

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

HELICOBACTER PYLORI EN LA PLACA SUBGINGIVAL DE PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA

Fanny Arteaga¹, Belkis Quiñones¹, Rafael Vilorio²

1 Profesor de la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

2 Estudiante de la Facultad de Odontología, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Autora de correspondencia: Fanny Arteaga. Email: fanarte@ula.ve

Recibido: 17-05-2014

Aceptado: 14-10-2014

RESUMEN

El *Helicobacter pylori* es una bacteria Gram negativa que habita persistentemente la mucosa gastrointestinal humana, y la placa dental parece intervenir para la acogida *H. pylori* dentro de la cavidad oral. **OBJETIVO:** El propósito de esta investigación fue determinar la relación existente entre la presencia del *Helicobacter pylori* en placa subgingival y pacientes con periodontitis crónica (PC). **MATERIALES Y MÉTODOS:** Se planteó un estudio de tipo correlacionar, con un diseño no experimental, transversal. La muestra la conformaron 15 sujetos entre 22 y 64 años con periodontitis crónica que acudieron a la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. La muestra se tomó de las bolsas periodontales más profundas, mediante raspados de la superficie dentaria subgingival, utilizando una cureta periodontal de Gracey. Dicha muestra fue analizada mediante prueba de Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR) para identificar la presencia de la bacteria y así determinar si existe relación entre ambas variables. Los resultados indicaron que la asociación fué negativa, tomando en cuenta que la totalidad de las muestras de placa subgingival procesadas no presentaron la bacteria. **CONCLUSIÓN:** La cavidad oral actúa como un reservorio para *H. pylori*; sin embargo, los resultados no muestran que *H. pylori* está implicado en la enfermedad periodontal.

DeCS: periodontitis crónica, *Helicobacter pylori*, Reacción de Cadena de Polimerasa

HELICOBACTER PYLORI IN SUBGINGIVAL PLAQUE OF PATIENTS WITH CHRONIC PERIODONTITIS

ABSTRACT

Helicobacter pylori is a Gram negative bacterium persistently inhabiting human gastrointestinal mucosa, and dental plaque seems to influence the hosting of *H. pylori* in the oral cavity. **OBJECTIVE:** the purpose of the present research was to determine the relationship between the presence of *Helicobacter pylori* (Hp) in subgingival plaque and patients with chronic periodontitis (CP). **MATERIALS AND METHODS:** a correlational study with transactional, non-experimental design was conducted. Sample was constituted by 15 subjects between 22-66 years old presenting chronic periodontitis who attended the Department of Periodontology, Faculty of Dentistry, University of Los Andes, Mérida, Venezuela. The sample was taken from the deepest periodontal pockets by scrapings from the subgingival tooth surface using a periodontal Gracey curette. The sample was analyzed by testing Polymerase Chain Reaction (PCR) to identify the presence of bacteria and determine whether there is a relationship between the two variables. The results showed a negative association, considering that all of the subgingival plaque samples processed showed no bacteria. **CONCLUSION:** The oral cavity acts as a reservoir for *H. pylori*; however, the results show that *H. pylori* seems not to be involved in periodontal disease.

MeSH: Chronic periodontitis, *Helicobacter pylori*, PCR.

<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio>

INTRODUCCIÓN

El *Helicobacter pylori* (Hp) es una bacteria Gram negativa en forma de espiral, que habita persistentemente la mucosa gastrointestinal humana, considerada como un importante patógeno causante de gastritis crónica, úlcera péptica y enfermedades gástricas malignas. La cavidad oral ha estado implicada como un potencial reservorio de este microorganismo y, por lo tanto, pudiese estar relacionada en la reinfección del estómago, la cual algunas veces puede ocurrir después de un tratamiento por una infección para esta bacteria (1,2). Además, se le señala como la región gástrica primaria con un gran potencial para albergar la bacteria, atribuyéndose a la placa dental un sitio resaltante en la acogida del patógeno (3, 4).

Por otro lado, se menciona que casi el 10% de los individuos se ven afectados por gastritis y/o úlcera gástrica durante su vida, y más del 50% de la población mundial lleva esta infección (3).

En este sentido, la posibilidad de transmisión de la bacteria por vía oral ha generado numeras investigaciones con el objeto de identificar al microorganismo en este sitio anatómico, estableciendo varios métodos de laboratorio dentro de los que resalta la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) por resultar la más específica para su detección. Así mismo, se han sugerido sitios adicionales como reservorios para este microorganismo además de la placa

dental y el estómago, entre los que se incluyen la saliva, y el cálculo dental (4, 5,6).

Por consiguiente, la cavidad oral por ser parte del tracto digestivo y por ser un importante reservorio del *H. pylori* está implicada en el incremento de riesgo de las diversas patologías digestivas como el carcinoma gástrico entre otras. (6)

Cabe resaltar, que las enfermedades periodontales y en especial la periodontitis crónica (PC) son una enfermedad infecciosa causada por diversos patógenos particulares en los tejidos periodontales. En relación con esto, ciertos microorganismos han sido identificados en las bolsas periodontales o en la placa dental como agentes etiológicos seguros y otros pueden aumentar el riesgo de la enfermedad (3). El número de los gérmenes que operan es limitado. Entre estos periodontopatógenos están: *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetencomitans* (7,8,9)

De igual manera, está ampliamente demostrada la relación existente entre el desarrollo de la periodontitis crónica y la acumulación de irritantes locales de tipo placa y calculo a nivel subgingival, así como, la gran susceptibilidad en el hospedero a ser colonizada por flora no habitual con potencial patógeno que inducen importantes respuestas inflamatorias e inmunológicas. Siendo el

resultado de dicha respuesta la afección crónica y progresiva de las estructuras periodontales evidenciada en la periodontitis crónica (7,8,9).

Cabe mencionar finalmente, que los controversiales hallazgos sugieren que la frecuencia del *H. pylori* en la cavidad oral está más relacionado con la presencia de la enfermedad periodontal que con la existencia de la infección gástrica. Sin embargo, la erradicación de esta especie del biofilm subgingival de los individuos con la enfermedad periodontal puede ser limitada (3). Adicionalmente, se sugiere que los métodos basados únicamente en PCR para la detección de esta bacteria en los sitios orales deberían ser interpretados cuidadosamente debido a la presencia de otros microorganismos en esta área filogenéticamente similares (10).

Por consiguiente, nos proponemos estudiar la relación entre el *H. pylori* de la placa subgingival y pacientes con periodontitis crónica.

OBJETIVO

Determinar la relación entre el *H. pylori* de la placa subgingival y pacientes con periodontitis crónica que acuden a la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela durante el periodo junio-julio 2011.

Justificación

El *H. pylori* es considerado un importante patógeno causante de la gastritis crónica, la úlcera péptica y enfermedades gástricas malignas. Además, la cavidad oral ha estado implicada como un potencial reservorio de este microorganismo y, por lo tanto, pudiese estar relacionada con la re infección del estómago, las cuales algunas veces puede ocurrir después de un tratamiento por una infección para esta bacteria (1,2). Sería de importancia considerar una terapia para llevar a cabo la erradicación satisfactoria de la bacteria sistémica y oralmente para disminuir el riesgo de reinfecciones gástrica y recidivas por tanto se contribuiría con la evaluación y restitución integral de la salud de los pacientes con un impacto positivo en su calidad de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación siguió un enfoque de tipo correlacional, ya que consistió en medir el grado de relación que existe entre dos o más variables en los mismos sujetos de estudio. El diseño fue no experimental, debido a que no se manipularon deliberadamente las variables a su vez se puede clasificar como transeccional o transversal debido a que se recolectaron datos en un solo momento en el tiempo. (11)

Las variables en la presente investigación fueron: periodontitis crónica y la bacteria *Helicobacter pylori*.

<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio>

La poblacional estuvo conformada por la totalidad de pacientes que acudieron a la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela durante el periodo junio-julio 2011, los cuales fueron diagnosticados con periodontitis crónica de diversas intensidades y distribuciones. El cálculo de la muestra se realizó tomando en cuenta la disponibilidad económica de los pacientes; por lo tanto, en la presente investigación la muestra estuvo conformada por 15 pacientes (12).

Para la selección de los participantes que conformaron la muestra se siguieron los siguientes criterios de exclusión: haber recibido tratamiento periodontal seis meses (6) previos a la fecha del examen clínico y estar recibiendo tratamiento antibiótico para el momento del examen clínico.

La muestra fue tomada de manera no probabilística, debido a que durante el procedimiento de selección se desconoce la probabilidad que tienen los elementos de la población para integrar la muestra, e intencional ya que los elementos de la misma fueron seleccionados con base a criterios o juicios del investigador.

Para la toma de la muestra de la placa dental se realizó una revisión de la historia clínica periodontal de los pacientes diagnosticados con periodontitis crónica de mayor intensidad y extensión, previo a los inicios de su tratamiento periodontal. Se registró una ficha clínica para cada uno de los pacientes, donde se

anotarían los resultados obtenidos. Apéndice A (1). La muestra se tomó de los dientes con bolsas periodontales más profundos, mediante raspados de la superficie dentaria subgingival, procurando obtener la mayor cantidad de placa posible, utilizando una cureta periodontal de Gracey, posteriormente la placa obtenida se introdujo en un tubo Eppendorf estéril que contenía 200 μ m de Buffer de carga PBS 1X, el cual se mantuvo a 4°C hasta llevarlas al laboratorio para su procesamiento, el cual estuvo identificado con el código asignado al paciente en la ficha y la fecha de la toma de la muestra (13).

El proceso para la extracción de ADN cromosomal se realizó siguiendo el protocolo descrito por Riggio cols. 1999 modificado en el Centro de Investigaciones Odontológicas, descrito así:

1. Colocar la muestra en un tubo Eppendorf que contienen 200 μ l de PBS 1X, agitar.
2. Centrifugar por 3min. A 8000 rpm, descartar sobrenadante.
3. Lavar con 1 ml de PBS 1X, repetir el paso 3
4. Resuspender el pellet en 100 μ l de saponina 0,5 %. Incubar por 5 min en hielo.
5. Centrifugar por 10 min a 12000 rpm, descartar sobrenadante.

<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvivo>

6. A greagar 30 ul de buffer de PCR 1 X
2 ul de proteinasa K a 20 mg/ml, 10 ul de
Chellex – 100- iron al 20 % p H 7.5.

7. Incubar a 5 °C durante 2 a 5 horas.

8. hervir los tubos durante 10 min. A 95
°C para inactivar la proteinasa K

9. Centrifugar durante 10 min., a máxima
velocidad.

10. Recuperar el sobrenadante en un
tubo estéril. Guardar a -20 °C.

11. Determinar espectrofotométricamente
la concentración de ADN.

Las muestras de ADN extraídas fueron
cuantificadas por espectrofotometría con
absorbancia de 260nm y 280 nm. Para
determinar concentración de ADN y
valorar la calidad del proceso de
extracción.

Se usaron oligonucleótidos específicos
(primers HPF y HPR) para el gen de la
fosfoglucoaminmutasa (glmM) de *H.
pylori* o también llamado gen ureasa C, el
cual es conservado o indispensable para
esta bacteria. El segmento o producto
amplificado tiene un tamaño de 294 pb,
estos primers fueron descritos
inicialmente por Brisou y col., 1990 (13).

Primers:

HPF: 5` -AAG CTT TTA GGG GTG
TTA GGG GTT T-3` TM: 62,9 ° C

HPR: 5`B-AAG CTT ACT
TTC TAA CAC TAA CGC-3 TM: 58,4 °
C (13).

Condiciones del ciclaje (Perkin Elmer
2400):

4 min. A 94° C

1 min a 93 ° C; 1min. a 55 °
C; 1 min. A 72 ° C (35 ciclos)

1 min. A 55 ° C; 6 min a 72 °
C; a 4°C

(Aumentar 30 seg. En el annealing
cuando se use MJ Research)

Los productos amplificados en el PCR
fueron corridos en una electroforesis a 90
voltios durante 1 hora, usando geles de
agarosa al 2 % en TBE 1 X. A las
muestras y marcadores de peso molecular
de 100 pb. (Promega) se les añadió Buffer
de carga y posteriormente estos geles
fueron coloreados durante 10 min. En
bromuro de Etidio y agua destilada.
Finalmente, se observaron en un
transiluminador de luz UV y se tomó la
fotografía mediante una cámara
digitalizada (13).

Para la recolección de los datos, se
empleo la técnica de observación no
participante para ambas variables, a saber,
periodontitis crónica y *H. pylori* en
cavidad oral.

El instrumento de recolección donde se
evaluaron las variables periodontitis
crónica y la presencia ausencia de la
variable *H. pylori*, se utilizó una ficha
clínica para recolección de datos de los

<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio>

sujetos participantes, previo consentimiento informado, en la cual se obtuvo información sobre fecha, nombre, edad, género, teléfono, antecedentes periodontales, antecedentes médicos y tratamientos actuales. Se indicó el diente seleccionado con mayor sondaje de la historia clínica del paciente para la toma de la muestra de placa subgingival. Uno de los apartados del instrumento estuvo destinado para la indicación de presencia o ausencia del *H. pylori* luego de haber obtenido el resultado del procesamiento de la muestra de placa dental tomada (12)

NORMAS ÉTICAS

Se solicitó consentimiento informado a cada individuo acerca del procedimiento que se realizaría, por medio de una planilla escrita, la cual fue diseñada según

los parámetros establecidos por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Apéndice B) (14).

RESULTADOS

El hallazgo de *H. pylori* fue negativo en todos los casos analizados, es decir, no se comprobó relación existente entre la periodontitis crónica y la presencia de dicha bacteria en la placa bacteriana.

CONCLUSIÓN

La cavidad oral actúa como un reservorio para *H. pylori*; sin embargo, los resultados no muestran que *H. pylori* está implicado en la enfermedad periodontal.

Referencias

1. Lucas T, Roger de L, Luciano L, Luiz de S; Valdeir F, Marília C, Spencer M. 2010. *Helicobacter pylori* detection in gastric biopsies, saliva and dental plaque of Brazilian dyspeptic patients. Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.105 no.3 Rio de Janeiro May
2. Silva D, Tinoco E, Rocha G; Camargos A, Guerra J; Saraiva I, Queiroz I. 2010. *Helicobacter pylori* transiently in the mouth may participate in the transmission of infection Mem. Inst. Oswaldo Cruz vol.105 no.5 Rio de Janeiro Aug.
3. Mohammad Reza Salehi, Mohammad Shah Aboei, 2013. Una comparación de la prevalencia de *Helicobacter pylori* en el fluido del Surco Gingival de sujetos con periodontitis e individuos sanos usando la Reacción en Cadena de la Polimerasa J Dent Res Clin Perspectivas Dent; 7(4),238-243.
4. Feldman M, Friedman L, Sleisenger M. 2004. Enfermedades Gastrointestinales y Hepáticas. Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento (7ma. Edición) Buenos Aires Argentina, Editorial Médica Panamericana.
5. Ramos F, Hilal F, Vasconcelos F, Werner G, Alvim H, da Silva H. 2000. *Helicobacter pylori*. Análise crítica de seu Papel em Diferentes Afecções Humanas. JBM.; 78: 2-58.
6. Gebara E, Pannuti C, Faria C, Chehter L, Mayer M, Lima L. 2004. Prevalence of *Helicobacter pylori* detected by polymerase chain reaction in the oral cavity of periodontitis patients Oral Microbiology and Immunology
7. Newman M, Takei H, Carranza F. Periodontología Clínica. 2004. 9na Edición. México. Editorial Mc Graw Hill.
8. Lhinde J, 2005. Periodontología Clínica e implantología odontológica. 4ta edición Madrid España. Editorial Médica Panamericana, 7, 52-53, 85-107, 429-430.
9. Wolf H, Hassell T. 2009. Atlas a color de Periodontología. Stuttgart, Alemania: Editorial Amorca.
10. Silva V, Navarro-Rodríguez T, Mattar R, M. Siqueira R. Correa, F. Silva, F. Carrilho, J. Eisig. 2009. Oral cavity is not a reservoir for *Helicobacter pylori* in infected patients with functional dyspepsia. Oral Microbiology and Immunology; 24(3) 255–259,
11. Hernández R, Fernández C, Baptista P. 2006. Metodología de la investigación 3era edición, Editorial Mc Graw Hill, México.
12. Arias F. el proyecto de investigación. 2006. Introducción a la metodología científica. 5ta edición Editorial Espíteme, Venezuela.

<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio>

13. Mora H. 2005. Estandarización de la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR-glmM) para la detención de *Helicobacter pylori* en Biopsias Gástricas y Placa Dental. Trabajo especial de postgrado. Mérida. Universidad de Los Andes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Venezuela.

14. Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS). Ginebra: OMS; 1993. Pautas Éticas Internacionales para la Experimentación Biomédica en Seres Humanos. Fecha de acceso en línea 05 de abril 2010.

APENDICES

Apéndice A



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
MÉRIDA – VENEZUELA

Código _____

FICHA CLÍNICA

FECHA: _____

APELLIDOS: _____	NOMBRES: _____
C.I. _____	EDAD: _____ TELÉFONO: _____
DIRECCIÓN: _____	

EXAMINADOR: _____

1.- Indique cuando fue la última vez que el paciente acudió al odontólogo para realizarse tratamiento periodontal

2.- ¿El paciente se encuentra actualmente bajo tratamiento con Antibióticos?

3.- Diagnóstico reflejado en la historia clínica posterior al examen periodontal del paciente, emitido por la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad _____ de _____ Los _____ Andes:

4.- Presencia de *Helicobacter pylori* en placa dental

Helicobacter pylori

Positivo	Negativo

Apéndice B



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA REALIZAR TOMA DE MUESTRA DE PLACA DENTAL SUBGINGIVAL, PARA LA PARTICIPACIÓN EN LA INVESTIGACIÓN "DETECCIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI* EN PLACA SUBGINGIVAL EN PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA".

En este documento usted encontrará información para conocer y autorizar la toma de la muestra.

La toma de muestra de placa dental incluye un interrogatorio y un procedimiento denominado raspado de la superficie dental por parte del examinador. Cuando su salud periodontal está alterada, usted tiene posibilidades de perder sus dientes debido a que estos se van aflojando progresivamente. Se ha determinado en varias investigaciones científicas, que la enfermedad periodontal es una alteración de las condiciones normales de los tejidos de soporte de los dientes, y está producida por diversas causas entre las cuales se encuentran la acumulación de bacterias en el surco que une las encías con los dientes. Recientemente se ha estudiado una bacteria que por lo general se asocia a enfermedades en el estómago como gastritis crónica, úlceras y tumores, mediante varios estudios se ha logrado comprobar que dicha bacteria también se encuentra presente en la placa dental de pacientes que presentan enfermedad periodontal y en este sitio pudiera estar causando también destrucción de los tejidos. La finalidad de esta investigación es examinarlo para saber si usted tiene esa bacteria en la boca y establecer si existe relación entre su presencia y el desarrollo de su enfermedad periodontal, de esta manera se le indicará un tratamiento efectivo para lograr combatirla. Para este examen es necesario tomar una muestra de placa dental del surco de las encías con el uso de una cureta estéril para raspar la superficie del diente, lo cual no produce dolor ni alterará su salud. Este examen se llevará a cabo en la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, el día que los investigadores acuerden con usted, Usted puede solicitar más información de la anotada en este documento.

Nombre del paciente _____ C.I.

Edad del paciente _____ años

He leído y recibido información acerca del examen periodontal anteriormente mencionado He tenido la oportunidad de preguntar y he obtenido respuestas satisfactorias. Conozco el derecho que tengo de revocar este consentimiento si lo estimo necesario. Doy mi consentimiento voluntario para que el profesional asignado me realice el examen propuesto.

Fecha _____

Firma del paciente

Firma del examinador