



Seroprevalencia de *Helicobacter pylori* en pacientes con gastritis crónica de una zona urbana del Estado de México

Gloria Luz Paniagua-Contreras,* Eric Monroy-Pérez,* Salvador Arroniz-Padilla,*
Lizbeth Hoyos-Torres,* Marisol Janina Pineda-Sánchez,* Sergio Vaca-Pacheco*

RESUMEN

El propósito de este estudio fue determinar los niveles séricos de IgG anti-*Helicobacter pylori* y la presencia de la bacteria y de sus genotipos citotóxicos en biopsias gástricas de pacientes con gastritis crónica. Se cuantificaron los niveles séricos de IgG contra *H. pylori* en 138 pacientes adultos con gastritis crónica por el método de ELISA. Las biopsias gástricas fueron cultivadas en microaerofilia. La identificación de *H. pylori* se realizó mediante PCR convencional y la de los genotipos citotóxicos con PCR multiplex. El 94.9% de los pacientes presentó anticuerpos contra *H. pylori*, dentro de los cuales 32.8% tuvo niveles séricos de 20-60 AU/mL, 9.5% niveles de 61-99 AU/mL y 52.6% niveles por arriba de 100 AU/mL. Las biopsias positivas para *H. pylori* fueron 62 (45%). Todas las cepas de *H. pylori* fueron vacA⁺, pero sólo 28 (45.2%) fueron cagA⁺. Los genotipos de las cepas analizadas fueron vacAs1/vacAm1 (46.8%) vacAs1/vacAm2 (19.3%), vacAs2/vacAm1 (25.8%) y vacAs2/vacAm2 (8%). El 29% de las cepas mostraron el genotipo virulento vacAs1/cagA. Estos resultados muestran que los pacientes con gastritis crónica que estudiamos tienen una alta frecuencia de infección por cepas virulentas de *H. pylori*, ya que dos tercios de ellas (66%) tienen el alelo vacAs1 y aproximadamente un tercio (29%) posee ambos marcadores de virulencia vacAs1 cagA.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, PCR multiplex, anticuerpos.

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the IgG-anti *H. pylori*-serum levels and the presence of the bacterium and its cytotoxic genotypes in gastric biopsies of 138 patients with chronic gastritis. Antibodies against *H. pylori* were quantified by ELISA. Gastric biopsies were inoculated in rich media and the plates were incubated in 6% CO₂. *H. pylori* was identified by conventional PCR and the cytotoxic genotypes vacA and cagA by multiplex PCR. Most patients (94.9%) have had antibodies against *H. pylori*; among them 32.8% showed 20-60 AU/mL, 9.5% 61-99 AU/mL and 52.6% >100 AU/mL. Sixty-two biopsies (45%) gave positive culture for *H. pylori*. All *H. pylori* strains were vacA⁺ but only 28 (45.2%) were cagA⁺. Genotypes of the analyzed strains were: vacAs1/vacAm1 (46.8%), vacAs1/vacAm2 (19.3%), vacAs2/vacAm1 (25.8%), and vacAs2/vacAm2 (8%). Twenty nine percent of the strains showed the virulent genotype vacAs1/cagA. These results show that the patients suffering chronic gastritis we have studied had a high frequency of infection by *H. pylori* virulent strains, since two thirds of them (66%) had the vacAs1 allele, and approximately one third (29%) had both vacAs1 and cagA virulence markers.

Key words: *Helicobacter pylori*, multiplex PCR, Antibodies.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es un microorganismo capaz de ocasionar gastritis crónica, úlcera duodenal y ha sido considerado como un patógeno carcinogénico tipo 1.¹

Se estima que la mitad de la población mundial se encuentra infectada por *H. pylori*.² La prevalencia de infección por *H. pylori* varía de una población a otra; en los países desarrollados el porcentaje se encuentra entre 19 y 57%, mientras que en los países en vías de desarrollo este porcentaje se incrementa hasta 80%.^{3,4} Las variaciones de prevalencia entre estas poblaciones pueden deberse a la frecuencia de adquisición de la infección durante la infancia.⁵ La in-

* Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
Recibido para publicación: 08/06/09. Aceptado: 09/07/09.

fección por *H. pylori* entre niños de países desarrollados es aproximadamente de 10% y se incrementa hasta 30-40% en los infantes de bajos recursos económicos;⁶ mientras que en países subdesarrollados la prevalencia de infección en niños es de 80-100%.⁷ Existen varios factores de riesgo para contraer la infección por *H. pylori*, entre ellos: edad⁸, bajo nivel socioeconómico, deficiencias nutricionales y malos hábitos higiénicos.⁹ Actualmente se ha aceptado que la transmisión de *H. pylori* ocurre de persona a persona, aunque los mecanismos de transmisión todavía no son claros.^{10,11}

En la patogenia por *H. pylori* se han descrito diferentes factores de virulencia¹², entre los cuales se encuentra el gen *vacA* (*vacuolization associated gene*) y el gen *cagA* (*cytotoxin associated gene*).^{13,14,15} El gen *vacA* codifica una citotoxina que tiene la capacidad de formar vacuolas en las células epiteliales.¹⁶ *vacA* varía en dos regiones;¹² la región s (la secuencia de la señal) que existe como los tipos alélicos s1 o s2 y la región m (región media) presente como los tipos alélicos m1 o m2.¹⁷ El gen *cagA* es un marcador genético para una isla de patogenidad (*cag* PAI) constituida por 31 genes.¹⁸ Las cepas de *H. pylori* que presentan el gen *cagA* han sido asociadas con ulceración péptica y con cáncer gástrico.^{19,20} Las cepas de *H. pylori* han sido divididas de acuerdo a su virulencia, en tipo 1 (*vacA*, *cagA* positivo) y tipo 2 (*vacA*, *cagA* negativo).²¹

Debido a que en nuestro país la prevalencia de infección por *H. pylori* es muy elevada, el propósito de este estudio fue determinar los niveles séricos de IgG-Anti *H. pylori*, así como detectar la bacteria y sus genotipos citotóxicos en biopsias gástricas de pacientes con gastritis crónica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de los pacientes y toma de los productos. Para el desarrollo de este estudio, en un hospital de segundo nivel ubicado en el Municipio de Tlalnepantla, Estado de México, fueron seleccionados 138 pacientes que habían sido canalizados al Departamento de Gastroenterología para estudios endoscópicos por presentar signos y síntomas de gastritis crónica. Todos los pacientes firmaron carta de consentimiento informado institucional para utilizar parte de la biopsia obtenida de la zona antral para cultivo y genotipificación. Los pacientes incluidos en este estudio declararon haber padecido varios o muchos años de sintomatología de gastritis, pero sin gravedad del padecimiento. Ninguno de ellos declaró haber recibido tratamiento

con antibióticos o algún otro tipo de medicamento que pudiera interferir con los métodos de detección de *H. pylori* en un tiempo mínimo de tres meses. Antes de los estudios endoscópicos, y en estado de ayuno, a cada paciente se le extrajo una muestra de sangre de 3 mL por el método de punción sanguínea. Una parte de la biopsia de cada paciente fue procesada en el Servicio de Patología del hospital y la otra, junto con las muestras de suero, fueron transportadas al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Detección de IgG contra *Helicobacter pylori*. La detección sérica de IgG contra *H. pylori* fue realizada por el método de ELISA, utilizando el Kit EIAgen No. REF 081022, Marca Adaltis.

Cultivo de *H. pylori*. Las biopsias gástricas fueron maceradas y homogeneizadas en caldo de Brucella. Una alícuota (100 µL) fue cultivada en agar Casman suplementado con 5% de sangre de caballo e inhibidor de la microbiota acompañante (DENT), a 37 °C, en una incubadora de CO₂ (6%) por cuatro días. Las colonias de *H. pylori* se identificaron mediante test de ureasa, catalasa y tinción de Gram.

Extracción de ADN. Las colonias de *H. pylori* fueron colectadas y suspendidas en tubos para centrifuga con 125 µL de PBS estéril y agitadas vigorosamente en un vortex por dos minutos. Posteriormente, los tubos fueron inmersos en agua hirviendo por 15 minutos e inmediatamente transferidos a hielo. Los tubos se centrifugaron a 13,000 revoluciones por minuto (rpm) durante un minuto. El sobrenadante fue transferido a otro tubo y guardado a -20 °C hasta su utilización para reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Detección de *H. pylori* y de los genes de virulencia *vacA* y *cagA* por PCR multiplex. La detección de *H. pylori* se realizó mediante PCR conforme a lo descrito por Li y colaboradores.²² Para la detección de *vacA* y *cagA* se utilizaron los primers VA1-F y VA1-R (25 pmol) VAG-F y VAG-R (25 pmol) y *cag5c*-F y *cag3c*-R (10 pmol) (*Cuadro I*), respectivamente.²³ El volumen final para la mezcla de reacción fue de 25 µL; 1 µL de cada primer, 16 µL de H₂O libre de nucleasa, 3 µL de ADN templado, 1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs (PuRetag™ Ready-To-Go™ PCR beads). La amplificación del ADN fue realizada bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C por tres minutos, seguida de 35 ciclos a 94 °C durante un minuto, 55 °C durante un minuto, 72 °C durante un minuto. Finalmente, una extensión de 72 °C durante 10 minutos.

Cuadro I. Primers utilizados para la amplificación de los alelos de *vacA* y del gen *cagA*.

Regiones del ADN amplificadas	Nombre del primer	Secuencia del primer (5' a 3')	Tamaños de los amplicones (pb)
<i>vacA</i> s1/ <i>vacA</i> s2	VAI-F VAI-R	ATGGAATACAACAAACACAC CTGCTGAATGCGCCAAAC	259/286
<i>vacA</i> m1/ <i>vacA</i> m2	VAG-F VAG-R	CAATCTGTCCAATCAAGCGAG GCGTCAAAATAATTCCAAGG	567/642
<i>cagA</i>	cag5c-F cag3c-R	GTTGATAACGCTGTCTGCTTC GGGTTGTATGATATTTTCCATAA	350

Análisis de las muestras amplificadas por electroforesis en geles de agarosa. Después de la amplificación del ADN, 10 µL de cada muestra fueron analizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% bajo las siguientes condiciones: 120 volts, 94 miliampers por 120 minutos. Los geles fueron teñidos con BrEt y fotografiados bajo luz ultravioleta (UV) utilizando el sistema de fotodocumentación GEL LOGIC 100 (KODAK).

Análisis de los datos. Para estimar las diferencias estadísticas de los genotipos citotóxicos identificados en las cepas de *H. pylori* aisladas de los pacientes con los distintos niveles séricos de IgG se utilizó la prueba de χ^2 .

RESULTADOS

El 66.7% (n = 92) de los pacientes estudiados correspondió al sexo femenino. La edad de los sujetos se encontró comprendida entre 16 y 83 años de edad.

Detección de IgG contra *H. pylori* en los adultos con enfermedad ácido-péptica. En este estudio, decidimos agrupar a los pacientes con los distintos niveles séricos de IgG anti-*Helicobacter pylori* (20-60 AU/mL, 61-99 AU/mL y > 100 AU/mL), con el propósito de establecer el posible tiempo de infección y de evolución de la gastritis crónica en el grupo de individuos analizados. Además, esto nos permitió analizar estadísticamente las probables diferencias existentes entre los tres niveles.

El 94.2% (n = 130) de los pacientes presentó anticuerpos contra *H. pylori*, dentro de los cuales el 34.6% (n = 45, $\bar{X}$ = 50.3 años) presentó niveles séricos entre 20-60AU/mL, 9.5% (n = 13, $\bar{X}$ = 56.9 años) niveles entre 61-99 AU/mL y 52.6% (n = 72, $\bar{X}$ = 52.0 años) niveles por arriba de 100 AU/mL.

Detección mediante PCR multiplex de los genotipos *vacA* *cagA* en las cepas de *H. pylori* obtenidas de los cultivos de las biopsias gástricas de

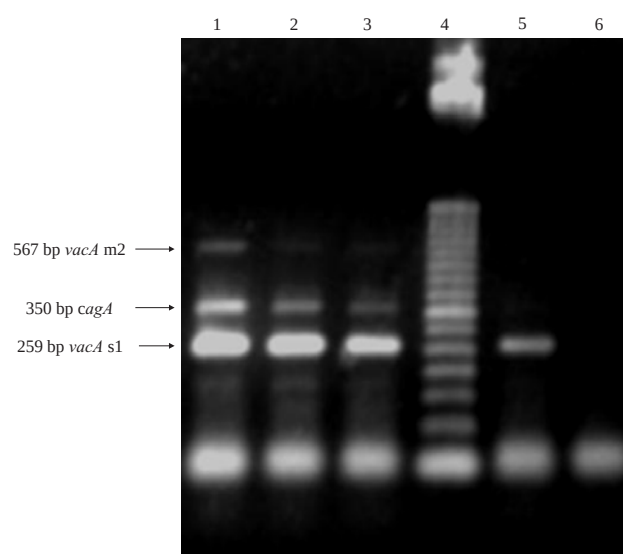


Figura 1. Amplificación mediante PCR multiplex de los alelos de *vacA* y del gen *cagA* en las cepas obtenidas de los cultivos de las biopsias gástricas de los pacientes. Línea 1 *H. pylori* ATCC 43629 (control positivo). Líneas 2 y 3, *vacA* s1, *cagA* y *vacA* m2 (cultivo de biopsias). Línea 4, MWM 50-bp ladder. Línea 5, *vacA* s1 (cultivo de biopsia). Línea 6, control negativo (sin ADN templado).

los pacientes. En el 45% (n = 62) de los cultivos obtenidos de las biopsias gástricas del total de pacientes (n = 138) se detectó a *H. pylori*. El gen *vacA* se detectó en el 100% (n = 62) y *cagA* en el 45.2% (n = 28) (Figura 1, Cuadro II). El 45.2% (n = 28) de las cepas de *H. pylori* identificadas en los cultivos pertenecieron al tipo 1 (*vacA/cagA* positivo) y 54.8% (n = 34) al tipo 2 (*vacA/cagA* negativo) (Cuadro II).

Genotipos de las cepas de *H. pylori* detectadas en los cultivos gástricos de los pacientes con enfermedad ácido-péptica. El cuadro II muestra que la mayoría de las cepas aisladas posee el marcador de virulencia *vacAs1* y que 29% de ellas

tienen los dos marcadores de virulencia analizados *vacA*s1/*cagA*.

En el *cuadro III* se aprecia que la frecuencia más alta de los genotipos de *H. pylori* identificados en los cultivos gástricos de los pacientes con niveles séricos de IgG entre 20-60 AU/mL fue para la asociación *vacA* s1/*vacA* m1/*cagA* y *vacA* s1/*vacA* m2/*cagA* con el 6.5% (n = 4); en cada caso, para los pacientes con niveles séricos entre 61-99 AU/mL la asociación predominante fue *vacA* s1/*vacA* m1 con el 9.7% (n = 6) y para los pacientes con los niveles de IgG por arriba de 100 AU/mL; la mayor frecuencia fue para *vacA* s1/*vacA* m1/*cagA* y *vacA* s1/*vacA* m1 con el 11.3% (n = 7), en cada caso. En este estudio, detectamos que la presencia de aparición de los ge-

nes citotóxicos *vacA* y *cagA* de *H. pylori* en los pacientes agrupados en los tres niveles séricos de IgG fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$).

DISCUSIÓN

Anticuerpos contra *H. pylori* en los pacientes con enfermedad ácido-péptica. En este estudio, el 94.9% (n = 130) de los pacientes que habían sido canalizados al Departamento de Endoscopias por presentar signos y síntomas de gastritis crónica tuvieron anticuerpos contra *H. pylori*. Se ha descrito que la mayoría de los individuos infectados por *H. pylori* desarrollan inflamación crónica local y respuesta sistémica de anticuerpos, por lo que la detección de IgG con el método de ELISA es confiable para estimar la prevalencia de infección por *H. pylori* en la mayoría de los estudios epidemiológicos.²⁴ La seroprevalencia de *H. pylori* detectada en este estudio se encuentra por arriba de la reportada en trabajos realizados en población abierta de otros países en vías de desarrollo²⁵⁻²⁸ y también de la descrita en nuestro país en un amplio estudio seroepidemiológico de infección por *H. pylori* realizado en el periodo de 1987 a 1988. En ese estudio se encontró que de las 11,605 muestras de suero obtenidas de pacientes (1-90 años de edad) pertenecientes a distintas zonas geográficas y de diferente nivel socioeconómico de 32 estados de México, la seroprevalencia de anticuerpos contra *H. pylori* fue del 66.5% (n = 7,720).⁶ El porcentaje de seroprevalencia que reportamos en este trabajo también es elevado con respecto al descrito

Cuadro II. Frecuencia de los genes *vacA* y *cagA* en las cepas de *H. pylori*.

Genotipo		n	%
<i>vacA</i>	<i>cagA</i>		
s1m1	+	11	17.7
	—	18	29.0
s1m2	+	7	11.3
	—	5	8.1
s2m1	+	6	9.7
	—	10	16.1
s2m2	+	4	6.4
	—	1	1.6
		62	100.0

Cuadro III. Frecuencia de los genotipos de *Helicobacter pylori* identificados en las cepas aisladas de los pacientes con los distintos niveles de anticuerpos anti-*Helicobacter pylori*.

Genotipo		Número de cepas IgG anti- <i>Helicobacter pylori</i>		
		20-60 (AU/mL)*	61-99 (AU/mL)*	> 100 (AU/mL)*
s1m1	+	4	0	7
	—	5	6	7
s1m2	+	4	1	2
	—	3	0	2
s2m1	+	3	0	3
	—	3	1	6
s2m2	+	3	0	1
	—	1	0	0
		26	28	

* La presencia de aparición de los genes citotóxicos de *H. pylori* aisladas de los pacientes con los distintos niveles séricos de IgG fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$).

en países industrializados.²⁹⁻³¹ En nuestro trabajo, la edad promedio de los pacientes fue de 53 años. En poblaciones de adultos, la seroprevalencia de *H. pylori* varía del 47 al 76%,^{32,33} y en los países subdesarrollados el porcentaje de infección por *H. pylori* a la edad de 20 años alcanza hasta el 80%.^{34,35}

Nosotros describimos que la edad promedio del 32.8% de los pacientes que mostraron niveles séricos de IgG de 20-60 AU/mL fue de 50.3 años (n = 45), la edad del 9.5% con niveles entre 61-99 AU/mL fue de 56.9 años (n = 13) y la edad promedio del 52.6% con niveles por arriba de 100 AU/mL fue de 52 años (n = 72). Se ha descrito que los títulos de IgG contra *H. pylori* en pacientes infectados se incrementan significativamente con la edad.² En nuestro país se han detectado títulos importantes de IgG contra *H. pylori* en niños menores a cinco años de edad, los cuales continúan en aumento hasta estabilizarse a la edad de 20 años.⁶ Estos datos sugieren que en México las infecciones por *H. pylori* ocurren durante los primeros años de vida y que las infecciones nuevas en adultos son poco frecuentes.

Frecuencia de *H. pylori* y de los genotipos citotóxicos detectados en las cepas obtenidas de los cultivos de las biopsias gástricas. Nosotros identificamos *H. pylori* en el 45% (n = 62) del total de cultivos de las biopsias gástricas de los pacientes con enfermedad gástrica (n = 138). Este porcentaje es semejante al encontrado en un estudio realizado en Lagos, Nigeria, en 189 biopsias gástricas obtenidas de 63 pacientes (tres de cada paciente) con síntomas gástricos, en donde el 35% de los cultivos fue positivo para *H. pylori*.³⁶ En otro estudio de 164 biopsias gástricas de pacientes brasileños con síntomas gástricos (9 a 83 años de edad), se encontró que el porcentaje de infección por *H. pylori* fue del 67.7% (n = 111).³⁷

En este estudio describimos que los genotipos *vacA* y *cagA* fueron detectados en el 100% (n = 62) y 45.2% (n = 28) de las cepas de *H. pylori* recuperadas de los cultivos gástricos. El elevado porcentaje de cepas de *H. pylori* *cagA* positivo asociadas con la patología de nuestros pacientes es similar al reportado en São Paulo, Brasil, en donde *H. pylori* fue identificada en el 67.7% (n = 111) de los pacientes, y en el 40.5% (n = 45) de ellos se encontró al gen *cagA* asociado con gastritis, úlcera gástrica, adenocarcinoma, linfoma de MALT y atrofia gástrica.³⁷ Se ha reportado que en Alemania el 72%³⁸ de las cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes infectados son *cagA*+, y en Sudáfrica el 95%.³⁹

En este estudio, describimos que de los 130 pacientes seropositivos para *H. pylori*, la bacteria fue

detectada únicamente en 62 (47.7%) de los casos, lo cual puede deberse, probablemente, a que la bacteria no se encontraba presente en el sitio del tejido gástrico de donde se tomó la biopsia, o quizá a que su cantidad en este lugar era muy baja, por lo que fue imposible cultivarla e identificarla. A partir de los 62 pacientes seropositivos para *H. pylori* y con la presencia del microorganismo en el estómago, nosotros describimos que las variantes alélicas de *vacA*, s1, s2, m1, m2 y el gen *cagA* de *H. pylori* estuvieron presentes en los distintos niveles séricos de IgG (*Cuadro III*); sin embargo, la frecuencia de aparición de estos genotipos fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$). En el *cuadro III* se aprecia que fue en el grupo de pacientes con los niveles séricos arriba de 100 UA/mL en donde se encontró la mayor frecuencia de asociación de los genotipos de *H. pylori*, entre los cuales se registró la asociación *vacAs1/vacAm1/cagA* (n = 7), *vacAs1/vacAm1* (n = 7) y *vacAs2/vacAm1* (n = 6). Este hecho puede deberse probablemente a que el tiempo de infección y de evolución por *H. pylori* en este grupo de individuos es de varios años, por lo que los niveles séricos de IgG son más altos, además de que las cepas de *H. pylori* fueron más patógenas debido a la presencia, principalmente, de los marcadores de virulencia s1, m1 y *cagA*. Los porcentajes encontrados contrastan con los reportados por Cattopadhway y colaboradores,²³ quienes entre las 65 cepas de *H. pylori* aisladas de biopsias de pacientes con diferentes trastornos dispépticos, en 44 (67.7%) encontraron la asociación *vacAs1/vacAm1/cagA*, y en 16 (24.6%) la combinación *vacAs1/vacAm1*.

La elevada prevalencia de las variantes alélicas de *vacA* (s1, s2, m1, m2) y del gen *cagA* de *H. pylori* identificados en los pacientes enfermos podría ser un factor de riesgo importante en el desarrollo de enfermedades gástricas más severas, como ha sido descrito por Miehlee y colaboradores.⁴⁰ Se ha reportado que las cepas de *H. pylori* que presentan la combinación de los alelos de *vacA* s1/m2 o s1/m1 son responsables de los altos y medios niveles de producción de la citotoxina;⁴¹ mientras que los genotipos *vacA* s1/*cagA* están asociados con la gastritis severa.⁴²

Los resultados obtenidos mostraron que en la mayoría de los pacientes con gastritis crónica se detectaron anticuerpos contra *H. pylori* y que en los distintos niveles séricos se encontraron asociados los genotipos citotóxicos *vacA* y *cagA* de *H. pylori*, por lo que fue necesario establecer el tratamiento médico más eficaz, sobre todo en sujetos con riesgo de desarrollar cáncer gástrico.

RECONOCIMIENTOS

- Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA, UNAM), Proyecto PAPIIT IN216508.
- PAPCA (2007-2008), Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Agency for Research on Cancer (IARC). Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 61. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1994.
2. Mitchell HM. The epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999; 241: 11-30.
3. Souto FJ, Fontes CJ, Rocha GA, de Oliveira AM, Mendes EN, Queiroz DM. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998; 93: 171-174.
4. Mitchell A, Silva TM, Barrett LJ, Lima AA, Guerrant RL. Age-specific *Helicobacter pylori* seropositivity rates of children in an impoverished urban area of northeast Brazil. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1326-1328.
5. Feldman RA, Eccersley AJ, Hardie JM. Epidemiology of *Helicobacter pylori*: Acquisition, transmission, population prevalence and disease to-infection ratio. *Br Med Bull* 1998; 54: 39-53.
6. Camargo MC, Lazcano PE, Torres J, Velasco ME, Quiterio M, Correa P. Determinants of *Helicobacter pylori*. Seroprevalence in Mexican Adolescents. *Helicobacter* 2004; 9: 106-114.
7. Rowland M, Drumm B. Clinical significance of *Helicobacter infection* in children. *Br Med Bull* 1998; 54: 95-103.
8. Banatvala N, Mayo K, Megraud F. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis* 1993; 168: 219-221.
9. Morris BL. *Helicobacter pylori*. Epidemiological routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 283-297.
10. Goodman KJ, Correa P. Transmission of *Helicobacter pylori* among siblings. *Lancet* 2000; 355: 358-362.
11. Morris Brown L. *Helicobacter pylori*. Epidemiological routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 283-297.
12. Mobley HLT. *Helicobacter pylori* factors associated with disease development. *Gastroenterology* 1997; 113: S21-S28.
13. Blaser MJ, Pérez-Pérez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, Stemmermann GN, 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.
14. Peek RM, Moss SF, Tham KT, Pérez-Pérez GI, Wang S, Miller GG, Atherton JC, Holt PR, Blaser MJ. *Helicobacter pylori cagA+* strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 863-868.
15. Atherton JC, Cao P, Peek. RM Jr, Tummuu MKR, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1995; 270: 17771-17777.
16. Cover TL. The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 1996; 20: 241-246.
17. Van Doorn LJ, Henskens Y, Nouhan N, Verschuuren A, Vreede R, Herbink P, Ponjee G, Van Krimpen K, Blankenburg R, Scherpenisse J, Quint WGV. The efficacy of laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* infections in gastric biopsy. *Clin Microbiol* 2000; 38: 13-17.
18. Sicinschi LA, Correa P, Bravo LE, Schneider BG. Detection and typing of *Helicobacter pylori cagA/vacA* genes by radio-active, one-step polymerase chain reaction in stool samples from children. *J Microbiol Methods* 2003; 52: 197-207.
19. Gusmão VR, Mendes EN, Queiroz DM. *vacA* Genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from children with and without duodenal ulcer in Brazil. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2853-2857.
20. Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Oliveira NA, Oliveira CA, Magalhães PP, Moura SB, Cabral MMDA, Nogueira AMMF. *cagA* positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int J Cancer* 1998; 78: 135-139.
21. Cover TL. The vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 1996; 20: 241-246.
22. Li C, PR Musich, DA Ferguson Jr, NR Patel, Chi DS, Thomas E. High prevalence of *Helicobacter pylori* in saliva demonstrated by a novel PCR assay. *Clin Pathol* 1995; 48: 662-666.
23. Chattopadhyay S, Patra R, Ramamurthy T, Chowdhury A, Santra A, Dhali GK, Bhattacharya SK, Berg DE, Nair GB, Mukhopadhyay AK. Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2821-2824.
24. Pérez-Pérez GI, Dworkin BM, Chodos JE, Blaser MJ. Enzyme-linked miology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J immunosorbent assay for Campylobacter pylori* in humans. *Ann Intern Clin Microbiol*. 1989; 27: 1870-1873.
25. Graham DY, Adam E, Reddy GT. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1084-1088.
26. Ramanampamonjy RM, Randria MJ, Razafimahefa SH, Ratsimandisa R, Rajaonarivelo P, Rajaona HR. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in Malagasy population. *Bull Soc Pathol Exot* 2007; 100: 57-60.
27. Oliveira AMR, Queiroz DMM, Rocha GA, Mendes, E.N. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte, Brazil. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 2201-2204.
28. Goodman KJ, Correa P, Tengana' H.J. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: A population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 290-299.
29. Staat MA, Kruszon-Moran, McQuillan GM. A population-based serologic survey of *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents in the United States. *J Infect Dis* 1996; 174: 1120-1123.
30. Lindkvist P, Asrat D, Nilsson I. Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: comparison of a high and a low prevalence country Scand. *J Infect Dis* 1996; 28: 181-184.
31. Hornemann F, Nilius,M. Malfertheiner P. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in German infants and children. *Helicobacter* 1997; 2: 176-179.
32. Forman D, Newell DG, Fullerton F. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ* 1991; 302: 1302-1305.
33. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-1131.
34. Goodman KJ, Correa P, Tengana' HJ. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 290-299.

35. Holcombe C, Omotara BA, Eldridge J, Jones DM. *H. pylori*, the most common bacterial infection in Africa: a random serological study. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 28-30.
36. Smith SI, Oyedele KS, Arigbabu AO, Cantet F, Megraud F, Ojo OO, Uwaifo AO, Otegbayo JA, Ola SO, Coker AO. Comparison of three PCR methods for detection of *Helicobacter pylori* DNA and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1958-1962.
37. Ramos MLK, Darini E, Carales CF, Merano de CC, Aparicio-Troquez SMC, Heraldo CLL. *Helicobacter pylori* and *cagA* gene detected by polymerase chain reaction in gastric biopsies: correlation with histological findings proliferation and apoptosis. *São Paulo Med J* 2005; 23: 113-118.
38. Song QT, Haller B, Schmid RM, Adler G, Bode G. *Helicobacter pylori* in dental plaque. A comparison of different PCR primers sets. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 479-484.
39. Kidd M, Lastovica A, Atherton J, Louw J. Heterogeneity in the *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? *Gut* 1999; 45: 499-502.
40. Miehle S, Kirsch C, Agha-Amiri K, Günther T, Lehn N, Malfertheiner P., Stolte M, Ehninger G, Bayerdörffer E. The *Helicobacter pylori vacA* s1, m1 genotype and *cagA* is associated with gastric carcinoma in Germany. *Int J Cancer* 2000; 87: 322-327.
41. Gzyl A, Berg DE, Dzierzanowska D. Epidemiology of *cagA/vacA* genes in *H. Pylori* isolated from children and adults in Poland. *J Physiol Pharmacol.* 1997; 48: 333-343.
42. Warburton VJ, Everett S, Mapstone NP, Axon AT, Hawkey P, Dixon MF. Clinical and histological associations of *cagA* and *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* gastritis. *J Clin Pathol* 1998; 51: 55-61.

Correspondencia:

M en C. Gloria Luz Paniagua-Contreras
Avenida de los Barrios # 1
Los Reyes Iztacala
Tlalnepantla, Estado de México
Tel/Fax: 56 23 13 91
E-mail: mya@unam.mx