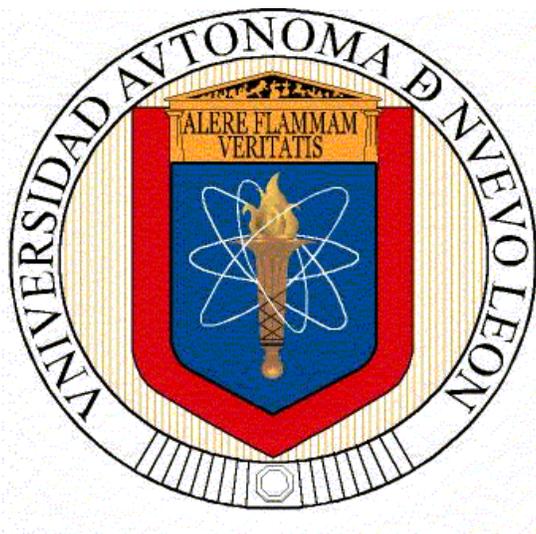


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**PREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN PLACA  
DENTOBACTERIANA DE NIÑOS DE CASA HOGAR**

**POR:  
ALEJANDRA MENDOZA CANTÚ  
Cirujano Dentista**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE  
ODONTOPEDIATRÍA**

**DICIEMBRE 2015**

**PREVALENCIA DE *Helicobacter pylori* EN PLACA DENTOBACTERIANA DE NIÑOS DE CASA HOGAR**

Los miembros del jurado aceptamos la investigación y aprobamos el documento que avala la misma, como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría.

**HONORABLES MIEMBROS DEL JURADO**

---

Presidente

Dra. Hilda H.H. Torre Martínez PhD

---

Secretario

Dr. Jaime Adrián Mendoza Tijerina PhD

---

Vocal

Dr. Miguel Ángel Quiroga García PhD

**ASESORES**

---

Dr. Jaime Adrián Mendoza Tijerina PhD  
**Director de Tesis**

---

Dra. Martha Elena García Martínez PhD  
**Co-Director de Tesis**

---

Dra. Myriam Angélica De La Garza Ramos PhD  
**Asesor Biotecnológico**

---

Dra. Hilda H.H. Torre Martínez PhD  
**Asesor Científico**

---

M.S.P Gustavo Israel Martínez González PhD  
**Asesor Estadístico**

## **DEDICATORIA**

A mi hija Sophia. Tenerte a mi lado es y será siempre mi mayor bendición. Te Amo.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme llegar hasta éste momento y brindarme salud, fuerza y paciencia para completar una meta más en la vida.

A mis padres, que sin duda alguna son mi mayor ejemplo a seguir, estoy aquí por ustedes y les agradezco cada palabra de aliento y apoyo durante los tiempos difíciles para poder seguir adelante y no rendirme, sé que siempre podré contar con su apoyo, de ahora en adelante mis logros serán dedicados a ustedes que me han dado todas las herramientas para convertirme en la mujer que soy, muchas gracias.

A mis hermanos, por su apoyo en todo momento y sus ánimos cuando más lo necesitaba.

Gardo y Sophia, mis amores, gracias por estar ahí para mí, por su comprensión y cariño a pesar de mis jornadas largas de trabajo, viajes del posgrado y que a veces ya solo los veía dormidos, no lo hubiera logrado sin ustedes sin sus abrazos, besos y por supuesto el apoyo que me brindaron durante éstos dos años, los amo muchísimo.

A mis compañeras de generación, Elda, Ethel, Lesly, Marce, Janet, no hubiera sido lo mismo sin ustedes, compartimos alegrías, tristezas, enojos, aventuras, viajes, experiencias y momentos que nunca olvidare, entramos como completas extrañas y salimos como verdaderas hermanas. Las quiero muchísimo y les deseo el mejor de los éxitos tanto personal como profesional. Gracias por sus consejos, su paciencia y su amistad.

A mi director de tesis, Dr. Jaime, por su paciencia y su tiempo para lograr terminar este proyecto.

A la Dra. Myriam de la Garza y el equipo del CIDICS por apoyarme en el trabajo de laboratorio y compartir conmigo su gran conocimiento, siempre les estaré agradecida.

A la Dra. Martha Elena García Martínez por depositar en mí su confianza desde el momento de ser aceptada, motivarme a ser mejor persona y culminar mis estudios de maestría.

A todos mis maestros del posgrado que sin duda alguna marcaron una etapa importante en mi camino, les agradezco de corazón el compartir su sabiduría y mostrar paciencia en cada momento difícil.

A mis pacientes y a los padres de mis pacientes por confiarme a su más grande tesoro, siempre tratándolos con el cariño y respeto que se merecen.

Por último, Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de mis estudios.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Sección</b>	<b>Página</b>
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTOS.....	V
LISTA DE TABLAS.....	VIII
LISTA DE GRÁFICAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT.....	XII
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>13</b>
1.1 Clasificación de estudio.....	13
<b>2. JUSTIFICACION.....</b>	<b>14</b>
<b>3. HIPOTESIS.....</b>	<b>15</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
3.1 Objetivo General.....	15
3.2 Objetivos Específicos.....	15
<b>5. ANTECEDENTES.....</b>	<b>16</b>
5.1 Historia.....	16
5.2 Epidemiología por infección de <i>Helicobacter pylori</i> .....	17
5.3 Importancia clínica de la infección por <i>Helicobacter pylori</i> en niño.....	18
5.3.1 Gastritis.....	19
5.3.2 Úlcera duodenal.....	19
5.4 Métodos de detección para <i>Helicobacter pylori</i> .....	20
5.5 Tratamiento para <i>Helicobacter pylori</i> .....	20
5.6 Presencia y transmisión de <i>Helicobacter pylori</i> en cavidad bucal.....	20
5.7 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	22
5.8 Características de niños de casa hogar.....	22
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
6.1 Universo de estudio.....	25
6.2 Tamaño de muestra.....	25
6.3 Criterios de selección.....	26
6.3.1 Criterios de inclusión.....	26
6.3.2 Criterios de exclusión.....	26
6.3.3 Criterios de eliminación.....	26
6.7.4 Definición de variables.....	26
6.4.1 Variable dependiente.....	26
6.4.2 Variables independientes.....	26
6.5 Descripción de procedimientos.....	27

6.5.1 Explicación a los tutores y obtención de consentimiento informado .....	27
6.5.2 Obtención de muestras de placa dentobacteriana .....	27
6.5.3 Extracción de ADN del cultivo .....	27
6.5.4 Detección molecular de <i>Helicobacter pylori</i> por PCR convencional.....	28
6.5.5 Electroforesis.....	28
6.7 Validación de datos .....	28
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>38</b>
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>10. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>11. CÓDIGO DE ÉTICA PROFESIONAL.....</b>	<b>45</b>
<b>12. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>51</b>

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tablas</b>	<b>Página</b>
1. Presencia de <i>Helicobacter pylori</i> en el total de la muestra .....	31
2. Edad y género de los niños evaluados .....	32
3. Presencia de la madre en muestras positivas a <i>Helicobacter pylori</i> .....	33
4. Presencia de la madre y presencia de <i>Helicobacter pylori</i> en placa dentobacteriana en los niños .....	34
5. Presencia de factores de salud evaluados .....	35
6. Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en placa dentobacteriana en niños y tutores .....	37

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráficas	Página
1. Presencia de <i>Helicobacter pylori</i> en el total de la muestra .....	31
2. Edad y género de los niños evaluados .....	32
3. Presencia de la madre en muestras positivas a <i>Helicobacter pylori</i> .....	33
4. Presencia de la madre y presencia de <i>Helicobacter pylori</i> en placa dentobacteriana en los niños .....	34
5. Presencia de factores de salud evaluados .....	36
6. Prevalencia de <i>Helicobacter pylori</i> en placa dentobacteriana en niños y tutores .....	37

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Palillo de madera .....	57
2. Zona de obtención de la muestra .....	57
3. Trypticaseína soya en tubos eppendorf de 1.5mL .....	57
4. Centrifuga 1 minuto a 8000x G .....	57
5. Buffer de unión .....	57
6. Isopropanol .....	57
7. Tubo filtro .....	57
8. Buffer de inhibición .....	57
9. Buffer de lavado .....	57
10. Buffer de elución .....	57
11. Primer Forward y Reverse del gen VacA .....	57
12. Termociclador MJ Mini Personal Thermal Cycler (Bio-Rad) .....	57
13. Temperatura programada en el termociclador .....	58
14. Producto de PCR diluido en azul de Bromofenol 5X (Promega) .....	58
15. Material siendo transportado a gel de agarosa al 2% .....	58
16. Material siendo transportado a gel de poliacrilamida al 8% .....	58
17. Proceso de electroforesis. 80 volts por 45 minutos .....	58
18. Gel de poliacrilamida con muestras positivas a <i>Helicobacter pylori</i> .....	58

## RESUMEN

**Alejandra Mendoza Cantú**  
**Universidad Autónoma de Nuevo León**  
**Facultad de Odontología**  
**Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Odontopediatría**

**Título:** Prevalencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana de niños de casa hogar.

**Introducción.** El *Helicobacter pylori* es una bacteria común que está latente en millones de personas alrededor del mundo, tanto pacientes adultos como niños. Se ha comprobado la existencia del ADN de dicha bacteria en placa dentobacteriana de pacientes pediátricos aparentemente sanos, en los que se asume a la cavidad oral como el ambiente que sirve para su reservorio. La transmisión por alimentos contaminados, agua, o en general las prácticas inadecuadas de saneamiento, así como clase social baja, entre otros factores, parecen estar relacionados con una mayor prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*.

**Objetivo.** Determinar la prevalencia de *Helicobacter pylori* en la placa dental de niños de casa hogar de las redes de asistencia de Back2Back.

**Materiales y Métodos.** La investigación se realizó con pacientes de 3 a 16 años de las redes de asistencia de Back2Back y en el área de Biología Molecular de la unidad de Odontología Integral del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud de la UANL en pacientes aparentemente sanos, buscando la presencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana. Las muestras fueron tomadas de las caras vestibulares de molares superiores y colocadas en un medio de cultivo para su conservación. Posteriormente se realizó la extracción del ADN que fue analizado por la técnica de PCR en tiempo real. Las muestras fueron analizadas y los datos fueron capturados en una base de datos en el programa IBM SPSS Statistics 20. Se utilizó la prueba estadística  $X^2$  Considerada con un 95% de confiabilidad.  $X^2=4.33$ ,  $p=0.379$

**Resultados.** Se obtuvo en el estudio que de un total de 50 muestras el 38% fueron positivas a *Helicobacter pylori*; en cuanto a genero el 51% correspondieron a pacientes masculinos y las edades con mayor prevalencia fueron de 6 a 8 años con un 22%. No hay relación entre el contacto de la madre y la presencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana de los niños de casa hogar.

**Conclusión.** Se determinó que la prevalencia de *Helicobacter pylori* en los cultivos de placa dentobacteriana mediante PCR en tiempo real de niños de casa hogar de la red de asistencia Back2back no es significativa.

Se destaca la importancia de la placa dentobacteriana en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral de los niños y notificar a las autoridades correspondientes su presencia para poder realizar campañas de concientización.

**Palabras Clave:** *Helicobacter pylori*, Placa Dentobacteriana, Niños

## ABSTRACT

**Alejandra Mendoza Cantú**  
**Universidad Autónoma de Nuevo León**  
**Facultad de Odontología**  
**Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Odontopediatría**

**Title:** Prevalence of *Helicobacter pylori* in dental plaque of orphan children.

**Introduction.** *Helicobacter pylori* is a common bacterium that is found in a million of people around the world, both adults and children patients. It has been proved the existence of the DNA of the bacteria in dental plaque in apparently healthy pediatric patients, where the oral cavity environment is assumed to be its reservoir. Transmission through contaminated food, water, or a general inadequate sanitation practice and poverty, among other factors, appear to be associated with a higher prevalence of *Helicobacter pylori* infection.

**Objective.** The AIM of this study was to detect the prevalence of *Helicobacter pylori* in dental plaque of orphan children of the back2back network.

**Materials and methods.** The research was conducted with 3 to 16 years old patients from Back2Back networks and the facilities of Molecular Biology Unit of Integral Dentistry Center for Research and Development in Health Sciences of the UANL in apparently healthy patients searching for the presence of *Helicobacter pylori* in dental plaque. Samples were taken from the buccal surfaces of molars and placed in a growth medium for preservation. Subsequently DNA extraction was analyzed and performed by the technique of real-time PCR. The samples were analyzed and the data was captured in a database in the IBM SPSS Statistics 20 program. Statistical test was used with 95 % of confidence.  $X^2=4.33$ ,  $p=0.379$

**Results.** It was obtained in the study a total of 50 samples were 38% were positive for *Helicobacter pylori*; in terms of gender 51 % were male patients and the age most prevalent was 6-8 years 22%. There is no relation between the contact of the mother and the presence of *Helicobacter pylori* in dental plaque of orphan children.

**Conclusion.** It was determined that the prevalence of *Helicobacter pylori* in dental plaque by real-time PCR in orphan children from Back2Back network is not significant.

**Keywords.** *Helicobacter pylori*, Dental Plaque, Children

## 1. INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* es una bacteria común que está latente en millones de personas, su presencia ha sido detectada en pacientes de todo el mundo en muestras de mucosa gástrica asociada a la gastritis, pero también en casos de infecciones asintomáticas. El principal reservorio encontrado hasta el momento es el estómago del hombre, por lo que la transmisión persona a persona, vía oral-oral o fecal-oral parece ser la fuente de contagio más importante. En México, la prevalencia de *Helicobacter pylori* ha sido reportada hasta en un 66% de la población siendo asintomática y pasando por todos los grupos de edades. En niños la tasa de infección aumenta conforme la edad se incrementa.

Se define vulnerabilidad al estado donde se puede estar en una situación de riesgo y las personas pueden sufrir un importante daño físico, emocional o mental.

Un niño vulnerable es un niño que, por circunstancias de nacimiento o entorno inmediato, es propenso al abuso o a la privación de las necesidades básicas, el cuidado y la protección y que por lo tanto está en desventaja en relación con los demás niños que si cuentan con estas necesidades básicas.

La pérdida de un padre por muerte o deserción es un aspecto importante de vulnerabilidad.

Se ha comprobado la existencia del ADN de *Helicobacter pylori* en placa dental en pacientes pediátricos aparentemente sanos, en los que se asume a la cavidad oral como el ambiente que sirve de reservorio para dicha bacteria. La transmisión por alimentos contaminados, agua, o en general las prácticas inadecuadas de saneamiento, clase social baja y las condiciones de hacinamiento o de alta densidad parecen estar relacionados con una mayor prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*.

Por lo que se planteó la pregunta:

¿Cuál es la prevalencia de *Helicobacter pylori* en niños de casa hogar?

### 1.1 CLASIFICACION DEL ESTUDIO

Es un estudio Descriptivo, Abierto, Observacional, Prospectivo, Transversal

## 2. JUSTIFICACIÓN

Se sabe que *Helicobacter pylori* es el agente causal más común de la gastritis, así como de la úlcera duodenal que puede estar asociado a problemas más graves de salud como enfermedades gástricas, cáncer gástrico o ser la primera causa de mortalidad dentro de las neoplasias del tubo digestivo.

A nivel mundial se considera la infección bacteriana más difundida y prevalente y se plantea que la mitad de la población se ve afectada por ella en algún momento de su vida. Su principal factor de riesgo lo constituyen personas vulnerables como aquellas con un status socioeconómico bajo, así como el consumo de agua no potable y malas condiciones sanitarias.

El establecer la presencia de *Helicobacter pylori* en la población infantil nos permitirá conocer en que género y desde que edad se presenta y desarrolla la bacteria, así como que áreas de la sociedad son más susceptibles o vulnerables y si un entorno familiar puede hacer la diferencia.

Se pretende incrementar medidas de prevención y así evitar la aparición y/o permanencia en la cavidad oral de *Helicobacter pylori* y de esta manera disminuir la incidencia de factores que predisponen al desarrollo de enfermedades en la cavidad oral como la enfermedad periodontal.

El fin de este proyecto es destacar la importancia de la placa dentobacteriana en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* en la cavidad bucal de los niños y hacer énfasis en el papel que puede tomar como el reservorio de este microorganismo.

### 3. HIPÓTESIS

Existe prevalencia de ADN de *Helicobacter pylori* en la placa dentobacteriana de niños de casa hogar de las redes de asistencia de Back2Back.

### 4. OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de *Helicobacter pylori* en la placa dental de niños de 3 a 16 años de edad que se encuentran en las redes de asistencia de la asociación Back2Back en el periodo correspondiente al mes noviembre- diciembre del 2014.

#### 4.2 Objetivos Específicos

-Aislar *Helicobacter pylori* a partir de muestras de placa dental en niños de la red de asistencia de la asociación Back2Back

-Identificar la presencia de *Helicobacter pylori* en los cultivos de la placa dentobacteriana mediante PCR en tiempo real

## 5. ANTECEDENTES

### 5.1 Historia

Las primeras observaciones de microorganismos en la mucosa gástrica datan de finales del siglo antepasado cuando el profesor Walery Jaworski investigó sedimentos de lavados gástricos obtenidos de humanos en 1899.

En 1940, Freedberg y Barron demostraron microscópicamente la presencia de diferentes tipos de bacterias en muestras de estómago de varios pacientes, relacionándolo con úlcera gástrica.

En 1975 Steer y colaboradores. Estudiaron muestras de pacientes con úlcera gástrica utilizando microscopio electrónico y observaron la presencia de microorganismos de forma espiral bajo la capa de moco y en la mucosa, todo esto asociado a una respuesta inflamatoria (Steer y colaboradores 1975)

Sin embargo, el verdadero descubrimiento de estas bacterias se realizó en 1983 cuando los trabajos escritos por Warren y Marshall fueron publicados.

Marshall inoculó muestras de mucosa gástrica en medios de cultivo usuales, incubó las placas por cinco días y obtuvo por primera vez el cultivo de *Helicobacter pylori*, revolucionando así el mundo de la gastroenterología y obligó a replantear muchos conceptos patólogo-gastroduodenales y de fisiopatología gástrica. (Warren y Marshall 1983, 1984)

En 2005, Warren y Marshall fueron condecorados con el Premio Nobel de Medicina por sus trabajos acerca de *Helicobacter pylori* (Hellström 2006).

El *Helicobacter pylori* es una bacteria común que está presente en millones de personas en todo el mundo. En E.U., más de 50% de las personas mayores de 60 años se ven afectados. Es una bacteria que podemos encontrar en el revestimiento mucoso del estómago y se sabe que es responsable del 60% a 80% de las úlceras gástricas y del 70% a 90% de las úlceras duodenales. (Carolyn Hildreth y colaboradores 2008).

En 1997, Tomb y colaboradores descubrieron la secuencia completa del genoma del *Helicobacter pylori*. La Sociedad Americana de microbiología reconoce más de 10 especies dentro del género de *Helicobacter* y géneros relacionados (Versalovic y colaboradores 1999).

## **5.2 Epidemiología por infección de *Helicobacter pylori***

La presencia de *Helicobacter pylori* ha sido detectada en pacientes de todo el mundo en muestras de mucosa gástrica asociada a la gastritis. Pero también en casos de infecciones asintomáticas. La mayoría de los estudios se basan en estudios de prevalencia, ya que los de incidencia son difíciles de llevar a cabo. La incidencia se refiere al número de nuevos casos de infección en un periodo de tiempo y población específica; en cambio la prevalencia se define como el número de casos infectados presentes en una población y en un momento determinado. Ésta depende preferentemente de la edad, el estado socioeconómico y los hábitos de higiene. (Oliveira y colaboradores 1994).

Existe una correlación directa entre el bajo nivel socioeconómico y la infección por *Helicobacter pylori*. La mayor incidencia de la infección es en los países en vías de desarrollo o subdesarrollados como por ejemplo África y América del Sur en cambio la incidencia más baja se encuentra en Europa Occidental y América del Norte. (Guandalini y colaboradores 2004).

El principal reservorio encontrado hasta el momento es el estómago del hombre, por lo que la transmisión persona a persona, vía oral-oral o fecal-oral parece la fuente de contagio más importante (Best y colaboradores 1994).

El *Helicobacter pylori* puede ser diseminado por contacto con secreciones gástricas y se ha observado el contagio a personas que trabajan realizando endoscopias (Best y colaboradores 1994).

La organización mundial de la salud a través de su Agencia para la Investigación del Cáncer reconoció en 1994 a *Helicobacter pylori* como un carcinógeno tipo I en su clasificación de agentes biológicos carcinogénicos. (Eurogast Study group, 1993).

En México, la prevalencia de *Helicobacter pylori* ha sido reportada en un 66% de la población siendo asintomática y en todos los grupos de edades. En niños la tasa de infección aumenta directamente con la edad: en niños menores de 4 años la encontramos en un 24.5% mientras que en adolescentes la encontramos en un 65%. (Torres y colaboradores 1998).

En un estudio realizado en el Norte de México la tasa de infección en una población con rango de edad de 15 a 19 años es de 50%, mientras que, en el Sur, donde los índices de pobreza son mayores, la prevalencia llega hasta un 86.1%. (Nares y colaboradores 2007).

En México, el cáncer gástrico ocupa el segundo lugar como causa de muerte de cáncer en general y es la primera causa de mortalidad dentro de las neoplasias del tubo digestivo. En general se considera a México como un área de bajo riesgo con una tasa de mortalidad de 5.0 por cada 100,000 habitantes, afecta con mayor frecuencia a los hombres en una relación 1.5:1 y a las mujeres en un 2:1, no es usual que se presente antes de la cuarta década de la vida, teniendo un pico de incidencia llegando a los 70 años de edad (INEGI, 2010).

El grupo de investigadores de (Desai y colaboradores 1991) así como (Ferguson y colaboradores 1993) sugieren que el *Helicobacter pylori* se encuentra refugiado en la cavidad bucal con una atmósfera húmeda y un ambiente reducido en oxígeno, aunque la importancia de esto en la transmisión de microorganismos en la población general es incierta.

### **5.3 Importancia clínica de la infección por *Helicobacter pylori* en niños.**

El incremento de la infección por *Helicobacter pylori* en la población en general y la exposición temprana, son factores que permiten explicar la razón por la cual este microorganismo se le encuentra en los niños de diferentes grupos de edad. Si bien se sabe que la infección puede ser asintomática, en los niños en ocasiones, se reporta dolor abdominal recurrente y síntomas de dispepsia. (Chelimsky G. 2002; Vamdemplas Y 2001).

La infección por *Helicobacter pylori* puede presentarse como gastritis aguda o crónica, úlcera duodenal o gástrica, carcinoma gástrico, linfoma B (Maltoma), que también tiene manifestaciones digestivas tales como anemia, deficiencia de hierro y urticaria. (Guandalini y colaboradores 2004).

Los niños que padecen gastritis por *Helicobacter pylori* suele mostrar síntomas como: estómago irritable, disminución de apetito, aversión por la comida, náuseas, reflujo gastro-esofágico, flatulencias y dispepsia (distensión abdominal), eructos, hambre o dolores nocturnos que se alivian después de la administración de medicamentos. (Rowland y colaboradores 2008) (Guandalini y colaboradores 2004).

### **5.3.1 Gastritis**

La gastritis es el proceso inflamatorio de la mucosa gástrica que se manifiesta clínicamente como un síndrome dispéptico con regularidad alimenticia y con periodos estacionales. (Rowland y colaboradores 2008).

Se sabe de manera cierta que la gastritis y las úlceras tiene una etiología multifactorial, siendo el resultado de un proceso inflamatorio generado por el desequilibrio entre los factores de citoprotección, propiedad de la mucosa gástrica de crear una barrera celular así como la secreción de bicarbonato y factores de crecimiento entre otros, y los factores citotóxicos de la mucosa gástrica y duodenal, los cuales proporcionan altos niveles séricos de gastrina y de ácidos, así como la secreción de radicales libres de oxígeno y monóxido de nitrógeno, esto asociado con factores genéticos, ambientales y otros factores de riesgo exógenos. (Blanchard y colaboradores 2007).

Al *Helicobacter pylori* se le reconoce actualmente como el principal factor patogénico de la gastritis crónica, la enfermedad de úlcera péptica y cáncer gástrico. Es una de las infecciones entéricas más comunes en todo el mundo con un máximo de 50% de la población mundial infectada. (Uemura y colaboradores 2001).

### **5.3.4 Úlcera duodenal**

Es menos frecuente en niños que en adultos, pero cuando se observa, puede ser primaria o secundaria, (Drumm y colaboradores 1988). La úlcera duodenal secundaria está asociada con la presencia de *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica. (Hassall and Dimnick, 1989).

#### **5.4 Métodos de detección para *Helicobacter pylori***

**Prueba de sangre:** se busca una respuesta inmune como evidencia de la exposición de la bacteria.

**Prueba de aliento:** un compuesto formado cuando se descomponen las proteínas puede ser detectado por una prueba de aliento para medir el dióxido de carbono especialmente marcado y de esta manera confirmar la presencia de la bacteria en el cuerpo.

**Endoscopia:** se observa el interior del estómago y el duodeno con un tubo delgado y flexible que tiene luz en un extremo y le permite al médico ver a través del otro extremo y tomar pequeñas muestras de tejido y así poder hacer las pruebas necesarias para la detección de la bacteria.

**Cultivo:** es el crecimiento de bacterias en un laboratorio a partir de una muestra de tejido. (Carolyn Hildreth y colaboradores 2008).

#### **5.5 Tratamiento para *Helicobacter pylori***

El tratamiento de las infecciones por *Helicobacter pylori* implica una doble terapia antibiótica: Amoxicilina + Claritromicina o Amoxicilina + Metronidazol o Metronidazol + Claritromicina durante dos semanas y los que son inhibidores de la bomba de protones durante 4 semanas (Clarithromicina) (Malfertheiner y colaboradores 2007).

#### **5.6 Presencia y transmisión de *Helicobacter pylori* en cavidad bucal**

Se ha comprobado la existencia de ADN de *Helicobacter pylori* en placa dental en pacientes pediátricos aparentemente sanos, en los que se asume que la cavidad oral es el ambiente que sirve de reservorio para *Helicobacter pylori*. (Cesar Mares 2012).

La bacteria que más comúnmente causa infección estomacal en todo el mundo es *Helicobacter pylori*, que coloniza el estómago humano. Esta bacteria también se ha detectado en algunos nichos ecológicos extra-gástricos tales como la cavidad oral y agua. (Amiri y colaboradores 2015).

Esta bacteria se puede mantener y transmitir a través de la colonización de la cavidad oral y la producción de esporas. La bacteria puede vivir en la placa dental, la saliva, en la membrana de las mucosas de las mejillas y la lengua entre otros lugares. Muchos autores señalan la posibilidad de transmitir la infección a través del vómito y la saliva. (Wardyn y colaboradores 2004) .

Parece muy probable que la colonización del esófago por *Helicobacter pylori* puede favorecer la transmisión oral-oral en pacientes con enfermedad de reflujo gastroesofágico, durante el reflujo se puede esperar frecuentemente la migración hacia atrás de las bacterias al estómago. (Tarnowski y colaboradores 2001).

Varios estudios han evaluado la saliva y la placa dental como posibles muestras no invasivas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* empleando diversas técnicas como la detección de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori* en saliva, pero los valores de sensibilidad y especificidad han sido inferiores al 90% (Ballam y colaboradores 2000).

Por otra parte, el cultivo de la bacteria a partir de la cavidad oral pocas veces ha sido positivo. Sin embargo, con la PCR se han reportado buenos resultados cuando se han empleado saliva y placa dentobacteriana como muestras (Kignel y colaboradores 2005).

En cuanto a su transmisión; hay diferentes estudios que han utilizado diferentes cuestionarios para investigar los factores que posiblemente están relacionados con la etiología de la infección por *Helicobacter pylori*. La mayoría de estos estudios no han encontrado el consumo de tabaco o el consumo de alcohol como factores de riesgo para la infección de *Helicobacter pylori*. El estado nutricional adecuado y especialmente el consumo frecuente de frutas, vegetales y de vitamina C, parecen proteger contra la infección con *Helicobacter pylori*. Por el contrario, la comida preparada bajo condiciones menos que ideales o expuesto al agua o suelo contaminado puede aumentar el riesgo. (Brown 2000).

La vía de transmisión parece ser diferente en las zonas rurales en desarrollo y zonas urbanas desarrolladas. En las zonas urbanas desarrolladas, la transmisión de persona a persona dentro de las familias parece ser dominante, mientras que en las áreas rurales en desarrollo la vía de transmisión parece ser más compleja. En este último caso, la transmisión por alimentos contaminados, agua o por medio de un contacto intensivo entre los lactantes y los cuidadores no parentales puede tener una influencia mayor que la transmisión dentro de la familia. (Vale F y Vítor J 2010).

En general, las prácticas inadecuadas de saneamiento, una clase social baja y las condiciones de hacinamiento o de alta densidad parecen estar relacionados con una mayor prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*. Este hallazgo sugiere que las malas condiciones de higiene y de hacinamiento pueden facilitar la transmisión de la infección entre los miembros de la familia y es consistente con los datos de la agrupación intrafamiliar e institucional de infección por *Helicobacter pylori*. (Brown 2000).

### **5.7 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

La técnica de PCR en tiempo real es la más adecuada para detectar un bajo número de bacterias de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral (Sepúlveda y colaboradores 2008).

La técnica de PCR tiene por objetivo obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN en particular, su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad a virus o bacterias. Con la PCR se ha podido detectar *Helicobacter pylori* en muestras de placa dental, aftas bucales, saliva, jugos gástricos y heces, ofreciendo una mejor alternativa para el diagnóstico clínico y para estudios de investigación relacionados con su modo de transmisión (Lu Y. y colaboradores 2002).

### **5.8 Características de niños de casa hogar**

Un niño huérfano o vulnerable es un niño menor a 18 años cuya madre o padre, o ambos padres ha muerto y que es la necesitan de cuidado y protección (Definición del Gobierno de Namibia, 2002) Normalmente, un niño huérfano no tiene ningún padre sobreviviente para cuidar de él o ella. (Wordnet 2007).

Sin embargo, el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) junto con el Programa de Naciones Unidas sobre VIH y SIDA ha etiquetado a cualquier niño que ha perdido a uno de los padres o ambos padres como huérfano. Este enfoque ha identificado tres tipos de huérfanos: *un huérfano materno* es un niño cuya madre ha muerto, *un huérfano paterno* es un niño cuyo padre ha muerto y un *doble huérfano* es un niño que ha perdido a ambos padres. (ONUSIDA Informe Global 2008).

Un niño vulnerable por el contrario es un niño que, por circunstancias de nacimiento o entorno inmediato, es propenso al abuso o a la privación de las necesidades básicas, el cuidado y la protección y que por lo tanto están en desventaja en relación con los demás niños que si cuentan con estas necesidades básicas. La vulnerabilidad es un estado donde se puede estar en una situación de riesgo y las personas pueden sufrir un importante daño físico, emocional o mental que podría dar lugar al incumplimiento de los derechos humanos (CUBS, 2010)

La pérdida de un padre por muerte o deserción es un aspecto importante de vulnerabilidad. Los factores adicionales que conducen a la vulnerabilidad incluyen enfermedad grave de alguno de los padres, la pobreza, el hambre, la falta de acceso a servicios básicos como agua potable, falta de cableado eléctrico etc., vivienda inadecuada, así mismo factores propios del niño incluida la discapacidad o la experiencia directa de alguna violencia física o sexual. (Skinner, y colaboradores 2006).

Los huérfanos siguen siendo un grupo de la población que carece de una protección social adecuada y si un huérfano sufre de problemas de salud mental la situación es peor. Además, el hecho mismo de que un niño vive en un orfanato es visto como uno de los factores que hacen que él tenga muchos problemas, además de la privación del amor maternal y familiar (Prisiazhnaia NV. 2008).

México ocupa el segundo lugar de América Latina en cantidad de niños huérfanos con 1.6 millones, sólo después de Brasil que tiene 3.7 millones, según cifras del Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (Unicef).

De acuerdo con Milenio (2009) la Unicef señala que existen actualmente 10 millones 700 mil niños huérfanos por alguna causa en América Latina y el Caribe y que México ocupa el segundo sitio con casi 15 por ciento de los casos al superar el millón y medio. Brasil tiene el primer lugar de Latinoamérica, ya que en ese territorio se concentra más de 34 por ciento de los casos de orfandad, equivalente a 3.7 millones de niños.

El segundo Censo Nacional de Población 2005 que realizó el INEGI registró que en México hay 28,107 niños, niñas y adolescentes que por algún motivo no pueden vivir con su familia de origen y están institucionalizados en las 657 casas hogar existentes en la República.

La Red por los Derechos de la Infancia en México afirmó que hasta 2010 había en el país 29 mil 310 menores de edad que no contaban con cuidados familiares ni institucionales, y advirtió que la falta de información oficial confiable respecto a cuántos menores se encuentran en albergues, quiénes son, dónde y cómo están, “aumenta más el riesgo de maltrato e impunidad en contra de estos menores”.

Sin embargo, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) informó que hasta el año pasado se tenían censados a cerca de 28 mil 107 niños, niñas y adolescentes habitando en casas-hogar, orfanatos y casas de cuna de todo el país. (Hernández AG. 2012).

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Universo de estudio

Niños que se encuentran en la red de asistencia de Back2Back durante el periodo noviembre-diciembre 2014

### 6.2 Tamaño de muestra

Por las condiciones de la variable a evaluar de tipo cuantitativa (*Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana) donde además, se trata de una población infinita se estimó el tamaño de la muestra con la aplicación de la siguiente fórmula general:

$$n = \frac{N z^2 p q}{e^2 (N-1) + z^2 p q}$$

Para el presente proyecto se determinaron los siguientes valores que serán aplicados para precisar el tamaño de la muestra:

$z = 1.96$  para 95% confiabilidad

$p = 0.75$

$q = 0.25$

$e = 9.5\%$

$N = 200$

Para obtener el tamaño de la muestra se sustituyen los valores y se obtuvo que:

$$n = \frac{200 \cdot 1.96^2 \cdot (0.75) \cdot (0.25)}{9.5^2 \cdot (200-1) + 1.96^2 \cdot (0.75) \cdot (0.25)} \quad n = 50$$

De aquí se obtuvo que el número total de casos de estudio consistiera en la elección probabilística de 50 niños que pertenecen a la red de asistencia de la asociación Back2Back durante el periodo de noviembre-diciembre del 2014.

### **6.3 Criterios de selección**

#### **6.3.1 Criterios de inclusión**

Niños de ambos géneros

Niños con dentición infantil

Niños con dentición mixta

#### **6.3.2 Criterios de exclusión**

Niños que estén tomando antibióticos

Niños que hayan tomado antibióticos hasta dos meses anteriores a la toma de la muestra

Niños que presenten algún síndrome

Niños que presenten alguna enfermedad sistémica

Niños con retraso psicomotor

Niños con antecedentes de problemas gástricos

Niños que refieran dolor abdominal

#### **6.3.3 Criterios de eliminación**

Muestras con algún incidente de contaminación durante el proceso de recolección

### **6.4 Definición de variables**

#### **6.4.1 Variable dependiente**

Presencia de *Helicobacter pylori*

#### **6.4.2 Variables independientes**

GÉNERO: Femenino- Masculino

EDAD: 3 – 16 años

## **6.5 Descripción de procedimientos**

### **6.5.1 Explicación a los tutores y obtención de consentimiento informado**

Antes de realizar cualquier procedimiento se aclararon las dudas y se explicaron los objetivos del estudio a las autoridades de la asociación de Back2Back, se les pidió que previamente a la muestra de la placa dentobacteriana firmaran el consentimiento informado para la autorización del uso de muestras de placa dental (Ver Anexo A) así mismo llenar un cuestionario sobre el estado de salud de los niños para corroborar que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos para la población de nuestra investigación. (Ver Anexo B).

### **6.5.2 Obtención de muestras de placa dentobacteriana**

Se procedió a tomar las muestras de placa dentobacteriana en condiciones de esterilidad a niños que cumplen con los criterios de inclusión. Para la muestra se utilizó un palillo estéril de madera en forma cilíndrica de 1mm de diámetro, (Fig. 1) el cuál será modificado en uno de los extremos con una hoja de bisturí para crear una parte activa en forma de pala, se tomó la muestra en la cara vestibular de molares superiores. (Fig. 2). Se eligió la zona subgingival por no estar constantemente barrida por el flujo salival y por ser un medio básicamente anaerobio en comparación con el medio supragingival. Una vez tomada la muestra se sumergió el palillo en caldo de Tripticaseína soya en tubos eppendorf de 1.5 mL. (Fig. 3) Las muestras fueron conservadas en refrigeración a -20 °C hasta su utilización.

### **6.5.3 Extracción de ADN del cultivo**

Para la extracción de ADN se utilizó el Kit comercial High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche) siguiendo las recomendaciones del fabricante de la siguiente manera: Se tomaron 500 uL de muestra, se centrifugó 1 minuto a 8000 x g. (Fig.4). El pellet fue lavado con Buffer PBS 1x dos veces. El pellet se resuspendió en 200 uL de agua Milli Q estéril y se añadieron 5uL lisozima (10mg/ml en 10 mM Tris- HCl, pH8.0) e incubados 15 minutos a 37 °C, tras la incubación se añadieron 200uL de Buffer de unión (Fig. 5) y 40 uL de Proteinasa K (1mg/mL). La mezcla fue incubada a 70 °C por 10 minutos. Se añadieron 100uL de Isopropanol (Fig. 6) y todo el contenido de la extracción fue transferido al tubo filtro (Fig. 7) y centrifugado a 8000 x g por 1 minuto.

Posteriormente se añadieron 500uL de Buffer Inhibidor (Fig. 8) y se centrifugó un minuto a 8000 x g. Se aplicaron dos lavados con 500uL de solución de lavado (Fig. 9). Por último la elución del ADN se realizó con 200uL de Buffer de Elución (Fig. 10) pre calentado por centrifugación por un minuto a 8000 x g. El ADN fue cuantificado en un Smartspec Plus (Bio-Rad) y almacenado en refrigeración a -20 °C.

#### **6.5.4 Detección molecular de *Helicobacter pylori* por PCR convencional**

Se diseñaron oligonucleótidos dirigidos al gen *vacA* de *Helicobacter pylori*. La secuencia forward 5'-CCTACTGAGAATGGTGGCAATA-3' y reverse 5'-GTTCTTCACGAGAGCGTAGTT-3'. Para la amplificación se preparó la mezcla de PCR utilizando la DNA Polimerasa Biolase (Bioline) que contuvo los siguientes componentes: Buffer de reacción 1 x, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, dNTPs mix 1 mM, Primer forward y reverse (Fig. 11) 0.5 Uμ, 2.5 unidades de Taq Polimerasa y 100ng de DNA a un volumen final de 20 uL por reacción.

Se utilizó el termociclador MJ Mini Personal Thermal Cycler (Bio-Rad). La programación del equipo fue la siguiente: 1) Pre incubación a 95°C por 5 minutos. 2) Amplificación; 95°C por 30 segundos, 59°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos x 30 ciclos. 3) Extensión a 72°C por 5 minutos. (Fig. 12 y 13).

El producto de PCR fue almacenado en refrigeración a -20°C

#### **6.5.5 Electroforesis**

El producto de PCR fue diluido en azul de Bromofenol 5X (Promega) (Fig. 14) en relación 1:5 y cargado en gel agarosa al 2% (Fig. 15) y poliacrilamida al 8% (Fig. 16) en tampón TBE 1X a 80 volts por 45 minutos,(Fig. 17) posteriormente fueron teñidos en solución de Bromuro de Etidio 1ug/mL por 20 minutos en total oscuridad y por último transferidos a una Transluminador de luz ultra violeta Gel Doc™ XR+ Imager (Bio-Rad) donde se tomaron fotografías a los productos de PCR. La presencia de amplicón indicó la presencia de *Helicobacter pylori* en los pacientes pediátricos (Fig. 18).

#### **6.6 Validación de datos**

El modelo estadístico analítico consistirá en la aplicación de un análisis comparativo mediante una prueba t de diferencia de medias para muestras independientes en caso de que la variable muestre evidencia de normalidad, dicha prueba será determinada considerando un 95% de confiabilidad.

El modelo será aplicado para comparar las diferencias entre los promedios de edad dependiendo de los casos que cuenten con la presencia de *Helicobacter pylori*. La estadística de prueba que será empleada para analizar los resultados es el siguiente:

$$z = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$$

En caso de que la variable muestre evidencia de libre distribución será aplicada una prueba de U de Mann Whitney para dichas muestras, la prueba será determinada considerando también un 95% de confiabilidad.

La prueba corresponde a una *U de Mann-Whitney*, es correspondiente al realizar una comparación de medias tratándose de variables no paramétricas.

Para tamaños de muestra pequeños la distribución del estadístico U, bajo el supuesto de que la hipótesis nula sea cierta, es discreta y está tabulada. Si los tamaños son suficientemente grandes la distribución del estadístico se aproxima a una normal de parámetros:

$$\mu_U = \frac{n_1 n_2}{2} \quad \sigma_U^2 = \frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}$$

El estadístico de prueba es el valor Z:

$$Z = \frac{U - \mu_U}{\sigma_U}$$

La región de rechazo y aceptación de  $H_0$  será considerando una distribución unilateral dependiendo de los resultados observados en las variables.

Así mismo será aplicado otro modelo estadístico analítico para verificación de pruebas de hipótesis, considerando los datos presentados en el objetivo general, el modelo corresponde a la aplicación de prueba de bondad de ajuste o de Chi cuadrada.

Dicha prueba, la cual será evaluada con un 95% de confiabilidad se utilizará para determinar la relación entre el género y la presencia de *Helicobacter pylori* en los pacientes y se realizará bajo la siguiente estadística de prueba:

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_{io} - f_{ie})^2}{f_{ie}} \quad \chi^2 = \sum \frac{(|f_{io} - f_{ie}| - 0.5)^2}{f_{ie}} \quad c = \sqrt{\frac{\chi^2 c}{\chi^2 c + n}}$$

La muestra que ha sido conformada por todos pacientes que cumplieron con los requisitos para ser incluidos en el estudio.

Los datos serán capturados en una base de datos en el programa IBM SPSS Statistics 20 con el que se realizarán tablas de frecuencia de dos variables dentro de las cuales será considerada la variable dependiente (Presencia de *Helicobacter pylori* en placa dental) así como las variables independientes (Edad y Género) y demás criterios establecidos en el instrumento de observación. Para algunos procedimientos estadísticos de clasificación y manejo de base de datos será empleado el programa Microsoft Excel 2010.

El presente proyecto contará con un modelo estadístico de presentación de datos que consistirá en la elaboración y descripción de tablas de frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas y de intervalo, así como un modelo descriptivo de medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas, además del uso de gráficos para las tablas mayormente relacionadas con el análisis de los datos, posterior a este diseño se realizará una descripción detallada de los resultados.

## 7. RESULTADOS

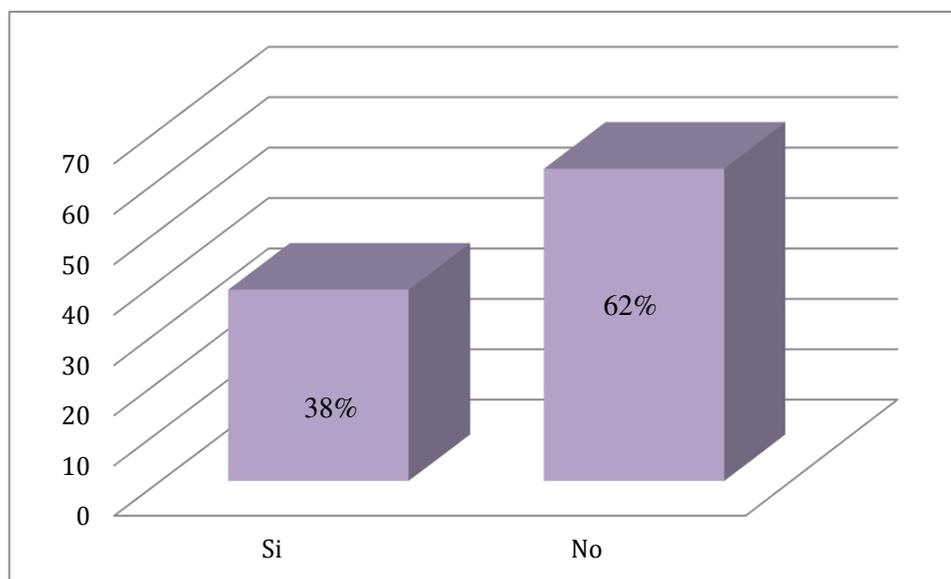
Tabla 1.

*Presencia de Helicobacter pylori en el total de la muestra, Octubre 2015*

Si		No		Total	
n	%	N	%	n	%
19	38	31	62	50	100

Fuente: Observación directa

Se observó que de un total de 50 muestras 19 (38%) fueron positivas a *Helicobacter pylori*; mientras que 31 (62%) fueron negativas.



Gráfica 1. Presencia de *Helicobacter pylori* en total de la muestra, Octubre de 2015

Tabla 2.

*Edad y género de la niños evaluados, Octubre de 2015*

Edad	Femenino		Masculino		Total	
	n	%	n	%	n	%
3 a 5	3	6.67	6	13.33	9	20.00
6 a 8	5	11.11	10	22.22	15	33.33
9 a 11	5	11.11	1	2.22	6	13.33
12 a 14	7	15.56	5	11.11	12	26.67
15 a 16	2	4.44	1	2.22	3	6.67
Total	22	48.89	23	51.11	45	100

Fuente: Observación directa

Se observó que la muestra que el 48% fueron femeninos y el 51% fueron masculinos, siendo el porcentaje más altos los niños masculinos de 6 a 8 años con un 22%. Por lo contrario del 2 % de edades 15 y 16 años de pacientes masculinos.

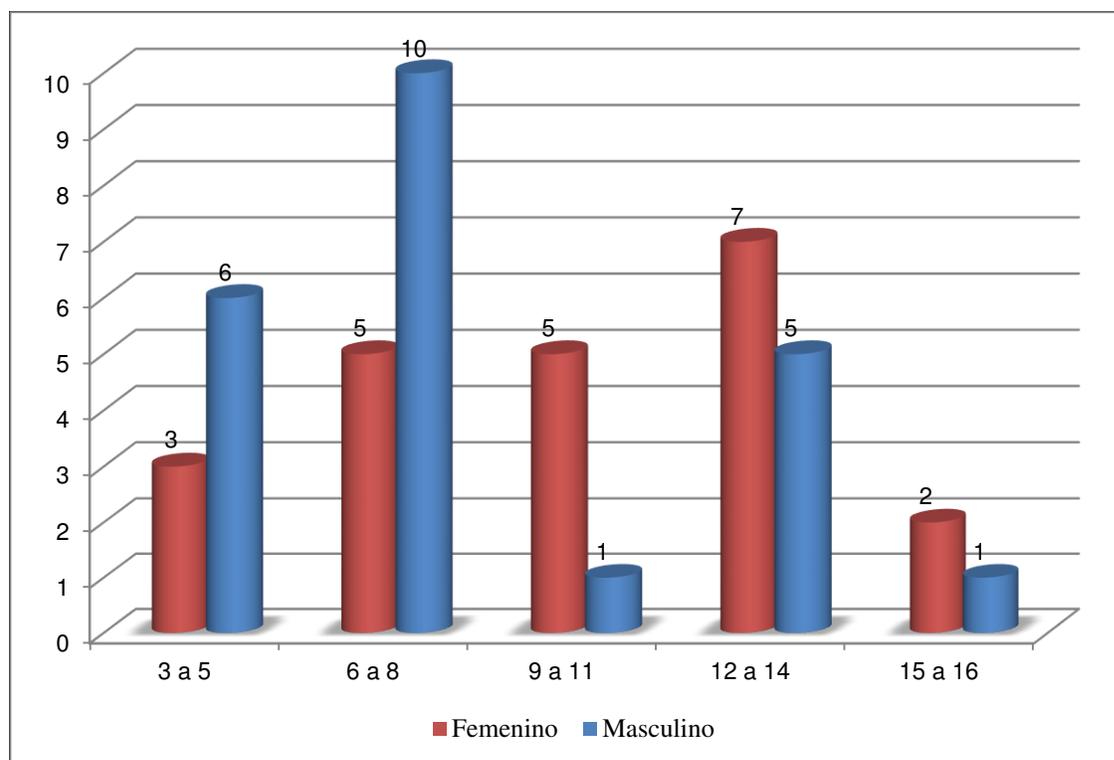


Gráfico 2. Edad y género de los niños evaluados, Octubre de 2015

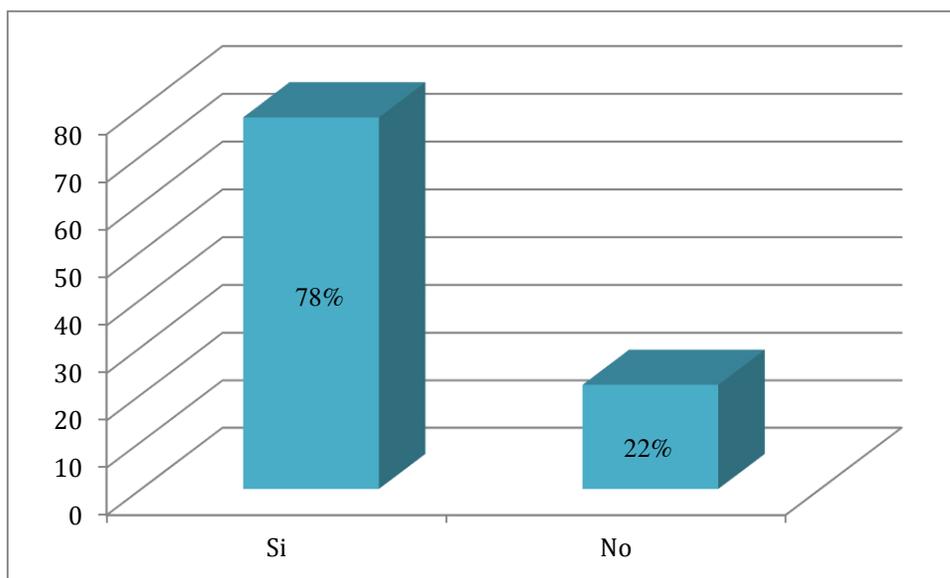
Tabla 3.

*Presencia de la madre en muestras positivas a Helicobacter pylori, Octubre 2015*

<b>Si</b>		<b>No</b>		<b>Total</b>
<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	
15	78	4	22	19

Fuente: Observación directa

Se observó que de las 19 muestras positivas a *Helicobacter pylori* 15 (78%) tenían contacto con su madre; contrario a las 4 (22%) que no lo tenían.



Gráfica 3. Presencia de la madre en muestras positivas a *Helicobacter pylori*, Octubre de 2015

Tabla 4.

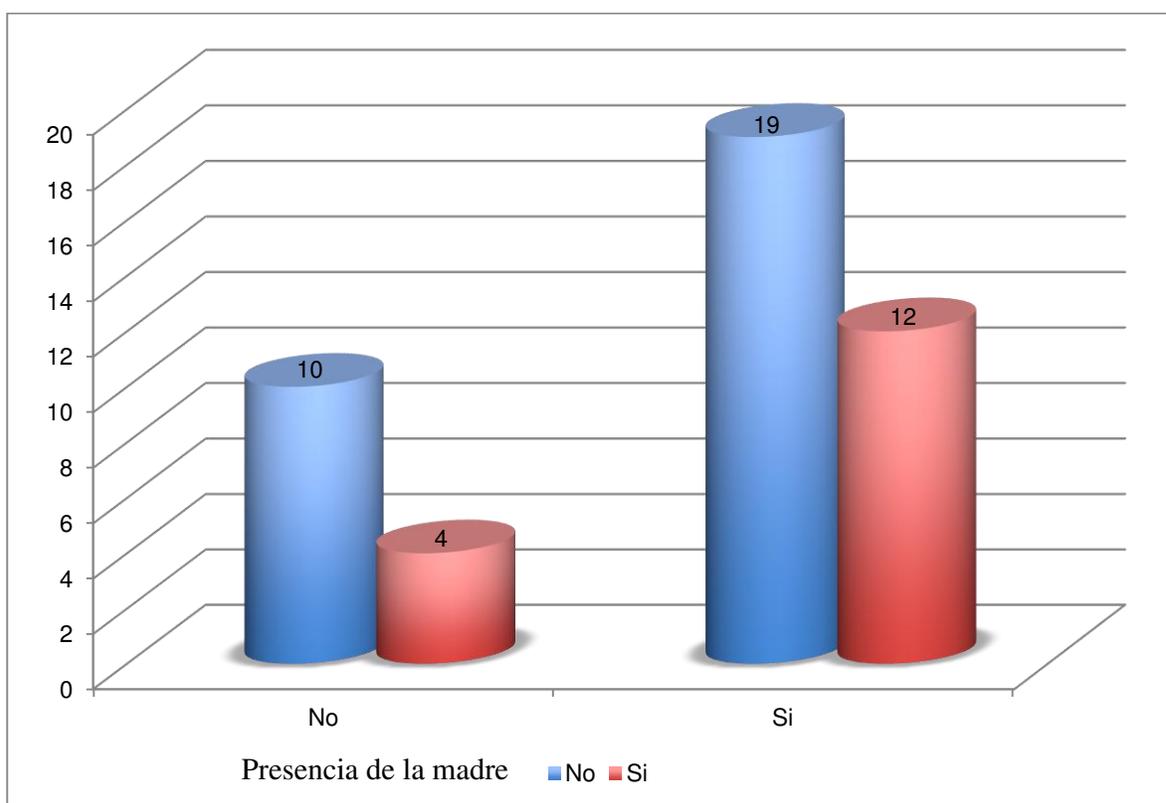
*Contacto de la madre y presencia de Helicobacter pylori en placa dentobacteriana en los niños. Octubre de 2015*

	No presencia H.P		Si presencia H.P		Total	
	N	%	n	%	n	%
Madre						
No	10	22.22	4	8.89	14	31.11
Si	19	42.22	12	26.67	31	68.89
Total	29	64.44	16	35.56	45	100

$X^2=4.33, p=0.379$

Fuente: Observación directa

Con la presencia de la madre no existe relación en la prevalencia de *Helicobacter pylori* en la placa dentobacteriana de los niños de casa hogar.



Gráfica 4. Contacto de la madre y presencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana en los niños, Octubre de 2015

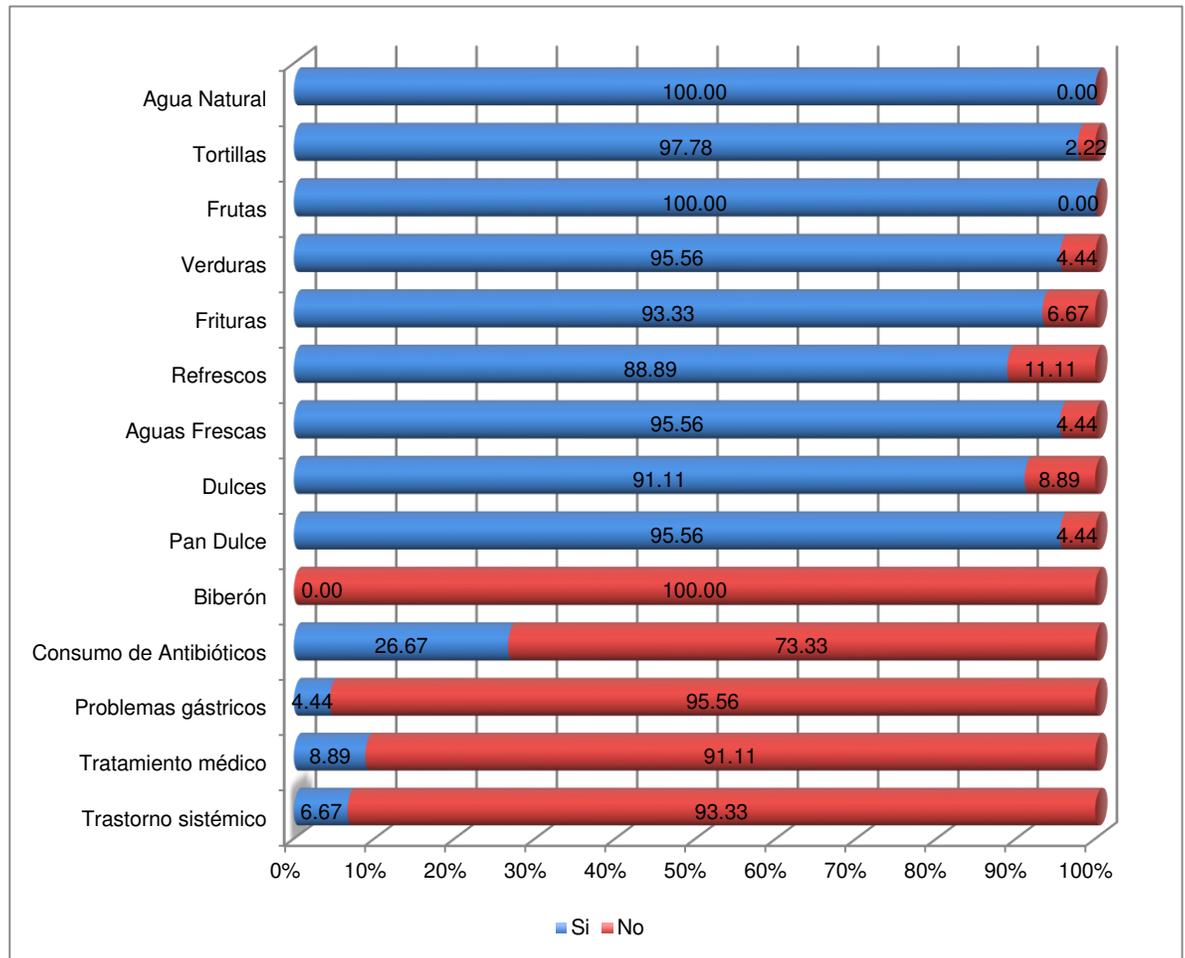
Tabla 5.

*Presencia de factores de salud evaluados, Octubre de 2015*

	Si		No		Total	
	n	%	n	%	n	%
Trastorno sistémico	3	6.67	42	93.33	45	100.00
Tratamiento médico	4	8.89	41	91.11	45	100.00
Problemas gástricos	2	4.44	43	95.56	45	100.00
Consumo de Antibióticos	12	26.67	33	73.33	45	100.00
Biberón	0	0.00	45	100.00	45	100.00
Pan Dulce	43	95.56	2	4.44	45	100.00
Dulces	41	91.11	4	8.89	45	100.00
Aguas Frescas	43	95.56	2	4.44	45	100.00
Refrescos	40	88.89	5	11.11	45	100.00
Frituras	42	93.33	3	6.67	45	100.00
Verduras	43	95.56	2	4.44	45	100.00
Frutas	45	100.00	0	0.00	45	100.00
Tortillas	44	97.78	1	2.22	45	100.00
Agua Natural	45	100.00	0	0.00	45	100.00

Fuente: Observación directa

Se observó que el 6% de los niños contaba con un trastorno sistémico y el 8% estaba en tratamiento médico, destacando que sólo el 4% de los niños presentaba problemas gástricos al momento de la muestra. Puede notarse que la mayoría de los niños tenían un alto consumo de hidratos de carbono.



Gráfica 5. Presencia de factores de salud evaluados, Octubre de 2015

Tabla 6.

*Aunque no estaba dentro de los objetivos del estudio; se decidió buscar la Prevalencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana de los tutores en comparación con la prevalencia de *Helicobacter pylori* de los niños de casa hogar. Octubre 2015*

	Niños		Tutores	
	n	%	n	%
No	29	64.44	2	40.00
Si	16	35.56	3	60.00
Total	45	100.00	5	100.00

$$X^2=1.14, p=0.285$$

Fuente: Observación directa

Con la presencia de los tutores no existe relación en la prevalencia de *Helicobacter pylori* en la placa dentobacteriana de los niños de casa hogar.

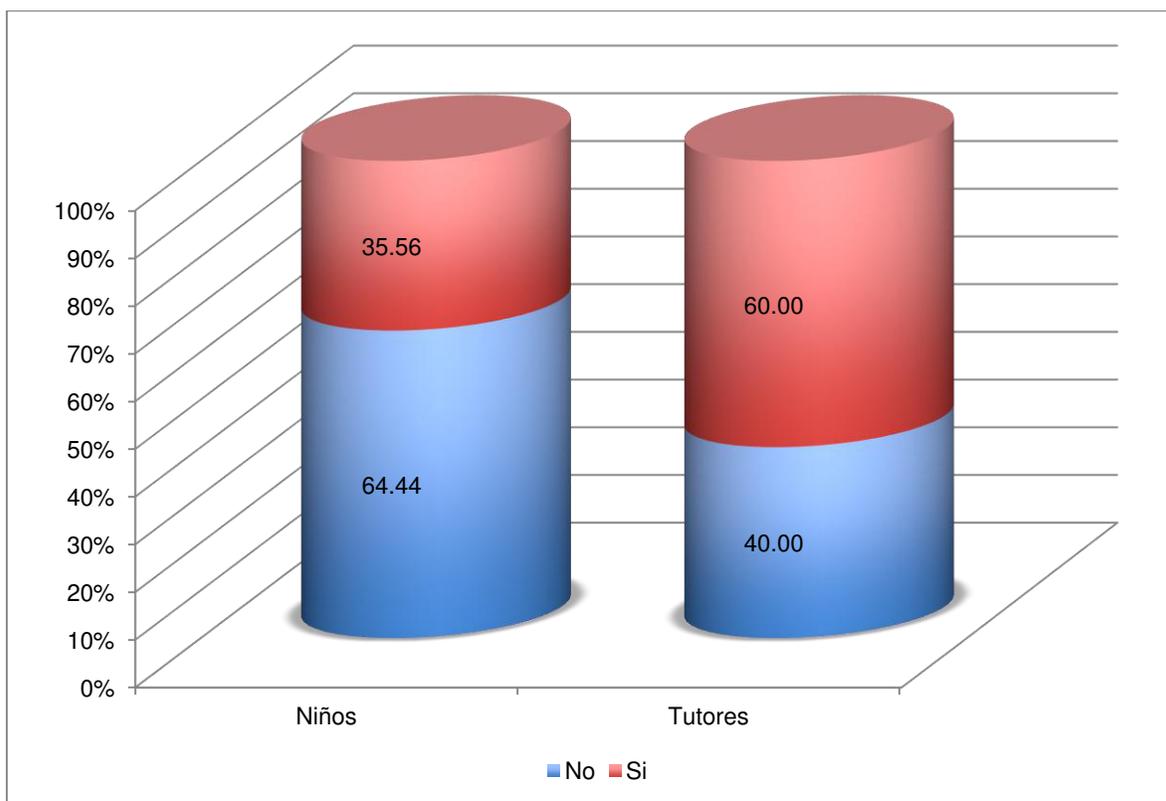


Gráfico 6. Prevalencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana de los tutores en comparación con la prevalencia de *Helicobacter pylori* de niños de casa hogar. Octubre 2015

## 8. DISCUSIÓN

La presente investigación se realizó en niños de casa hogar, aparentemente sanos, buscando la prevalencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana. Las muestras de placa dentobacteriana fueron tomadas de la cara vestibular de los primeros molares superiores, para después hacer la extracción de ADN y analizar la muestra en PCR tiempo real.

### PREVALENCIA DE *HELICOBACTER PYLORI*

De acuerdo con los resultados del presente estudio se encontró que la prevalencia de *Helicobacter pylori* fue de 35% en placa dentobacteriana en niños de casa hogar de la red de asistencia Back2back, datos muy similares a los reportados por *Cesar Mares* que revelan un 35% de presencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana de pacientes que acuden al posgrado de Odontopediatría de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, así como *Kim y colaboradores* que en su estudio indican un 28% de prevalencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana. Estudios como los de *Amiri N y colaboradores* revelan cifras donde la placa dental puede ser una de las principales causas de la reinfección y también ser la causa de la transmisión oral-oral.

En éste estudio el 22% de los pacientes examinados contaban con edades entre los 6 y 8 años; mientras que los adolescentes entre 15 y 16 años que apenas alcanzaban un 2%, resultado que difiere con lo publicado por *Oliveira A y colaboradores* que reportan un aumento en la prevalencia conforme aumenta la edad de los niños en una ciudad de Brasil.

El 51% de los niños evaluados en éste estudio fueron del sexo masculino, a diferencia de lo reportado por *Cesar Mares* en donde la edad y el género de la población estudiada no reportó diferencia significativa con respecto a la presencia y distribución de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana.

### CAVIDAD ORAL Y *HELICOBACTER PYLORI*

En base a resultados obtenidos en nuestra investigación estamos de acuerdo con lo escrito por *Gebara EG y colaboradores* donde indican a la cavidad bucal como supuesto reservorio de infección de *Helicobacter pylori*, así como lo sugerido por *Ferguson y colaboradores* que refieren que el *Helicobacter pylori* se encuentra refugiado en la cavidad bucal ya que presenta una atmósfera húmeda y un ambiente reducido de oxígeno.

A diferencia de lo escrito por *Veiga y colaboradores* donde concluye que la cavidad oral no se puede considerar un depósito para la infección de *Helicobacter pylori*. Además de que la infección por *Helicobacter pylori* se encontró asociada con variables sociodemográficas como la edad, área de residencia y nivel socioeconómico.

Se ha comprobado la existencia de ADN de *Helicobacter pylori* en placa dental en pacientes pediátricos aparentemente sanos, en los que se asume que la cavidad oral es el ambiente que sirve de reservorio para *Helicobacter pylori*. Contrario a publicaciones como la de *Martínez – Gómis y colaboradores* donde refieren que no existe la presencia de *Helicobacter pylori* en cavidad oral de pacientes asintomáticos; así como los resultados obtenidos por *Jané S. M. y colaboradores* quienes destacan la hipótesis que otorga a la placa dentobacteriana un papel relevante como reservorio de *Helicobacter pylori*. Además, el artículo publicado por *Zheng Y* relaciona a los problemas orales, particularmente cálculo dental y dientes flojos, como asociados a la infección por *Helicobacter pylori*, posiblemente debido a la placa dental. El estudio sugiere que para prevenir o erradicar la infección por *Helicobacter pylori* tenemos que centrarnos en la higiene oral y prevención de los problemas orales.

### CÁNCER GÁSTRICO

Un estudio realizado en Japón por *Kikuchi S.* mostró que el progreso en las condiciones sanitarias, especialmente el desarrollo del suministro de agua potable ha estado reduciendo la prevalencia de infección por *Helicobacter pylori*. Con una menor ingesta de alimentos salados y probablemente la infección a edades más tardías se disminuye la prevalencia y / o gravedad de la atrofia en la mucosa gástrica y por consecuencia, una disminución en la incidencia de cáncer gástrico.

Sin embargo, se dio a conocer que las personas con *Helicobacter pylori* y atrofia de la mucosa gástrica tienen alto riesgo de cáncer gástrico, incluso después de la erradicación exitosa de la infección, que todavía permanece como un problema.

Según la publicación de *Huang JQ*, Aunque la incidencia de cáncer gástrico ha disminuido drásticamente en los países occidentales, los datos más recientes de la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer muestran que sigue siendo el segundo cáncer más común en todo el mundo y causó 628 mil muertes en 1990.

La incidencia y prevalencia del cáncer gástrico se prevé que aumente en las próximas décadas en los países menos desarrollados, como resultado del aumento de la longevidad en poblaciones infectadas por *Helicobacter pylori*. Hasta que se llegue a un consenso internacional sobre el diagnóstico patológico de atrofia gástrica y cáncer gástrico, la interpretación de los estudios realizados en diferentes países sigue siendo difícil. Los médicos confían en el diagnóstico patológico correcto para guiar la gestión de enfermedades gastrointestinales asociadas a la infección por *Helicobacter pylori*.

## TRANSMISIÓN

Autores como *Cave, Vaira y colaboradores* coinciden en que, tras la detección de la bacteria en la saliva, heces, y el jugo gástrico, la transmisión oral-oral o fecal-oral y la propagación iatrogénica mediante el uso de endoscopios no estériles, se han propuesto como posibles vías de infección. Sin embargo, el modo de transmisión de *Helicobacter pylori* no se sabe del todo. La información disponible apoya la hipótesis de la propagación a través del contacto personal cercano, teniendo en cuenta el ser humano como el único reservorio importante de infección.

*Li C y colaboradores* indican que el *Helicobacter pylori* existe en una mayor prevalencia en la saliva que en las heces y que la ruta fecal-oral puede ser un medio importante de transmisión de esta infección en los países en desarrollo, pero no tan importante como previamente se sospechaba en los países desarrollados. La transmisión por el agua, probablemente debido a la contaminación fecal, puede ser una fuente importante de infección, especialmente en algunas partes del mundo en el que el agua no tratada es común. Estudios recientes en los Estados Unidos han vinculado la infección por *Helicobacter pylori* a agua de pozos contaminados. Esto fue escrito por *Brown LM* y años después reiterado por *Vale F y colaboradores*.

*Roma E y colaboradores* escribieron que la infección por *Helicobacter pylori* se asocia con variables indicativas de un entorno lleno de gente y malas condiciones de vida, mientras que la lactancia materna tiene un efecto protector. Cabe destacar que la transmisión intrafamiliar, sobre todo de madre a hijos y de hermanos a hermanos, es muy dominante.

## TRATAMIENTO

Según lo escribe *Madinier IM*, la erradicación vía oral de *Helicobacter pylori* mediante medicación o tratamientos periodontales se basaría en la identificación precisa de su nicho ecológico. Deben practicarse métodos profilácticos dentro de los grupos familiares para evitar la transmisión de *Helicobacter pylori*. El riesgo de transmisión iatrogénica durante la atención dental ya está circunscrito por los procedimientos estándar de higiene profesional.

En un artículo escrito por *Malaty HM* se prevé que el régimen de tratamiento para los niños debe ser similar a la de los adultos. No es apropiado prescribir terapia anti-*Helicobacter pylori* sin un diagnóstico firme. La prueba del aliento es el método no invasivo de elección para determinar la presencia *Helicobacter pylori* en niños y es la prueba ideal para las pruebas post-terapia. Hay una necesidad de confirmación después de la terapia debido a la probabilidad de un resultado desfavorable para algunos regímenes de tratamiento.

*Mourad-Baars P.* y colaboradores afirman que sus ensayos de probióticos recientes no han demostrado un beneficio en la erradicación de *Helicobacter pylori* en los niños, mientras que la terapia secuencial antibiótica sigue siendo una estrategia de erradicación terapéutica atractiva en ellos, lo que requiere la investigación y validación de diferentes regiones geográficas para su uso.

*Obayashi N.* Concluye en su trabajo que debido a que varias moléculas cancerígenas están aumentadas en la infección por *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica, el tratamiento de erradicación temprana en los niños puede ser beneficiosa para disminuir la incidencia de cáncer gástrico en adultos.

Los estudios realizados por *Roma E y colaboradores* en los países donde la infección por *Helicobacter pylori* es prevalente, pueden proporcionar con anticipación el pronóstico de los factores de virulencia y susceptibilidad a los antibióticos y así mismo ser útiles para reducir la morbilidad y la mortalidad.

#### TÉCNICA DE PCR

De acuerdo con *Kabir S.* la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es conocida por su alta sensibilidad y especificidad y se ha utilizado para la detección del ADN de *Helicobacter pylori* en materiales corporales tales como heces y saliva. También detecta genes de factor de virulencia tales como *cagA* y *vacA* en las heces y saliva. Sin embargo existe controversia en cuanto a la presencia permanente de *Helicobacter pylori* en la saliva pues la PCR no puede distinguir entre organismos vivos y muertos. *Basso D y colaboradores* publicaron que los genes *cagA* y *vacA* son las cepas más comunes asociadas a la enfermedad por *Helicobacter pylori*. El estudio confirma las asociaciones de éstos genes a un mayor riesgo de cáncer, a diferencia de otras cepas occidentales.

La técnica ideal para detectar y diagnosticar *Helicobacter pylori* fue el utilizar PCR, coincidiendo con un estudio hecho por *Lu Y. y colaboradores* donde afirman que con la PCR se ha podido detectar *H. pylori* que no son de biopsias gástricas y a través de las cuales era muy difícil obtener resultados positivos para esta bacteria mediante metodología convencional; ofreciendo una mejor alternativa para el diagnóstico clínico y para futuros estudios de investigación. Así como *Sepúlveda y colaboradores* que también afirman que la técnica de PCR de tiempo real es la más adecuada para detectar un bajo número de bacterias de *Helicobacter pylori* en cavidad oral.

Con lo anteriormente mencionado concordamos con lo publicado con *Kignel y colaboradores* cuando afirman que varios estudios han evaluado la placa dental como posible muestra no invasiva para el diagnóstico de *Helicobacter pylori* empleando diversas técnicas, sin embargo, con la PCR se han reportado buenos resultados cuando han empleado la placa dental como muestra.

Estudios como los de *Amiri N. y Ogaya Y.* y sus colaboradores correspondientes confirman que la PCR es la más eficaz en la detección de *Helicobacter pylori*.

## 9. CONCLUSIONES

Se determinó que la prevalencia de *Helicobacter pylori* en los cultivos de placa dentobacteriana mediante PCR en tiempo real de niños de casa hogar de la red de asistencia Back2back no es significativa.

Se destaca la importancia de la placa dentobacteriana en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* en la cavidad oral de los niños y notificar a las autoridades correspondientes su presencia para su pronta erradicación.

## **10. RECOMENDACIONES**

Notificar a las autoridades correspondientes la presencia de ésta bacteria en boca para poder realizar campañas de concientización.

Es de especial importancia el mantenimiento de una salud oral óptima basada en la prevención y educación sobre la higiene bucal mediante una buena técnica de cepillado, uso de enjuagues bucales e hilo dental así como la aplicación de flúor y citas periódicas al dentista.

## **11. CÓDIGO DE ÉTICA PROFESIONAL**

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, investigación sin riesgo, no requiere consentimiento informado.

## 12. LITERATURA CITADA

1. Abadi At, Mobarez AM, Teymournejad O, Karbalaei M. 2014. Concomitant colonization of *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric biopsy. *J Pathog.* 871601.
2. Amiri N, Abiri R, Eyvazi M, Zolfaghari M, Alvandi A. 2015. The frequency of *Helicobacter pylori* in dental plaque is possibly underestimated. *Arco Oral Biol.* 60 (5): 782-788
3. Ballam LD, Mendall MA, Asante M, Morris J. 2000. Western Blotting is useful in the salivary diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J. Clin. Pathol.* 53: 314-317
4. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, Schiavon S, Guariso G, Ceroti M, Nitti D, Rugge M, Plebani M, Atherton JC. 2008. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* gene polymorphisms. *Gastroenterology.* 135(1):91-99.
5. Best LM, Sherman PM, Bezanson GS. 1994. Serological detection of *Helicobacter pylori* antibodies in children and their parents. *J. Clin. Microbiol.* 32: 1193-1196.
6. Blanchard S, Steven J. 2007. Peptic ulcer in children. *Nelson Textbook of Pediatrics.* XVIII edition. WB Saunders Co., 1572 1575.
7. Brown LM. 2000. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev.*; 22(2): 283-297.
8. Bui D, Brown HE, Harris RB, Oren E. 2015. Serologic Evidence for Fecal-Oral Transmission of *Helicobacter pylori*. *Am J Trop Med Hyg.* Pii: 15-0297.
9. Cave DR. 1997. How is *Helicobacter pylori* transmitted? *Gastroenterology.* 113: 9-14.
10. Chelimsky G, Zcinn S. 2002. Enfermedad ulceropéptica en la infancia. *Pediatr Rev* 22:(10): 349-358
11. Desai HG, Gill HH, Shankaran K. 1991. Dental plaque a permanent reservoir of *Helicobacter pylori*? *Scand. J. Gastroenterol.* 26: 1205
12. Drumm B, Rhoads JM, Stringer DA, Sherman PM. 1998. Peptic ulcer disease in children: ethiology, clinical findings and clinical course. *J. Pediatrics* b: 82: 410

13. Drumm B, Sherman PM, Chiasson D, Karmali M. 1988. Treatment of *Campylobacter pylori* associated antral gastritis in children with bismuth subsalicylate and ampicillin. *J. Pediatrics* a: 113: 908
14. Elegbeleye AO. 2013. Predictors of the Mental Health of Orphans and Vulnerable Children in Nigeria. Life Center for Psychological Studies/Services, Nigeria
15. Eurogast Study Group. 1993. An international association between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Lancet*. 341: 1359-1362.
16. Ferguson D, Li C, Patel N, Mayberry W, Chi D, Thomas J. 1993. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *J. Clin. Microbiol.* 31: 2802-2804
17. Guandalini S, De Giacomo C. 2004. Textbook of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 6: 73-90.
18. Hassall E, Dimnick JE. 1989. Unique features of *Helicobacter pylori* disease in children. *Dig. Dis. Sci.* 36: 417
19. Hellström PH. 2006. This year's Nobel Prize to gastroenterology. Robin Warren and Barry Marshall awarded for their discovery in the *Helicobacter pylori* as pathogen in the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol.* May 21; 12(9): 3126-3127.
20. Hernández AG. 2012 Orfandad: falta de cuidados parentales en las casas hogar. Universidad Veracruzana.
21. Hildreth CJ, Writer MD. 2008. Center for Disease Control and Prevention *JAMA*, September 17, Vol 300, No. 11
22. Huang JQ, Hunt RH. 2000. Review article: *Helicobacter pylori* and gastric cancer--the clinicians' point of view. *Aliment Pharmacol Ther.* Suppl 3:48-54.
23. INEGI. Secretaría de Salud. Base de datos de defunciones 2005. Sistema Nacional de información de Salud (Base de Datos en Internet) México: SINAIS; 2010. Disponible en: [www.sinais.salud.gob.mx](http://www.sinais.salud.gob.mx)
24. Kabir S. 2004. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter.* 9(2):115-123.
25. Kignel S, De Almeida F, André EA, Birman EG. 2005. Occurrence of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva of dyspeptic patients. *Oral Dis.* 11:17-21
26. Kikuchi S. 2013. Epidemiology of *H. pylori* infection and gastric mucosal atrophy. *Nihon Rinsho.* (8):1331-1336.

27. Li C, Ja T, Ferguson DA Jr, Chi DS, Zhao R, Patel NR, Krishnaswamy G, Thomas E. 1996. A newly developed PCR assay of *H. pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of *H.pylori* in saliva supports oral transmission. *Dig Dis Sci.* 41 (11): 2142-2149.
28. Madinier IM, Fosse TM, Monteil RA. 1997. Oral carriage of *Helicobacter pylori*: a review. *J Periodontol.* 1997. 68 (1):2-6.
29. Malaty HM. 2000. *Helicobacter pylori* infection and eradication in paediatric patients. *Paediatr Drugs.* 2 (5): 357-365.
30. Malfertheiner P, Magraud F, O'Morain C. 2007. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007, 56: 772–781.
31. Mares CP, De la Garza MA, García ME, González R, Quiroga MA, Cabral C, Martínez GI. 2012. Presencia de *Helicobacter pylori* en placa dental de la población infantil que acude al posgrado de Odontopediatría de la Facultad de Odontología de la U.A.N.L. Tesis de Maestría. Monterrey Nuevo León, México.
32. Marshall B, Warren J. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet a*; I 1311-1314
33. Mourad-Baars P, Hussey S, Jones NL. 2010. *Helicobacter pylori* infection and childhood. *Helicobacter.* Suppl 1:53-59.
34. N.V. Prisiazhnaia. 2008. Orphan Children Adjusting to Life after the Boarding Institution. *Russian Education and Society*, vol. 50, no. 12, pp. 23–39.
35. Nares J, Jaramillo Y, Martínez V. 2007. Immunochromatographic monoclonal test for detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool in useful in children from high prevalence developing country. *Helicobacter.* 12: 354-358.
36. Nisha KJ, Nandakumar K, Shenoy KT, Janam P. 2014. Periodontal disease and *Helicobacter pylori* infection: a community-based study using serology and rapid urease test. *J Investig Clin Dent.* 12122.
37. Obayashi N, Ohtsuka Y, Hosoi K, Ikuse T, Jimbo K, Aoyagi Y, Fujii T, Kudo T, Asaoka D, Hojo M, Nagahara A, Watanabe S, Shimizu T. 2015. Comparison of Gene Expression Between Pediatric and Adult Gastric Mucosa with *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter.* 12245.

38. Oderda G, Marietti M, Pellicano R. 2015. Diagnosis and treatment of helicobacter pylori infection in pediatrics: recommendation for 2014 clinical practice. *Minerva Pediatr.* 67(6) 517-524.
39. Ogaya Y, Nomura R, Watanabe Y, Nakano K. 2015. Detection of Helicobacter pylori DNA in inflamed dental pulp specimens from Japanese children and adolescents. *J Med Microbiol.* 64(Pt 1):117-123
40. Oliveira AMR, Queiroz DMM, Rocha GA, Mendes EN. 1994. Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte Brazil. *Am J. Gastroenterol.* 89: 2101-2104.
41. Roma E, Miele E. 2015. Helicobacter pylori Infection in Pediatrics. *Helicobacter* 20 Suppl 1:47-53.
42. Rowland M, Bourke B, Drumm B. 2008. Helicobacter pylori and Peptic disease. *Pediatric Gastrointestinal Disease – Pathophysiology, Diagnosis, Management*, fifth ed., BC Decker Inc., Vol. I., 140–158
43. Skinner D, Theko N, Segwabe M. 2006. Towards a definition of orphaned and vulnerable children. *Aids and Behaviour*, 10(6), 619- 626.
44. Steer HW, Colin-Jones DG. 1975. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut.* 16:590-597
45. Tamowski W, Bielecki K. 2001. Refluks żołądkowo -przłykowy. *Post Nauk Med.;* 9:68 -76
46. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG. 1997. The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori. *Nature.* 388:539-547
47. Torres J, Leal-Herrera Y, Perez G, Gómez A. 1998. A community-based seroepidemiologic study of Helicobacter pylori infection in Mexico. *J. Infect. Dis.* 178: 1089-1094.
48. Torres J. 2000. Epidemiologic and clinical aspects of Helicobacter pylori infection in children. *Rev Gastroenterol Mex.* 65 (4 Suppl 2):13-19.
49. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S. 2001. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001, 345: 784–789.
50. Vaira D, Holton J, Menegatti M, Gatta L, Ricci C, Ali A, Landi F, Moretti C, Miglioli M. 1998. Routes of transmission of Helicobacter pylori infection. *Ital J Gastroenterol Hepatol.* 3: 279-285.

51. Vale FF, Vitor JM. 2010. Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: does food play a role in rural and urban areas?. *Int J Food Microbiol.* 138 (1-2): 1-12
52. Vandemplas Y. 2001. The role of *Helicobacter pylori* in pediatrics. *Curr Opin Infect Dis.* 14: 315-321
53. Veiga N, Pereira C, Resende C, Amaral O, Ferreira M, Nelas P, Chavez C, Duarte J, Cirnes L, Machado JC, Ferreira P, Correia IJ. 2015. Oral and gastric *Helicobacter pylori*: effects and associations. *PLoS One.* 26; 10(5):e0126923.
54. Vesalovic J, Fox JG, Murray PR. 1999. *Manual of Clinical Microbiology.* ASM. Whashington 727-738
55. Warren J, Marshall B. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet i:* 1273-1275
56. Wordnet 2007. What is an Orphan? Retrieved April 29, 2012 from <http://wordnet.princeton.edu/perl/webwn?s=orphan>
57. Wordyn AK, Życińska K, Życiński Z. 2004. *Helicobacter pylori.* Warszawa: Professional Medicine Promotion; p.16 -20. Mandall M.A, Pajares -Garcia J. Epidemiology and transmission of *Helicobacter pylori.* *Curr Opin Gastroenterol.* 1995;11
58. Zheng Y, Liu M, Shu H, Chen Z, Zhang Y. 2014. Relationship between oral problems and *Helicobacter pylori* infection. *Arch Oral Biol.* 59(9):938-943

# **ANEXOS**

# **ANEXO A**



## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



Fecha \_\_\_\_\_

Yo \_\_\_\_\_

Como tutor del paciente \_\_\_\_\_

Por medio de la presente doy mi autorización y consentimiento a la Dra. Alejandra Mendoza Cantú para que tome muestras de placa dentobacteriana necesarias para su trabajo titulado “Prevalencia de *Helicobacter pylori* en placa dentobacteriana en niños de casa hogar”.

Previamente se me dio la explicación de dicha investigación y estoy de acuerdo en que se utilice la muestra para los fines del estudio y no tengo objeciones con el mismo.

Nombre y Firma del tutor

\_\_\_\_\_

Nombre y Firma del Investigador

\_\_\_\_\_

# **ANEXO B**

**Hoja de captura de datos.**

No. De encuesta \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Género: F M Edad: \_\_\_\_\_

**Estado general de salud**

¿Se le ha diagnosticado algún trastorno sistémico?  
 ¿El niño está actualmente bajo tratamiento médico?  
 ¿El niño ha presentado algún problema gástrico?  
 ¿El niño ha tomado algún antibiótico en los últimos dos meses?  
 ASA \_\_\_\_\_

Si	No

**Hábitos alimenticios**

	Si	No
Biberón		
Pan dulce		
Dulces		
Aguas Frescas		
Refrescos		
Frituras		
Verduras		
Frutas		
Tortillas		
Agua Natural		

Presencia de Helicobacter pylori

Si	No

Notas:

---



---



---

## **ANEXO C**



Fig. 1 Palillo de madera



Fig. 2 Zona de obtención de la muestra



Fig. 3 Tripticaséina soya en tubos eppendorf de 1.5 mL



Fig. 4 Centrifuga 1 minuto a 8000x G



Fig. 5 Buffer de unión



Fig. 6 Isopropanol



Fig. 7 Tubo filtro



Fig. 8 Buffer de inhibición

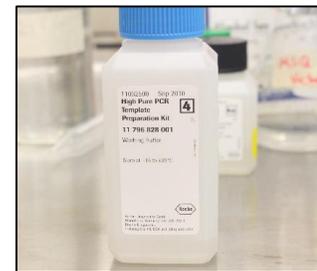


Fig. 9 Buffer de lavado

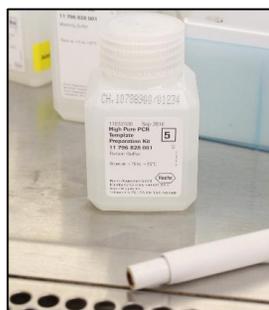


Fig. 10 Buffer de elución

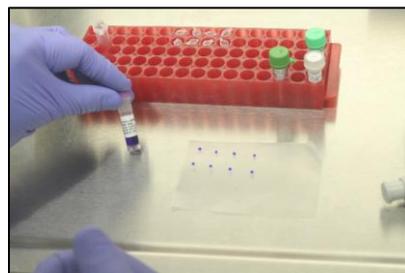


Fig. 11 Primer forward y reverse del gen VacA



Fig. 12 Termociclador MJ Mini Personal Thermal Cycler (Bio-Rad).

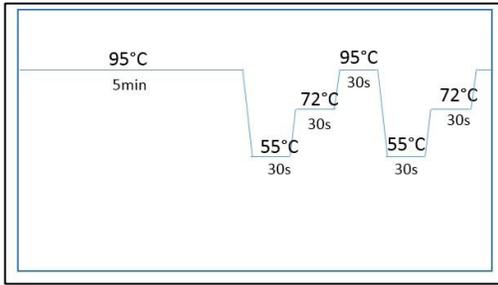


Fig. 13 Temperaturas programadas en el termociclador, se muestran las etapas de preincubación y 2 ciclos.

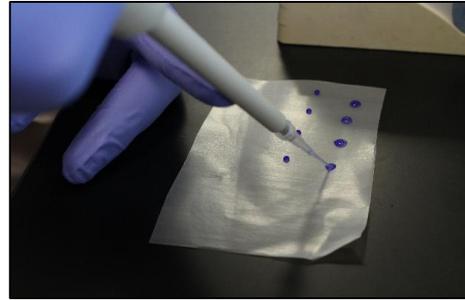


Fig. 14 El producto de PCR fue diluido en azul de Bromofenol 5X (Promega)

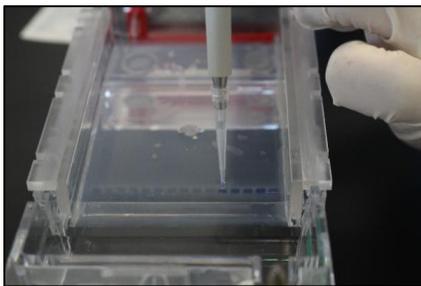


Fig. 15 Material siendo transportado a gel de agarosa al 2%

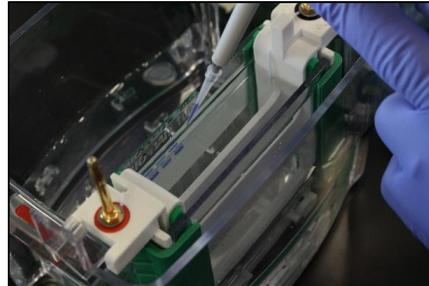


Fig. 16 Material siendo transportado a gel de poliacrilamida al 8%



Fig. 17 Proceso de electroforesis. 80 volts por 45 minutos

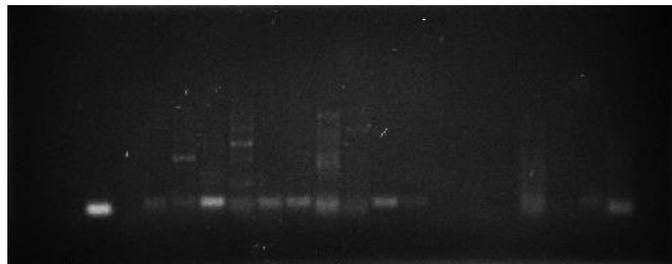


Fig. 18 Gel de agarosa con muestras positivas a *Helicobacter pylori*.