



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

PROGRAMA DE TITULACIÓN POR ALTO PROMEDIO (TAP)

IDENTIFICACIÓN DE *Helicobacter pylori* CON TINCIÓN  
DE GIEMSA EN ÚLCERA TRAUMÁTICA  
GRANULOMATOSA CON EOSINOFÍLIA ESTROMAL

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

AMÉRICA BENNETTS TOLEDO

TUTOR: Esp. FERNANDO TENORIO ROCHA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIAS**

*A mis padres **Felipe y América** y a mi hermano **Felipe**, por su apoyo, enseñanzas, paciencia y comprensión en todo momento.*

*A mis **compañeros** de la licenciatura de la Facultad de Odontología.*

*A mis **amigos de toda la vida.***

*Y a todas aquellas personas que siempre confiaron en mí.*

*América Bennetts Toledo*

## ***A G R A D E C I M I E N T O S***

Al Dr. Fernando Tenorio Rocha, por sus enseñanzas, su dirección, apoyo constante y gran paciencia para la realización de este trabajo de tesis.

A mis padres y hermano por su apoyo y haber estado siempre al pendiente en la realización de este trabajo. A mis amigos de toda la vida Yadira Olguín Barreto, Cristhian González Maldonado, Zafiro Toledo Ríos, Rubén González Estrada, Edgar Gómez Mondragón, Gabriela López Cosmes, Mantecas Jr (gran compañero), Samantha Pacheco, Arnaud Boulay, Sebastian Möllencamp, Angela Sierra Manchinelli, Adriana Molotla Fragoso, por brindarme su apoyo incondicional.

Al Laboratorio de Patología Experimental y Clínica de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, por las facilidades y apoyo otorgado para la realización de este trabajo.

Y en especial a la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi segundo hogar.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS.

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introducción                                                                                        | 1  |
| 1.1. Antecedentes                                                                                      | 2  |
| <b>II. Úlcera.</b>                                                                                     |    |
| 2. Definición                                                                                          | 3  |
| 2.1. Clasificación de las lesiones ulcerativas                                                         | 5  |
| 2.2. Clasificación de MIND                                                                             | 6  |
| 2.3. Úlcera traumática                                                                                 | 7  |
| <b>III. Úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal (TUGSE por sus siglas en ingles).</b> |    |
| 3. TUGSE                                                                                               |    |
| 3.1. Etiología                                                                                         | 9  |
| 3.2. Patogenia                                                                                         | 10 |
| 3.3 Características clínicas                                                                           | 11 |
| 3.3.1. Enfermedad de Riga-Fede                                                                         | 13 |
| 3.4. Epidemiología                                                                                     | 14 |
| 3.5. Histopatología                                                                                    | 14 |
| 3.6. Diagnóstico diferencial                                                                           | 16 |
| 3.7. Pronóstico                                                                                        | 19 |
| 3.8. Tratamiento                                                                                       | 21 |
|                                                                                                        | 22 |
| <b>IV. <i>Helicobacter pylori</i>.</b>                                                                 |    |
| 4.1 Antecedentes                                                                                       |    |
| 4.2. Características morfológicas y bioquímicas                                                        | 23 |
| 4.3. Epidemiología                                                                                     | 24 |
| 4.4. Vías de transmisión                                                                               | 26 |
| 4.5. Patogénesis y factores de virulencia                                                              | 27 |
| 4.6. Factores de Patogenicidad                                                                         | 28 |
| 4.7. Métodos diagnósticos                                                                              | 28 |
| 4.8. Pruebas invasivas                                                                                 | 29 |
| 4.8.1. Histológicas                                                                                    | 29 |
| 4.8.2. Cultivo bacteriano                                                                              | 29 |
| 4.8.3. Prueba del hilo                                                                                 | 30 |
|                                                                                                        | 31 |

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.8.4 Prueba rápida de ureasa                                           | 31 |
| 4.9. Pruebas no invasivas                                               | 32 |
| 4.9.1. Prueba rápida de urea del aliento                                | 32 |
| 4.9.2. Prueba serológica                                                | 32 |
| 4.10. Diagnóstico molecular                                             | 33 |
| 4.10.1. Tipificación molecular de <i>Helicobacter pylori</i>            | 33 |
| 4.10.2. Ribotipificación                                                | 33 |
| 4.10.3. Polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP) | 33 |
| 4.10.4 Reacción en cadena de polimerasa (PCR)                           | 34 |

## **V. Técnica histológica.**

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| 5. Técnica histológica                                                 | 34 |
| 5.1 Procedimientos inmediatos o vitales                                | 34 |
| 5.2. Procedimientos mediatos o posvitales                              | 35 |
| 5.3.Toma de la muestra                                                 | 35 |
| 5.4. Fijación                                                          | 35 |
| 5.5. Deshidratación, aclaración y primer paso de inclusión en parafina | 36 |
| 5.6. Inclusión en parafina                                             | 37 |
| 5.7. Microtomía u obtención de los cortes                              | 37 |
| 5.8. Coloración o tinción                                              | 38 |

## **VI. Tinción de Giemsa.**

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| 6. Tinción de Giemsa                             | 42 |
| 6.1 Usos                                         | 43 |
| 6.2 Material                                     | 43 |
| 6.3. Composición                                 | 44 |
| 6.4. Propiedades físicas y químicas              | 44 |
| 6.5. Estabilidad y reactividad                   | 44 |
| 6.6. Productos de descomposición peligrosos      | 44 |
| 6.7. Precauciones                                | 44 |
| 6.8. Carcinogenicidad                            | 45 |
| 6.9. Almacenamiento                              | 45 |
| 6.10. Indicación para la eliminación de residuos | 45 |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| Planteamiento del Problema | 46 |
| Justificación              | 46 |
| Objetivo general           | 46 |
| Objetivos específicos      | 46 |
| Tipo de estudio            | 46 |
| Universo de estudio        | 47 |
| Criterios de inclusión     | 47 |
| Criterios de exclusión     | 47 |
| Criterios de eliminación   | 47 |
| Material y Método          | 47 |
| Metodología                | 48 |
| Resultados                 | 50 |
| Conclusiones               | 54 |

## ÍNDICE DE IMÁGENES.

Figura 1. Solución de continuidad del epitelio.

[http://www.vivature.com/pages/xhtmll/medicalLibrary/images/si1734\\_ma.jpg](http://www.vivature.com/pages/xhtmll/medicalLibrary/images/si1734_ma.jpg)

Figura 2.Úlcera Bucal.

[http:// www.sonria-ahora.com.ar/Images-sonria/afta3.jpg](http://www.sonria-ahora.com.ar/Images-sonria/afta3.jpg)

Figura 3. Úlcera traumática.

[www.uv.es/medicina-oral/Docencia/atlas/1/4.jpg](http://www.uv.es/medicina-oral/Docencia/atlas/1/4.jpg)

Figura 4. Mursicato buccarum.

<http://www.uv.es/medicina-oral/Docencia/atlas/1/4.jpg>

Figura 5. TUGSE localización en el borde lateral de lengua.

[www.emedicine.com](http://www.emedicine.com)

Figura 6. Expresión de Linfocito CD30.

[www.conganat.org/linfo.tortosa/8curso/CD3/S5C6\\_archivos/image017.jpg](http://www.conganat.org/linfo.tortosa/8curso/CD3/S5C6_archivos/image017.jpg)

Figura 7.Eosinófilo.

<http://usuarios.lycos.es/soporteing/hpbimg/Eosinofilos.jpg>

Figura 8. Mastocito liberando histamina.

<http://www.inmupharma.com.co/alergias/urticaria1.jpg>

Figura 9. TUGSE

[www.emedicine.com](http://www.emedicine.com)

Figura 10. Enfermedad de Riga Fede.

[www.revistavisiondental.net/imagenes/diente01.jpg](http://www.revistavisiondental.net/imagenes/diente01.jpg)

Figura 11. TUGSE en el dorso de la lengua.

[www.emedicine.com](http://www.emedicine.com)

Figura 12. TUGSE Localización vientre de la lengua.

[www.linfocom\pu.com](http://www.linfocom\pu.com)



Figura 13. Zona de la úlcera 100x ([imagen de DEPeI](#)).

Figura 14. Infiltración eosinófilos en músculo ([imagen de DEPeI](#)).

Figura 15. Monocitos y polimorfonucleares 400x ([imagen de DEPeI](#)).

Figura 16. Eosinófilos e histiocitos (400x) ([imagen de DEPeI](#)).

Figura 17. Carcinoma de células escamosas.

[www.odonto.unam.mx/temas/cancer/mat\\_ed/img\\_mat\\_ed/lengua\\_fluore.JPG](http://www.odonto.unam.mx/temas/cancer/mat_ed/img_mat_ed/lengua_fluore.JPG)

Figura 18. Úlcera lingual por infección recurrente de *M. Tuberculosis*.

<http://scielo.isciii.es/img/medicor/v10n2/03/image01.gif>

Figura 19. Histoplasmosis.

Neville BB, Oral and Maxilofacial Pathology,clinical pathology correlations ,5th edition, Sauhnders Elsevier, 224pp,2008.

Figura 20.Úlcera lingual en un paciente con lupus eritematoso.

[www.sisbib.unmsm.edu.pe/.../images/pag61foto7b.JPG](http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/.../images/pag61foto7b.JPG)

Figura 21. Chancro de sífilis primaria en dorso de lengua.

<http://web.educastur.princast.es/proyectos/grupotecne/archivos/investiga/103s%C3%ADfilis%20foto.jpg>

Figura 22. Úlcera aftosa mayor en superficie dorsal derecha de lengua.

<http://www.scielo.org.co/img/revistas/RCG/v21n4/a09f9.JPG>

Figura 23.Robin Warren (izquierda) y Barry Marshallen su laboratorio de Perth , Australia.

<http://cicalmo.files.wordpress.com/2007/08/warren.gif>

Figura 24. Micrografía de *Helicobacter Pyilori* en la superficie de las células gástricas.

[www.helicobacterspain.com](http://www.helicobacterspain.com)

Figura 25. Presentación geográfica mundial de la prevalencia por la infección con *H.pylori* en adultos asintomático. México se encuentra en una prevalencia entre 65 %\_. crew and neugh 2006.

Figura 26. Tinción de plata Whartin Starry y en contraste con H&E 100X.  
[www.gastrointestinalatlas.com/Espanol](http://www.gastrointestinalatlas.com/Espanol)

Figura 27. Tinción Giemsa 100x.  
[www.gastrointestinalatlas.com/Espanol](http://www.gastrointestinalatlas.com/Espanol)

Figura 28. Morfología colonial de *H.pylori* en agar sangre.  
[www.helicobacterspain.com](http://www.helicobacterspain.com)

Figura 29. Histoquímica. (Cortesía del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la F.O)

Figura 30. Micróscopio. (Cortesía del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la F.O)

Figura 31. Tinción. (Cortesía del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la F.O)

Figura 32. Especímenes diagnosticados como positivos a *H.pylori* con Giemsa. (Imágenes de nuestro archivo).

Figura 33. Especímenes diagnosticados como negativos a *H.pylori* con Giemsa (imágenes de nuestro archivo).

## ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 1. Especímenes diagnósticados como TUGSE, donde se identifica la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* por medio de signos: + (positivo) o – (negativo). Fuente directa.

TABLA 2. Especímenes diagnósticados como TUGSE, donde se identifica género, edad y localización de la biopsia tomada.

.

## INTRODUCCIÓN

*Helicobacter pylori* es un patógeno humano común causante de gastritis, úlceras pépticas y patológicamente ligado al desarrollo de cáncer gástrico, asociado a linfoma de la mucosa gástrica, coloniza el estómago del hombre y no se disemina uniformemente en la mucosa gástrica permaneciendo por años o décadas inactivo. Aunque también se ha encontrado en la región del cuerpo gástrico, esófago, cavidad bucal, parte alta del tracto gastrointestinal y placa dentobacteriana (PDB).

Se ha detectado presencia de *H. pylori* en la cavidad bucal considerándola como un segundo reservorio natural, tratando de explicar las recaídas de las enfermedades ulcero pépticas, posteriores al tratamiento de erradicación, proponiendo como reservorio a la placa dental, se ha detectado ADN de *H. pylori* en saliva y placa dentobacteriana y algunas afirmaciones de su presencia en la cavidad bucal son como consecuencia del reflujo gástrico, como miembro de la microbiota transitoria y como microorganismo permanente de la cavidad bucal.

La tinción de Giemsa es miembro del grupo de tinciones Romanowsky, se le conoce como el precipitado negro, se basa en la interacción molecular entre varios colorantes como los tintes neutros que combinan el azul de metileno como tinte básico y la eosina como tinte ácido, glicerina y alcohol metílico. Las variantes del grupo Romanowsky difieren en el grado de oxidación (policromarición) del azul de metileno antes de la precipitación. Entre sus funciones se destaca como tinción diferencial que puede ser usada para estudiar la adherencia de bacterias patogénicas a células humanas. Tiñe diferencialmente células humanas y bacterianas púrpuras y rosas respectivamente.

En tanto, la úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal (**TUGSE** por sus siglas en ingles) es una úlcera de la mucosa bucal por lo general asintomática, que en ocasiones puede llegar a ser dolorosa o moderadamente dolorosa, de carácter benigno, crónica, reactiva, bien delimitada, solitaria y de etiología desconocida; cualquier área de la mucosa bucal puede ser afectada, sin embargo se localiza con mayor frecuencia en la lengua; la patogénia de esta lesión se asocia con trauma físico, térmico o químico y como resultado la ulceración permite el ingreso de bacterias, virus, toxinas o proteínas extrañas dentro del tejido conjuntivo. Un factor bacteriano implicado en la etiología del **TUGSE** es el *Helicobacter pylori*, sin embargo no existen estudios contundentes sobre su participación como agente etiológico. Por lo tanto el propósito de este estudio es identificar la presencia de este microorganismo en la histopatología de la lesión.

## 1. ANTECEDENTES

La úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal (**TUGSE**), fue descrita por Carderell en 1857, la denominó afta cachettica y posteriormente en 1881, Antonio Riga señaló algunos de sus aspectos más importantes; en 1980 Fede con un estudio histológico describe el primer caso y propone el término de enfermedad de Riga –Fede. <sup>(1, 2, 3, 4)</sup>

En 1961 Hjorting – Hansen y Schimidit describieron tres casos de úlcera en la lengua con características similares a la úlcera eosinofílica y utilizaron el término de granuloma eosinófilo ulcerado diutinum, en 1964 Baskar y Lilly informaron siete casos con el mismo patrón histológico, y la denominaron granuloma traumático, dando motivo a confusiones. <sup>(1,2)</sup>

Popoff en 1956 fue el primero en describirla en adultos <sup>(5)</sup>, Desde entonces varios términos han sido utilizados para describir esta lesión, incluyendo úlcera eosinofílica, granuloma eosinofílico de la mucosa oral, granuloma ulcerativo eosinofílico, granuloma eosinófilo traumático, granuloma traumático ulcerado, úlcera traumática, úlcera eosinofílica de la lengua, granuloma traumático de la lengua, granuloma eosinófilo de la lengua. Siendo *Elsay et al.*, quien propone el término úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal (**TUGSE** por sus siglas en inglés) para describir todas las lesiones anteriormente mencionadas. <sup>(2, 3, 4, 6, 7)</sup>

Las ulceraciones eosinofílicas son comunes, pero no son frecuentemente reportadas. El **TUGSE** es una úlcera crónica de la mucosa bucal, de carácter benigno, reactiva, delimitada, solitaria y de etiología desconocida. Lesiones similares son vistas en infantes y son llamadas enfermedad de Riga Fede, enfermedad de infantes, granuloma eosinófilo de Riga-Fede del tejido fino suave, enfermedad de Riga, granuloma sublingual, lesión reparativa de la lengua, crecimiento sublingual en infantes<sup>(6,7)</sup>, fibrogranuloma sublingual, ulceración traumática lingual, glositis atrófica traumática, comúnmente ocurrida entre la edad de una semana a un año de edad. <sup>(5)</sup>

## 2. ÚLCERA.

Una úlcera es un defecto local, o excavación de la superficie de un órgano o tejido, definido como solución de continuidad del epitelio.<sup>(8)</sup>

Son la tercera lesión elemental más frecuente en cavidad bucal, siendo de etiología multifactorial y por lo tanto su tratamiento difiere entre un caso y otro, de ahí la importancia de determinar el origen de ella, el cual es básico para su adecuado tratamiento.<sup>(9,10)</sup>



**Figura 1. Solución de continuidad del epitelio.**

Muchos pueden ser los factores etiológicos para causar la ulceración de la mucosa bucal y ante este problema debemos considerar de importancia los siguientes factores etiológicos: <sup>(1, 2, 11,12)</sup>

- Asociación con alteraciones sistémicas.
- Características clínicas.
- Trauma físico,químico o térmico.
  - o Prótesis mal ajustada.
  - o Aparatología ortodóncia.
  - o Margenes dentales cortantes o restauraciones mal ajustadas .
- Agentes infecciosos ( virus,bacterias, hongos, parásitos).
- Reacciones alérgicas.
- Neoplasias malignas.
- De origen desconocido o idiopáticas.



**Figura 2. Ulcera Bucal.**

## 2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES ULCERATIVAS.

### 1. SI ANTECEDEN O NO A UNA LESIÓN PREVIA.

- **Úlcera primaria:** es aquella que aparece sin otra lesión como antecesora (Ej. Úlcera traumática).<sup>(9)</sup>
- **Úlcera secundaria:** es aquella que es precedida por una lesión primaria (Ej. pénfigo, pénfigoide, herpes).<sup>(9)</sup>

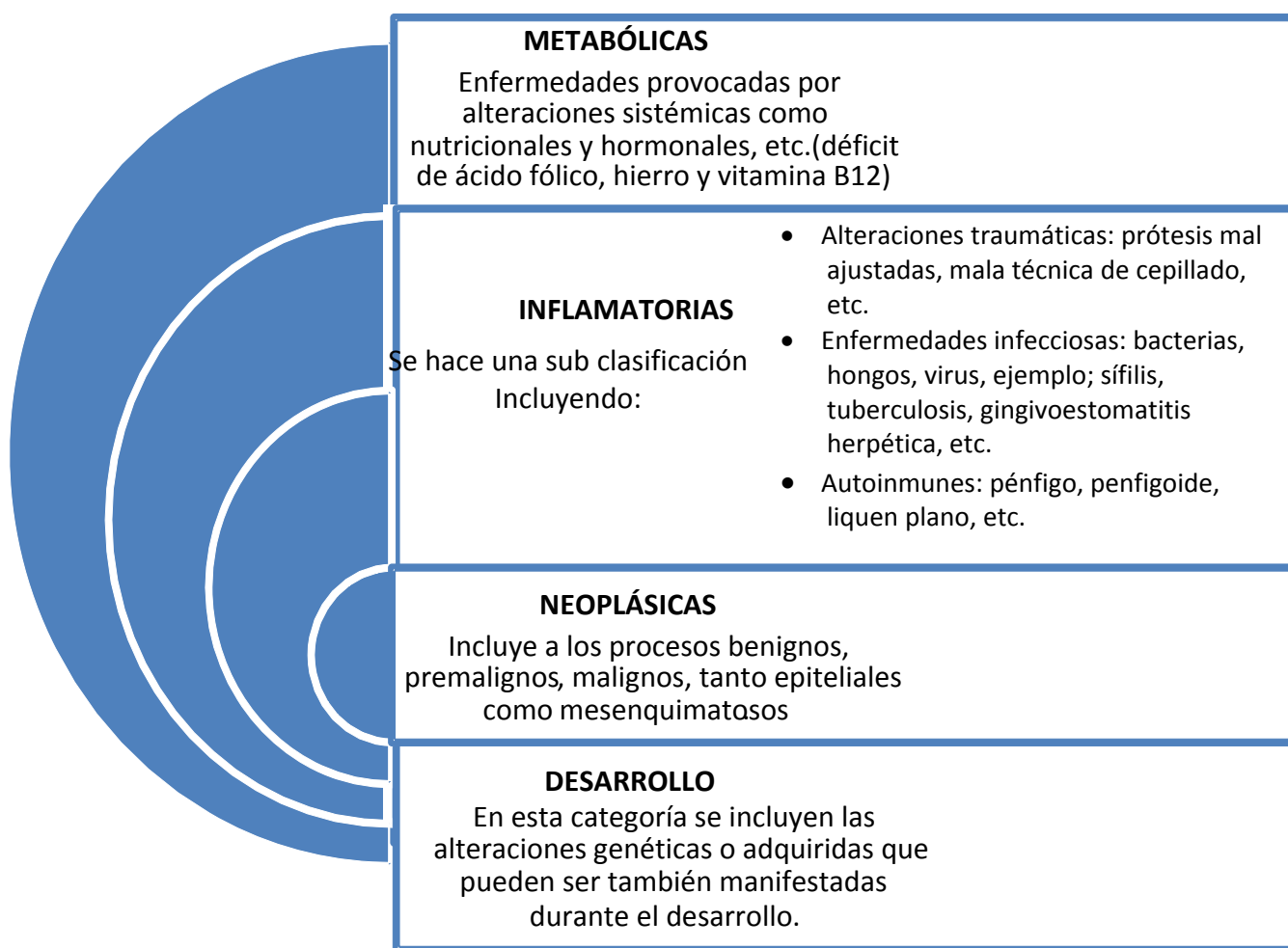
### 2. SEGÚN SU ETIOLOGÍA.

- **Úlcera traumática:** radiaciones, sustancias cáusticas, medicamentos, quemaduras, galvanismo, prótesis mal ajustada, incorrecta técnica de cepillado, infiltración de líquido a presión (anestesia) y enfermedad de Riga –Fedé.<sup>(9)</sup>
- **Neoplásica:** neoplasias malignas (Ej., carcinoma epidermoide, adenocarcinoma, sarcomas, linfomas); en neoplasias benignas es raro observarla, pero puede estar presente secundaria a traumatismo del mismo.<sup>(9)</sup>
- **Infecciosas:** gingivitis ulceronecrosante, sífilis, tuberculosis, gingivoestomatitis herpética primaria, herpes recurrente intraoral, herpes-zoster, varicela, herpangina, mononucleosis infecciosa, candidiasis eritematosa, blastomicosis, histoplasmosis, etc.<sup>(9)</sup>
- **Autoinmune:** Liquen plano erosivo, pénfigo, penfigoide, eritema multiforme, síndrome de Behcet, Síndrome de Reiter, lupus eritematoso.<sup>(9)</sup>
- **Manifestaciones de enfermedades metabólicas:** déficit de ácido fólico, hierro y vitamina B12, diabetes, etc.<sup>(9)</sup>



## 2.2. CLASIFICACIÓN DE MIND.

Es la clasificación de las lesiones de la mucosa bucal según Carpenter W, quien se basa primero en la etiopatogenia de la lesión y en segundo lugar en las características clínicas, dicha clasificación de etiopatogenia es la siguiente. <sup>(10)</sup>



### 2.3. ÚLCERA TRAUMÁTICA.

La úlcera traumática de la mucosa bucal es una lesión causada por alguna forma de trauma, puede ser morderse la mejilla o el labio, irritación por prótesis, cepillado inadecuado, bordes cortantes de un diente fracturado, restauración mal adaptada o un diente cariado, e incluso a través de irritantes externos (ácidos, alcalinos y medicamentos). Los sitios de localización más frecuentes de una úlcera traumática son: borde lateral de lengua, cara interna del carrillo, labios y ocasionalmente el paladar. Sin embargo la mayoría de las veces la reparación de estas lesiones es rápida y sin contratiempos, eventualmente existen úlceras que persisten largo tiempo sin cicatrizar y el dolor es característico hasta no eliminar el agente causal. <sup>(13)</sup>



**Figura 3. Úlcera traumática.**

Las lesiones autoinducidas son aquellas producidas sobre la base de un hábito e incluyen el morderse el labio (morsicato labiarum), el carrillo (morsicato buccarum), etc. Estas lesiones por hábito de mordida se han denominado *Patonimia mucosae oris*. Dentro de este grupo correspondería agrupar aquellas lesiones producidas durante las crisis epilépticas, siendo la lengua y /o labios los sitios mas afectados durante la crisis. <sup>(13)</sup>



**Figura 4. Mursicato buccarum.**

Los agentes externos tales como carbamacepinas<sup>(2)</sup>, esteroides anabólicos<sup>(14)</sup>, ticlopidina<sup>(15)</sup>, rofecobix<sup>(16)</sup>, penicilamina, piroxicam, rifampicina, zalcitabina<sup>(17)</sup>, colutorios con alto contenido de alcohol, aspirinas, también producen erosiones úlceras cuando son aplicadas directamente sobre la mucosa.<sup>(9)</sup>

La úlcera traumática causada por irritación protésica es una lesión originada por el daño físico. Se desarrolla generalmente pocos días después del uso de prótesis nuevas o después de haberlas usado durante mucho tiempo, en ocasiones asociada a espículas óseas remanentes. Su tamaño varía dependiendo de tiempo de evolución, del tipo de prótesis, siendo estas dolorosas, irregulares o alargadas siguiendo la forma del borde protésico; usualmente cubiertas de una delgada membrana de fibrina y rodeada por un halo eritematoso.<sup>(9)</sup>

El tratamiento para la úlcera traumática consiste en corregir la causa subyacente. Control del paciente y si al cabo de dos semanas después de eliminado el agente causal de la úlcera esta persiste es aconsejable que se realice una biopsia.<sup>(9)</sup>

### 3. ÚLCERA TRAUMÁTICA GRANULOMATOSA CON EOSINOFÍLIA ESTROMAL (TUGSE por sus siglas en inglés).

Las ulceraciones eosinofílicas son comunes, pero no son frecuentemente reportadas. Las lesiones son casi siempre ulceradas, pero algunas han sido descritas como masas submucosas. <sup>(18)</sup>



**Figura 5. TUGSE localización en el borde lateral de la lengua.**

El **TUGSE** es una úlcera reactiva crónica, de la mucosa bucal, bien delimitada, que usualmente se presenta en lengua, de etiología no clara, pero en la mayoría de los casos la patogenia sugerida de esta lesión se asocia con trauma; siendo esto respaldado de alguna forma por Bashkar y Lilly, quienes produjeron úlceras eosinofílicas de forma experimental, induciendo el trauma con fórceps en la lengua de las ratas, encontrando cambios histológicos similares a las descritas en las úlceras eosinofílicas en la lengua de los humanos, pero obviamente en la mayoría de los casos el trauma no pudo ser demostrado. <sup>(1,3,19, 21)</sup>

Como resultado de la ulceración, ésta permite el ingreso de bacterias, virus, toxinas o proteínas extrañas dentro del tejido conjuntivo, así un posible factor bacteriano implicado en la etiología del **TUGSE** es *Helicobacter pylori*, sin embargo aún no existen estudios contundentes sobre su participación como agente etiológico. <sup>(7, 6, 21)</sup>

### 3.1. ETIOLOGÍA.

Los estímulos irritativos que se observan en desarrollo de **TUGSE** en los adultos se asocian con traumas: <sup>(19,21)</sup>

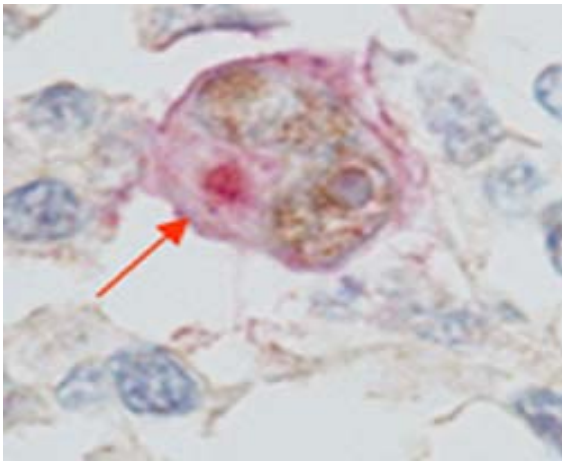
- Físico.
- Químico.
- Térmico

La ulceración resultante por un trauma, permite el ingreso de microorganismos, toxinas, o proteínas extrañas dentro del tejido conectivo, estas sustancias o productos de su metabolismo, inducen una respuesta inflamatoria severa. <sup>(18,22)</sup>

En los niños este tipo de úlcera es asociada a historia de trauma en conjunción con la erupción de los dientes primarios, que así mismo se asocia a dientes natales o neonatales que producen erosión o una úlcera comúnmente vista en superficie dorsal y antero ventral de la lengua. <sup>(18, 22)</sup>

Otra hipótesis sugerida en la etiología del **TUGSE**, es que esta lesión puede ser una enfermedad linfoproliferativa mediada por linfocitos CD30, *Alobeid et al*, encontraron células T monoclonales en 3 casos usando inmunohistoquímica y análisis de reacción de cadenas de polimerasa (PCR) con esto sugirieron que las lesiones bucales parecen dar una contraparte del espectro linfoproliferativo primario del desorden cutáneo CD30. <sup>(6)</sup>

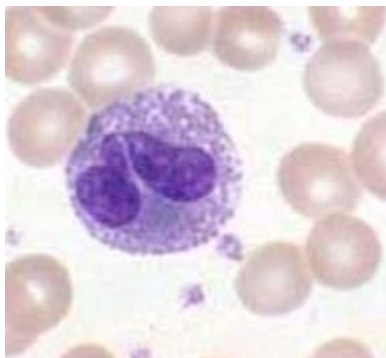
*Ficarra et al*, fueron los primeros en reportar un caso en que el CD30 + fuera encontrado en una lesión ulcerada histológicamente semejando al **TUGSE**, donde el paciente tuvo múltiples episodios recurrentes de úlceras eosinofílicas que cicatrizaban solas en la mucosa bucal, y fue sugerido que el **TUGSE** en la mucosa bucal tal vez representa la contraparte del desorden linfoproliferativo cutáneo CD30+, conteniendo células atípicas CD30+ y en donde la clonación de células T fue demostrada usando análisis PCR. <sup>(6)</sup>



**Figura 6. Expresión de Linfocito CD30 (flecha roja).**

### **3.2. PATOGENIA.**

La ulceración resultante por un trauma, permite el ingreso de microorganismos, toxinas, o proteínas extrañas dentro del tejido conectivo, que en las personas predispuestas inducen una respuesta inflamatoria severa, resultado de una exagerada reacción de eosinófilos y mastocitos (en menor población) e infiltrado linfocitario (By T).<sup>(6)</sup>



**Figura 7. Eosinófilo.**

La presencia de eosinófilos no es completamente entendible, porque la mayoría de las úlceras bucales traumáticas son desprovistas de eosinófilos. Lo cual sugiere que los eosinófilos representan una reacción tisular a algún antígeno

desconocido, que ingresa vía ruptura de la mucosa consecutiva al trauma. La degeneración de la mucosa muy característica de **TUGSE** puede ser atribuida a la producción de citotóxicas de las células T o productos tóxicos de la degranulación de los eosinófilos <sup>(6)</sup>

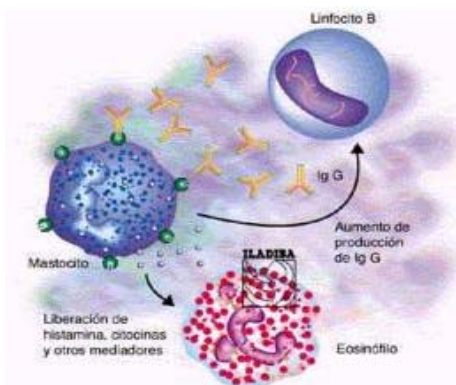
Estas células cebadas o monocitos que contienen numerosos gránulos, liberan mediadores que causan inflamación (histamina) y también atraen a los eosinófilos por la liberación del factor quimiotáctico de los eosinófilos (ECF). Los eosinófilos entonces liberan histaminasa y arilsulfatasa que inactivan a histamina y a la sustancia reactante de la anafilaxia (SRS-A) respectivamente <sup>(6)</sup>.

Con esto se consigue:

- Amortiguar la respuesta inflamatoria.
- Reducir la migración de los granulocitos hacia la lesión.
- Pueden fagocitar y destruir microorganismos ingeridos, pero no es su función principal. <sup>(23)</sup>

Los eosinófilos además de eso suprimen a los basófilos. Así mismo producen a su vez una proteína básica mayor (MBP) activadora de neutrófilos, basófilos y mastocitos. También contiene proteínas capaces de lesionar los tejidos, como la proteína catiónica de los eosinófilos (ECP) y la neurotoxina que causa destrucción celular. <sup>(24, 18, 22)</sup>

Una moderada población de mastocitos es observada en el tejido normal de la lengua, gingivitis, hiperplasia fibrosa inflamatoria, úlceras no específicas, hiperplasia epitelial multifocal, glándula salival normal o inflamada. La presencia de eosinófilos en el tejido es vista en numerosas condiciones de mordeduras de insectos, parásitos, reacciones alérgicas, granuloma facial, granuloma eosinofílico, histiocitosis X, fascitis eosinofílica, granuloma linfoide eosinofílico con hiperplasia angiolinfoide, etc, mediando una respuesta inflamatoria. <sup>(20, 18)</sup>



**Figura 8. Mastocito liberando histamina.**

### 3.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

Se caracteriza por una úlcera que no cicatriza, de sintomatología variable ya sea moderadamente dolorosa o asintomática, las lesiones individuales aparecen como zonas de eritema rodeando úlceras centrales cubiertas por una membrana fibrinopurulenta removible. Los límites de la úlcera desarrollan un borde enrollado, elevado y liso de consistencia firme o indurada a la palpación con áreas de hiperqueratosis.<sup>(6, 7)</sup>

El tamaño de la úlcera con el que se manifiesta **TUGSE** puede variar de tamaño desde unos cuantos milímetros hasta 7 u 8 cm siendo está la dimensión más grande reportada<sup>(4)</sup>. En ocasiones suele presentarse como un nódulo ulcerado en la cavidad bucal, en estadios iniciales las características clínicas de **TUGSE** son similares a otras entidades como el carcinoma de células escamosas, la cual es una neoplasia maligna de origen epitelial y su tratamiento es completamente diferente y agresivo.<sup>(28)</sup>



**Figura 9. TUGSE.**



### 3.3.1. ENFERMEDAD DE RIGA FEDE.

La entidad denominada Enfermedad de Riga–Fede ocurre exclusivamente en infantes, por lo general ocurrida entre las edades de 1 semana a 1 año de vida. Todas estas lesiones son asociadas a historia de trauma en conjunción con la erupción de los dientes primarios o asociada a dientes natales o neonatales, por lo general el sitio de localización incluye la superficie dorsal, antero-ventral de la lengua y sublingual. Las lesiones ventrales son usualmente asociadas con incisivos mandibulares adyacentes y las lesiones dorsales son asociadas con incisivos maxilares adyacentes. <sup>(2, 4, 23,9, 20, 28)</sup>



**Figura 10. Enfermedad de Riga - Fede.**

### 3.4. EPIDEMIOLOGÍA.

Ocorre en todos los grupos de edades, desde una semana hasta 92 años de edad, con una media de aparición a los 44 años de edad y con un tiempo de evolución aproximado de 1 semana a más de un año. <sup>(18,29)</sup>

Cualquier superficie mucosa puede ser afectada, sin embargo la lengua es el área donde se localiza más frecuentemente en sus superficies antero-ventral, dorsales y laterales, con aproximadamente en un 60% de los casos reportados. <sup>(18, 26,29)</sup>



**Figura 11.**  
**TUGSE localizado en dorso de lengua.**



**Figura 12.**  
**TUGSE Localización vientre de la lengua.**

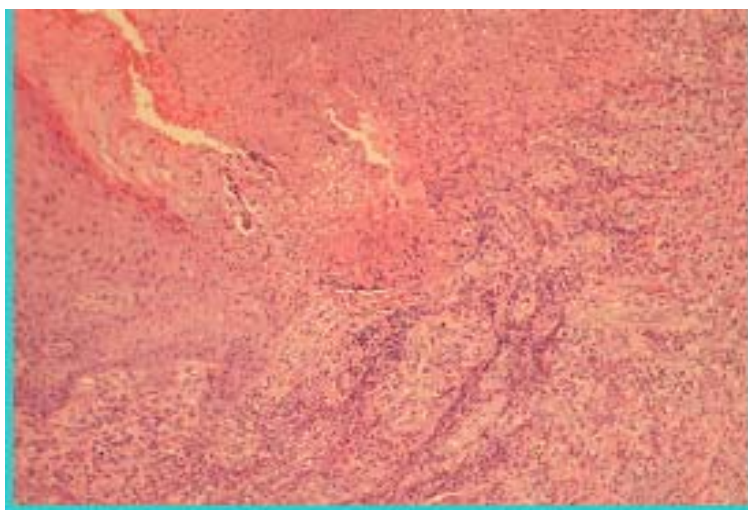
Otros sitios incluyen la mucosa bucal y los pliegues muco bucales en un 24% y en un orden decreciente en labios, la encía, el paladar y el piso de boca y el área retromolar. <sup>(18y 26)</sup>

Su predisposición se observa en relación hombre: mujer (razón 1.6: 1), sin embargo la prevalencia en género varía de estudio a estudio y no muestra una aparente predilección. <sup>(18)</sup>

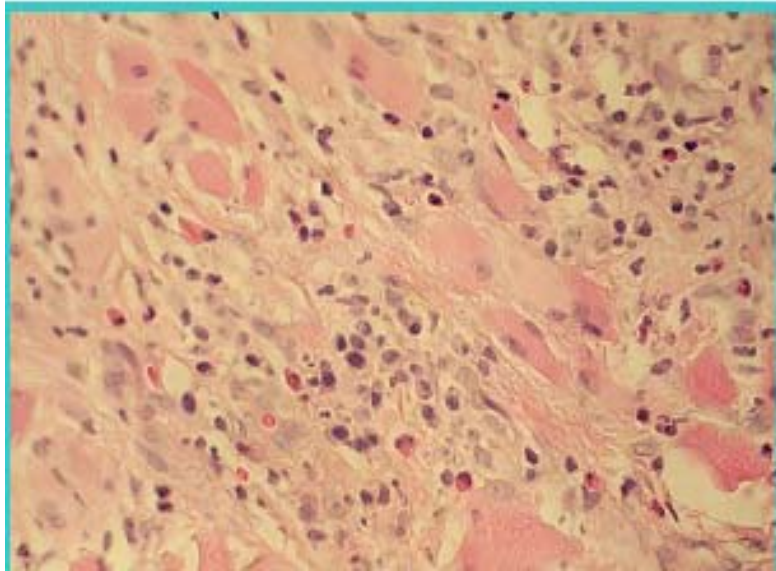
### 3.5. HISTOPATOLOGÍA.

Histológicamente se caracteriza por presentar epitelio escamoso estratificado que muestra solución de continuidad sustituido por dendritus celulares y fibrina, acompañado por un infiltrado inflamatorio denso mixto, que se extiende hasta las capas musculares profundas, a la submucosa o a las glándulas salivales. Los tipos celulares dominantes en el infiltrado inflamatorio son escasos linfocitos (inmunofenotipo T y B), histiocitos y con abundantes eosinófilos. <sup>(28, 32)</sup>

La presencia de eosinófilos no es completamente entendida debido a que la mayoría de las úlceras bucales traumáticas están desprovistas de eosinófilos <sup>(27)</sup>. Ha sido sugerido que la eosinofilia representa una reacción tisular de algún antígeno desconocido o introducido vía ruptura de la mucosa consecutiva al trauma. La degeneración de la mucosa muy característica del TUGSE puede ser atribuida a la producción de citotoxinas de las células T o productos tóxicos de la degranulación de los eosinófilos. <sup>(27, 28, 29, 30, 33)</sup>



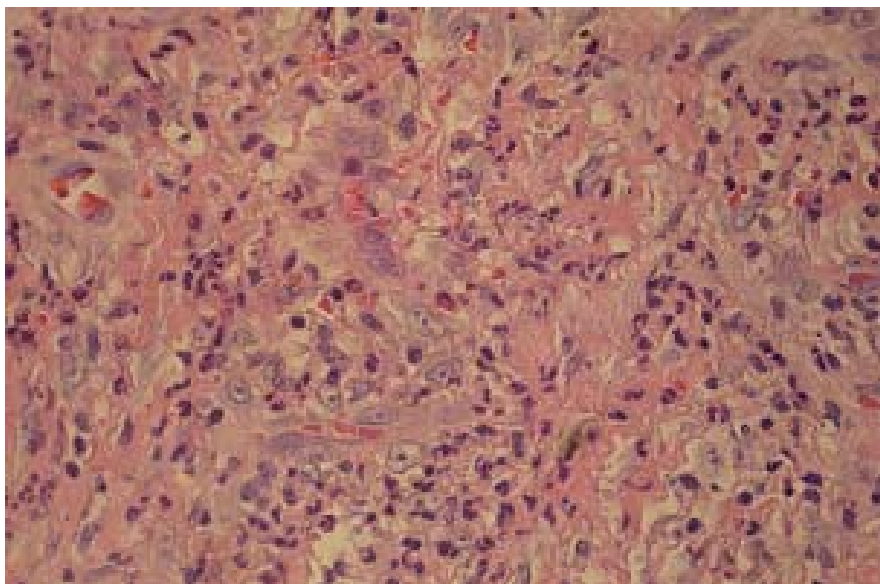
**Figura 13. Zona de la úlcera 100x.**



**Figura 14. Infiltración eosinófilos en músculo 400x.**

El segundo de los componentes del **TUGSE** lo ocupa la presencia de un gran número de células mononucleares atípicas con un núcleo pálido redondo a ovoide, estos son interpretados como macrófagos o histiocitos, presentes en la mayoría de los casos de **TUGSE**, sin embargo el origen de estas células aun permanece incierto. <sup>(28)</sup>

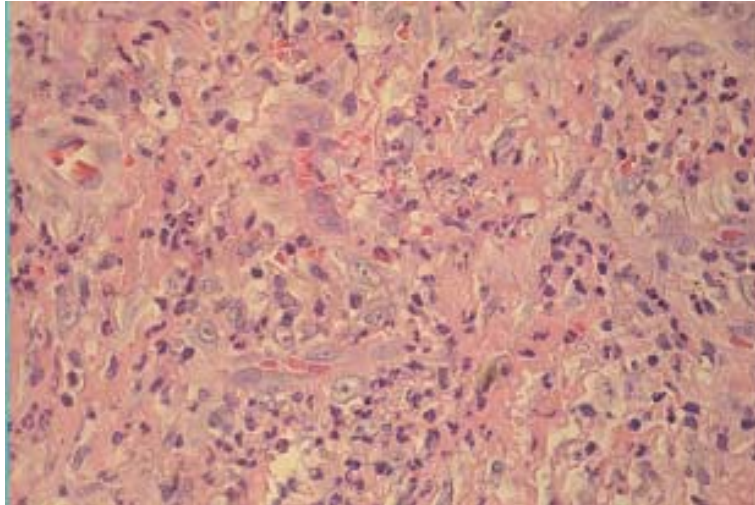
El origen de este segundo componente celular es incierto, surgiendo así un debate entorno a su origen, *Regezi et al*, en un estudio de 8 casos detectaron el marcador CD68 del macrófago o el factor XIIIa y marcador de células dendríticas dérmicas, que se trata de proliferaciones reactivas de células del sistema mononuclear fagocítico, distintas de las células de Langerhans y en una serie de 38 casos, encontraron que el vasto número de células atípicas fueron positivas a vimentina, sugiriendo que ellas representan miofibroblastos, sin embargo su origen aún permanece oscuro. <sup>(6)</sup>



**Figura 15. Monocitos y polimorfonucleares 400x.**

Se ha sugerido que el **TUGSE** puede ser un desorden linfoproliferativo CD30 ya que las células se muestran positivas al antígeno CD30 +, que es una gran glicoproteína transmembranal con un dominio extracelular homólogo a la superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral, originalmente descrito como una molécula de superficie reconocida por el anticuerpo monoclonal Ki-1 en células de Reed –Stenberg. CD30 es comúnmente expresado en la activación de células B y T, ciertos desordenes linfoproliferativos expresan el antígeno CD30. La implicación de desordenes linfoproliferativos en la cavidad bucal, sin embargo, raramente ha sido reportado, pero la literatura es algo confusa y una comparación definitiva es difícil. <sup>(27, 5)</sup>

El papel que los eosinófilos tienen en este tipo de úlceras no está establecido pero en estudios con animales de experimentación se ha propuesto que los eosinófilos pueden contribuir a la regulación de muchos procesos biológicos que son críticos para una apropiada reparación de las heridas debido a que estas células expresan dos citoquinas multifuncionales transformadoras del crecimiento, el factor alfa ( $\text{TGF-}\alpha$ ) que promueve la migración y proliferación epitelial y el factor beta ( $\text{TGF-}\beta$  1) que ha sido asociado con la inhibición de la proliferación epitelial, la regulación de la inflamación y la producción de matriz extracelular y remodelado de tejido. <sup>(1,2,28,29,30)</sup>



**Figura 16. Eosinófilos e histiocitos (400x) <sup>(18)</sup>**

*Ellovic y Gallagher* realizaron un estudio para determinar si los eosinófilos presentes en úlceras eosinofílicas producían los factores de transformación de crecimiento antes mencionados donde encontraron que en 11 de 12 casos los eosinófilos mostraban muy poca o ninguna expresión de estos factores, relacionando el retardo en la curación de la úlcera con la falta de síntesis de estos factores por los eosinófilos. <sup>(3, 18,28)</sup>

### **3.6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.**

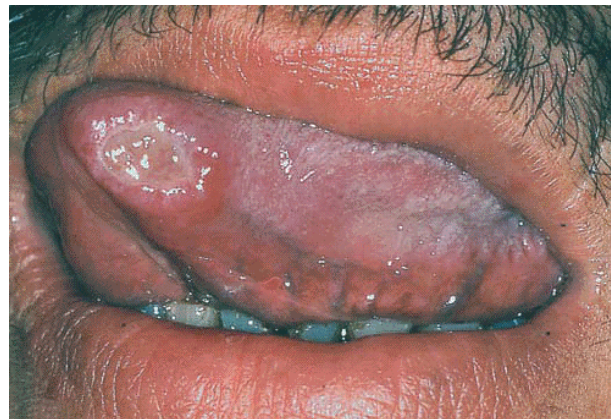
Dado que las características clínicas son similares a otras entidades puede ser confundido con neoplasias malignas, infecciosas y o traumáticas, entre otras así como: carcinoma de células escamosas, úlcera tuberculosa, histoplasmosis, blastomycosis, sialometaplasia necrotizante, estomatitis aftosa mayor, chancro sifilítico, infiltración leucémica, lupus eritematoso discoide, linfoma no Hodgkin y microscópicamente con neoplasias linfoides <sup>(1, 5, 19, 28,29)</sup>





**Figura 17. Carcinoma de células escamosas.**

**Figura 18. Úlcera lingual por infección recurrente de *M. tuberculosis*.**



**Figura 19. Histoplasmosis.**

**Figura 20. Úlcera lingual en un paciente con lupus eritematoso.**



**Figura 21. Chancro sifilítico primario en dorso de lengua.**

**Figura 22. Úlcera aftosa mayor en superficie dorsal de lengua.**



### **3.7 PRONÓSTICO.**

El pronóstico es bueno ya que estas lesiones son benignas y usualmente solitarias<sup>(1,25)</sup>, pueden cicatrizar espontáneamente; la cicatrización espontánea mencionada por Wilson .A Delgado y Halo Funes, es porque posiblemente la respuesta positiva en la reparación de la úlcera que se observó después de la



biopsia favorece la teoría vascular en la regeneración de la lesión, ya que el acto quirúrgico en la obtención de la biopsia trae como resultado inflamación como respuesta, donde destacan los procesos hemodinámicos que conducen al proceso de reparación. También cicatrizan por la eliminación del agente causal de traumatismo<sup>(29, 30)</sup>, explicando de alguna forma el fenómeno tisular, pero sin aún explica el agente etiológico, el cual probablemente este relacionado con un tipo de antígeno bacteriano (*Helicobacter Pylori*).<sup>(3)</sup>

La recurrencia suele ser poco frecuente, sin embargo se han reportado casos en los que aparece en diferentes zonas de la cavidad bucal, pero no en el mismo paciente, lo que sugiere que el paciente puede tener alguna tendencia a desarrollar la lesión.<sup>(4)</sup>

### **3.8. TRATAMIENTO.**

El tratamiento en niños consiste en eliminar el factor que está traumatizando la lengua o mucosa.<sup>(33)</sup>

En los adultos el abordaje de la lesión puede ser mediante biopsia excisional o incisional solo para fines diagnóstico, en un gran número de casos la lesión resuelve, después de la escisión<sup>(19)</sup>. La eliminación de un diente causante del trauma o la eliminación de alguna prótesis o algún tipo de aparatología de ortodoncia y en general la eliminación del factor traumático y la rehabilitación bucal.<sup>(22,35)</sup>

Modalidades de tratamiento como el cuidado paliativo con antiinflamatorios no esteroideos o anestésicos tópicos como la lidocaína, benzocaina, estos pueden ser utilizados temporalmente para disminuir la sintomatología, al igual que los colutorios de dexametasona.<sup>(26, 31,32)</sup>

Se recomienda a los pacientes que presentan úlceras dolorosas, no ingerir alimentos ácidos ni muy condimentados para prevenir un mayor malestar durante su alimentación.<sup>(28,29, 31,4)</sup>

## 4. HELICOBACTER PYLORI.

### 4.1. ANTECEDENTES.

La presencia de bacterias espirales en el estómago fue vista por primera vez vista en 1906 por Kreinite<sup>(30)</sup>. El patólogo Robin Warren a principios de junio de 1979, observó por primera vez a *Helicobacter pylori* en una biopsia gástrica proveniente de un paciente con gastritis crónica activa, asociando así la presencia de este microorganismo con la gastritis. Hubieron muchos intentos de aislar la bacteria, pero todos ellos sin ningún éxito. En 1981, el médico gastroenterólogo Barry Marshall se une a la investigación de Warren, confirmando así esta asociación, y lo reportado por este último.<sup>(33,34)</sup>



**Figura 23. Robin Warren (izquierda) y Barry Marshall en su laboratorio de Perth , Australia a mediados de los años 80.**

La bacteria morfológicamente semejaba a un *Campylobacter* spp., razón por la cual fue llamada *Campylobacter pyloridis*, sin embargo fue hasta 1982 que se aisló por primera vez, observándose crecimiento después de 5 días de incubación, hasta denominarse *Helicobacter* por Goodwin en 1989, y así originalmente dos especies fueron asignadas a este género: *H.pylori* (patógeno gástrico en humanos) y *H.mustelae* (microorganismo de mucosa gástrica del hurón).<sup>(33,34)</sup>

Esta bacteria toma su nombre del latín *hélice*, atendiendo que el cuerpo de esta bacteria rota sobre sí mismo como si fueran las aspas de un ventilador, y a *pylori* (píloro), que es la parte final del estómago que precede al intestino.<sup>(33)</sup>

Se ha reportado que *Helicobacter pylori* ha infectado el estómago humano por años y muy probablemente desde los inicios de la existencia del hombre actual. Es un patógeno humano común y un problema de salud pública que causa gastritis y úlceras pépticas, siendo patológicamente ligada al desarrollo de cáncer gástrico<sup>(35)</sup>, asociado a linfoma de la mucosa y es designado como un carcinógeno clase I. Con el reconocimiento de *H pylori* como un patógeno humano importante, se ha convertido en uno de los microorganismos que ya cuentan con mapeo secuencial de su genoma.<sup>(36)</sup>

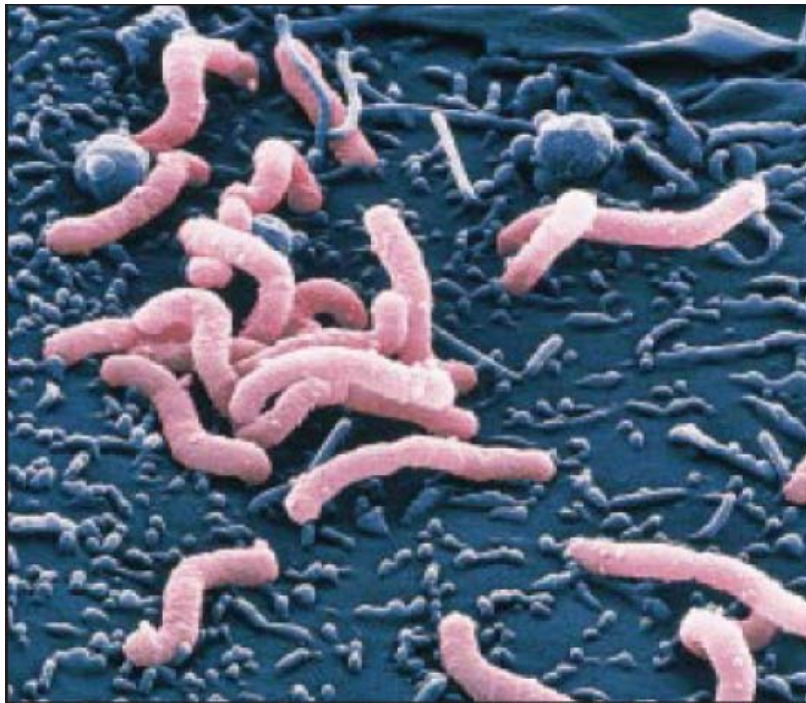
## 4.2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS.

*Helicobacter pylori* es un bacilo gramnegativo, microaerófilo de forma curva, espiral o cocoide, que mide 2.5 a 3.5µm de largo y de 0.5 a 1µm de ancho (Fig 26), no productor de esporas, con actividad citotóxica (productora de ureasa) posee de uno a seis flagelos unipolares envainados, con movimientos espirales o en sacacorchos que lo hace altamente móvil, las formas cocoides se observan en cultivos viejos y se consideran no cultivables, también se ha visto que entran a este estado cuando se le expone a fluctuaciones del ambiente, como cuando se encuentra en el agua. En medio adecuado forman colonias circulares, brillantes, translúcidas y grises; es un microorganismo difícil de cultivar, de crecimiento lento, tomando de 5 a 7 días para poder apreciar las colonias en medios sólidos.<sup>(33)</sup>

En cuanto a pruebas en el laboratorio, es positivo a catalasa, ureasa, oxidasa, fosfatasa alcalina, arginina arimilidasa y DNasa. Negativo a reducción de nitratos e hidrólisis de piruvato. No fermenta ni oxida carbohidratos, aunque puede fermentar los aminoácidos por vías fermentativas.<sup>(33)</sup>

Es una bacteria no invasiva que vive en la superficie de las células epiteliales gástricas, protegido del HCl por la formación de un microambiente alcalino de amonio producido por la ureasa. <sup>(33)</sup>

*H. pylori* coloniza el estómago del ser humano y se distribuye uniformemente en la mucosa gástrica, colonizando en forma de parches, y frecuentemente en la región del antro, permaneciendo en la mucosa gástrica por años o décadas, sin embargo también se ha aislado en la región del cuerpo gástrico, esófago y parte alta del tracto intestinal (duodeno) <sup>(37)</sup>. La estructura helicoidal o espiral de la bacteria le permite introducirse a través de la capa de moco gástrico durante la colonización, actuando de forma similar a un sacacorchos y favoreciendo el acercamiento a las células epiteliales gástricas. <sup>(38)</sup>



**Figura 24. Micrografía de  
*Helicobacter Pyilori*.**

### 4.3. EPIDEMIOLOGÍA.

Se estima que más de la mitad de la población mundial esta infectada crónicamente con *H.pylori* sin presentar sintomatología, ni efectos adversos en muchos casos, extendiéndose con una prevalencia del 20 % a más del 80%. <sup>(33, 35,39)</sup>

La prevalencia de individuos infectados con *H.pylori* mayores a 60 años es frecuente no solo en México, si no también a nivel mundial. *H. pylori* casi siempre es adquirida en la infancia (usualmente antes de los 10 años) y, si no es tratada, la infección tiene una vida larga, en países en desarrollo arriba del 70% de los niños están infectados con *H.pylori* a la edad de 15 años, aunque *H pylori* es seroprevalente entre niños que residen en países industrializados como lo es Estados Unidos, es mucho menos, en el orden del 10 % entre los de 10 años de edad (Fig. 28) una población seleccionada están en alto riesgo. <sup>(33,35, 39)</sup>

Además de la edad existen otros factores que participan en la infección como el socioeconómico, hecho que refleja una mayor prevalencia y adquisición más temprana en países en vías de desarrollo, en relación con aquellos industrializados. Con el mayor porcentaje de prevalencia en países en vías de desarrollo, en la vasta mayoría de individuos, la infección es adquirida durante la niñez con mayor riesgo en aquellos con nivel socioeconómico bajo y familiares infectados. Aunque padecimientos clínicos generalmente ocurren décadas después de la adquisición inicial, niños infectados con *H. pylori* pueden tener gastritis, úlceras, linfoma tipo asociado a mucosas y raramente atrofia gástrica con o sin metaplasia intestinal (ambos precursores de cáncer gástrico). <sup>(33, 35,36)</sup>

Niños con un miembro de la familia infectado, aquellos que residen en condiciones de vida hacinadas (Ej. compartiendo cama) con dos o más hermanos, que atienden guarderías o tienen pobre higiene, tienen un alto factor de riesgo a una infección por *H. pylori*. Otros niños que tienen altos índices de infección por *H. pylori* incluye a aquellos de situación socioeconómica baja, niños de inmigrantes, niños nacidos en América de padres inmigrantes y niños adoptados internacionalmente. <sup>(35,36)</sup>

En México se han observado regiones de mayor riesgo, como las zonas altas del estado de Chiapas donde existen grupos indígenas que presentan una alta incidencia de cáncer gástrico asociada a este microorganismo. En el estudio seroepidemiológico de *Helicobacter pylori* realizado en 1997, se trabajó con un banco de sueros representativo de la población de todos los estados de la República Mexicana (11.605 sueros) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 y 90 años. Los resultados mostraron que el 20 % de los niños de 1 año de edad presentaban anticuerpos contra *H. pylori* y que la seropositividad aumento hasta un 50% en los

niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección por el microorganismo en nuestro país se adquiere a edades tempranas. La tasa de seropositividad fue aproximadamente 5% anual durante los primeros 10 años de la vida y en un 80% en los adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad. <sup>(33, 35,36,)</sup>



**Figura 25. Presentación geográfica mundial de la prevalencia por la infección con *H.pylori* en adultos asintomático. México se encuentra en una prevalencia entre 65 %.**

#### 4.4 VÍAS DE TRANSMISIÓN.

Hasta la fecha el cuerpo humano es el único reservorio de *Helicobacter pylori*, un mayor número de evidencias sugieren que la transmisión de la infección puede ser potencialmente facilitada mediante el agua contaminada. Rutas de transmisión de *Helicobacter pylori* descritas incluyen oral-fecal y oral-oral. Las últimas rutas de transmisión fueron reportada después de la identificación de organismos de *Helicobacter pylori* en el vómito de un adulto infectado y muestras de aire recolectadas cerca del vomito. <sup>(33, 35,37)</sup>

La ruta de transmisión de *Helicobacter pylori* más probable y / o aceptable es la de persona a persona u oral-oral<sup>(40,41)</sup>, una vez cultivada en boca la saliva y la placa dentobacteriana<sup>(42)</sup>, lo cual sugiere que la cavidad bucal es un reservorio natural de la bacteria y / o un hábitat transitorio.<sup>(43)</sup>

Se considera que *Helicobacter pylori* tiene una genética heterogénea, esto quiere decir que no hay dos cepas iguales, y los estudios han sugerido que esta diversidad hace que cada cepa tenga una única adaptación para cada huésped, por lo tanto en algunos individuos puede ser considerada como una bacteria comensal<sup>(43)</sup>. Por su capacidad carcinogénica *Helicobacter pylori* ha sido clasificado como carcinógeno de clase I por la OMS.<sup>(35,43)</sup>

#### 4.5. PATOGÉNESIS Y FACTORES DE VIRULENCIA.

Los avances de técnicas bioquímicas, han surgido nueva información sobre la patogenicidad y factores de virulencia de *Helicobacter pylori*, indicando que la infección por *Helicobacter pylori* requiere de complejas interacciones tanto de su huésped como de la bacteria.<sup>(45)</sup>

La búsqueda de los factores causantes de la ulceración se ha intensificado en los últimos años, señalándose entre ellos a la ureasa bacteriana, adhesinas, hemaglutininas y la producción de una toxina vacuolizante.<sup>(46)</sup>

La colonización por *Helicobacter pylori*, origina liberación de interleucina 8 y otros mediadores de la inflamación por parte del epitelio estomacal. Lo cual junto con la respuesta inmunitaria local, culmina en la producción de una cascada de citocinas que a su vez afecta otras células y otras funciones. Es posible que factores propios del huésped, como tabaquismo y mecanismos genéticos; factores propios de *Helicobacter pylori* como los productos genéticos cag-A y otros más; y factores ambientales como exposición a antioxidantes, cloruro de sodio y nitrato en la dieta, contribuyan a la transformación de *H. pylori* en un patógeno que causa enfermedad clínicamente manifiesta.<sup>(47)</sup>

Actualmente es conocido que la infección por *Helicobacter pylori* origina alteración en los diversos mecanismos que regulan la secreción de ácido y pepsina.<sup>(48)</sup>

#### 4.6. FACTORES DE PATOGENICIDAD

**Motilidad.** Esta capacidad se la proporcionan los flagelos para el desplazamiento a través de las células epiteliales de la mucosa gástrica. Además le confiere una gran movilidad que le permite no ser eliminado tan fácilmente del hospedero.<sup>(33, 39,49)</sup>

**Ureasa.** Esta enzima es codificada por los genes *ure A* y *ure B*, presentes en todas las cepas de *Helicobacter pylori*. Su función es degradar la urea en amonio y CO<sub>2</sub> para después formar amonio, producto de la reacción con el ácido clorhídrico y generar así un microambiente alcalino alrededor de la bacteria que le confiere protección ante la acidez gástrica. <sup>(33, 39,50)</sup>

Se ha demostrado que la ureasa contribuye a la toxicidad vía producción de amonio el cual es tóxico para las células. Además la unión con los iones fluoruro favorece la formación de cloruro de amonio indispensable para la vacuolización y daño celular por parte de la citotóxina vacuolizante (VacA). <sup>(33, 39,51).</sup>

## **4.7. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO.**

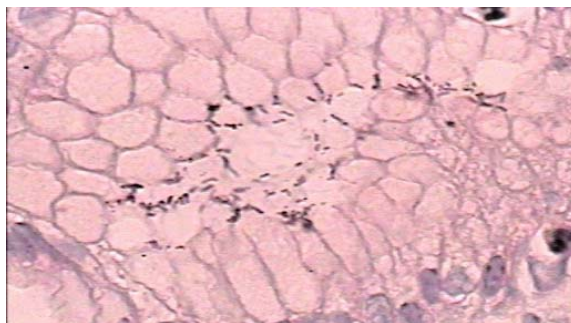
Al igual que cualquier condición el diagnóstico es esencial antes de comenzar el tratamiento. Hay varias técnicas de diagnóstico posibles. Los métodos empleados para el diagnóstico involucran pruebas invasivas y no invasivas. Las pruebas no invasivas incluyen prueba de urea en el aliento, prueba de sangre y pruebas en sangre que incluye un examen de sangre y serológico completo para hacer la detección de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en el suero del paciente. Las pruebas no invasivas detectan la presencia o ausencia de infección. Las pruebas invasivas incluyen la toma de la biopsia en el caso de ser gástrica se utiliza endoscopia para obtener la muestra y realizar pruebas histológicas, de cultivo bacteriano y la prueba de ureasa rápida. Las pruebas invasivas pueden determinar tanto presencia, ausencia de la infección, la extensión y severidad de la mucosa lastimada (enfermedad). <sup>(35)</sup>

## **4.8. PRUEBAS INVASIVAS.**

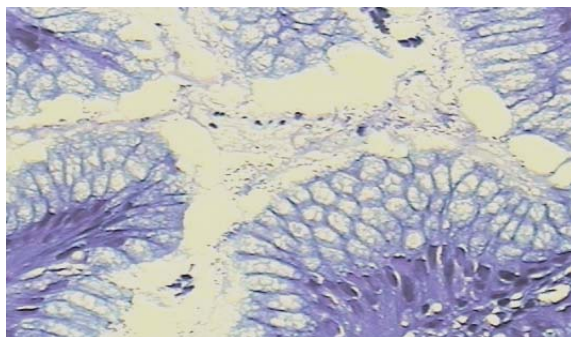
### **4.8.1. HISTOLÓGICAS**

Las muestras de la biopsia se fijan en formalina y se tiñen con tinción de rutina con hematoxilina y eosina, Whartin- Starry que tiñe a los microorganismos de color café negro, fondo del tejido café o tinción modificada de Giemsa que tiñe a los microorganismos d un color azul intenso negro y el fondo del tejido azul claro, para su estudio histopatológico. Estos métodos cuentan con una alta sensibilidad y especificad para la identificación de *Helicobacter pylori* (>90%), pero se requiere de un histopatólogo experimentado. La biopsia proporciona información relacionada con la severidad del tejido dañado (grado de inflamación de las células polimorfonucleares y degeneración celular) y la posible presencia de alteraciones premalignas, tales como metaplasma o displasia de la mucosa. <sup>(44,51)</sup>





**Figura 26. Tinción de plata Whartin Starry y en contraste con H&E 100X.**



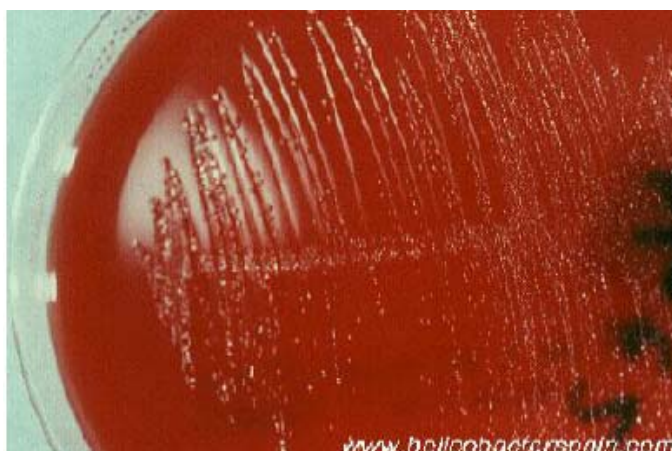
**Figura 27. Tinción Giemsa 100x.**

#### **4.8.2. CULTIVO BACTERIANO.**

La biopsia se coloca en un medio de transporte de Stuart, en un caldo Brucella o solución salina isotónica estéril. Dentro de las horas siguientes se inoculan en medios selectivos complementados con sangre de caballo y antibióticos. Las placas se incuban con 5% de O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> y 85 % de N (condiciones de microaerofilia), a 37° C durante 5<sup>a</sup> 7 días. En medios artificiales ricos en nutrientes como: peptona tristona, extracto de levadura, glucosa y sales como cloruro de sodio y bisulfito de sodio, complementados con sangre de caballo, suero fetal bovino (SFB) o ambos<sup>(33)</sup>. Para la recuperación de *Helicobacter pylori* a partir de muestras de biopsias gástricas, resultan de gran utilidad los medios sólidos selectivos, como agar chocolate, agar Brucilla al 5% adicionado con antibióticos como vancomicina, ácido nalidíxico, anfotericina que inhiben bacterias provenientes del tracto gastrointestinal, los agares selectivos, polimixina, trimetropin y el agar Thayer – Martin modificado, también favorecen su crecimiento.<sup>(38)</sup>

La identificación se hace a través de su morfología colonial, tinción de Gram y características bioquímicas (catalasa, oxidasa y ureasa positivas). La especificidad y sensibilidad de esta prueba son del 90% y 95% respectivamente. <sup>(44, 51,35)</sup>

Este método es indispensable para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de la bacteria, y para la extracción de DNA para uso de técnicas moleculares. <sup>(44)</sup>



**Figura 28. Morfología colonial de *Helicobacter pylori* en agar sangre.**

#### **4.8.3. PRUEBA DEL HILO.**

Es un método rápido y sencillo, que permite diagnosticar *H.pylori* por cultivo de secreción gástrica a partir de la deglución de una cápsula que desenrolla un hilo y que permanece en el estómago durante 1 hora. Posteriormente el hilo es retirado para su cultivo. <sup>(49)</sup>

#### **4.8.4. PRUEBA RÁPIDA DE UREASA.**

Es el método más rápido para la detección de *Helicobacter pylori* en una biopsia gástrica. La actividad de la ureasa se puede medir directamente en las muestras clínicas o después de que se haya aislada la bacteria. La gran cantidad de ureasa producida por *Helicobacter pylori* permite la detección de residuos alcalinos como el amoníaco y CO<sub>2</sub> en minutos provenientes de la hidrólisis de urea. Un resultado positivo se indica por un cambio de color indicador de pH, de amarillo a rosa, en el término de 1 minuto a 1 hora como máximo. Pueden presentarse resultados positivos falsos por la presencia de otros microorganismos productores de ureasa (estreptococos, *Proteus spp*, etc.). <sup>(33,49)</sup>

Es una prueba barata, fácil y con especificidad cercana al 100% sin embargo cuando se realiza directamente al tejido gástrico en un período de 1 a 3 horas la sensibilidad es del 75 al 90%.<sup>(49)</sup>

## **4.9. PRUEBAS NO INVASIVAS.**

### **4.9.1. PRUEBA RÁPIDA DE UREA DEL ALIENTO.**

Es extensamente usada en adultos como un agente diagnóstico y para confirmar los resultados del tratamiento (infección persistente contra cura). El desarrollo de la prueba incluye que el paciente tome una solución de marcador de urea  $C_{13}$  (radioactivo) o  $C_{14}$  (no radioactivo) un importante sustrato para el metabolismo de *Helicobacter pylori*. Si esta presente en el estómago, la enzima bacteriana ureasa hidroliza la urea, un constituyente primario de la urea en el agua y  $CO_2$ ,  $^{13}$  o  $^{14}$  que finalmente se excreta en el aliento. El marcador ( $C_{13}$  o  $C_{14}$ ) de átomos de carbono es después exhalado en la respiración y medido. Debido al riesgo radioactivo, particularmente en niños, hay pocos datos de marcador de  $C_{14}$  en la prueba de urea respiratoria en la población pediátrica<sup>(35)</sup>. La prueba no radioactiva no presenta contraindicaciones para su uso, ni límites al número de pruebas que puedan aplicarse a cualquier individuo.<sup>(33)</sup>

Aunque la prueba UBT ha sido estudiada en niños, su habilidad diagnóstica es limitada por varios factores, especialmente en aquellos niños menores de 3 años de edad. Por ejemplo se requiere cierto nivel de coordinación faríngea para la prueba, los niños tienden más a retener el componente en la orofaringe que solo abriga ureasa producida del organismo, produciendo falsos positivos. Resultados falsos – negativos tal vez resulten en aquellos que han tomado recientemente agentes antisecretores de ácido gástrico, componentes con bismuto o agentes antibióticos.<sup>(33)</sup>

La prueba de urea en el aliento es la opción para confirmar la erradicación de *Helicobacter pylori* y ésta debe hacerse como mínimo un mes después de terminado el tratamiento.<sup>(33)</sup>

### **4.9.2. PRUEBA SEROLÓGICA.**

Esta prueba se basa en la detección de anticuerpos específicos de IgG contra el antígeno total de *Helicobacter pylori* y algunos antígenos como Cag A y ureasa mediante ensayos inmunoabsorbentes ligado a enzimas (ELISA) aunque también pueden detectarse anticuerpos del tipo IgA e IgM, pero son de menos utilidad diagnóstica porque presentan poca sensibilidad.<sup>(35)</sup>

La prueba serológica con inmunoglobulina G (IgG) es extensamente usada y es considerada la primera línea de una prueba diagnóstica no invasiva en

adultos, particularmente en Europa con una sospecha de infección de *Helicobacter pylori*, desafortunadamente el ensayo serológico no provee ninguna información de si la infección esta activa o pasiva. En suma, como en la prueba UBT, el ensayo serológico no puede determinar la actual patología gastroduodenal. Aun en esas infecciones tratadas y curadas de *Helicobacter pylori*, evidencia de la existencia de anticuerpos IgG existe por meses y posiblemente por años. Por lo tanto, ensayos serológicos no son apropiados para monitorear los efectos de un régimen de tratamiento para *Helicobacter pylori*. El ensayo serológico tiene niveles variables de sensibilidad y especificidad cuando se usa en diferentes poblaciones, particularmente en niños, debido a la carencia de validación de este ensayo en esta población. Los estudios han observado rangos de sensibilidad de 54% a 94% y especificidad entre 59% y 97%. En niños los valores de atajo de los ensayos serológicos (Ej. Diferenciación entre ensayos serológicos positivos o negativos), puede ser muy diferente comparado con adultos. Concentrados serológicos en niños no parecen estar relacionado a la duración de la infección y tal vez no atienden niveles típicamente observados en un adulto infectado hasta que el niño infectado alcanza la adolescencia. Hoy en día no hay ensayos serológico comerciales de IgM e IgA validados, y ninguno de los ensayos de IgG comercialmente disponibles son aprobados en niños. La prueba de IgG salival está bajo investigaciones.<sup>(35)</sup>

#### **4.10.9. DIAGNÓSTICO MOLECULAR.**

##### **4.10.1. TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE H. PYLORI.**

El diagnóstico molecular y la tipificación de *H.pylori* puede dar información invaluable para estudios epidemiológicos y clínicos así como determinar la estructura genética de las poblaciones y entender la evolución del microorganismo.<sup>(33)</sup>

##### **4.10.2. RIBOTIPIFICACIÓN.**

Este método esta basado en la digestión de DNA cromosomal de diferentes cepas de *H.pylori* por endonucleasas. Subsecuentemente tales patrones de digestión de los genes RNAr son visualizados por hibridación con sondas específicas de DNA o RNA marcadas radioactiva o no radioactivamente. Este método ha sido exitosamente aplicado para tipificar aislamientos de *H. pylori*.<sup>(33,53)</sup>

##### **4.10.3. POLIMORFISMO EN LA LONGITUD DE FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN (RFLP).**

El DNA cromosomal intacto es digerido por endonucleasas de restricción y separado por corrimiento en electroforesis en gel por campos pulsados (PFGE). Los mapas genéticos pueden ser contruidos por hibridación con los fragmentos de restricción con sondas de DNA preparadas de genes conocidos.<sup>(33,53)</sup>

#### 4.10.4. PCR.

La reacción en cadena de la polimerasa, es una técnica cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN en particular es altamente sensible y específica <sup>(46)</sup>. Los métodos de PCR han permitido la identificación del genoma de la bacteria en saliva, placa dental y heces, aparte de los tejidos gástricos, por lo que estas pruebas bien podrían considerarse como métodos diagnósticos invasivos o no invasivos, según la muestra empleada. <sup>(46)</sup>

### 5. TECNICA HISTOLÓGICA.

Se denomina técnica histológica al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones optimas para poder observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónico y electrónico. <sup>(53)</sup>

#### 5.1. PROCEDIMIENTOS INMEDIATOS O VITALES.

Permiten la observación y el estudio de protozoarios, células sanguíneas, descamadas o disociadas y suspendidas en los líquidos de su hábitat natural u otro que lo reemplace. Para una observación óptima suelen utilizarse tipos especiales de microscopios fotónico, como el de campo oscuro o el de contraste de fases: observación al estado fresco. <sup>(54)</sup>

La observación al estado fresco generalmente se utiliza para examinar seres unicelulares o metazoarios microscópicos, células descamadas o disociadas, estructuras muy delgadas y translucidas, cultivo de tejidos. <sup>(54)</sup>

En ciertos casos cuando se requiere destacar alguna estructura celular o tisular, se pueden emplear ciertas sustancias colorantes inocuas para la vida de las células y que tampoco modifican la estructura ni interfieren en sus funciones. A este procesos e le conoce como *coloración vital*. <sup>(54)</sup>

La coloración vital puede ser de dos tipos: <sup>(54)</sup>

- Coloración intravital. Consiste en la administración de colorantes vitales a través de las vías digestivas e intratraqueal, sanguínea, linfática, subcutánea o intraperitoneal, para demostrar actividad fagocítica de ciertas células, o calcular la cantidad de determinados organelos celulares como las mitocondrias. La solución de uso más frecuente son tinta china, carmín de litio, azul tripan (partículas que demuestran la capacidad fagocítica). <sup>(54,54)</sup>
- Coloración supravital. Se emplean colorantes que se aplican a células o porciones tisulares extraídas de órganos vivos. Este tipo de coloración demuestra de manera específica componente celulares. <sup>(54,55)</sup>

#### 4.10.4. PCR.

La reacción en cadena de la polimerasa, es una técnica cuyo objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN en particular es altamente sensible y específica <sup>(46)</sup>. Los métodos de PCR han permitido la identificación del genoma de la bacteria en saliva, placa dental y heces, aparte de los tejidos gástricos, por lo que estas pruebas bien podrían considerarse como métodos diagnósticos invasivos o no invasivos, según la muestra empleada. <sup>(46)</sup>

### 5. TECNICA HISTOLÓGICA.

Se denomina técnica histológica al conjunto de procedimientos aplicados a un material biológico (animal o vegetal) con la finalidad de prepararlo y conferirle las condiciones óptimas para poder observar, examinar y analizar sus componentes morfológicos a través de los microscopios fotónico y electrónico. <sup>(53)</sup>

#### 5.1. PROCEDIMIENTOS INMEDIATOS O VITALES.

Permiten la observación y el estudio de protozoarios, células sanguíneas, descamadas o disociadas y suspendidas en los líquidos de su hábitat natural u otro que lo reemplace. Para una observación óptima suelen utilizarse tipos especiales de microscopios fotónico, como el de campo oscuro o el de contraste de fases: observación al estado fresco. <sup>(54)</sup>

La observación al estado fresco generalmente se utiliza para examinar seres unicelulares o metazoarios microscópicos, células descamadas o disociadas, estructuras muy delgadas y translúcidas, cultivo de tejidos. <sup>(54)</sup>

En ciertos casos cuando se requiere destacar alguna estructura celular o tisular, se pueden emplear ciertas sustancias colorantes inocuas para la vida de las células y que tampoco modifican la estructura ni interfieren en sus funciones. A este procesos e le conoce como *coloración vital*. <sup>(54)</sup>

La coloración vital puede ser de dos tipos: <sup>(54)</sup>

- Coloración intravital. Consiste en la administración de colorantes vitales a través de las vías digestivas e intratraqueal, sanguínea, linfática, subcutánea o intraperitoneal, para demostrar actividad fagocítica de ciertas células, o calcular la cantidad de determinados organelos celulares como las mitocondrias. La solución de uso más frecuente son tinta china, carmín de litio, azul tripan (partículas que demuestran la capacidad fagocítica). <sup>(54,54)</sup>
- Coloración supravital. Se emplean colorantes que se aplican a células o porciones tisulares extraídas de órganos vivos. Este tipo de coloración demuestra de manera específica componente celulares. <sup>(54,55)</sup>

## 5.2. PROCEDIMIENTOS MEDIATOS O POSVITALES.

Tienen por finalidad preparar células, tejidos y órganos procedentes de seres en los que los procesos vitales se han detenido y es necesario conservar la estructura que tenían en vida. <sup>(54)</sup>

De manera general, para alcanzar este objetivo es necesario e indispensable realizar los siguientes pasos: toma de muestra, fijación, inclusión, microtomía, coloración o tinción y montaje. <sup>(54)</sup>

## 5.3. TOMA DE MUESTRA.

Existen diversos procedimientos que permiten obtener muestras de tejidos y órganos para conseguir preparaciones histológicas de buena calidad. Estos son: <sup>(54)</sup>

- **Biopsia** (del griego bios =vida y ophis =visión): consiste en la toma de un fragmento de tejido u órgano de un ser vivo. Puede ser incisional, excisional, por sacabocado, por punción y absorción, por raspado, por trepanación. <sup>(54)</sup>
- **Necropsia**: las muestras se obtienen de seres muertos. <sup>(54)</sup>

## 5.4. FIJACIÓN.

Procedimiento cuya finalidad al aplicarlo es detener la vida de las células e impedir modificaciones postmortem que éstas puedan sufrir (procesos autolíticos), manteniendo la estructura morfológica de las mismas como la de los tejidos sin que ocurran cambios notables en ellos. La inmovilización o fijación de las proteínas se produce por coagulación o precipitación de las mismas. Toda esta actividad la realizan los agentes químicos denominados fijadores, que se pueden clasificar en dos grandes grupos: <sup>(54)</sup>

- **Oxidantes**, como el tetraóxido de osmio (ácido ósmico), el bicromato de potasio, ácido crómico, bicloruro de mercurio o “sublimado corrosivo”, ácido pícrico, ácido acético y otros. <sup>(54)</sup>
- **Reductores**, como el formaldehído, el glutaraldehído, el alcohol metílico, entre otros. <sup>(54)</sup>

## 5.5. DESHIDRATACIÓN, ACLARAMIENTO Y PRIMER PASO DE INCLUSIÓN EN PARAFINA.

Proceso que se lleva acabo con el histoquinete que tiene varias concentraciones crecientes de alcohol y esté proceso lleva aproximadamente 12 horas.<sup>(54)</sup> Los pasos a seguir para la inclusión de las muestras en parafina son:<sup>(53)</sup>

- Deshidratación (concentraciones crecientes de alcohol).<sup>(54)</sup>
- Impregnación en el solvente (a este paso también se le denomina aclaración o diafanización con xilol).<sup>(54)</sup>



Figura 29. Histoquinete.



## 5.6. INCLUSIÓN EN PARAFINA

Los tejidos fijados adquieren cierta dureza y consistencia pero no la suficiente para que de ellos se puedan obtener secciones delgadas, que al ser atravesadas por los rayos luminosos de microscopio ofrezcan la imagen adecuada de sus componentes, por lo tanto se incluyen en parafina para así formar bloques para poder realizar los cortes ultra finos que se necesitan. <sup>(54)</sup>

## 5.7. MICROTOMÍA U OBTENCIÓN DE LOS CORTES.

Las secciones delgadas o “cortes” se obtienen utilizando instrumentos mecánicos diseñados para que, en forma más o menos automática, seccionen el bloque de parafina en cortes delgados y de grosor uniforme <sup>(543)</sup>. Los cortes deben tener un espesor de entre 2 y 4  $\mu\text{m}$  de espesor <sup>(54,55)</sup>



Figura 30. Micrótopo.

## 5.8. COLORACIÓN O TINCIÓN.

El procedimiento de coloración o tinción consiste en que una estructura celular o tisular adquiere específicamente un color bajo la acción de una sustancia colorante. Se considera que una estructura se ha coloreado o teñido cuando al ser lavada con el líquido que disuelve al colorante no se decolora. Se denomina sustancia colorante a aquella que puede transferir su color a otro cuerpo. <sup>(54, 55)</sup>

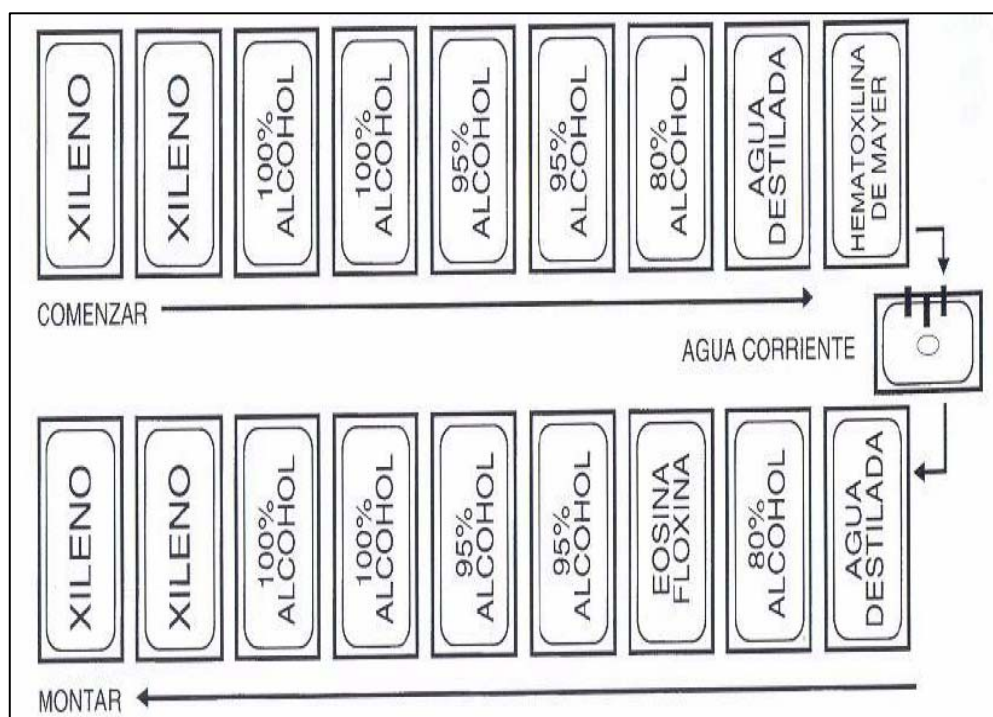


Figura 31. Tren de tinción.

Existen dos teorías que explican el procedimiento de coloración: <sup>(54)</sup>

**TEORÍA FÍSICA.** Considera que la coloración es un proceso físico de adsorción. De acuerdo con ello las partículas de las sustancias colorantes disueltas penetran en los espacios intra e intercelulares en los que se mantiene adheridas en razón de la cohesión molecular. Por ejemplo, la coloración de las grasas o lípidos es una tinción puramente física, pues el Sudan III o el Sudan IV son absorbidos por la facilidad que tienen para disolverse en estas sustancias. <sup>(503)</sup>

**TEORÍA QUÍMICA.** El colorante se une a la sustancia colorable íntimamente debido a la presencia de agrupaciones moleculares ácidas o básicas en los componentes celulares o tisulares, que se unen a los cromógenos básicos y ácidos de los colorantes, respectivamente. Así se forman sales insolubles; de acuerdo a esta teoría los colorantes se unen (ligan) a los tejidos por enlaces iónicos, covalentes o de hidrógeno. <sup>(53)</sup>

El enlace iónico o electrostático ocurre cuando el colorante y la sustancia que se va a teñir desarrollan diferentes cargas eléctricas y entonces se atraen la una a la otra; por ejemplo el citoplasma se colorea porque las proteínas citoplasmáticas poseen carga eléctrica (+) y las partículas del colorante carga eléctrica (-). <sup>(53)</sup>

Existen varios criterios para clasificar a los colorantes. Por su origen pueden ser naturales y artificiales (sintéticos). Los colorantes naturales se extraen de: <sup>(53)</sup>

- Animales, como el carmín, que se extrae de la cochinilla. <sup>(53)</sup>
- Vegetales, como la hematoxilina, obtenida de la corteza de un árbol, el “Palo de Campeche”. <sup>(53)</sup>

Los colorantes artificiales o sintéticos son productos derivados de la destilación de la hulla o carbón. Genéricamente se conocen como colorantes derivados de la anilina. <sup>(53)</sup>

#### **Los colorantes artificiales y sintéticos se clasifican en:**

- a) Ácidos: sales cuya parte básica es incolora y el componente básico posee color. Los colorantes ácidos poseen carga eléctrica negativa, por lo tanto la designación correcta sería denominarlos colorantes aniónicos. Las sustancias que atraen eléctricamente a los colorantes ácidos se denominan “acidófilas” y químicamente están compuestas por componentes básicos o alcalinos. Ejemplos: eosina, amarillo de metileno, fuscina ácida, ácido pícrico, verde rápido, naranja G, sacarina, azul de anilina, etc. <sup>(54)</sup>

- b) Básicos: son sales que poseen la base coloreada y la porción ácida incolora. Poseen una carga eléctrica positiva y por lo tanto son colorantes catiónicos. Se les denomina también colorantes nucleares, pues tienen afinidad por los ácidos nucleicos. Las sustancias tenidas por los colorantes básicos se denominan “basófilas” y están constituidas por componentes ácidos. Ejemplos: hematoxilina, rojo nuclear, azul de metileno, tionina, azul de toluidina, fuscina básica. <sup>(53,54)</sup>
  
- c) Neutros: son sales en las que tanto la parte básica como la parte ácida proporcionan color; por ejemplo, el eosinato de azul de metileno. Estos colorantes tienen la propiedad de teñir de manera simultánea los componentes nucleares y citoplasmáticos, inclusive pueden proporcionar colores distintos a determinados componentes citoplasmáticos como las granulaciones específicas de los granulocitos (cierto tipo de glóbulos blancos o leucocitos). Forman parte de las formulas colorantes para frotis de sangre como los colorantes de Wright, May Grunwald, Giemsa, Leischman, etc. <sup>(53,54)</sup>
  
- d) Indiferentes: no forman sales. Son compuestos no iónicos incapaces de la disociación electrolítica. Son insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos como el alcohol y también las grasas o lípidos y, aunque ellos poseen color, en realidad estrictamente hablando, no son colorantes. Basándose en que son solubles en las grasas, estas sustancias se utilizan para demostrar la presencia de ellas en células y tejidos, pues tiñen respectivamente los lípidos. Ejemplo: Sudan negro, Sudan III, Sudan IV, rojo oleoso. <sup>(53,54)</sup>

Existe una serie de procedimientos por los que las células y los tejidos son coloreados por las sustancias colorantes. De acuerdo con ellos, las coloraciones se clasifican en: <sup>(53,54)</sup>

- Coloración directa o sustantiva: es la tinción que se ejerce sobre células y tejidos cuando estos se ponen en contacto con la solución colorante; el resultado indica una verdadera afinidad entre tejido y colorante. Ejemplo, tinción de los núcleos por azul de metileno. <sup>(53,54)</sup>
  
- Coloración indirecta o adjetiva. Para que se lleve a efecto la coloración es indispensable recurrir al empleo de sustancias intermediarias que faciliten la adhesión del colorante en las estructuras tisulares. La sustancia intermediaria que se utiliza se denomina “laca”. La mayoría de las soluciones colorantes de hematoxilina requiere un mordiente para que este colorante coloree. <sup>(53,54)</sup>

- Coloración progresiva. Se refiere a la marcha misma de la coloración y consiste en que los tejidos se ponen en contacto con la solución colorante para que, conforme transcurre el tiempo de coloración, el tejido, de manera progresiva, alcance la intensidad de tinción deseada. En ese momento se detiene la coloración mediante lavado y la eliminación del colorante sobrado. <sup>(53,54)</sup>
- Coloración regresiva. En este caso los tejidos se sobre colorean con la solución de coloración para someterlos después a la acción de una sustancia denominada diferenciador, con la finalidad de extraer parte del colorante. Mediante la observación al microscopio, el proceso de diferenciación se detiene cuando los componentes celulares o tisulares a colorear alcanzan la tensión deseada. <sup>(53,54)</sup>
- Coloración simple. Se denomina así al procedimiento de coloración en el que se utiliza un solo colorante para teñir algún componente celular o tisular. Por ejemplo teñir los núcleos con tiónina. <sup>(53,54)</sup>
- Coloración compuesta. Consiste en la aplicación de varios colorantes a una muestra de tejido u órgano con la finalidad de destacar mediante colores diferentes estructuras específicas que forman parte de ella. De acuerdo con esta clasificación las coloraciones pueden ser a su vez: <sup>(53,54)</sup>
  - a. Simultanea: cuando en una misma solución de coloración se mezclan varios colorantes. Ejemplo: las soluciones colorantes de algunos tricrómicos como el de Van Gieson (fucsina ácida y ácido pícrico), el de Mallory (azul de anilina y naranja G) o el de Shor (verde brillante, fucsina ácida y naranja G). <sup>(54,55)</sup>
  - b. Sucesiva: consiste en aplicar a los tejidos soluciones sucesivas de varios colorantes con la finalidad de que ciertos componentes se tiñan con algunos de ellos. Ejemplo H y E. <sup>(54,55)</sup>
- Coloración ortocromática. Se conoce así a la acción de coloración que ejerce un colorante al teñir una determinada estructura con su propio color. La gran mayoría de los colorantes producen coloración ortocromática. <sup>(54,55)</sup>
- Coloración metacromática. Es una reacción de coloración que consiste en que un colorante, además de ceder su propio color a una estructura celular o tisular también tiñe de otro color distintas otras estructuras. <sup>(54,55)</sup>

- Coloración pancromática. Es producida por la actividad tintorial de los colorantes neutros. En este caso tanto porción ácida como básica como ácida ejercen su acción de tinción, pero además ciertos componentes celulares se tiñen de colores diferentes a los originales, adquiriendo tonalidades que resultan de la mezcla de ellos. Ejemplo: tinción de un frotis de sangre con Wright, May Grunwald, Giemsa o Leischman hace que las plaquetas o leucocitos muestren granulaciones específicas e inespecíficas fácilmente diferenciables por esta capacidad pancromática del colorante. (53,54)

## 6. TINCIÓN GIEMSA.

Por más de 90 años, la tinción Romanowsky-Giemsa (RG) ha ganado una reputación sin par en citología hemática. La real contribución de la tinción de RG a la histoquímica, sin embargo, apenas ha comenzado. (55)

A pesar de sus méritos indiscutibles, la tinción RG sigue sin recibir la aceptación que esta merece entre los histoquímicos. Razones para este escepticismo son la notoria caprichosidad de la tinción y la insuficiente penetración en relación tinción-substrato, convirtiéndose gradualmente en la convicción de que las condiciones estequiométricas para la tinción RG no pueden ser alcanzadas y así los análisis automatizados de imágenes de esta tinción carecerían de una base teórica apropiada. La segunda condición es de poca significancia puesto que hay pocas tinciones en citología automatizada cuyos fundamentos teóricos son propiamente entendidos (Zimmermann, 1983). (55)

La tinción de Giemsa es nombrada así por Gustav Giemsa, quien era la cabeza del departamento de química en el instituto de enfermedades marítimas y tropicales en Hamburgo, Alemania. (55)

En 1981, Romanowsky mezcló eosina Y, y azul de metileno para diferenciar células sanguíneas tenidas y parásitos de la malaria. Varias técnicas fueron tratadas a través de los diez años siguientes para mejorar la tinción, reducir su inestabilidad, y eliminar precipitaciones, incluyendo tratar diferentes métodos de oxidación del azul de metileno; usando soluciones de metanol en lugar de acuosas. (56)

Varios Investigadores contribuyeron en mejoras de la tinción, sin embargo fue Giemsa (1867-1948), farmacéutico, químico y bacteriólogo quien identificó la tinción como azure básico B, quien encontró una mejor manera de controlar la oxidación de la tinción, y la combinó con eosina en una mezcla de glicerina-metanol que creó una solución más estable con resultados reproducibles. Su artículo fue publicado en 1904 y su formulación sigue siendo usada a la fecha. (56)

- Coloración pancromática. Es producida por la actividad tintorial de los colorantes neutros. En este caso tanto porción ácida como básica como ácida ejercen su acción de tinción, pero además ciertos componentes celulares se tiñen de colores diferentes a los originales, adquiriendo tonalidades que resultan de la mezcla de ellos. Ejemplo: tinción de un frotis de sangre con Wright, May Grunwald, Giemsa o Leischman hace que las plaquetas o leucocitos muestren granulaciones específicas e inespecíficas fácilmente diferenciables por esta capacidad pancromática del colorante. (53,54)

## 6. TINCIÓN GIEMSA.

Por más de 90 años, la tinción Romanowsky-Giemsa (RG) ha ganado una reputación sin par en citología hemática. La real contribución de la tinción de RG a la histoquímica, sin embargo, apenas ha comenzado. (55)

A pesar de sus méritos indiscutibles, la tinción RG sigue sin recibir la aceptación que esta merece entre los histoquímicos. Razones para este escepticismo son la notoria caprichosidad de la tinción y la insuficiente penetración en relación tinción-substrato, convirtiéndose gradualmente en la convicción de que las condiciones estequiométricas para la tinción RG no pueden ser alcanzadas y así los análisis automatizados de imágenes de esta tinción carecerían de una base teórica apropiada. La segunda condición es de poca significancia puesto que hay pocas tinciones en citología automatizada cuyos fundamentos teóricos son propiamente entendidos (Zimmermann, 1983). (55)

La tinción de Giemsa es nombrada así por Gustav Giemsa, quien era la cabeza del departamento de química en el instituto de enfermedades marítimas y tropicales en Hamburgo, Alemania. (55)

En 1981, Romanowsky mezcló eosina Y, y azul de metileno para diferenciar células sanguíneas tenidas y parásitos de la malaria. Varias técnicas fueron tratadas a través de los diez años siguientes para mejorar la tinción, reducir su inestabilidad, y eliminar precipitaciones, incluyendo tratar diferentes métodos de oxidación del azul de metileno; usando soluciones de metanol en lugar de acuosas. (56)

Varios Investigadores contribuyeron en mejoras de la tinción, sin embargo fue Giemsa (1867-1948), farmacéutico, químico y bacteriólogo quien identificó la tinción como azure básico B, quien encontró una mejor manera de controlar la oxidación de la tinción, y la combinó con eosina en una mezcla de glicerina-metanol que creó una solución más estable con resultados reproducibles. Su artículo fue publicado en 1904 y su formulación sigue siendo usada a la fecha. (56)

La tinción Giemsa miembro de grupo de tinciones Romanowsky , que es conocida como el precipitado negro <sup>(57)</sup>, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azur B, glicerina y alcohol metílico.<sup>(63)</sup> Las variantes del grupo Romanowsky difieren en el grado de oxidación (policromación) del azul de metileno antes de la precipitación.<sup>(56)</sup>

La tinción fue originalmente diseñada para incorporar tinciones citoplasmáticas (rosa) con tinción nuclear (púrpura) y fijación como un solo paso para frotis y películas muy delgadas de tejido. Modificaciones menores de trabajo en concentración de tinción y tiempo de tinción han sido hechas a través de los años para secciones fijadas de tejidos. Las tinciones Romanowsky son extremadamente tediosas de preparar, y es mejor comprar las tinciones comercialmente disponibles. La tinción debe ser diluida para su uso con un buffer de p H 6.8, 7.2, dependiendo del procedimiento específico a realizar. También debe ser probado para una propia reacción de tinción antes de su uso<sup>(58)</sup>. El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor de pH de la solución tampón, las sustancias tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación. (*Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa para microscopia*). Es estable por años mientras se mantenga en un ambiente seco y la dilución de trabajo acuosa es buena solo por un día.<sup>(57)</sup>

## 6.1. USOS.

Permite la tinción de zonas de alto contenido de ADN y concretamente de uniones A-T, esto permite distinguir perfectamente al microscopio óptico el núcleo celular, los cromosomas durante la mitosis y en algunos casos el ADN mitocondrial.<sup>(63)</sup> Como tinción diferencial. Puede ser usada para estudiar la adherencia de bacterias patógenas a células humanas. Tiñe diferencialmente células humanas y bacterianas púrpuras y rosas respectivamente. Es clásica en tinción de frotis sanguíneo periférico y de medula ósea. En bandeado cromosomal - Giemsa, para teñir cromosomas y usualmente para crear un cariotipo, pueden identificarse aberraciones cromosomales como traslocaciones e intercambios.<sup>(57,58)</sup>

## 6.2. MATERIAL.

### A. REACTIVOS.<sup>(57)</sup>

1. Giemsa.
2. Giemsa buffer.

### B. EQUIPO.<sup>(57)</sup>

1. Microscopio, binocular mecánico; objetivos bajo (10x), alto seco (40x) e inmersión en aceite (100x).
2. Tiempo, 1 hrs. o más en 1-min. incrementos.



### 6.3. COMPOSICIÓN. <sup>(57)</sup>

| Nombre químico | Porcentaje (%) |
|----------------|----------------|
| Tinción giemsa | 1              |
| Metanol        | 49.5           |
| Glicerina      | 49.5           |

### 6.4. PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS. <sup>(59)</sup>

Estado Físico: Líquido

Color: Purpura oscuro

Solubilidad en agua.

Gravedad/densidad específica: 1.05

### 6.5. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

*Estabilidad química:* estable bajo temperaturas y presiones normales.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre + 5° C y +30 ° C, la solución de tinción entre +15 y +25° C. La solución y colorante pueden usarse hasta la fecha de caducidad indicada. <sup>(60)</sup>

*Condiciones a evitar:* temperaturas altas, fuentes flamables. <sup>(60)</sup>

*Incompatibilidad con otros materiales:* agentes oxidantes, agentes reductores, ácidos, metales alcalinos, potasio, sodio, polvos de metales, ácido anhídrido, ácido clorhídrico, polvo de aluminio, polvos de magnesio, permanganato de potasio, cáusticos (Ej., amonio, calcio, etc.), isocianatos, aminas alifáticas. <sup>(59,60)</sup>

### 6.6. PRODUCTOS DE DESCOMPOSICIÓN PELIGROSOS.

Monóxido de carbono, gases y humos irritantes y tóxicos, dióxido de carbono, formaldehído. <sup>(59)</sup>

### 6.7. PRECAUCIONES.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Lavar las manos copiosamente después del manejo. Usar Lentes de protección, guantes y ropa para prevenir exposición de la piel; Remover ropa contaminada y lavar después del uso. Evitar contacto con los ojos, piel y ropa. Mantener los contenedores de residuos bien cerrados. No ingerir o inhalar. Puede causar daño al hígado y riñones. No presurizar, cortar, taladrar o exponer a calor o flama los contenedores vacíos de rutina. Usar solo con adecuada ventilación. Evitar su uso en lugares cerrados. <sup>(59)</sup>

## **6.8. CARCINOGENICIDAD.**

Carcinogenicidad no listada en ningún reactivo. El metanol es considerado un peligro potencial del desarrollo en datos obtenidos en animales. En animales de experimentación, el metanol ha causado fototoxicidad o efectos teratógenos sin toxicidad maternal. No hay información disponible en humanos. <sup>(59)</sup>

## **6.9. ALMACENAMIENTO.**

En lugares no inflamables, alejado de oxidantes y otros materiales incompatibles, no almacenar en contenedores no marcados, mantenerlos bien cerrados, a temperatura ambiente (18 a 26°C), Indicar fecha de caducidad de reactivo en la etiqueta. <sup>(59, 60,61)</sup>

## **6.10. INDICACIÓN PARA LA ELIMINACIÓN DE RESIDUOS.**

Las soluciones usadas y las soluciones caducas deben eliminarse como desechos especiales, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. <sup>(63)</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal (**TUGSE** por sus siglas en ingles) es una entidad benigna autolimitante de baja incidencia, la cual mimetiza con lesiones neoplásicas malignas y por tal motivo su tratamiento es quirúrgico, actualmente su etiología es controversial, pero existe la teoría no investigada en profundidad de su relación con agentes bacterianos infecciosos como lo es *Helicobacter pylori*, siendo este microorganismo polémico con respecto a su relación con la cavidad bucal y en este caso con **TUGSE**; por tal motivo es necesario realizar métodos de diagnóstico adecuados para la identificación de esta bacteria en dicha entidad. En su primera etapa se utilizaran tinciones histoquímicas y así poder establecer una primera asociación como factor causal de esta entidad y su tratamiento adecuado; por lo tanto la pregunta de investigación es la siguiente, ¿Es posible identificar *Helicobacter pylori* como factor causal de **TUGSE** identificándolo con tinciones histoquímicas?

## JUSTIFICACIÓN.

Debido a que la etiología del **TUGSE** permanece no esclarecida por completo ya que la mayor parte de los autores lo asocian a trauma crónico y la hipótesis de la posible asociación con el *Helicobacter pylori* como factor causal, se llevara a cabo una primera fase de investigación en la cual se realizara las tinciones Giemsa en especímenes diagnosticados en el Laboratorio de Patología Bucal de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la UNAM, en el periodo comprendido del año 1963 al año 2007 y así poder comprobar su relación.

## OBJETIVO GENERAL.

Identificar por medio de la tinción histoquímica Giemsa la presencia de *Helicobacter pylori* en todos los especímenes diagnosticados como **TUGSE**.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Determinar la incidencia de **TUGSE**.
- Identificar la frecuencia de acuerdo al género y edad de especímenes diagnosticados como **TUGSE**.

## TIPO DE ESTUDIOS.

Restrospectivo.

## **UNIVERSO DE ESTUDIO.**

Casos diagnosticados como úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM del año 1963 a 2007

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

Todos los casos diagnosticados como **TUGSE** durante el período comprendido de 1963 a 2007 que cuenten con los bloques de parafina y tejido remanente.

## **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

Muestra insuficiente, deterioradas o en mal estado de conservación para realizar cortes y la consecuente tinción de Giemsa.

## **CRITERIO DE ELIMINACIÓN.**

Aquellos casos que no fueron diagnosticados como **TUGSE**.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

### **MATERIAL**

#### **Reactivos y solución.**

- Solución de Eosin- Azure II.
- Solución de tinción May-Grunwald.
- Hemacolor 3.
- 0.25% Ácido acético: ácido acético 25.0 ml, agua destilada 1000.0 ml
- Solución de trabajo Giemsa (estable por un año).
- Xilol.
- Xilol/alcohol 96%.
- Alcoholes 70%,96% y al 100%.

## **Equipo.**

- Potenciómetro
- Micrótopo
- Agitador Magnético
- Laminillas
- Cubreobjetos
- Horno
- Tren de tinción
- Microscopio, binocular mecánico; objetivos bajo(10x), alto seco(40x) e inmersión en aceite (100x);

## **METODOLOGÍA**

Se acudió al archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental donde se identificaron los casos de casos diagnosticados como **TUGSE** a partir de 1963 a 2007 de los mismos se obtuvieron los bloques de parafina, y se realizaron cortes Histológicos a 6 µm de espesor, posteriormente se realizaron dos cortes uno para tinción de rutina con hematoxilina y eosina; el segundo corte será utilizado para la tinción de Giemsa.

Cada uno de los cortes será evaluado por el tesista así como el tutor, los hallazgos se registraran en una tabla que contendrá número consecutivo, número de registro, diagnóstico, hallazgo por tinción (positivo o negativo) tabla 1, así mismo se fotografiarán todos los casos.

## **TÉCNICA DE TINCIÓN HISTOQUÍMICA.**

### **TINCIÓN DE GIEMSA.**

Las laminillas utilizada se desparafinaron en horno a 50 °C de 45 min. 1 hr. Posteriormente se desparafinan los portaobjetos en 3 cambios de xilol 3 a 5 minutos cada uno) seguido por tres cambios de alcohol 100 % (3 a 5 minutos cada uno)

- Xilol durante 2 minutos
- Xilol durante 2 minutos
- Xilol /alcohol 96% durante 5 minutos
- Alcohol 100% durante 3 minutos
- Alcohol 96% durante 3 minutos
- Alcohol 70% durante 3 minutos

## **HIDRATACIÓN.**

- Agua destilada 3 minutos.
- Coloque las laminillas en una reja para tinción y sumérjalas en Eosina durante 2 minutos.
- Escurrir el exceso de tinción.
- Hemacolor 3, (filtrarlo) por 3 minutos.
- Enjuague rápidamente en agua destilada, 2 inmersiones, de un segundo cada una.
- Enjuague en ácido acético al 0.25 %, 2 inmersiones rápidas, de un segundo cada una.
- Enjuagar rápidamente en agua destilada, 2 inmersiones, de un segundo cada una.

## **RESULTADO:**

Helicobacter - azul oscuro.

Elementos tisulares gamas de azul y rosa.

## **TINCIÓN DE HEMATOXILINA Y EOSINA.**

1. Desparafinar y llevar hasta agua o fijar e hidratar los cortes congelados.
2. Teñir con hematoxilina.
3. Aclarar los portaobjetos con agua corriente del grifo.
4. Diferenciar si se utiliza hematoxilina regresiva. Aclarar con agua corriente del grifo.
5. Azular en concentrado de Scott sustituto del agua corriente.
6. Aclarar con agua corriente del grifo.
7. Aclarar los portaobjetos en etanol al 95 % o en alcohol reactivo durante 30 segundos.
8. Contrateñir con solución de eosina Y alcohólica (de 30 segundos a 3 minutos).
9. Deshidratar, aclarar y montar.

Resultado: El citoplasma debe ser de color rosa a rojo. Los núcleos deben ser de color azul a azul-negro, según la hematoxilina utilizada.

## **DESHIDRATACIÓN Y MONTAJE**

Sumergir los portaobjetos en:

- Alcohol 96% durante 3 minutos
- Alcohol 96% durante 3 minutos
- Alcohol 70% durante 3 minutos

- Xilol durante 2 minutos
- Xilol durante 2 minutos
- Xilol /alcohol 96% durante 5 minutos
- Monte los portaobjetos con medio de montaje permanente no acuoso utilizando cubreobjetos de vidrio.

(Sumerja los portaobjetos en etanol al 96% durante 1 minuto o 25 inmersiones, sumerja...en alcohol absoluto con 4 cambios durante 1 minuto o 25 inmersiones, aclare en xilol con 3 cambios, durante un minuto cada uno o realice 25 inmersiones,)

## RESULTADOS.

En el período comprendido de 1963 al 2007 se obtuvieron 17155 especímenes diagnosticados en el Laboratorio de Patología Experimental y Clínica de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, de donde se identificaron en la base de datos un total de 322 especímenes sin diagnóstico. Durante este período se obtuvieron 10 casos diagnosticados como **TUGSE**, de los cuales sólo 9 tuvieron bloque de parafina para poder llevar a cabo los cortes en blanco correspondientes para realizar las 4 tinciones respectivas. Cabe mencionar que del total de especímenes diagnosticados en el archivo del Laboratorio de Patología se identificaron un total de 50 diagnósticos de úlceras, de las cuales 35 correspondieron a úlceras traumáticas, 12 diagnosticadas como úlceras inespecíficas y 3 diagnosticadas como úlceras aftosas.

Se obtuvieron 9 especímenes diagnosticados como **TUGSE** donde 3 de ellos fueron del género masculino y 6 del género femenino, con edad promedio de 43 años, edad mínima de 10 años y máxima de 76 años, la localización más frecuente fue borde lateral de lengua en 7 casos 1 en mucosa yugal y 1 en encía. (Tabla1).

Cada uno de los cortes obtenidos de los bloques de parafina fueron examinados en microscopio de luz con objetivo de inmersión, destacando que en los cortes teñidos con hematoxilina y eosina de los nueve casos no se identificaron ningún tipo de estructura que hiciera sospechar en formas bacterianas; sin embargo de acuerdo a los hallazgos obtenidos con la tinción de Giemsa en todos los especímenes diagnosticados como **TUGSE**, se concluye que solo tres de los especímenes fueron positivos (no. 4, no. 5, no. 8) encontrando estructuras compatibles con formas bacterianas de aspecto granular; en tanto que seis especímenes fueron negativos para dicha tinción. En la tabla 1, se identifican los

- Xilol durante 2 minutos
- Xilol durante 2 minutos
- Xilol /alcohol 96% durante 5 minutos
- Monte los portaobjetos con medio de montaje permanente no acuoso utilizando cubreobjetos de vidrio.

(Sumerja los portaobjetos en etanol al 96% durante 1 minuto o 25 inmersiones, sumerja...en alcohol absoluto con 4 cambios durante 1 minuto o 25 inmersiones, aclare en xilol con 3 cambios, durante un minuto cada uno o realice 25 inmersiones,)

## RESULTADOS.

En el período comprendido de 1963 al 2007 se obtuvieron 17155 especímenes diagnosticados en el Laboratorio de Patología Experimental y Clínica de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, de donde se identificaron en la base de datos un total de 322 especímenes sin diagnóstico. Durante este período se obtuvieron 10 casos diagnosticados como **TUGSE**, de los cuales sólo 9 tuvieron bloque de parafina para poder llevar a cabo los cortes en blanco correspondientes para realizar las 4 tinciones respectivas. Cabe mencionar que del total de especímenes diagnosticados en el archivo del Laboratorio de Patología se identificaron un total de 50 diagnósticos de úlceras, de las cuales 35 correspondieron a úlceras traumáticas, 12 diagnosticadas como úlceras inespecíficas y 3 diagnosticadas como úlceras aftosas.

Se obtuvieron 9 especímenes diagnosticados como **TUGSE** donde 3 de ellos fueron del género masculino y 6 del género femenino, con edad promedio de 43 años, edad mínima de 10 años y máxima de 76 años, la localización más frecuente fue borde lateral de lengua en 7 casos 1 en mucosa yugal y 1 en encía. (Tabla1).

Cada uno de los cortes obtenidos de los bloques de parafina fueron examinados en microscopio de luz con objetivo de inmersión, destacando que en los cortes teñidos con hematoxilina y eosina de los nueve casos no se identificaron ningún tipo de estructura que hiciera sospechar en formas bacterianas; sin embargo de acuerdo a los hallazgos obtenidos con la tinción de Giemsa en todos los especímenes diagnosticados como **TUGSE**, se concluye que solo tres de los especímenes fueron positivos (no. 4, no. 5, no. 8) encontrando estructuras compatibles con formas bacterianas de aspecto granular; en tanto que seis especímenes fueron negativos para dicha tinción. En la tabla 1, se identifican los



nueve casos diagnosticados como **TUGSE**, donde se señala como (+) a los casos positivos y con el símbolo (–) a los casos negativos. (Tabla 2).

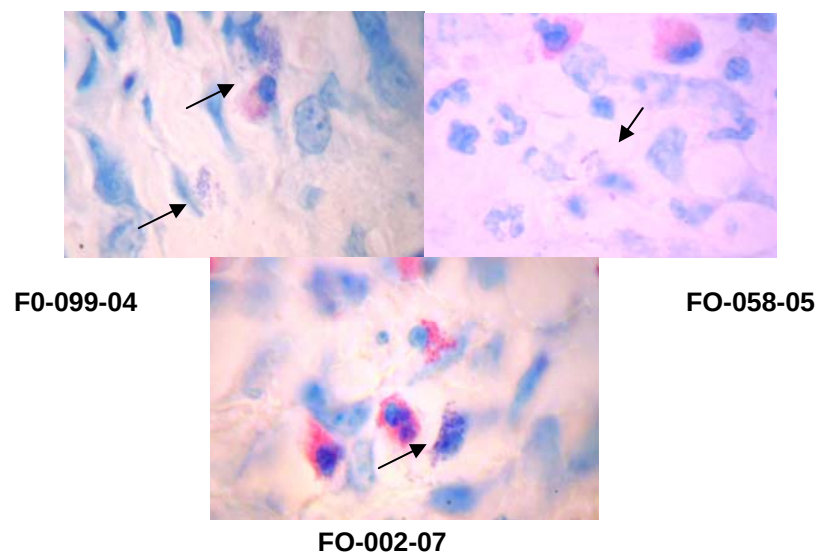
| No, ESPECIMEN | EDAD (años) | GENERO | LOCALIZACION                         |
|---------------|-------------|--------|--------------------------------------|
| FO-170-01     | 65          | M      | Mucosa yugal.                        |
| FO-201-02     | 62          | M      | Encía anterior superior.             |
| FO-072-04     | 76          | F      | Borde de lengua.                     |
| FO-99-04      | 30          | F      | Borde lateral de lengua.             |
| FO-59-05      | 34          | F      | Tercio posterior lingual.            |
| FO-72-05      | 57          | F      | Borde lateral de lengua.             |
| FO-467-07     | 49          | F      | Fondo de saco de premaxila.          |
| FO-002-07     | 12          | M      | Borde anterior ventral de la lengua. |
| FO-032-07     | 10          | F      | Lengua.                              |

**TABLA 1.** Especímenes diagnosticados como TUGSE, donde se identifica genero, edad y localización de la biopsia tomada.

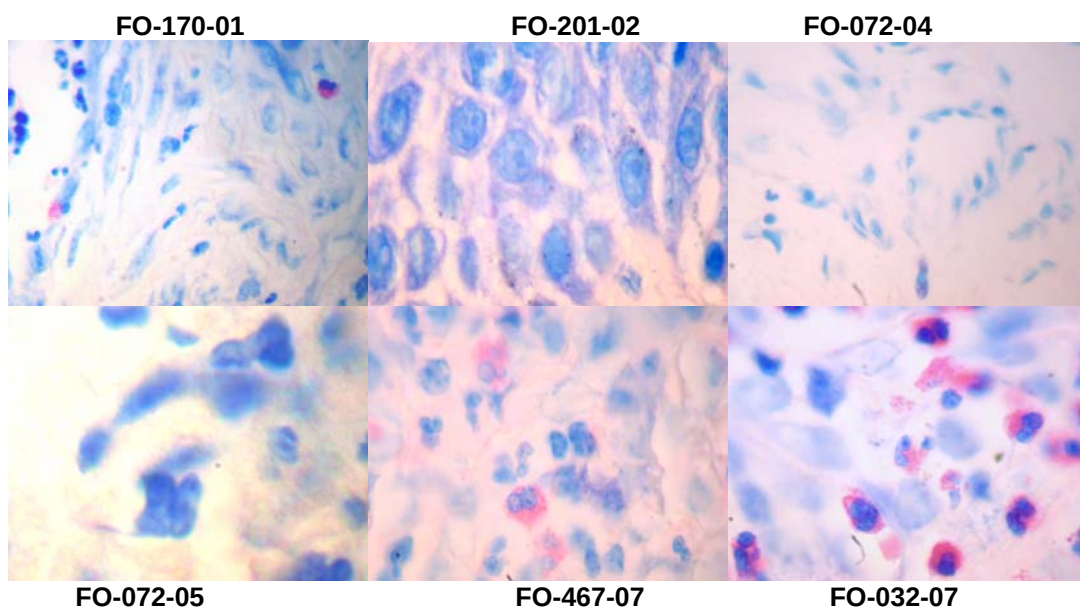
## ANEXO 1

|   |        |       |    | FO | DX | GIEMSA |
|---|--------|-------|----|----|----|--------|
| 1 | 170-01 | TUGSE | -- |    |    |        |
| 2 | 201-02 | TUGSE | -- |    |    |        |
| 3 | 072-04 | TUGSE | -- |    |    |        |
| 4 | 099-04 | TUGSE | +  |    |    |        |
| 5 | 058-05 | TUGSE | +  |    |    |        |
| 6 | 072-05 | TUGSE | -- |    |    |        |
| 7 | 467-07 | TUGSE | -- |    |    |        |
| 8 | 002-07 | TUGSE | +  |    |    |        |
| 9 | 032-07 | TUGSE | -- |    |    |        |

**TABLA 2. Especímenes diagnosticados como TUGSE, donde se identifica la presencia o ausencia de *Helicobacter pylori* por medio de signos: + (positivo) o – (negativo). Fuente directa.**



**Figura 32. Especímenes diagnosticados como positivos a *Helicobacter pylori* con Giemsa.**



**Figura 33. Especímenes diagnosticados como negativos a *Helicobacter pylori* con Giemsa.**

## CONCLUSIONES.

Se puede concluir que de acuerdo a los hallazgos que la presencia de formas bacterianas en los especímenes señalados como positivos corresponden a conglomerados de colonias de microorganismos con morfología cocoide que no pueden ser concluyentes para la identificación de formas bacterianas compatibles con *Helicobacter pylori*. Es importante mencionar que la identificación de este microorganismo se puede llevar a cabo de diferentes métodos, entre los cuales destacan las tinciones argénticas, inmunohistoquímica así como la identificación por medio de sondas de ADN.

El presente estudio corresponde a una primera fase de estudio para poder identificar por diversos medios la presencia de *Helicobacter pylori* en especímenes diagnosticados como **TUGSE**, esto debido a que este microorganismo es considerado agente causal de diversas alteraciones digestivas entre ella úlcera péptica y duodenal, así mismo recientes estudios como los de sugieren que *Helicobacter pylori* se puede presentar como un miembro más de la flora bacteriana bucal; es por ello que se pretende determinar la presencia de este microorganismo a la úlcera traumática granulomatosa con eosinofilia estromal (**TUGSE** por sus siglas en ingles) por medio de otras técnicas histoquímicas e inmunohistoquímicas para la identificación del microorganismo.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2003>
2. <http://www.dplat.org/journals/2005vol103>
3. <http://www.upch.pe/faest/publica/2003/vol13>
4. <http://www.emedicine.com/derm/topic666.htm>
5. Segura S, Romero D, J. Mascaró M Jr, Colombo L, \* Ferrando J and Estrach T. eosinophilic ulcer of the oral mucosa: another histological simulator of CD 30+lymphoproliferative disorders, Br J Dermatol, Aug ; 155,460-463pp;2006.
6. Hirshberg A, Amariglio N, Akris Sgharo, Yahalom R, Rosenbaum H, Traumatic Ulcerative Granuloma with Stromal Eosinophilia A Reactive Lesion of the Oral Mucosa, AJCP, volumen \_126,issue\_4;2006.
7. Baroni A, Capristo C, Rosello L, Facceda F, and Satriano R, Lingual Traumatic Ulceration (Riga- Fede disease). Int J of dermatology.45;1096-1097pp;2006.
8. Robbins, Cotran, Collins, Patología Estructural y Funcional, 7a edición, Editorial Elsevier. 77pp; 2005.
9. [www.patoral.umayor.cl/ulcerat/ulcerat.com](http://www.patoral.umayor.cl/ulcerat/ulcerat.com)
10. [www.clinicaeuroden.com/aftas-bucales.htm](http://www.clinicaeuroden.com/aftas-bucales.htm)
11. Riggo M.P, Lennon A, D.Wray, Detection of Helicobacter pylori DNA in recurrent aphthous stomatitis tissue by PCR. Journal of Oral Pathology and Med; 29(10)507-613 pp; 2000.
12. Netto J, M Victoria ,E. Kalapothakis, Correia J.F,R. Helicobacter pylori in recurrent aphthous stomatitis. J of Oral Pathology and Med 2003; 32(4)219-223; 2003.
13. Carpenter W. two approaches to diagnosis of lesions of the bucal mucosa, CDA Journal, vol 27 (8), 619-623pp; 1999.
14. [www.consejodedrogas.gov](http://www.consejodedrogas.gov)

15. [www.medynet.com/elmedico/aula](http://www.medynet.com/elmedico/aula)
16. [www.onephat.uthscsa.edu](http://www.onephat.uthscsa.edu)
17. Rodríguez Carranza R. Vademécum Académico de Medicamentos VAM, 3a edición, Ed Mc Graw Hill Interamericana, 745, 781, 826, 977 pp; 2001.
18. B Sivapathasundharam, S Lavanya, Traumatic ulcerative granuloma with stromal eosinophilia (TUGSE) ,Department of Oral Pathology and Microbiology, Meenakshi Ammal Dental College and Hospital, Chennai - 600 0, VOL9, 30-33 pp; 2005.
19. Elzay R.P. Traumatic ulcerative granuloma with stromal eosinophilia (Riga Fede's diseases and traumatic eosinophilic granuloma) Oral Surg Oral Med Oral Pathol, May 55 (5). 431-436pp; 1983.
20. Movassagui K, Goodman ml, Keith D, Ulcerative Eosinophilic granuloma: a report of five new cases. Br J Oral Maxillofacial Surgery, Feb; 31(1). Pp 115-117; 1996.
21. Littiefield, P.D.M.C, Quiz case3, TUGSE, Arch Otolaryngol Head Neck Surg, May; 126 (5); 678-682pp; 2000.
22. Meenakshi Ammal, Department of Oral Pathology and Microbiology, Dental College and Hospital, Chennai - 600 0, VOL9, 30-33 pp; 2005.
23. <http://epidemiologiamolecular.com/archives/1596>
24. A Córdova, fisiología dinámica, Ed Masson, Madrid, 262pp; 2003.
25. Terzioglu A. Bingul Ferruh MD, Aslan Gurcan MD, Lingual Traumatic Ulceration (Riga- Fede Disease) Br J Oral Maxillofacial Surg Jun; 41(3) 201pp; 2003.
26. [www.dermatology.cdlib.org](http://www.dermatology.cdlib.org)
27. El-Mofty SK, Swanson PE, Wick MR, Miller As., Eosinophilic ulcer of the oral mucosa, Report of 38 new cases with immunohistochemical observations, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Jun; 75 (6), 716-722 pp; 1993.
28. Regezi, Sciubba, Jordan, Oral pathology, clinical pathology correlations, 5th edition, Saunders Elsevier, 21-24 pp; 2008.
29. Neville BB, Oral and Maxillofacial Pathology, 3th edition, USA. Editorial Saunders; 287-290 pp; 2009-2002.

30. [www.histopat.es/tec-inm-histog.htm](http://www.histopat.es/tec-inm-histog.htm)
31. Miti Yasui E. Kimura R, Kawamura K, S.Akiyama,DDS,PhD, and Morisaki I,DDS,PhD,Sao Paulo ,Brazil & Osaka, Japan.A modified oral screen appliance to prevent self-inflicted oral trauma in an infantwith cerebral palsy :A case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol,april,97 (4),471-475 pp; 2004.
32. Gopalakrishnan, Rajaram BDS a; Miloro, Michael DMD, MD b; Allen, Carl M. DDS, MSD c, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, & Endodontics*. 82(2):119-121, August 1996.
33. Pumarola A, Microbiología y parasitología médica, 2a edición, Editorial Masson, 1958pp; 1992.
34. [www.medspain.com/ant/n11\\_abr00/revision.htm](http://www.medspain.com/ant/n11_abr00/revision.htm)
35. Steven Czinn, FAA, FACG, *Helicobacter pylori infection: Detection, investigation, and management*, The Journal of Pediatrics, Elsevier, Vol 146, Issue 3,521-526 pp; 2005.
36. Abdelfatattah M Attallah,Hisham Ismail, Gellan G Ibrahim,New Immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection,An International Journal of Gastroenterology and Hepatology, ,Research &Development Deparment,Biotechnology Research Center, New Damietta, Gastroenterology center, Egypt. July, Vol11, No.4, 775-779 pp; 2004.
37. Telford, JI, Ghara, D, DellÓrco M, *Helicobacter pylori* Med, pp 1653-1658pp.
38. Koneman, W, Elmer, Dx microbiológico Texto y Atlas a Color, Editorial Medica P panamericana 5e Edición; 2007.
39. Murria P, Rosenthal K, Kobayashi G, D Faller M, Microbiología Médica, 4ª edición, Ed. Elsevier, Mosby, 287-291pp; 2003.
40. Ferguson, D,LIC,patel,N,Mayberry,E.Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva.Journal of Clinical Microbiology,vol 31,Issue 10,2802-2804pp;1993.
41. Padrón, N, Fernández, E. *Helicobacter pylori* y enfermedad péptica ulcerosa, Revista Cubana de Medicina Integral, Vol 14, Issue 6, 9-627pp; 1998.
42. M,Czesnikiewicz-Guzik,E.Karczewska ,Assosoation of the Presence of Heliobacter pylori in the Oral Cavity and in the Stomach, Journal of Physiology and Pharmacology, , Deparment of Physiology and Dentistry Jagiellonian University, Cracow, Poland,55,suppl 2,105-115 pp;2004.

43. Premoli, G, González, A, Agulerac, Infection of *Helicobacter pylori* from Saliva, Journal of Clinical Microbiology. Vol 31, Issue 10, pp 2802-2804 pp; 1993.
44. Logan, R. Walker, M, Epidemiology and Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection, British Medical Journal. vol 323. Issue 920-2. Pp 920, 922 pp; 2001.
45. Hardin Frederick, Wright Richard, *Helicobacter pylori*: Review and UPDATE, Hospital Physician; pp 23-31 pp; 2002.
46. Rivas-Traveso F, Hernández F, *Helicobacter pylori*: Factores de Virulencia. Patología y Diagnóstico, Rev. Biomed, 11:187-205 pp; 2000.
47. Wolfe M, Terapéutica de los trastornos digestivos, Mc Graw Hill Interamericana, México DF, 90-1001 pp; 2000.
48. Berenguer J. (200). Gastroenterología y Hepatología, 3ª edición, Ediciones Harcourt, S. A. Elsevier, Madrid, España. 182-203 pp.
49. Cover, T.L & Blazer, M.J., Purification and Characterization of the Vacuolating Toxin from *H. pylori*, The Journal of BIOMEDICAL Chemistry, 15, 10575-11570 pp; 1992.
50. Adrian, M, Cover T.L, Dubochet, J., & Heuser, J.E. Multiple Oligomeric of the *Helicobacter Pylori* Vacuolating Toxin Demonstrated by Cryo-electron Microscopy. J. Mol. Biol. Pp 318, 121-133. pp; 2002.
51. Velasco C, Tratamiento de Infección por *Helicobacter pylori* asociada a gastritis en niños, Colombia Médica. 2205. Vol. 36. Issue 2. Pp 32-35.
52. Velasco Elizalde C, Diagnóstico serológico de *Helicobacter pylori* en endoscopistas, Servicio de gastroenterología Hospital General Docente Freyre de Andrade, La Habana Cuba; Madrid Feb; 2007.
53. Kosunen, T.U., Sélala, K., S., and Sipponen, P, Diagnostic value of decreasing IgG, IgA and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*, The Lancet, 339, 893-895 pp; 1992.
54. Teresa I. Fortoul van der Goes, La práctica histológica, Mc Graw Hill, Facultad de Medicina UNAM, Departamento de Biología Celular y Tisular. Pp 5-9; 1998.
55. Técnicas en Patología Quirúrgica, Dr. Orlando Rodas Pernillo, Médico Patólogo.
56. Short Communications, histochemical Journal 19, Chapman and Hall Ltd, pp 399-401; 1987.



57. Peggy A. Wenk, a short history of Giemsa, Medical laboratory Observer, Agust, 1-3 pp; 2005.
58. [www.macgene.com/pdf/CD006.pdf](http://www.macgene.com/pdf/CD006.pdf)
59. [www.es.wikipedia.org/wiki/Tincion\\_de\\_Giemsa](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Tincion_de_Giemsa))
60. [www.brs ltd.org/.../iso9001.../iso9001\\_registration.html](http://www.brs ltd.org/.../iso9001.../iso9001_registration.html)
61. [www.sigmaaldrich.com/giemsa](http://www.sigmaaldrich.com/giemsa)
62. [www.unam.es/departamentos/medicina/patologia/hematoxilina.htm](http://www.unam.es/departamentos/medicina/patologia/hematoxilina.htm)
63. [www.es.wikipedia.org/wiki/Eosina](http://www.es.wikipedia.org/wiki/Eosina)