

## Trabajos Originales:

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE INMUNOGLOBULINA A SECRETORA ANTI-*HELICOBACTER PYLORI* EN SALIVA DE PACIENTES CON GASTRITIS CRÓNICA**

Recibido para arbitraje: 24/05/2007

Aprobado para publicación: 05/06/2007

- **López T:** Estudiante postgraduado de la Maestría de Medicina Estomatológica
- **Perrone M:** Profesor Titular, Jefe de Laboratorio de Microbiología, Instituto de Investigaciones Odontológicas Raúl Vincentelli, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela
- **Correnti M.** Profesor Agregado, Jefe del Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Oncología y Hematología, Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Jefe del Centro de Biotecnología aplicada a la Odontología, Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela.
- **Ortiz D.** Instituto de Biomedicina, Ministerio de Salud, Caracas, Venezuela.
- **Cavazza ME.** Instituto de Biomedicina. Ministerio de Salud, Caracas, Venezuela.
- **Avila M.** Laboratorio de Genética, Instituto de Oncología y Hematología, Ministerio de Salud, Caracas, Venezuela.

**RESUMEN**

*Helicobacter pylori* ha sido implicado como el principal agente asociado a la patogénesis de gastritis crónica, úlcera péptica y neoplasias gástricas en humanos. El microorganismo ha sido detectado en placa dental, saliva y heces. En el presente estudio se determinó la respuesta inmune de Ig A secretora anti-*H.pylori* en la saliva de 39 pacientes con dispepsia y en 20 sujetos sanos. Se tomaron biopsias gástricas de cada paciente para estudio histopatológico, prueba de ureasa, cultivo microbiológico y Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), así como 5 ml de saliva no estimulada. Las muestras fueron obtenidas previo a la endoscopia. Los niveles de anticuerpos específicos de IgA secretora-Anti *H.pylori* fueron determinados por ensayo inmunoabsorbente ELISA. El antígeno utilizado fue preparado por sonicación de 5 cepas de *H. pylori* aislados de pacientes con úlceras duodenales. *H. pylori* fue detectado en 24/39 (62%) de los pacientes, todos con gastritis crónica. Los pacientes sintomáticos infectados con *H.pylori* presentaron niveles significativamente mayores de IgA secretora en saliva ( $0,2862 \pm 0,144$ ), que los pacientes del grupo control ( $0,1511 \pm 0,069$ ) ( $p>0005$ ). Nuestros resultados indican que existe una correlación entre la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica de pacientes con enfermedad de las vías digestivas superiores y la presencia de IgA secretora anti-*H.pylori* en saliva. Este ensayo a nivel de saliva representa una prueba rápida, no invasiva que puede ser utilizado en estudios epidemiológicos sobre todo en pacientes pediátricos.

**Palabras clave:** *Helicobacter pylori*, IgA secretora, saliva Seroprevalencia.

**ABSTRACT**

*Helicobacter pylori* has been implicated as the major acquired factor in the pathogenesis of chronic gastritis, peptic ulcer disease, and gastric neoplasia in humans. The microorganism has been detected in dental plaque, saliva and feces. In this study, we investigated the salivary anti *H. pylori* immunoglobulin A (IgA) immune response in 39 dyspeptic patients and 20 healthy volunteers. Gastric antrum biopsies were taken for histological examination, urease test, culture and polymerase chain reaction (PCR). Five milliliters of unstimulated saliva were obtained from all subjects before the endoscopy. The levels of specific antibodies in saliva were determined by ELISA test. The soluble antigen material for immunoenzymatic assay was prepared by sonication of five *H. pylori* strains isolated from duodenal ulcer patients. *H. pylori* was detected in antral samples from 24/39 (62%) patients, all of whom had chronic gastritis. Symptomatic patients infected with *H. pylori* showed levels significantly higher of secretory Ig A in saliva ( $0.2862 \pm 0.144$ ) than asymptomatic patients. ( $0.1511 \pm 0.069$ ) ( $p>0.005$ ). Our results indicate that there is a correlation between the presence of *H. pylori* in gastric mucosa of symptomatic patients and the occurrence of secretory Ig A antibodies against *H. pylori* in saliva. Saliva testing is a rapid, noninvasive test that may have a role in epidemiological studies and in screening dyspeptic patients, specially in pediatric populations.

**Keywords:** *Helicobacter pylori* - secretory IgA - seroprevalence - saliva- Venezuela

## INTRODUCCION

*Helicobacter pylori* es un importante patógeno humano que causa gastritis crónica y está asociado con el desarrollo de úlcera péptica, y gastritis atrófica. Este microorganismo es considerado como el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico y linfomas. (1,2,3,4,5) Sin embargo, la infección solo ocurre en el 15% de las personas infectadas, siendo influenciada su aparición, por la virulencia de la especie infectante, la susceptibilidad genética del hospedero y la presencia de cofactores ambientales. (6,7)

La bacteria tiene una gran variabilidad genética, evidenciada por estudios de genotipificación y secuenciación de ADN. (8,9) Recientemente se han descrito genes bacterianos específicos que están asociados con la virulencia de las especies bacterianas. (10,11,12)

Entre los factores de virulencia bacterianos responsables de las manifestaciones clínicas, están las adhesinas (BabA, SabA), la citotoxina vacuolizante VacA, y los productos de la isla de patogenicidad Cag. Los patrones de producción de citoquinas en la respuesta a la infección por *H. pylori* constituyen uno de los principales factores derivados del hospedero, que pueden limitar el desarrollo de la infección a una gastritis, o favorecer el desarrollo de úlcera péptica y cáncer gástrico.

El polimorfismo de algunos genes de citoquinas (IL-1 $\beta$ , IL6, IL8, IL10, IL-1RN, FNT  $\alpha$ , Interferon-gamma) han sido correlacionados con el desarrollo de úlcera péptica y adenocarcinoma asociado a *H. pylori* y, posiblemente estos puedan estar influenciados por la cantidad de citoquinas producidas como respuesta a la infección persistente. (13-15). Estas investigaciones concluyen que los factores de virulencia bacteriana, conjuntamente con una producción incrementada de citoquinas inflamatorias, puede ser relevante en la fisiopatología gástrica de las enfermedades producidas por *H. pylori*.

Aproximadamente entre un 60% a 70% de los aislados de *H. pylori* contiene un gen denominado cagA (gen asociado a la citotoxina), que codifica para una proteína de 128 kDa denominada CagA (16). La presencia de CagA está relacionada con la ulceración duodenal, atrofia de la mucosa gástrica y cáncer gástrico (17-18). Este gen representa una parte de una gran entidad genómica denominada isla de patogenicidad, (17) la cual contiene múltiples genes relacionados con la virulencia y patogenicidad de los aislados de *H. pylori*.

La presencia de CagA puede ser considerada como un marcador de la isla de patogenicidad, que está relacionada con una mayor virulencia de las cepas que la presenten (19). Algunos autores han propuesto que la presencia de este marcador está relacionada con formas más severas de enfermedad gástrica en el adulto (20). Sin embargo, otros reportes indican que una alta prevalencia del gen cagA, es encontrada independientemente del tipo de enfermedad desarrollada. (21-23).

La interacción entre la bacteria y el hospedero, es un factor clave que determina las consecuencias clínicas de la infección por *H. pylori*. A este respecto, el sistema inmune juega un papel importante en prevenir o promover la enfermedad (24).

En el tejido de la mucosa, la IgA es la molécula predominantemente producida como dímero, la cual es transportada en vesículas endocíticas al ápice de las células epiteliales para producir el componente secretor (25). Luego, el clivaje proteolítico del componente secretor resulta en la liberación de la IgA secretora. Una asociación entre gastritis e incremento de la expresión del componente secretor ha sido reportado (26) y la infección por *H. pylori* también ha sido asociada con el incremento en la expresión del componente secretor por células gástricas.

El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles de IgA secretora anti-*H. pylori* en la saliva de un grupo de pacientes con enfermedad de las vías digestivas superiores.

## MATERIALES Y METODOS

### Selección de los pacientes:

Se evaluaron 39 pacientes, provenientes del Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico Universitario de Caracas, Venezuela, referidos para examen endoscópico, por presentar enfermedad de las vías digestivas superiores. Como grupo control se incluyeron 20 sujetos asintomáticos. Se les presentó el consentimiento informado a cada uno de ellos y el protocolo de experimentación fue previamente aprobado por el comité de ética del FONACIT proyecto S1-96001408. A cada sujeto se le realizó una historia clínica detallada y se le pidió firmar la carta de consentimiento para participar en el protocolo. Los criterios de exclusión del presente trabajo fueron: tratamiento con antibióticos y compuestos que contuviesen bismuto u omeprazol, en las dos semanas previas al examen.

**Recolección de la muestra:** Se tomaron muestras de placa dental mediante raspado de las superficies supra y subgingival con cureta de Gracey, previo a la realización de la endoscopia. Igualmente se obtuvieron de cada uno de los pacientes 5 ml de saliva, y cuatro especímenes de biopsia antral, uno para el cultivo, el siguiente para la prueba de ureasa, estudio histopatológico, y el otro para la Reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

**Cultivo Microbiológico y Prueba de ureasa:** Las biopsias fueron homogenizadas e inoculadas en un medio selectivo (Placas de agar Columbia, suplementadas con 7% de sangre). Las placas fueron incubadas a 37 °C en una atmósfera de 10% de CO<sub>2</sub> por 10 días. Las colonias con una morfología sugestiva de *H. pylori* fueron confirmadas con coloración de Gram, y las pruebas de ureasa, catalasa y oxidasa

**Detección de ADN de *H. pylori* de placa dental:** las muestras fueron agitadas. La suspensión fue lavada con agua estéril y centrifugadas a 12000X g por 3 min. El pellet resultante fue resuspendido en 500 µl de buffer de lisis (100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl [pH 8.0], 25mM EDTA, 0,5% dodecilsulfato de sodio), y 10 µl de proteinasa K (10mg/ml) fue añadido. La incubación se realizó a 50°C por 20 h; esto fue seguido por la extracción con fenol cloroformo y precipitación con etanol. El pellet resultante fue disuelto en 100 µl de buffer TE (10 mM), Tris-HCl [pH 7.4], 0.1 mM EDTA (Etilendiaminotetracetato) [pH 8.0] por 20 h a 37° C. Las muestras fueron mantenidas a -20°C hasta su posterior procesamiento.

Los siguientes oligonucleótidos fueron usados como primers o iniciadores: HPU 1 (5'- GCC-AAT-GGT-AAA-TTA-GTT-3'). El producto esperado después de la amplificación con estos primers era de 411 pares de bases. Una sonda intermedia marcada con digoxigenina HPU II (5´ - ATT-GAC-ATT-GGC-GGT-AAC- 3'), fue usada para la hibridización.

La amplificación de la RCP fue realizada en un volumen de reacción total de 50 µl: 10 µl del ADN extraído y 40 µl de la mezcla de (50 µM KCl, 20 µM Tris -HCl pH 8.3, 3.0 µM de MgCl<sub>2</sub>, 0.01 de gelatina, 2.5 U de Taq polimerasa, 0.2 µM dNTPs, 0.5 µM primer HPU 1, 0.5 µM del primer HPU 2) . La denaturalización inicial fue llevada a cabo por 4 min. a 94°C.

Treinta y cinco ciclos de amplificación fueron realizados en un termociclador automático. Cada ciclo consistía de tres pasos de 1 min cada uno: un paso de desnaturalización a 94°C, un paso de anillado a 45°C, y un paso de extensión a 72°C. Los productos amplificados de la RCP fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa. Una alícuota de 15 µl (a 12 µl de cada producto amplificado, le fueron añadidos 3 µl de buffer de muestra (20 ml de glicerol 50%, 25mg de azul de bromofenol, 3 gotas de 1 N NaOH) y se realizó la electroforesis con geles preparados al 3%, los cuales fueron teñidos con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y examinados con luz ultravioleta para observar los amplificados de ADN. Las muestras fueron consideradas positivas cuando una banda de 411 pb pudo ser observada en el gel.

**Hibridización:** La especificidad de los amplificados de ADN fue confirmada por hibridización con una sonda marcada con digoxigenina (HPU II; DNA Enzyme IMMUNOassay).

El plato de microtitulación fue cubierto con una sonda específica para el ensayo: Se colocaron 100 µl de la solución con la sonda biotinilada a cada pocillo. Los platos fueron incubados de 18-22 horas a 2-8°C. Al final de la incubación, los platos fueron lavados para remover cualquier exceso. Previamente al inicio de la hibridización los productos amplificados fueron desnaturalizados en un Termociclador por 15min a 94°C. Posterior al paso del lavado 100 µl de buffer de hibridización fue servido en cada pocillo (a excepción del blanco). 20 µl del amplificado desnaturalizado fue dispensado dentro de su respectivo pocillo. El plato fue lavado tres veces con 100 µl de Anti-ds-ADN- El plato fue lavado tres veces y 100 µl de Cromógeno + sustrato fueron dispensados e incubados por 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Posteriormente se agregaron 200 µl de solución bloqueadora por pocillo. Los platos fueron leídos a 450/360nm. La corrida fue válida cuando el radio del valor positivo de la absorbancia era mayor o igual a 10(CP /CN >10). Los controles negativos de los tubos consistían en agua destilada además del ADN de la muestra. Los controles positivos fueron examinados con cada baño del producto amplificado. Como control de la RCP se usó un cultivo de *H. pylori* aislado de una muestra del antrum del estómago.

**Determinación de IgA secretora anti-*H.pylori* en saliva:** Para la determinación de IgA secretora anti-*H.pylori* se empleó el Ensayo enzimático ELISA estandarizado en el laboratorio: Se recolectaron las muestras directamente de cada paciente y fueron conservadas en tubos vacutainer con EDTA a 20°C hasta su uso. Se empleó la técnica de ELISA usando placas de poliestireno Nunc MaxiSorp). El antígeno de *H. pylori* utilizado fue preparado por sonicación a partir de cultivos obtenidos de biopsias de pacientes infectados por la bacteria. Se sensibilizó la placa con 2.5 µg por pocillo del antígeno diluido en buffer de cobertura a pH 9.6, durante 2 horas a 37°C. Las muestras de saliva se incubaron durante una hora a 37°C a una dilución 1/10 con PBST-BSA 0.5%. Luego se utilizó una Anti IgA marcada con peroxidasa (SIGMA) diluida 1/1000 en PBST-BSA (Buffer Fosfato Salino) 0.6% y fue incubada en una estufa a 37°C por una hora. Por último se reveló con o-fe-nilenidiamina OPD (SIGMA) y se leyó la absorbancia a 492 nm. Las lecturas de densidad óptica (DO) se realizaron a 492 nm. Las muestras de saliva se consideraron positivas cuando las DO eran iguales o mayores de 280 unidades de densidad óptica.

#### Análisis Estadístico

Se aplicó la prueba del Coeficiente de Similitud General de Gower para la comparación entre variables y la prueba de Kruskal Wallis que tiene una confiabilidad del 95%

#### RESULTADOS

##### Detección de *H. pylori* en muestras de placa dental por RCP:

*H. pylori* fue detectado en 24/40 (62%) de pacientes, todos con gastritis crónica.

##### Positividad de muestras de biopsias gástricas para *H. pylori* mediante las pruebas de ureasa, cultivo y Reacción en cadena de la Polimerasa.

<b>Prueba</b>	<b>N° de pacientes</b>
<b>Ureasa</b>	<b>22/39 (56%)</b>
<b>Cultivo</b>	<b>23/39 (59%)</b>
<b>RCP</b>	<b>24/39 (62%)</b>

Pacientes sintomáticos: 0.2862+- 0.144  
 Pacientes asintomáticos: 0.1511 +- 0.069

El grupo de pacientes sintomáticos infectados por *H. pylori* presentó niveles mayores estadísticamente significativos de IgA secretora-anti-*H. pylori* que el grupo de los pacientes asintomáticos  $p > 0.005$  (grupo control).

Distribución de pacientes positivos mediante la Reacción en cadena de la Polimerasa en biopsias de estómago y la presencia de Ig A secretora anti-*H. pylori* en muestras de saliva mediante el Ensayo Inmunoenzimático ELISA: Se encontró que de los 24/39 (62%) pacientes positivos para *H. pylori* mediante RCP en biopsias de estómago, 17/39 (44%) resultaron positivos para IgA secretora anti-*H. pylori* en saliva.

Por lo tanto el 71% de los pacientes positivos para la RCP en muestras de estómago resultó positiva para IgA secretora anti-*H. pylori* en saliva. El análisis estadístico de Gower demostró un 81% de similitud entre ambas pruebas y una especificidad del 70%.

Sensibilidad y Especificidad del Ensayo Inmunoenzimático ELISA: La sensibilidad y especificidad de este Inmunoensayo fué de 79% y 67% respectivamente.

#### DISCUSION

Estudios epidemiológicos han demostrado que la infección por *H. pylori* tiene una distribución mundial y aunque aproximadamente un 80% de los pacientes no desarrolla una enfermedad severa, un grupo de individuos puede sufrir una infección persistente convirtiéndose en crónica (27)

La prevalencia de la infección por este microorganismo, varía notablemente en todo el mundo, con una tasa del 40 al 50% en los países desarrollados y cerca del 90% en aquellos países en vías de desarrollo. El modo de transmisión de *H. pylori* es ampliamente discutido. (28) Aunque algunas evidencias sugieren, que esta ocurre predominantemente por contacto de persona a persona, otros autores proponen la vía fecal-oral. Recientemente se ha sido sugerido que la bacteria puede existir de forma natural en el ambiente. (29)

Numerosos estudios han reportado la asociación de *H. pylori* con una variedad de enfermedades gastrointestinales incluyendo gastritis crónica, úlcera péptica, y gastritis atrófica. Igualmente es considerado como el principal factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico y linfomas tipo Maltoma (1-4)

Las pruebas de diagnóstico para esta infección han sido clasificadas como de tipo invasivas y no invasivas, cada una de las cuales presenta una serie de ventajas y desventajas lo cual hace que sean más o menos apropiadas dependiendo de la situación clínica,

Las pruebas de tipo no invasivas obvian la necesidad del examen endoscópico, debido a que este resulta un procedimiento engorroso y de difícil aplicación, sobre todo en el diagnóstico de pacientes comprendidos en etapas tempranas y medianas de la vida (30)

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

En la actualidad no existe un consenso sobre cual prueba comercial o de desarrollo propio, deben ser empleadas para estudios a personas asintomáticas y en estudios de epidemiología a gran escala .(31)

Nuestros resultados mostraron la presencia de *H. pylori* en el 59% de los pacientes mediante cultivo microbiológico y 56% mediante la prueba de ureasa. En estudios previos realizados en Venezuela se demostró igualmente una alta prevalencia de

infección por esta bacteria. (32)

Al comparar ambas pruebas, en el presente estudio se observó que 19/39 (49%) de los pacientes fueron positivos tanto para la ureasa como para el cultivo, lo cual permite establecer una relación entre ambas encontrándose una especificidad del 93% en la detección del microorganismo. Otros reportes han demostrado que la sensibilidad del cultivo varía entre un 55% a un 90% (38) La guía Europea recomienda el uso de la prueba del aliento con la urea o determinación de antígenos en heces para el diagnóstico de la infección, y la endoscopia con la histología o la prueba rápida de ureasa solo cuando esté clínicamente indicado (33).

El cultivo es un método invasivo, que consume gran cantidad de tiempo, con poca sensibilidad, y que requiere un costo elevado para el paciente, su aplicación podría mantenerse limitada a campos de investigación epidemiológicos y farmacológicos, que conduzcan a la identificación de nuevas drogas efectivas para *H. pylori* en diferentes regiones geográficas y que permitan la obtención de una vacuna en el futuro. Desde el punto de vista clínico, el uso del cultivo es un tópico que probablemente requiera un replanteamiento y un debate profundo para asumir de forma precisa cual es su papel en la práctica clínica. (34)

También se evidenció la presencia del microorganismo en las muestras de estómago mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), observándose en 24/39 (62%) de las muestras. Al comparar esta prueba con la de la ureasa y el cultivo microbiológico se obtuvo que 22/39 (56%), resultaron positivas también para ureasa, y 23/39 (59%) para el cultivo, mostrando una especificidad del 86% y 88% respectivamente. De estas técnicas empleadas se obtuvo mayor especificidad en las primeras que en la RCP, aún cuando esta última presentó mayor sensibilidad. Esto ha sido reportado por otros autores quienes confirman lo referido anteriormente (35)

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

Todos estos eventos generan daños ultraestructurales en el tejido gástrico pasando a ser un microambiente desfavorable para el propio organismo, limitando así su crecimiento y proliferación, lo cual podría explicar la baja prevalencia de la infección en etapas como gastritis crónica activa y cáncer gástrico, observándose en algunos casos la ausencia total del microorganismo en pacientes con gastritis crónica atrófica acompañada de metaplasia intestinal. (36)

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

La inmunidad determinada por anticuerpos en la mucosa, como respuesta inmunológica a la presencia de estas bacterias, no solo se encuentra restringida a la producción de inmunoglobulinas (Ig A) sino también a otras inmunoglobulinas que juegan un papel importante en el sistema inmunológico. (37)

Considerando la importancia de lo anteriormente expuesto, nos propusimos en el presente trabajo, evaluar la respuesta de Inmunoglobulina A secretora anti-*Helicobacter pylori* en la saliva de pacientes con Gastritis Crónica

Al respecto observamos que el grupo de pacientes sintomáticos infectados por *H. pylori* presentó niveles mayores, estadísticamente significativos de IgA secretora-anti-*H. pylori*, que el grupo de los pacientes asintomáticos (grupo control). La positividad del grupo control podría explicarse basados en lo expuesto por Campuzano y col (42), quienes plantearon que a pesar que existen muchos estudios que tratan de evidenciar la presencia de *H. pylori* en personas sintomáticas en las que está indicada la endoscopia, las investigaciones en personas asintomáticas proporcionan un cuadro más completo de prevalencia de la infección, ya que la bacteria se aísla frecuentemente de personas asintomáticas que se consideran normales o de individuos que no tienen síntomas relacionados con dispepsia o úlcera. Asimismo estos autores refieren que las personas asintomáticas menores de 30 años de edad se encuentran infectadas por *H. pylori* en un 20%, edad que se corresponde con la de nuestro grupo control, que oscilaba entre 20 y 30 años de edad.

Se han realizado estudios que demuestran que el sistema inmune secretor de las mucosas está involucrado en la defensa del organismo contra esta bacteria, y que una respuesta de IgAs en la mucosa gástrica anti-*H. pylori* puede suprimir el crecimiento de la bacteria sin la erradicación de la infección. También modelos animales han demostrado que es posible erradicar la infección por *H. pylori* en la mucosa gástrica mediante la administración bucal de anticuerpos monoclonales. Igualmente se ha propuesto que el incremento de la concentración local de anticuerpos específicos alcanzados a través de la vacunación oral de anticuerpos anti-*H. pylori* puede ser utilizada como futura terapia para prevenir la adhesión de la bacteria a las células epiteliales, aumentar la eliminación de la bacteria o interferir con otros factores asociados con la patogenicidad del microorganismo. (43)

Nuestros resultados indican que existe una correlación entre la presencia de *H. pylori* en la mucosa gástrica de pacientes con

enfermedad de las vías digestivas superiores y la presencia de IgA secretora anti-*H.pylori* en saliva. Este ensayo a nivel de saliva representa una prueba rápida, no invasiva que puede ser utilizado en estudios epidemiológicos sobre todo en pacientes pediátricos.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Graham DY, and Go M: *Helicobacter pylori*: current status. *Gastroenterology* (1993); 105:279-282
2. Hardo PG, Tugnait A, Hassan F, Lynch DAF, West AP, Mapstone NP et al.: *Helicobacter pylori* and dental care. *Gut* (1995); 37:44-46.
3. Hopkins R, Girardi LS, and Turney EA: Relationship between *Helicobacter pylori* eradication and reduced duodenal and Gastric ulcer recurrence: A Review. *Gastroenterology* (1996); 110: 1244-1252.
4. Dunn B.E.,Cohen H, Blaser MJ: *Helicobacter pylori* *Clin Microbiol Rev* (1997);10:72041.
5. Parsonett J, Vandersteen D, Goates J, Sibley RK, Prittkin J, Chang Y: *Helicobacter pylori* infection in intestinal-and diffuse- type gastric adenocarcinomas .*J Natl Cancer Inst* (1991); 83: 640-43.
6. Atherton JC: *H. pylori* virulence factors. *British Medical Bulletin* (1998); 54: 1012-1020.
7. Blaser M.J: Not all *Helicobacter pylori* strains are created equal: should all be eliminated? *Lancet*. (1997); 349:1020-22
8. Hirschl AM, Ritcher M, Makrithatis PM, Pruckl B, Willinger K, Schutze K, Rotter M.:Single and multiple strain colonization in patients with *Helicobacter pylori*-associated gastritis: detection by macrorestriction DNA analysis. *J. Infect. Dis* (1994); 170: 473-475.
9. Van der Ende A, Rauws ME Feller M, Mulder C, Tytgat G, Dankert J: Heterogenous *Helicobacter pylori* isolates from members of a family with a history of peptic ulcer disease. *Gastroenterology* (1996); 11: 638-647.
10. Atherton, JC: The clinical relevance of strains types of *Helicobacter pylori*. *Gut* (1997); 40: 701-703
11. Blaser MJ: Intrastrain differences in *Helicobacter pylori*: a key question to mucosal damage? *Ann. Med* (1995); 27:559-563
12. Mobley, H.L: Defining *Helicobacter pylori* as a pathogen: strain heterogeneity and virulence. *Am J. Med* (1996); 100: 2S-11S.
13. Klausz G, Tiszai A, Lenart Z, Gyulai Z, Tiszlavicz L, Hogye M, Csa M, Lonovics J, Mandi Y: *Helicobacter pylori*-induced immunological responses in patients with duodenal ulcer and in patients with cardiomyopathies. *Acta Microbiol Immunol Hung* (2004); 51: 311-320.
14. Yamamoto T, Kita M, Ohno T, Iwakura Y, Sekikawa K, Imanishi J: Role of Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interferon-Gamma in *Helicobacter pylori* infection. (2004); 48:647-654.
15. Basso D, Plebani M: *H. pylori* infection: bacterial virulence factors and cytokine polymorphism as determinants of infection outcome. *Crit Rev Clin Lab Sci* (2004); 41:313-317.
16. Censini, S, Lanfge C, Xiang Z, Crabtree J, Ghiara P, Borodovsky R, Rappuolli R, Covacci A. CagA pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated

- virulence factors. Proc. Natl. Acad. Sci USA. (1996); 14648-14653.
17. Blaser M.J, Perez-Perez G, Kleantous H, Cover T, Peek RM, Chyyou P.H, Stemmermann G.N, Nomura, A. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res. (1995); 55:2111-2115.
  18. Kuipers E.J, Pérez-Pérez G, Meuwissen S.G, Blaser M.J. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. J. Natl. Cancer Inst. (1995); 87:1777-1780.
  19. Van Doorn LJ, Figueredo C, Rossau R, Jannes, G, As broeck M, Sousa, JC, Carneiro F, Quint WG: Typing of *Helicobacter pylori* Vac A and Detection of Cag A Gene by PCR Reverse Hybridization. J. Clin. Microbiol (1998); 36:1271-1276.
  20. Xiang, Z, Censini S, Bayeli P, Telford J, Nigura N, Rappuoli R, Covacci A. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. Infect. Immun. (1995); 63:94-98.
  21. Domingo D, Alarcón T, Prieto N, Sánchez I, López-Brea M. cagA and vacA status of Spanish *Helicobacter pylori* isolates. J Clin Microbiol (1999); 37:2113-2114.
  22. Maeda, S, Ogura K, Yoshida H, Funai F, Ikenoue T, Kato N, Shiratori Y, Omata M. Major virulence factors, VacA and CagA are commonly positive in *Helicobacter pylori* isolates in Japan. Gut (1998); 42:338-343.
  23. Pan Z-J, van der Hulst R.W, Feller M, Xiao S-D, Tytgat G.N, Dankert J, van der Ende A. Equally high prevalences of infection with cagA positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. J Clin Microbiol (1997); 35:1344-1347.
  24. Censini, S, Lanfge C, Xiang Z, et al: cagA pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA (1996); 14648-53.
  25. Brandtzaeg P: Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system. APMIS (1995); 103: 1-19
  26. Valnes K, Branstzaef P, Elgjo H, Stave R: Quantitative distribution of immunoglobulin-producing cells in gastric mucosa: relation to chronic gastritis and glandular atrophy. Gut (1996); 27:505-514.
  27. Graham D.Y, Genta R.M, Graham D.P, Crabtree J.E. Serum CagA antibodies in asymptomatic subjects and patients with peptic ulcer: lack of correlation of IgG antibody in patients with peptic ulcer or asymptomatic *Helicobacter pylori* gastritis. J Clin Pathol (1996); 49:829-832.
  28. Kato S, Sugiyama T, Kudo M, Ohnuma K, Ozawa K, Iinuma K, Asaka M, Blaser M.J. CagA antibodies in Japanese children with nodular gastritis or peptic ulcer disease. J Clin Microbiol (2000); 38:68-70.
  29. Hopkins R, Girardi LS, Turney EA: Relationship between *Helicobacter pylori* eradication and reduced duodenal and Gastric ulcer recurrence: A Review. Gastroenterology (1996); 10: 1244-1252.
  30. Marshall B. Armstrong A, Grahan T, Norker N, Wee S. Antibacterial action of bismuth in the relation to campylobacter colonization and gastritis. Digestion (1987); 37:16-30.
  31. Jensen A, Anderson L, Wachmann C. Evaluation of eight commercial kits for *Helicobacter pylori*

IgG antibody election APM IS (1993); 110: 795-801.

32. Berroterán A, Perrone M, Correnti M, Cavazza M, Tombazzi C, Goncalvez R, Lecuna V: Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the oral cavity and gastroduodenal system of a Venezuelan population. J Med Microbiol (2002); 51: 764-760.
33. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. Gut (1997); 41:8-13.
34. Zullo A, Hassan C, Lorenzetti S, Winn S, Morini S: A clinical practice viewpoint: to culture or not culture *Helicobacter pylori*. Dig Liver Dis (2003); 35: 357-361.
35. Chuanfu Li, Tuanzhu H, Donald A, Ferguson Jr, Chi D, Rongguo Z, Nikihil R, Patel M. A newly developed PCR assay of H pylori in gastric biopsy, saliva and feces. Digestive Diseases and Sciences. (1996); 11:2142-2149
36. Campuzano S, Lombana I, Arguello E, Herrera M. Aislamiento de *Helicobacter pylori* en placa dental. Tribuna Médica. (1997); 86: 27-38.
37. Bogtedt A, Nava S, Wadstrom T, Hammarstrom L. *Helicobacter pylori* infection in IgA deficiency: lack of role for the secretory immune system. Clin Exp Immunol. (1996); 105: 202-204.