig Liver Dis* 2002; 34: S81-3.

Cao P, Cover T. Two Different Families of hopQ alleles in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4504-4511.

Caputo R, Tuccillo C, Manzo B, Zarrilli R, Torotra G, Blanco C et al. *Helicobacter pylori* VacA toxin up-regulates vascular endothelial growth factor expression in MKN 28 gastric cells through an epidermal growth receptor-cyclooxygenase 2 dependent mechanism. Clin Cancer Res 2003; 9: 2015-21.

Carballo F, Martínez C, Aldaguer M, García A, Domínguez E, Malfertheiner P et al. Infección por *Helicobacter pylori* en Guadalajara. Prevalencia y factores asociados. Rev Esp Enferm Dig 2005; 87 (Supl. 1): 7.

Carroll JM, Khan AA, Ahmed N. Revisiting the pestilence of *Helicobacter pylori*: insights into geographical genomics and pathogen evolution. Infect Genet Evol 2004; 4: 81-90.

Chan A. E-cadherin in gastric cancer. World J Gastroenterol 2006; 12: 199-203.

Chan Y, Wu M, Lin J, Chen C. *Helicobacter pylori*-induced invasion and angiogenesis of gastric cells is mediated by cyclooxygenase-2 induction through TLR2/TLR9 and promoter regulation. J Immunol 2005; 175: 8242-45.

Chiba T, Seno H, Marusawa H, Wakatsuki Y, Okazaki K. Host factors are important in determining clinical outcomes of *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenterol 2006; 41: 1-9.

Chittajallu R, Neithercut W, Macdonal A, MacColl K. Effect of increasing *Helicobacter pylori* ammonia production by urea infusion on plasma gastrin concentrations. Gut 1991; 32: 21-24.

Chong J, Marshall BJ, Barkin JS, McCallum RW, Reiner DK, Hoffman SR et al. Occupational exposure to *Helicobacter pylori* for the endoscopy professional: A seral epidemiological study. Am J Gastroenterol 2004; 89: 1987-1992.

Collins J, Ali-Ibrahim A, Smoot D. Antibiotic Therapy for *Helicobacter pylori*. Med Clin N Am 2006; 90:1125-1140.

Correa P. Anatomía patológica de la infección por *Helicobacter pylori*. En: Lopez Brea M (ed). *Helicobacter pylori*: retos para el siglo XXI. Microbiología, clínica y tratamiento. Barcelona: Prous Science; 1999. pp. 213-218.

Cover T, Blanke S. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. Nat Rev Microbiol 2005; 3: 320-332.

Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli L, Nista EC, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Effect of different probiotic preparations on anti- *Helicobacter*

pylori therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study: Am J Gastroenterol 2002; 97: 2744-49.

Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006;12: 354-62.

Czinn SJ. *Helicobacter pylori* infection: detection, investigation and management. J Pediatr 2005;146: s21-6.

Correa P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. Am J Surg Pathol 1995; 19 (supl 1): S37-S43.

Danesh J, Whincup P, Walker M, Lennon L, Thomson A, Appleby P et al. High prevalence of potentially virulent strains of *Helicobacter pylori* in the general male British population. Gut 2000; 47: 23-5.

Dewhirst FE, Shen Z, Scimeca MS, Stokes LN, Boumenna T, Chen T, Paster BJ, Fox JG. Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus *Helicobacter*: implications for phylogenetic inference and systematic. J Bacteriol 2005; 187: 6106-18.

Dixon B. Harmonious coexistence. Lancet Infect Dis 2003; 3 (3):178.

Dore MP, Bilotta M, Vaira D, Manca A, Massarelli G, Leandro G et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in shepherds. Dig Dis Sci 1999; 44: 1161-64.

Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 720-41.

Durant JA, Corrier DE, Ricke SC. Short-chain volatile fatty acids modulate the expression of the *hilA* and *invF* genes of *Salmonella typhimurium*. J Food Prot 2000; 63: 573-578.

Eaton K, Brooks C, Morgan D, Krakowka S. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. Infect Immun 1991; 59: 2470-75.

Ernst P, Gold B. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*. The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Annu Rev Microbiol 2000; 54: 615-640.

Eslick GD. *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer? A review of the epidemiological, meta-analytic, and experimental evidence. World J Gastroenterol 2006.

Fan X, Gunasena H, Cheng Z. *Helicobacter pylori* urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells and induces their apoptosis. J Immunol 2000; 165: 1918-24.

Fallone CA. Determinants of ethnic or geographical differences in infectivity and transmissibility of *Helicobacter pylori*. *Can J Gastroenterol* 1999; 13: 251-55.

Fowler M, Thomas R, Atherton J, Roberts I, High N. Galectina-3 binds to *Helicobacter pylori* O-antigen: it is upregulated and rapidly secreted by gastric epithelial cells in response to *Helicobacter pylori* adhesion. *Cell Microbiol* 2006; 8: 44-54.

Frenck RW Jr, Clemens J. *Helicobacter* in the developing world. *Microbes Infect* 2003; 5: 705-13.

Gasbarrini A, Gasbarrini G, Pelosini I, Scarpignato C. Eradication of *Helicobacter pylori*: are rifamixin-based regimens effective. *Digestion* 2006; 73 (supl 1): 129-135.

Giannuzzi F, Giannuzzi U, Bianciardi L, Giannace R, Campagna S, Franci MB, Lucani B, Orlandini G, Toricelli V, Lenzi C, Colapinto R, Guglielmetti P, Figura N. Risk factors for acquiring *Helicobacter pylori* infection in a group of Tuscan teenagers. *New Microbiol* 2001; 24 (2): 165-70.

Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review; are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1077-1086.

Graham DY, Adam E, Reddy GT, Agarwal JP, Evans DJ Jr, Malaty HM et al. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India. Comparison of developing and developed countries. *Dig Dis Sci* 2001; 36: 1084-1088.

Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr, Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in a asymptomatic population in the United States. Effect of age, race and socioeconomic status. *Gastroenterology* 2001; 100: 1495-1501.

Greenwald DA. Aging, the gastrointestinal tract and risk of acid related disease. *Am J Med* 2004;117: 8-13.

Haeckel R. *Helicobacter pylori* infection. Part 1: Epidemiology, pathobiochemistry, diagnosis and therapy. *Lab Med* 2006; 20: 78-84.

Höcker M, Hohenberger P. *Helicobacter pylori* virulence factors – one part of a big picture. *Lancet* 2003; 362: 1231-33.

Holcombe C, Omotara BA, Eldridge J, Jones DM. *Helicobacter pylori*, the most common bacteria infection in Africa: A random serological study. *Am J Gastroenterol* 2002; 87: 28-30.

Honda K, Ohkusa T, Takashimizu I, Watanabe M, Amagasa M. High risk of *Helicobacter pylori* infection in young Japanese dentists. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2001; 16: 862-865.

III Encuesta de Serovigilancia de la CM. *Boletín epidemiológico de la CM* 2002; vol 8 (5).

Jiang X, Doyle MP. Growth supplements for *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1984-1987.

Jones NL, Sherman P, Fallone CA, Flook N, Smail F, Veldhuyzen van Zanten S, Hunt R, Thomson A. Canadian *Helicobacter* Study Group Consensus Conference: update on the approach to *Helicobacter pylori* infection. *Can J Gastroenterol* 2005; 19: 399-408.

Kato M, Saito M, Fukuda S, Kato C, Ohara S, Hamada S, Nagashima R, Obara K, Suzuki M, Honda H, Asaka M, Toyota T. 13C-Urea breath test, using a new compact nondispersive isotope-selective infrared spectrophotometer: comparison with mass spectrometry. *J Gastroenterol* 2004; 39: 629-34.

Kim S, Kim JS, Kim JM, Chae Jung H, Sung Song I. Inhibition of proinflammatory cytokine expression by NF-kappa B (p65) antisense oligonucleotide in *Helicobacter pylori* infected mice. *Helicobacter* 2005; 10:559-566.

Kivi M, Tindberg Y. *Helicobacter pylori* occurrence and transmission: a family affair? *Scand J Infect Dis* 2006; 38: 407-17.

Kiesslich R, Goetz M, Burg J, Stolte M, Siegel E, Maeurer MJ, Thomas S, Strand D, Galle PR, Neurath MF. Diagnosing *Helicobacter pylori* *in vivo* by confocal laser endoscopy. *Gastroenterology* 2005; 128: 2119-2123.

Kikuchi S, Dore MP. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2005; 10: 1-4.

Kusters J, van Vliet A, Kuipers E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 449-490.

Lee A. The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 2004; 29 (Suppl. 201): 2-6.

Li C, Musich PR, Ha T, Ferguson DA Jr, Patel NR, Chi DS et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* in saliva demonstrated by a novel PCR assay. *J Clin Pathol* 2005; 48: 662-666.

Logan RPH, Hirschl AM. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 12 (Suppl. 1): 1-5.

Logan RP, Walker MM. ABC of the upper gastrointestinal tract: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 2001; 323: 920-2.

López-Brea M, Alarcón T, Barquero M, Domingo D, Royo G. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. SEIMC.

López-Brea M, Alarcón T, Boixeda D. Infecciones por *Campylobacter* y *Helicobacter*. *Tratado Seimc de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Madrid. Panamericana. 2005. Pp 393-398.

López-Brea M, Alarcón T, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. The year of *Helicobacter pylori* 1997. *Curr Opin Gastroenterol* 1997; 13 (supl 1). 13-19.

López-Brea M, Domingo D, Alarcón T. Diagnóstico por la infección de *Helicobacter pylori*. En: López-Brea M (ed). *La infección por Helicobacter pylori en el niño*. Madrid. Ergon. 2007; 49-60.

Lozniewski A, Haristoy X, Rasko DA, Hatier R, Plénat F, Taylo DE, Angioi-Duprez K. Influence of Lewis antigen expression by *Helicobacter pylori* on bacterial internalization by gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2003; 71: 2901-906.

Magalhaes Queiroz DM, Luzzza F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006; 11: 1-5.

Malfertheiner P, Megraud F, O`Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers E. Currents concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2006.

Marchildon PA, Sugiyama T, Fukada Y, Peacpck JS, Asaka M, Shimoyama T, Graham DY. Evaluation of the effects of strain-specific antigen variation on the accuracy of serologic diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1480-1485.

Martín de Argila C, Boixeda D, Canton R, Mir N, De Rafael L, Gisbert J et al. *Helicobacter pylori* infection in a healthy population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 8-12: 1165-1168.

Marshall BJ. Estado actual de la infección por *Helicobacter pylori*. En: López-Brea, editor. *Helicobacter pylori*. Microbiología, clínica y tratamiento. Madrid: Mosby / Doyma, 1995: 11-22.

Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985; 142: 436-439.

Marshall BJ, Goodwin CS. Revised nomenclature of *Campylobacter pyloridis*. *Int J Syst Bacteriol* 1987; 37: 68.

Marshall BJ, Royce H, Annear DI, Goodwin CS, Pearman JW, Warren JR, Armstrong JA. Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbios Lett* 1984; 25: 83-88.

Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1314.

Martín de Argila C, Boixeda D, Cantón R, Mir N, de Rafael L, Gisbert J et al. *Helicobacter pylori* infection in a healthy population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 1165-1168.

Martínez MJ. Tratamiento de la infección de *Helicobacter pylori*. En: López-Brea M (ed). *La infección de Helicobacter pylori en el niño*. Madrid. Ergon. 2007; 81-89.

Matsuda R, Morizane T. *Helicobacter pylori* infection in dental professionals: a 6 year prospective study. *Helicobacter* 2005; 10: 307-311.

Matsuda R, Morizane T, Tsunematsu S, Kawana I, Tomiyama M. *Helicobacter pylori* prevalence in dentist in Japan: a seroepidemiological study. *J Gastroenterol* 2002; 37 (4): 255-9.

Matysiak-Budnik T, Gosciniak G, Bugmann D, Lubczynska-Kowalska W, Poniewierka E, Knapik Z et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in medical staff in Poland. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 6: 309-311.

Megraud F. ¿Quand et comments'infecte-t-on par *Helicobacter pylori*? *Gastroenterol Clin Biol* 2003; 27: 374-9.

Megraud F, Neman-Simba V, Brugmann D. Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter pylori* urease on human epithelial cells. *Infect Immun* 1992; 60: 1858-63.

Millar-Podraza H, Lanne B, Angstrom J et al. Novel binding epitope for *Helicobacter pylori* found in neolacto carbohydrate chains: structure and cross binding properties. *J Biol Chem* 2005; 280: 19695-703.

Moayyedi P, Axon A, Feltbower R, Duffett S, Crocombe W, Brauholtz D, Richards G, Dowel A, Forman D. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 624.

Moayyedi P, Talley J. Gastroesophageal reflux disease. *Lancet* 2006; 367 (9528): 2086-2100.

Montecucco C, de Bernard M. Immunosuppressive and proinflammatory activities of the VacA toxin of *Helicobacter pylori*. *J Exp Med* 2003; 198:1767-1771.

Montecucco C, Rappuoli R. Living dangerously: how *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 457-466.

Moran AP, Helander IM, Kosunen TU. Compositional analysis of *Helicobacter pylori* roughform lipopolysaccharides. *J Bacteriol* 1992; 174: 1370-7.

Morio O, Rioux-Leclercq N, Pagenault M, Corbinais S, Ramee MP, Gosselin M, Bretagne JF. Prospective evaluation of a new rapid urease test (Pronto dry) for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin Biol* 2004;28: 469-573.

Morris A, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 192-199.

Morris JM, Reasonover AL, Bruce MG, Bruden DL, MacMahon BJ, Sacco FD, Berg DE, Parkinson AJ. Evaluation of seaFAST, a rapid test fluorescent in situ hybridization test, for detection of *Helicobacter pylori* and resistance to clarithromycin in paraffin-embedded biopsy sections. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1636-1640.

Mujumdar P, Shah SM, Dhunjibhoy KR, Desai HG. Isolation of *Helicobacter pylori* from dental plaques in healthy volunteers. *Indian J Gastroenterol* 2000; 9: 271-272.

Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to the glycolipid receptors by probiotics *Lactobacillus reuteri*. *FEMS* 2002; 32: 105-110.

Murakami M, Yoo J, Teramura S, Yamamoto K, Saita H, Matuo K, Asada T, Kita T. Generation of ammonia and mucosal lesion formation following hydrolysis of urea by urease in the rat stomach. *J Clin Gastroenterol* 1990; 12: 104.

Murray LJ, McCrum EE, Evans AE, Bramford KB. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection among 4742 randomly selected subjects from Northern Ireland. *Int J Epidemiol* 2007; 26: 880-887.

Nardone G, Rocco A, Malfertheiner P. Review article: *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesions. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 261- 270.

Murray LJ, McCrum EE, Evans AE, Bramford KB. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection among 4742 randomly selected subjects from Northern Ireland. *Int J Epidemiol* 2007; 26: 880-887.

Ndip RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiologic methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 616-622.

Nomura S, Suzuki H, Masaoka T, Kurabayashi K, Ishii H, Kitajima M, Nomoto K, Hibi T. Effect of dietary anti-urease immunoglobulin Y on *Helicobacter pylori* infection in Mongolia gerbils. *Helicobacter* 2005; 10: 43-52.

Nurgalieva ZZ, Malaty HM, Graham DY, Almuchambetova R, Machmodova A, Kapsultanova D et al. *Helicobacter pylori* infection in Kazakhstan: effect of water source and household hygiene. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67: 201-6.

O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43:38.

Olzack A, Olson J, Maier R. Oxidative stress resistance mutants of *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol* 2002; 184: 3186-93.

Organización Mundial de la Salud. Encuesta de salud bucodental. Métodos básicos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud 1997 p. 41.

Pathak CM, Bhasin DK, Khanduja KL. Urea breath test, for *Helicobacter pylori* detection: present status. *Trop Gastroenterol* 2004; 25: 156-61.

Pearch HG, Pearve D, Fansh SJ. *Helicobacter pylori* infection in a Australian regional city: prevalence and risk factor. *MJA* 2007; 167:310-313.

Pérez-Pérez GI, Witkin SS, Decker MD, Blaser MJ. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in couples. *J Clin Microbiol* 2001; 29: 642-644.

Pérez- Pérez GI, Rothenbacher D, Brenner H. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2004; 9: 1-6.

Pillay KV, Htun M, Naing NN, Norsa'adah B. *Helicobacter pylori* infection in peptic ulcer disease: the importance of smoking and ethnicity. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38(6): 1102-10.

Pristautz H, Eherer A, Brezinschek R, Truschnig-Wilders M, Petritsch W, Schreiber F et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies in the serum of gastroenterologists in Austria. Endoscopy 2004; 26: 690-696.

Prouzet – Mauoleon V, Hussain MA, Lamouliatte H, Kausser F, Megraud F, Ahmed N. Pathogen evolution *in vivo*: genome dynamics of two isolates obtained 9 years apart from a duodenal ulcer patient infected with a single *Helicobacter pylori* strain. J Clin Microbiol 2005; 43: 4237-4241.

Quasim A, O`Morain CA. Treatment of *Helicobacter pylori* infection and factors influencing eradication. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16 (supl 1) 24-30.

Quesada M, Sanfeliu I, Junquera F, Segura F, Calvet X. Evaluation of *Helicobacter pylori* susceptibility to rifamixin. Gastroenterol Hepatol 2004; 27: 393-396.

Quirós A, Quirós E, González I, Bernal MC, Piédrola G, Martoto MC. *Helicobacter pylori* seroepidemiology in risk groups. Eur J Epidemiol 1994; 10: 299-301.

Salama N, Guillemin K, McDaniel TK, Sherlock G, Tompkins L, Falkow S. A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 40: 4504-4511.

Sanz JC. Epidemiología y transmisión de *Helicobacter pylori*. En: López- Brea M (ed). La infección por *Helicobacter pylori* en el niño. Madrid. Ergon. 2007; 69-79.

Schmidt H, Hensel M. Pathogenicity Islands in Bacterial Pathogenesis. Clin Microbiol Rev 2004; 17: 14-56.

Siddiq M, Haseeb-ur- Rehman, Mahmood A. Evidence of *Helicobacter pylori* infection in dental plaque and gastric mucosa. J Coll Physicians Surg Pak 2004; 14: 205-7.

Segal I, Ally R, Mitchell H. Gastric cancer in sub-Saharan Africa. Eur J Cancer Prev 2001; 10: 479-82.

Selbach M, Moese S, Meyer TF y Backert S. Functional analysis of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity islands reveals both VirD4-CagA-independent mechanisms. Infect Immun 2002; 70: 665-671.

Shibata W, Hirata Y, Yoshida H et al. NF- κ B and ERK-signaling pathways contributing to the gene expression induced by cagPAI positive *Helicobacter pylori* infection. World J Gastroenterol 2005; 11: 6134-43.

Simala- Grant JL, Taylor DE. Molecular biology methods for the characterization of *Helicobacter pylori* infections and their diagnosis. APMIS. 2004; 112: 886-97.

Singh K, Ghoshal UC. Causal role of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer: an Asian enigma. World J Gastroenterol 2006; 12: 1346-51.

Solnick JV, Shauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 59-97.

Suzuki H, Seto K, Mori M, Suzuki M, Miura S, Ishii H. Monochloramine induced DNA fragmentation in gastric cell line MKN45. Am J Physiol 1998; 275: G712-6.

Taylor DE, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiol Rev 2001; 13: 42-59.

The European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPHG). Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastrich Consensus Report. Gut 1997; 41: 8-13.

Torres J, López L, Lazcano E, Camorlinga M, Flores L, Muñoz O. Trends in *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer in México. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14:1874-7.

Van Door L, Figueriedo C, Sanna R, Pena S, Midolo P, Enders K, Atherton J, Blaser M, Quint W. Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori* vacA. J Clin Microbiol 1998; 36: 2597-2603.

Vandenplas Y, Blecker U, Devrecker T, Keppens E, Nijs J, Cadranet S et al. Contribution of the C13-urea breath test to the detection of *Helicobacter pylori* gastritis in children. Pediatrics 2002; 90: 608-611.

Wang G, Alamuri P, Maier R. The diverse antioxidant system of *Helicobacter pylori*. Mol Microbiol 2006; 61: 847-860.

Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275.

Wendakoon CN, Thomson AB, Ozimek L. Lack of therapeutic effect of a specially designed yogurt for the eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Digestion* 2002; 65: 16-20.

Wilhoite SL, Ferguson DA Jr, Soike DR, Kañbfleisch JH, Thomas E. Increased prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies among nurses. *Arch Intern Med* 2003; 22: 153(6): 708-12.

Wood Z, Schroder E, Robin Harris J, Poole LB. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 32-40.

Wu H, Nakano T, Datoku E, Morita C, Kohno T, Lian H, Sano K. Intrabacterial proton dependent CagA transport system in *Helicobacter pylori*. *J Med Microbiol* 2005; 54: 117-25.

Yamasaki E, Wada A, Kumatori A, Nakagawa I, Funao J, Nakayama M, Hisatsune J, Kimura M, Moss J, Hirayama T. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic protein Bac and Bak, leading to cytochrome C release and cell death, independent of vacuolation. *J Biol Chem* 2006; 281: 11250-9.

Yamazaki S, Yamakawa A, Okuda T et al. Distinct diversity of *vacA*, *cagA* and *cagE* genes of *Helicobacter pylori* associated with peptic ulcer in Japan. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3906-16.

Zheng P, Jones N. *Helicobacter pylori* strains expressing the vacuolating cytotoxin interrupt phagosome maturation in macrophages by recruiting and retaining TACO (coronin 1) protein. *Cell Microbiol* 2003; 5: 25-40.