

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA
MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL**

**PRESENCIA DE *Helicobacter pylori* Y COLIFORMES EN AGUA DE CONSUMO
HUMANO EN LA REGIÓN OCCIDENTAL DE PANAMÁ**

**REQUISITO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
MAGISTER EN MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL**

PRESENTADO POR:

BENEDICTO VALDÉS RODRÍGUEZ

C.I.P. 4-770-1101

ASESOR

DOCTOR FRANCISCO RIVAS TAVERSO

DAVID, CHIRIQUÍ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2016

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios Todopoderoso por darme la vida y la oportunidad de tener tan bellos momentos, por haberme regalado una familia maravillosa y por cada una de las personas que ha puesto en mi camino.

A mi madre Anselma Rodríguez que siempre ha estado a mi lado ofreciéndome su incondicional apoyo, quien siempre ha velado por mi bienestar y mi educación. Este logro es para tí.

AGRADECIMIENTO

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a la colaboración de diferentes personas y entidades a quienes deseo expresar su inestimable colaboración:

A la Dra. Virginia Campos Montero asesora Ad-honores de este proyecto, quien con sus vastos conocimientos y rigor científico hizo fácil lo que parecía difícil; sus sugerencias y recomendaciones siempre fueron en la dirección correcta lo que garantizó el éxito de este trabajo.

A la Dra. Dalys Rovira que con su confianza y sabios consejos me ha inspirado un especial interés por la investigación mucho más de lo que pueda quedar reflejado en este trabajo, en palabras de William A. Ward. "El buen maestro demuestra. El maestro excelente inspira."

A la Ingeniera Shirley Arias por la capacitación en la realización de los análisis moleculares de este trabajo, quien siempre estuvo dispuesta a aclarar mis dudas.

A la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad Autónoma de Chiriquí por su importante aporte económico para la realización de este proyecto.

A mis compañeros del LASEF a quienes expreso mi más sincera gratitud por la colaboración que siempre me ofrecieron, antes durante y después de la realización de este trabajo.

Al personal de la Dirección de Saneamiento de Agua Potable del Ministerio de Salud de Chiriquí quienes me ofrecieron su colaboración clave en los muestreos.

A mi familia y amigos que han sido un punto de apoyo y motivación quienes siempre me ampararon sobre todo en los momentos difíciles que es cuando más se necesita una voz de aliento.

Y mi especial agradecimiento a Dios por darme la vida, y a mi madre que ha sido mi inspiración y principal motivación en la vida.

Índice General

Página

Dedicatoria.....	II
Agradecimiento.....	III
Índice general.....	IV
Índice de cuadros.....	VIII
Índice de figuras.....	X
Resumen.....	XII

I. INTRODUCCIÓN

1 Introducción.....	14
1.1 Antecedentes.....	15
1.2 Justificación.....	17
1.3 Interrogantes.....	19
1.4 Delimitación del objeto de la investigación.....	19
1.4.1 Delimitación del contenido.....	19
1.4.2 Delimitación espacial.....	19
1.4.3 Delimitación temporal.....	19
1.5. Objetivos.....	20
1.5.1. Objetivo general.....	20
1.5.2. Objetivos específicos.....	20

II. MARCO TEÓRICO

2.0 Descripción general de <i>Helicobacter pylori</i>	22
2.1 Taxonomía.....	22
2.2 Características morfológicas.....	23
2.3 Estructura del genoma.....	23
2.3.1 Genes constitutivos.....	25
2.4 Hábitat.....	25

2.5 Cultivo de <i>Helicobacter pylori</i>	26
2.6 Patogenicidad en humanos.....	27
2.6.1 Factores de patogenicidad.....	27
2.6.1.1 Motilidad y adhesión bacteriana	28
2.6.1.2 Liberación de enzimas	29
2.6.1.2.1 Ureasa.....	29
2.6.1.2.2 Fosfolipasa.....	29
2.6.1.2.3 Catalasa	29
2.6.1.3 Toxinas.....	30
2.6.1.3.1 Gen vacA.....	30
2.6.1.3.2 Gen CagA	30
2.6.1.3.3 Gen babA adhesina de unión a antígeno	30
2.6.1.3.4 Gen sabA adhesina de unión a ácido siálico.....	30
2.6.2 Isla de patogenicidad cag (cagpai).....	32
2.7 Efectos fisiológicos en el organismo humano	33
2.8 Prevalencia de <i>H. pylori</i>	33
2.8.1 <i>H. pylori</i> en Panamá.....	35
2.9 Transmisión de <i>H. pylori</i>	35
2.9.1 Transmisión fecal-oral.....	36
2.9.2 Transmisión oral-oral.....	36
2.9.3 Transmisión gastro-oral.....	36
2.9.4 Transmisión por lactancia materna	37
2.9.5 Transmisión iatrogénica	37
2.9.6 El rol del agua en la transmisión de <i>H. pylori</i>	38
2.10 Clínica de la infección causada por <i>H. pylori</i>	39
2.10.1 Cáncer gástrico	40
2.10.2 Vacuna	40
2.11 Diagnóstico de la infección por <i>H. pylori</i>	41
2.11.1 Métodos no invasivos.....	41
2.11.1.1 Test de la urea en aliento.....	41
2.11.1.2 Serología.....	42

2.11.1.3 Detección del antígeno en heces	42
2.11.4 Reacción en cadena de la polimerasa	43
2.11.2 Métodos invasivos.....	43
2.11.2.1 Prueba de ureasa en biopsia astral.....	43
2.11.2.2 Histopatología	43
2.11.2.3 Cultivo	43
2.11.3 Detección de <i>H. pylori</i> en el agua. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	44
2.11.3.1 PCR tiempo real.....	45
2.11.3.2 Equipos para realizar la PCR en tiempo real	46
2.12 Resistencia antibiótica de <i>H. pylori</i>	46
2.13 Coliformes fecales y totales	47

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Tipo de estudio y tamaño de la muestra	51
3.2 Colecta de muestras.....	52
3.3 Procesamiento de las muestras.....	53
3.3.1 Análisis de coliformes fecales y totales	53
3.3.2 Análisis para determinar la presencia de <i>H. pylori</i>	55
3.3.2.1 Extracción de ADN para la determinación molecular de <i>H. pylori</i>	55
3.3.2.1.1 Filtración	55
3.3.2.1.2 Lisis.....	56
3.3.2.1.3 Captura del ADN.....	56
3.3.2.1.4 Lavado	56
3.3.2.1.5 Elución.....	57
3.3.2.1.6. Análisis molecular PCR real time.....	59
3.3.2.1.7 Preparación de Master Mix	59

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Coliformes	62
4.2 <i>Helicobacter pylori</i>	74
4.3 Análisis estadístico.....	86

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONE

5.1 Conclusiones..... 90
5.2 Recomendaciones 91

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 93

ÍNDICE DE CUADROS

Capítulo	Página
Capítulo 2	
Cuadro 2.1 Características biológicas reguladas para el agua potable.	49
Capítulo 3	
Cuadro 3.1 Sitios de muestreo	51
Cuadro 3.2 Volumen total y componentes de las reacciones.	62
Capítulo 4	
Cuadro 4.1 Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región oriental de la provincia de Chiriquí.....	62
Cuadro 4.2 Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región de Tierras Altas, provincia de Chiriquí	65
Cuadro 4.3 Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región Central Sur de la provincia de Chiriquí.	67
Cuadro 4.4 Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región Central Norte de la provincia de Chiriquí.	68
Cuadro 4.5 Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región de Occidente de la provincia de Chiriquí.	70
Cuadro 4.6 Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región de la Comarca Ngäbe-Bugle de la provincia de Chiriquí	71
Cuadro 4.7 Datos positivos y negativos de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Oriental de la provincia de Chiriquí.	75
Cuadro 4.8 Datos positivos y negativos de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región de Tierras Altas de la provincia de Chiriquí.....	77
Cuadro 4.9 Datos positivos de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Central Sur de la provincia de Chiriquí	79
Cuadro 4.10 Datos positivos y negativos de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Central Norte de la provincia de Chiriquí.	80

Cuadro 4.11 Datos positivos de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Occidental de la provincia de Chiriquí.....	81
Cuadro 4.12 Datos positivos de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región sur de la Comarca Ngäbe-Buglé.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.	Página
Capítulo 3	
Figura 3.1 Técnica para la detección de coliformes en agua	54
Figura 3.2 Técnica para la extracción de ADN de <i>H. pylori</i>	58
Capítulo 4	
Figura 4.1 Coliformes fecales y totales UFC/100mL, región de Oriente	64
Figura 4.2 Coliformes fecales y totales UFC/100mL, región de Tierras Altas ..	66
Figura 4.3 Coliformes fecales y totales UFC/100mL, región Central Sur	67
Figura 4.4 Coliformes fecales y totales UFC/100mL región Central Norte....	69
Figura 4.5 Coliformes fecales y totales UFC/100mL región Occidental	70
Figura 4.6 Coliformes fecales y totales UFC/100mL Comarca Ngäbe-Bugle..	72
Figura 4.7 <i>H. pylori</i> muestras de acueductos de la provincia de Chiriquí y Comarca Ngäbe-Buglé.....	75
Figura 4.8 Número de copias de ADN de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región de Oriente	76
Figura 4.9 Número de copias de ADN de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región de Tierras Altas.....	78
Figura 4.10 Número de copias de ADN de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Central Norte.....	79
Figura 4.11 Número de copias de ADN de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Central Sur.....	80
Figura 4.12 Número de copias de ADN de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región de Occidente.....	81
Figura 4.13 Número de copias de ADN de <i>H. pylori</i> en muestras de acueductos de la región Comarca Ngäbe-Buglé.....	83
Figura 4.14 Presencia simultánea de los tres grupos de estudio	84
Figura 4.15 Dispersión de datos coliformes fecales.....	86

Figura 4.16 Dispersión de datos coliformes totales.....87

Figura 4.17 Dispersión de datos *H. pylori*88

RESUMEN

Los agentes patógenos presentes en el agua, destinada para consumo humano, constituyen un problema mundial de salud pública, con la capacidad de producir un gran impacto en la población; esta situación demanda la atención de las autoridades, usuarios, científicos y sociedad en general.

Conscientes de esta situación, se realizó la presente investigación con el propósito de determinar la presencia del patógeno *Helicobacter pylori* y los indicadores de contaminación, coliformes fecales y coliformes totales, en muestras de agua de consumo humano de la región occidental de Panamá. Se colectaron muestras de 44 acueductos rurales que presentaban procesos deficientes de potabilización, los análisis fueron realizados siguiendo metodologías estandarizadas.

El 86% de las muestras analizadas fueron positivas para *H. pylori* y coliformes totales y el 63.6% fueron positivas para coliformes fecales; de manera simultánea se detectó la presencia de los tres grupos de estudio en 52.2% de los sitios muestreados. Se concluye que el 86% de los acueductos muestreados no presentan agua apta para el consumo humano, lo que representa un riesgo para la salud de las personas que la consumen.

Palabras claves:

Helicobacter pylori, cáncer gástrico, coliformes fecales, coliformes totales.



CAPÍTULO I
Introducción

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las infecciones bacterianas del hombre se describieron a comienzos del siglo XX, por ello, es extraordinario que el descubrimiento de *Helicobacter* como bacteria de gran importancia en medicina, se retrasara hasta los años ochenta (Torres y Rodríguez, 2008). Estos hallazgos motivaron a científicos alrededor del mundo a la búsqueda y caracterización de bacterias similares en mucosa gástrica, tanto en seres humanos como animales. Dichos estudios trajeron como consecuencia la apertura de nuevos campos de investigación, lo que llevó a la descripción de más de 30 especies de *Helicobacter non-pylori* ("NPHS", por sus siglas en inglés) (Rivas *et al.*, 2010). Se le ha atribuido a *H. pylori* una pronunciada asociación de etiología (85% - 95%) con las úlceras gastroduodenales, gastroduodenitis erosiva y la gastropatía con reacción linfonodular o hiperplasia, siendo menor la asociación con la gastritis crónica superficial, no obstante, la mayoría de las personas infectadas no desarrollan úlcera y algunos son asintomáticos; estos hechos implican que las características del huésped, la variabilidad de la cepa y otros factores desempeñan un papel en la patogénesis gastroduodenal (Luján *et al.*, 2008). *Helicobacter pylori* es considerado el principal agente etiológico para la mayoría de los desórdenes gastroduodenales y fue declarado en 1994, por la Organización Mundial de la Salud, como agente carcinogénico de tipo I para el ser humano (Torres y Rodríguez, 2008).

1.1 ANTECEDENTES

La problemática mundial generada por la falta de agua limpia apta para consumo humano está bien documentada; a nivel mundial 1,2 billones de personas no tienen acceso al agua potable; 2,6 millones no tienen acceso a los servicios de saneamiento básico y millones mueren cada año (3900 niños al día) a causa de enfermedades transmitidas por el agua “no segura” (Malato et al., 2009).

El agua potable ha sido definida en las Guías de Calidad de la Organización Mundial de la Salud (OMS), como “adecuada para el consumo humano y para todo uso doméstico habitual, incluida la higiene personal” (EPA, 2011). El marco respecto al cual se puede considerar que una muestra de agua es adecuada o “segura” es una norma de calidad del agua. Una norma adecuada es, entonces, la referencia que garantizará que el agua no sea perjudicial para la salud humana (Solsona, 2002).

La mayor parte de los países de Latinoamérica, Norteamérica, la Unión Europea y otras regiones y comunidades, han adoptado en sus normas de calidad de agua de beber, valores guía de la OMS como indicadores específicos para sus normas nacionales (Mora, 2005). Internacionalmente los estándares definen a las bacterias, virus y parásitos como organismos que pueden contaminar el agua potable por lo que deben ser tratados. Establecen además, los límites máximos admisibles de concentraciones para los indicadores bacterianos, teniendo en cuenta cuando resulta necesario otros adicionales según el tipo de monitoreo de verificación a ejecutar, operación y validación (WHO, 2011). En nuestro país el

“Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 23-395-99” Dirección General de Normas y Tecnología Industrial (DGNTI) Comisión Panameña de Normas Industriales y Técnicas (COPANIT); establece los valores estándares físicos, químicos, biológicos y radiológicos que debe cumplir el agua potable para ser considerada apta para consumo humano. Particularmente menciona que “los conocimientos actuales no permitieron establecer valores guías para las características biológicas. Sin embargo, la presencia de cualquiera de estos organismos patógenos o potencialmente patógenos en el agua potable es indicativo de contaminación y con el potencial de causar enfermedad.

La utilización de los coliformes como indicadores de contaminación fecal en el agua, en lugar de los patógenos; es un principio de aceptación universal en la vigilancia y evaluación de la seguridad sanitaria de los sistemas de abastecimiento de agua (Goez y Vásquez, 1999).

La utilización de los coliformes como indicadores para evaluar la calidad sanitaria del agua de consumo humano en Panamá es ampliamente aceptada y utilizada, sin embargo, es poco común la determinación de microorganismos patógenos en el agua, tal es el caso de *H. pylori*. De acuerdo a una revisión literaria exhaustiva se pudo comprobar que existe evidencia científica de trabajos realizados con *H. pylori* en nuestro país (Méndez y González 1990, Sasaki et al., 2009), sin embargo, no se han encontrado publicaciones relacionadas a la presencia de *H. pylori* en el agua. Por otro lado, estudios recientes revelan una mayor resistencia de *H. pylori* con respecto a *Escherichia coli*, al cloro y al ozono, por lo que, este

microorganismo podría ser capaz de tolerar procesos convencionales de desinfección en sistemas de purificación y distribución de agua (Baker et al., 2002 citado en Montero, 2009).

1.2 JUSTIFICACIÓN

El peligro más común y difundido, asociado al agua de consumo humano es el de su contaminación microbiana con aguas servidas y excretas del hombre y de los animales (Eastom, 1998). Si dicha contaminación es reciente y se hallan microorganismos patógenos, es posible que dichos microorganismos se encuentren vivos y con capacidad de producir enfermedad (Vergara y Méndez, 1991). Para controlar estos peligros se aplican criterios (guías y estándares) para normar la calidad de las aguas; éstos establecen requisitos que deben satisfacer las aguas para que puedan ser destinadas al consumo sin que medie un riesgo a la salud. El cumplimiento de los requisitos de calidad sanitaria debe reducir en forma significativa los riesgos de contraer enfermedades a través de consumo de agua contaminada. En nuestro país el Ministerio de Salud a través del cumplimiento de los requisitos descritos en el Reglamento Técnico (DGNTI-COPANIT 23-395-99), de agua potable busca proteger y promover la salud y bienestar de la población. En dicho documento se proporciona al Ministerio de Salud los instrumentos de gestión para conducir la política y la vigilancia de la calidad del agua para consumo humano. Sin embargo, esta institución no cuenta con la capacidad técnica ni el recurso humano para llevar un control de la calidad sanitaria del agua a los más de 5 mil acueductos rurales que hay en el país. Aunado a ello, el Reglamento Técnico (DGNTI-COPANIT 23-395-99), con 17 años

de vigencia se ha quedado obsoleto ya que no establece valores guías para (Protozoarios (patógenos), Helmintos (patógenos) y Enterovirus) por lo tanto son parámetros no exigidos ni monitoreados en los escasos controles realizados por el MINSA.

En función de los escasos monitoreos a las aguas destinadas a consumo humano producida por los acueductos rurales surge la necesidad realizar investigaciones con la debida rigurosidad científica que brinde información fiable acerca de la calidad de agua que están consumiendo miles de persona. Sobre todo, considerando que desde el punto de vista epidemiológico el agua es un importante vehículo para la propagación de enfermedades, muchas de ellas con la capacidad de causar graves afecciones al ser humano e incluso la muerte. Conscientes de esta situación, proponemos esta investigación que busca además de brindar información reciente sobre la calidad sanitaria de los acueductos rurales de occidente de Panamá. Dicha investigación considera además de los clásicos indicadores de contaminación “las bacterias coliformes” la presencia de *H. pylori* una bacteria que se estima está presente en la mitad de la población mundial, y es considerado en la actualidad uno de los patógenos humanos de mayor importancia (Cellini et al., 2004; Carbone et al., 2005).

Por otro lado, este trabajo puede servir como un primer intento que permita determinar la incidencia que *H. pylori* puede tener en el agua de consumo humano de comunidades rurales del occidente de Panamá y que sirva como base para posteriormente llevar a cabo estudios de relación entre enfermedades gastrointestinales y el consumo de agua en condiciones potable.

1.3 Interrogantes

- ¿Existe la presencia de coliformes fecales y/o coliformes totales en el agua de los acueductos rurales del occidente de Panamá?
- ¿Hay presencia de *Helicobacter pylori* en el agua de los acueductos rurales del occidente de Panamá?
- ¿El agua de los acueductos rurales del occidente de Panamá es bacteriológicamente apta para consumo humano?

1.4 Delimitación del objeto de la investigación

1.4.1 Delimitación del contenido

- **Campo:** Microbiología y Bacteriología
- **Área:** Identificación de coliformes fecales, coliformes totales y *Helicobacter pylori*
- **Aspecto:** Contaminación del agua

1.4.2 Delimitación espacial

Esta investigación abarcó acueductos rurales de la región occidental de Panamá. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Aguas y Servicios Fisicoquímicas (LASEF) y el Centro de Investigaciones en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica.

1.4.3 Delimitación temporal

Esta investigación se llevó a cabo durante un año comprendido entre agosto del 2014 y agosto del 2015.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo general

- Evaluar la calidad sanitaria del agua de consumo humano en acueductos rurales de región occidental de Panamá (provincia de Chiriquí y Comarca Ngäbe-Buglé).

1.5.2 Objetivos específicos:

- Determinar la presencia de *H. pylori* en muestras de agua de consumo humano en acueductos rurales de la región occidental de Panamá.
- Determinar la presencia de coliformes totales en el agua de consumo humano en acueductos rurales de la región occidental de Panamá.
- Determinar la presencia de coliformes fecales “termotolerantes” en el agua de consumo humano en acueductos rurales de la región occidental de Panamá.



CAPÍTULO II
Marco Teórico

2.0 Descripción general de *Helicobacter pylori*

2.1 Taxonomía

Helicobacter pylori (*H. pylori*) había sido incluida en el género *Campylobacter*, sin embargo, posteriores estudios demostraron que *Campylobacter pylori*, como fue denominada en un principio, presentaba características morfológicas y estructurales bioquímicas más parecidas al nuevo género *Helicobacter* (Pajares y Gisbert, 2006). En 1989, se exponen los hechos que avalaron el cambio de nombre de *Campylobacter* a *Helicobacter pylori* (Goodwin et al., 1989).

- Reino: Bacteria
- Filo: Proteobacteria
- Clase: Epsilonproteobacteria
- Orden: Campylobacterales
- Familia: Helicobacteriaceae
- Género: *Helicobacter*
- Especie: *H. pylori*

Dentro del género *Helicobacter* existen 35 especies capaces de colonizar animales, entre las cuales se pueden mencionar: *H. mustelas* en hurones, *H. felis* en gatos y *H. nemestrinae* a partir de un mono (*Macaca nemestrina*), entre otros (Hernández, 1990). Estas especies, de manera similar a *H. pylori*, son capaces de promover el desarrollo de enfermedades como linfoma, dispepsia y cáncer gástrico en su hospedero. No obstante, *H. pylori* es la única especie con evidencia de infectar seres humanos (Boyanova et al., 2011).

2.2 Características morfológicas

H. pylori es una bacteria espiral, microaerofílica, gramnegativa, que se observa con terminales redondeados en biopsias gástricas (Dunn et al., 1997). Cuando es cultivada en medio sólido, tiene forma de varilla y las formas espirales son infrecuentes o ausentes. Después de cultivo prolongado en medio sólido o líquido, las formas cocoides son las que predominan (Kusters et al., 1997). Por microscopía electrónica las formas cocoides aparecen como bacilos con forma de "U", con los extremos de los brazos unidos por una estructura membranosa y no logran producir división celular (Dunn et al., 1997). Las mismas son metabólicamente activas, no se pueden cultivar *in vitro* (Andersen y Espersen, 1992). Se ha comprobado que las formas cocoides no cultivables en medios artificiales son capaces de colonizar la mucosa gástrica (Macenlle, 2007).

Presenta un tamaño de 2.5 a 5.0 micras de largo y de 0.5 a 1.0 micras de ancho; hay de cuatro a seis flagelos monopolares, fundamentales para su movilidad, y que están recubiertos por una vaina de estructura lipídica. Cada flagelo es de aproximadamente 30 micras de longitud y aproximadamente de 2.5 micras de grosor (Dunn et al., 1997).

2.3 Estructura del genoma

Un cambio en el paradigma de la bacteriología llegó en 1995, con el lanzamiento de la primera secuencia completa del genoma de una bacteria de vida libre, *Haemophilus influenzae*. En los últimos 5 años, ha habido una explosión de secuencias genómicas microbianas de datos generados a partir de una amplia gama de organismos, con casi el 30 de los genomas microbianos completados y

más de 100 proyectos genómicos microbianos en curso (Mobley et al., 2001). *H. pylori* se convirtió en la primera especie de bacteria que tienen su genoma secuenciado y se comparan a partir de dos aislados independientes (Alm et al., 1999).

En 1997, Tomb et al., dieron a conocer la secuencia completa del genoma de *Helicobacter pylori*. La secuencia se obtuvo por métodos de secuenciación aleatoria, que previamente se habían utilizado en la obtención del genoma de *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma genitalium* y *Methanococcus jannaschii* (Saunders, et al., 1998). La cepa *Helicobacter pylori* 26695, aislada originalmente de un paciente de Reino Unido con gastritis, se escogió por su capacidad de colonizar cerdos y provocar en ellos una respuesta inmunitaria e inflamatoria. Se trata de una cepa toxigénica (*vacA* +), que presenta un genoma circular de 1.667.867 pares de bases y 1590 genes, con un tamaño medio de 945 pares de bases cada uno, similar al observado en otras células procariotas. Más del 70 % de sus proteínas presentan un punto isoeléctrico mayor de 7.0, comparado con el 40 % de *H. influenzae* y *E. coli*. Los aminoácidos básicos -arginina y lisina- están presentes con una frecuencia doble en *H. pylori* respecto *H. influenzae* y *E. coli*, lo que quizás refleja su adaptación al medio gástrico ácido. De acuerdo con un nicho ecológico tan restrictivo, *H. pylori* presenta una gran capacidad de biosíntesis y reparación, en un intento por adaptarse al medio. La supervivencia en condiciones tan ácidas depende, en parte, de su habilidad para generar un potencial positivo intracitoplasmático en condiciones de bajo pH (Tomb et al., 1997).

2.3.1 Genes constitutivos

Los genes constitutivos están involucrados en el mantenimiento básico de las células y, por lo tanto, se espera que mantengan constantes los niveles de expresión y las condiciones de las mismas (Eisenberg y Levanon, 2013). Dentro de los genes constitutivos de *H. pylori* se pueden citar: *atpA*, *cysS*, *recA*, *ppa*, *glr*, y *glmM*, los cuales codifican para proteínas con funciones metabólicas necesarias para el desarrollo de la célula bacteriana; asimismo, el análisis de la secuencia genética de éstos seis genes permite determinar diferencias importantes entre los genotipos de *H. pylori* (Ogura et al., 2007).

2.4 Hábitat

El hábitat ideal de *H. pylori* es el antro gástrico y, se considera que esta bacteria no es estrictamente un patógeno, sino un agente anfibiótico que puede vivir en mutua relación con algunos huéspedes, mientras que en otros es capaz de desarrollar enfermedad bajo ciertas condiciones, como con los productos de los genes *vacA*, *cagA*, *babA* y *sabA* (Herreros et al., 2011). En los seres humanos con una función gástrica normal, el organismo se limita principalmente a la superficie del antro, donde un número de características especializadas permiten que se multiplique rápidamente, mientras que causan el mínimo daño a su anfitrión. Estos incluyen una motilidad característica que le permite nadar rápidamente a través del moco viscoso, y la capacidad para la fabricación de grandes cantidades de la enzima ureasa (Lee, 1994). La ureasa es producida en cantidades muy altas por *H. pylori*, la cual es esencial para su supervivencia, puesto que bacterias mutantes ureasa-deficientes no logran colonizar el estómago. La actividad de la ureasa

permite el desdoblamiento rápido y permanente de la urea en el jugo gástrico, moco y mucosa, a substratos principales en la producción de amonio; aparentemente, estos procesos proveen a la bacteria de la habilidad de exportar iones de hidrógeno desde dentro del citoplasma, regulando así el pH y, también crea un microambiente alcalino que lo protege de la acidez del estómago (Rivera et al., 2004). También, se ha detectado *H. pylori* en placa dental, saliva y heces; sin embargo, hay controversias sobre si la cavidad bucal es o no un reservorio permanente o si por el contrario es una fuente de reinfección (Premoli et al., 2004).

2.5 Cultivo de *Helicobacter pylori*

Las muestras se pueden obtener a partir de mucosas gástricas y muestras extragástricas tomadas de placa dental, recto, vejiga y esófago; el tiempo que tarda en formar colonias se obtiene entre 4 a 7 días en condiciones de: (5-10) % O₂; (5-10) % CO₂; (80-90) % N₂, humedad de 95% y temperatura de (35 a 37) °C. Usualmente, se cultiva en medios complejos con sangre, suero y antibióticos (Blanchard y Nedrud, 2012).

2.6 Patogenicidad en humanos

La infección por *H. pylori* desarrolla una respuesta inmunológica, la cual lleva a inflamación y erosión de la mucosa gástrica, lo que puede conducir a la formación de úlcera, gastritis crónica, y eventual cáncer gástrico. De este modo, se presenta la correspondiente sintomatología según el estadio de la enfermedad: dolor, náuseas, dispepsia, pérdida de peso (Alba et al., 2006). Aun así, se conoce que la mayoría de las personas infectadas no desarrollan ninguna de estas

enfermedades, porque la patogénesis inducida por este microorganismo depende de diferentes factores que incluyen características del hospedero, el ambiente en el que se desarrolla y la virulencia de la cepa infectante (González y Rodríguez, 2011). Las bacterias poseen características que les permiten invadir el ambiente del hospedero, expresar receptores superficiales especializados para su adhesión, permanecer en estos sitios a través de procesos de colonización, evadir al sistema inmune y finalmente causar daño tisular con el fin de lograr acceso a fuentes de nutrientes necesarios para su crecimiento y reproducción. Por lo que, el factor de virulencia es un componente microbiano que favorece el crecimiento o sobrevivencia durante la infección (Cárdenas et al., 2014).

2.6.1 Factores de patogenicidad

H. pylori coloniza y persiste en un nicho único que es el lumen gástrico. Los determinantes patogénicos de *H. pylori* se dividen en dos grupos: factores de virulencia que contribuyen a efectos patogénicos de la bacteria y factores de mantenimiento que permiten a la bacteria colonizar y permanecer en el hospedero (Dunn et al., 1997). Existen diferentes cepas bacterianas de *H. pylori*, cada una de ellas posee factores de virulencia que le confieren una mayor o menor patogenicidad (Ramírez y Sánchez, 2009). Los factores de virulencia se clasifican según sus efectos patogénicos en el hospedero: inflamación gástrica, rotura de la barrera de la mucosa gástrica y alteración de la fisiología gástrica. Muchos de los factores de *H. pylori* funcionan como factores de virulencia y mantenimiento *in vivo* (Dunn et al., 1997).

2.6.1.1 Motilidad y Adhesión bacteriana

H. pylori es una bacteria de mucha movilidad y muy activa, lo cual es resultado de su forma espiral y de los flagelos unipolares que le confiere una gran movilidad, éstos le permiten llegar a la mucosa y, no ser eliminado por los mecanismos defensivos del huésped. La bacteria se une al epitelio gástrico, gracias a la presencia de adhesinas como la hialuronidasa, que le permite interactuar con receptores epiteliales como los TLR (Toll Like Receptors) y el glucocáliz ubicado cerca de la zónula ocludens del epitelio gástrico; de esta forma no sólo asegura su unión, sino que evita ser desplazado a zonas del tracto digestivo en donde no puede colonizar. Todo este proceso de colonización puede tardar hasta una semana (Herrerros et al., 2011).

Actualmente, se ha sugerido que el flagelo es determinante como sensor de cambios de pH entre la luz gástrica y la capa de moco (Rivera et al., 2004). Los flagelos polares envainados con una estructura terminal en forma de bulbo, constituyen un importante factor de virulencia (Gené, 2002). Posee más de 30 genes codificantes de adhesinas, los genes caracterizados y más estudiados incluyen a *babA*, asociado con proteínas de unión al antígeno Lewis B del epitelio gástrico; *sabA* para la unión a Lewis X, y otros como *oipA*, *hpaA*, *dupA*, *NAP* y *alpA/alpB*, para los cuales se desconoce el receptor específico de la proteína que codifican. Estas adhesinas se han relacionado con la presencia de patologías gástricas, ya que contribuyen a la inflamación y el daño epitelial (Barragán et al., 2015).

2.6.1.2 Liberación de enzimas

2.6.1.2.1 Ureasa: La ureasa cataliza la hidrólisis de urea en amonio y dióxido de carbono y, la “nube” de iones amonio que se forma alrededor de la bacteria, eleva el pH en el microambiente que la rodea. La enzima está conformada por seis subunidades de UreA y seis de UreB. La síntesis de la ureasa es regulada por siete genes contiguos (genes A-H, exceptuando la letra C), que incluyen los que codifican para UreA y UreB, y los que codifican para proteínas accesorias responsables de la inserción del níquel en el sitio activo de la apoenzima. La actividad ureásica contribuye además, a la toxicidad celular producida por el amonio, adicionalmente, la ureasa actúa como factor quimotáctico, activando a los macrófagos a producir citosinas proinflamatorias. Por otro lado, se han establecido nexos entre la acción de la toxina VacA y la ureasa, puesto que la actividad de la citotoxina VacA se incrementa en presencia de elevadas concentraciones de cloruro de amonio (Torres y Rodríguez, 2008).

2.6.1.2.2 Fosfolipasas: La acción de las fosfolipasas altera la estructura e integridad de la mucosa gástrica, originando un cambio en su tensión superficial, hidrofobicidad, y permeabilidad. La fosfolipasa A2 convierte la lecitina a lisolecitina (compuesto tóxico), produciendo injuria celular directa (Ramírez y Sánchez, 2009).

2.6.1.2.3 Catalasa: Favorece la sobrevivencia de la bacteria en el tejido inflamado, la protege de las acciones fagocíticas de los neutrófilos, de los metabolitos reactivos de oxígeno (MRO) y la de otros mediadores químicos de la inflamación (Piñol y Paniagua, 1999).

2.6.1.3 Toxinas

2.6.1.3.1 Gen vacA: El gen vacA, genera una proteína que induce la formación de vacuolas en el epitelio del hospedero. Esta proteína presenta variantes en la región de señalización del péptido (s1, s2), así como en la región media (m1, m2) y dependiendo de la combinación de ellos se van a producir efectos tóxicos en mayor o menor medida (Suárez et al., 2011).

2.6.1.3.2 Gen CagA: El gen cagA forma parte de una isla de patogenicidad (cag-PAI) de unos 40 kDa, la cual contiene 31 genes, cuyos productos intervienen en la estimulación de quimocinas y en la activación de las kinasas MAP (familia de proteínas capaces de fosforilar a su sustrato e implicadas en numerosas rutas de señalización celular), y la consiguiente inducción de factores proinflamatorios (Olivares y Gisbert, 2006).

2.6.1.3.3 Gen babA (antigen binding adhesin): Las cepas de *H. pylori*, pueden tener dos grupos de alelos del gen bab, uno denominado babA y el otro babB. Sólo la proteína de membrana sintetizada por el gen babA, tiene la capacidad de unirse al antígeno de Lewis B, permitiendo la colonización de la mucosa gástrica indemne, al facilitar la unión de la bacteria con el epitelio del hospedero. Además, se ha relacionado babA, con la presencia de los genes vacA y cagA (Suárez et al., 2011).

2.6.1.3.4 Gen sabA (sialic acid binding adhesin): sabA es una lipoproteína de 651aa codificada por el gen sabA. La expresión de SabA está regulada por las condiciones del hospedero, ya que se expresa bajo condiciones ambientales

especiales cuando aumenta el ácido, disminuye su síntesis, y cuando el ácido se reduce, incrementa la expresión de SabA (Barragán et al., 2015).

2.6.2 Isla de Patogenicidad cag (cagPAI)

La evolución bacteriana no es un proceso continuo, por lo tanto, puede producirse por transferencia horizontal; es decir, adquiriendo segmentos de DNA de origen desconocido que se integran al cromosoma bacteriano, mediante recombinación homóloga. Esta nueva porción de DNA integrado se conoce con el nombre de isla, cuyo DNA puede codificar para varias proteínas involucradas en sistemas de almacenamiento de hierro, enzimas metabólicas, sistemas de secreción, proteínas de superficie celular, factores de adherencia, toxinas, etc. (Moblely *et al.*, 2001). Las islas de patogenicidad comprenden grandes regiones genómicas (10-200 kilobases (kb) de tamaño) que están presentes en los genomas de las cepas patógenas, pero ausentes de los genomas de los miembros no patógenos de la misma o de especies relacionadas (Hacker y Kaper, 2000).

Las denominadas islas de patogenicidad (PAIs, por sus siglas en inglés) se caracterizan por lo siguiente: tienen un contenido de guanina-citocina (G-C) diferente al resto del genoma, tienen un codón constante que se adapta al cromosoma bacteriano, están rodeadas de repeticiones directas (DR), se asocian a genes de RNA de transferencia (tRNA), tienen genes que codifican para factores móviles como integrasas, trasposasas y elementos de secuencias de inserción (IS) (Arévalo et al., 2009). Éstas están reguladas por genes que codifican para factores reguladores localizados dentro de la misma isla, que también, están

involucrados en la regulación de genes fuera de PAI; sin embargo, PAI también puede estar regulada por genes localizados fuera de ella y que a la vez regulan genes constitutivos (Hacker y Kaper, 2000).

La isla de patogenicidad de *H. pylori* inicialmente se denominó cag (gen asociado a citotoxina), ya que se pensaba que estaba asociada con la expresión de VacA (vacuolotoxina); sin embargo, posteriormente se observó que los dos factores VacA y PAI son independientes (Tummuru et al., 1993). La cag PAI se considera la principal área genómica variable de *H. pylori* (Ménard et al., 2008). Está constituida por un marco abierto de lectura (ORF) de 40 kb rodeada por 31pb de repeticiones directas, las cuales contienen sitios de recombinación que corresponden con los últimos nucleótidos del gen *glr* (glutamato racemasa), es decir, que cagPAI se encuentra entre el gen *glr* y un ORF cuya función aún no se ha descrito, conocido como ORF5. Tanto a la izquierda como hacia el extremo derecho tiene secuencias de inserción, llamadas elementos IS 605, las cuales varían en número dependiendo de la cepa. En razón a esto, cepas con muchos elementos de inserción se las ha designado cepas tipo II y se caracterizan por ser menos virulentas que las cepas tipo I que contienen a PAI (Mohaboob et al., 2005).

2.7 Efectos fisiológicos en el organismo humano

Se supone, entre los efectos benéficos de la infección por *H. pylori*, la producción de amonio a partir de urea, la cual actúa como un tampón que aumenta el pH del estómago, en especial, sobre la unión gastroesofágica. Es decir, el aumento de pH en el estómago produce una respuesta de

retroalimentación negativa en la producción de ácido clorhídrico; por lo tanto, este cambio de pH podría prevenir daño a la mucosa del esófago y con ello evitar la aparición de lesiones como la condición conocida como “El esófago de Barret” o el desarrollo de un adenocarcinoma gástrico (Herreros et al., 2011).

2.8 Prevalencia de *H. pylori*

Los aportes más importantes en la epidemiología de esta infección han sido los estudios realizados sobre análisis de secuencia genética, que sugieren que los seres humanos habrían estado infectados por el *H. pylori* desde la época en la que el hombre migró de África, hace alrededor de 58 000 años (Linz et al., 2007). La prevalencia global de la infección por *H. pylori*, está fuertemente correlacionada con las condiciones socioeconómicas. La prevalencia entre los adultos de mediana edad es superior al 80 por ciento en muchos países en desarrollo, en comparación con un 20 a 50 por ciento en los países industrializados (Suerbaum y Michetti, 2002).

Las importantes variaciones de la prevalencia entre los distintos países e incluso dentro de distintas zonas geográficas de un mismo país vienen determinadas por dos factores íntimamente relacionados: la edad de la población estudiada y su grado de desarrollo higiénico-sanitario (De Argila y Boixeda, 2004). En el mundo es muy elevada y se divide en dos grupos. El grupo I está constituido por los países en donde la mayoría de los niños se infectan durante la infancia y en los que la infección crónica producida por el microorganismo persiste durante la edad adulta; el grupo II está integrado por aquellas zonas en que solo una minoría de los niños que viven hoy día están infectados, pero donde la prevalencia de la

infección aumenta en relación con la edad durante la etapa adulta (Pounder y Ng, 1995).

Estudios de la infección en poblaciones sanas, muestran amplias variaciones entre diferentes comunidades. Los países del grupo I con mayores porcentajes se encuentran en el continente africano. Nigeria con 85 %, Argelia con 79 % y Costa de Marfil con 73 %; mientras que en el grupo II los mayores porcentajes corresponden a Israel con 65 %, Reino Unido 56,9 %, EE. UU. 52 % y Japón 50 % (Gutiérrez et al., 2006).

En Latinoamérica, el *H. pylori* es uno de los problemas más frecuentes de salud pública. Una investigación realizada por (Gutiérrez et al., 2006) concluyó en que los posibles factores determinantes de la infección por *H. pylori* en adultos de (21-65) años de edad en seis países de América Latina (Chile, Colombia, Costa Rica, Honduras, México, Nicaragua) mostrando que se incrementa las probabilidades de infección por *H. pylori* con la presencia de ciertas condiciones de vida durante la infancia tales como: haber vivido en un hogar con un piso de tierra, la falta de agua potable y el hacinamiento. La prevalencia de *H. pylori* en adultos fue alta y difirieron significativamente entre los seis países latinoamericanos estudiados ($p < 0,001$), lo cual confirmó la fuerte relación entre malas condiciones socioeconómicas y la infección por *H. pylori*.

2.8.1 *H. pylori* en Panamá

En la actualidad en Panamá existe evidencia científica de trabajos realizados con *H. pylori* (Méndez y González 1990, Sasaki et al., 2009), sin

embargo, no se han encontrado publicaciones relacionadas a la presencia de *H. pylori* en el agua. Por otro lado, estudios recientes revelan una mayor resistencia de *H. pylori* con respecto a *Escherichia coli*, al cloro y al ozono, por lo que, este microorganismo podría ser capaz de tolerar procesos convencionales de desinfección en sistemas de purificación y distribución de agua (Baker et al., 2002 citado en Montero, 2009).

2.9 Transmisión de *H. pylori*

Aún después de su primer aislamiento en 1982, la comunidad científica sigue luchando por comprender la forma en que *H. pylori* se transmite dentro de la población humana. Existen evidencias que sugieren la transmisión persona a persona, por ingesta de alimentos y agua contaminada (Palomino y Tomé, 2012). Se considera que la transmisión directa persona a persona es la vía de transmisión más probable de la infección. La transmisión persona a persona puede ocurrir por vía fecal-oral, oral-oral o gástrica-oral (De Argila y Boixeda, 2004). La lactancia materna y la transmisión iatrogénica también se incluyen como formas alternativas para la difusión del patógeno. Además, hay al menos tres posibles vectores que han sido sugeridos para sostener la bacteria en forma viable: agua, alimentos y animales. La mayoría de los autores están de acuerdo en que la importancia relativa de estas rutas en la transmisión de la bacteria es probable que varíe entre los países en desarrollo y desarrollados (Azevedo et al., 2007).

2.9.1 Transmisión fecal-oral

Los argumentos para esta ruta de transmisión están basados en estudios que muestran que *H. pylori* puede ser cultivada a partir de heces humanas. Esta bacteria ha sido aislada de las heces de niños infectados, sin embargo, el aislamiento a partir de heces de adultos ha sido raro (Dunn et al., 1997). Esta vía explica más fácilmente la marcada diferencia en la prevalencia de *H. pylori* en países en desarrollo, comparada con países desarrollados cuyo patrón guarda un cierto paralelismo con las tasas de enfermedades diarreicas en esos mismos países. La dificultad de aislarlo a partir de heces, se relaciona con su alta susceptibilidad *in vitro* a los antimicrobianos empleados en medios de cultivo selectivos (Rivas y Hernández, 2000).

2.9.2 Transmisión oral-oral

La cavidad oral se ha considerado como un reservorio apropiado para la subsistencia de *H. pylori* y la transmisión oral-oral, por lo tanto, se ha sugerido que pueda producirse con besos u otro tipo de contacto con saliva infectada, con el uso de palillos chinos o, como ocurre en algunos grupos étnicos, de madres a bebés, ya que ellas pre-mastican sus alimentos (Azevedo et al., 2007).

2.9.3 Transmisión gastro-oral

Esta posibilidad se apoya en la ocurrencia de algunos brotes asociados con manejo y desinfección inadecuada de gastroscopios. Los endoscopistas suelen estar expuestos a las gotitas microscópicas de los jugos gástricos, durante la manipulación del endoscopio. Tal posibilidad llevaría también a relacionarlo con el

vómito (*H. pylori* se ha encontrado en tasas elevadas), lo que en cierta medida podría explicar las altas tasas de infección en niños, entre los cuales los vómitos y el reflujo gastro-esofágico son comunes y más frecuentes que en los adultos (Palomino y Tomé, 2012). Esta vía de transmisión tendría lugar, fundamentalmente en la infancia (De Argila y Boixeda 2004).

2.9.4 Transmisión por lactancia materna

La detección de *H. pylori* por PCR en la leche materna tiene también planteado la posibilidad de la lactancia materna como una vía de transmisión, a pesar de que estudios anteriores indicaron que los lactantes nacidos de mujeres *H. pylori* positivos, no son más propensos a adquirir la infección. La contaminación de la leche podría ser posible si la bacteria sobrevivió en los pezones o los dedos. Sin embargo, la mayoría de los estudios epidemiológicos parecen no encontrar ninguna correlación entre la lactancia materna y la adquisición de *H. pylori* (Blecker et al., 1994).

2.9.5 Transmisión iatrogénica

Debido a la detección de *H. pylori* en heces, secreciones orales y jugos gástricos, la endoscopía puede ser una ruta de transmisión para algunos individuos. Esta forma constituye la transmisión iatrogénica, en la que los tubos o los endoscopios que han estado en contacto con la mucosa gástrica de un individuo son utilizados para otro paciente. La infección con *H. pylori* puede ocurrir tanto en pacientes como en miembros del personal. En los primeros por el inadvertido uso de equipos descontaminados inadecuadamente y en los segundos

por el contacto con secreciones infectadas de los pacientes (Palomino y Tomé, 2012).

2.9.6 El rol del agua en la transmisión de *H. pylori*

Se ha determinado que *H. pylori* está presente en diversas fuentes de aguas: lagos, ríos, agua potable superficial y subterránea, aguas municipales y residuales y ambientes marinos costeros, encontrándose también como microorganismo libre en el agua de mar y asociado a organismos planctónicos (Fernández et al., 2008). Sin embargo, cuando se suspenden en agua, *H. pylori* tiene un muy bajo poder de cultivo en comparación con otros patógenos en el agua. De hecho, varios estudios informan un poder de cultivo de menos de 10 horas para *H. pylori* a temperaturas superiores a 20 °C en comparación con más de 40 días para *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* a la misma temperatura (Azevedo et al., 2007). La causa de esto puede ser que se expone a condiciones de estrés ambiental, tales como el aumento de la tensión de oxígeno, la incubación prolongada o la exposición a antibióticos, *H. pylori* entra en un estado viable pero no cultivable, en el cual la bacteria modifica su morfología de una forma bacilar a una cocoide como manifestación de adaptación celular a estas condiciones adversas (Sarem y Corti, 2015). Actualmente, se presenta evidencia sobre la mayor resistencia de *H. pylori* con respecto a *Escherichia coli*, al cloro y al ozono, por lo que, este microorganismo es capaz de tolerar desinfección en sistemas de distribución de agua (Montero et al., 2011).

H. pylori también tiene capacidad de formar biopelículas en el medio ambiente y en el epitelio de la mucosa gástrica humana, así como en superficies

abióticas *in vitro* (Yonezawa et al., 2015). La formación de biopelículas es crítica, no solo para la supervivencia del microorganismo en ambientes no favorables, sino también para la infección exitosa de numerosas bacterias patógenas (Arteaga et al., 2013). En el medio ambiente, *H. pylori* podría estar presente en el agua potable en forma de biopelículas, por lo cual podría estar en el sistema de distribución de agua en los países desarrollados y en desarrollo (Yonezawa et al., 2015). Cuando se habla de la presencia de *H. pylori* en agua, se define como un microorganismo que tiene la capacidad de entrar en estado viable, pero no cultivable. Técnicas como PCR y la prueba de fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH), se han empleado con éxito para identificar con satisfacción la presencia de *H. pylori* en agua. (Bayona y Gutiérrez, 2013).

2.10 Clínica de la infección causada por *H. pylori*

El *H. pylori* ha sido ampliamente relacionado con afecciones gastrointestinales crónicas, como úlceras duodenales, gástricas, cáncer gástrico, linfoma gástrico en adultos (Dunn et al., 1997). El cuadro clínico puede extenderse una semana después de la cual la sintomatología desaparece permanentemente. Esta enfermedad infecciosa, como muchas otras, puede ser asintomática hasta en el 50 % de los adultos. Una vez que la bacteria coloniza el aparato gastrointestinal humano puede producir en pocas semanas o meses una gastritis superficial crónica, la cual al paso de varios años o incluso décadas, puede degenerar en úlcera péptica o adenocarcinoma gástrico (Hernández, 2001).

2.10.1 Cáncer gástrico

La asociación entre la infección por *H. pylori* y el desarrollo de cáncer gástrico está muy bien establecida. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer ha categorizado a *H. pylori*, como un carcinógeno del grupo I (Rodríguez, 2014). El cáncer gástrico temprano prácticamente es asintomático. En el cáncer gástrico avanzado, predominan la pérdida de peso y el dolor abdominal, también existen la disfagia, saciedad temprana, vómitos persistentes y anemia por los eventuales sangrados (Alba et al., 2006).

La prevalencia de determinados factores de patogenicidad, como la citotoxina asociada al gen *cagA* (CagA) y la toxina vacuolizante asociada al gen *vacA* (VacA), relacionados con la aparición de úlcera y cáncer gástrico en adultos, es significativamente menor en los niños y aumenta proporcionalmente con la edad (Alarcón et al., 2000). *H. pylori* parece ser un factor más en la cadena causal del cáncer gástrico e incluso ha sido considerado, basándose en estudios epidemiológicos, como un carcinógeno definitivo. Sin embargo, la aparición del cáncer gástrico no se debe única y exclusivamente a la infección por *H. pylori*, sino también a factores ambientales como el consumo de antioxidantes y de sal, entre otros, así como probablemente a factores genéticos del hospedero (Correa, 1992).

2.10.2 Vacuna

H. pylori es una bacteria que presenta una gran variabilidad genética y fenotípica. En efecto, se ha descrito una gran variabilidad en los aislamientos de *H. pylori* y se ha pretendido establecer una relación entre ciertas variantes genéticas de *H. pylori* y las formas más graves de patología gástrica (García

2002). Hasta la fecha, los científicos han identificado varios factores de virulencia de *H. pylori* que confieren protección contra la infección por *H. pylori* o ayuda en la erradicación de la ya establecida infección en los modelos murinos. Por estas razones, diferentes factores de virulencia de *H. pylori* se utilizan para el desarrollo de una vacuna humana eficaz contra esta infección (Hernández, 2001).

Los constituyentes de una vacuna deben ser componentes bacterianos que intervengan directamente en el proceso de patogénesis y cuya función pueda ser bloqueada por una respuesta inmune inducible, que sean producidos por todas las cepas de *H. pylori*, o por lo menos por aquellas que estén asociadas a las patologías gástricas más graves, como úlcera péptica y cáncer gástrico, y que sean antigénicamente conservados. Algunos de los componentes bacterianos que han sido ensayados como antígenos en esquemas de inmunización en modelos animales son la enzima ureasa y sus subunidades (UreA y UreB), la proteína CagA, la toxina vacuolizante VacA y las proteínas de choque térmico HspA y HspB, entre otros (García, 2002).

2.11 Diagnóstico de la infección por *H. pylori*

Pueden ser clasificados en no invasivos e invasivos.

2.11.1 Métodos no invasivos:

2.11.1.1 Test de la úrea en aliento: Detecta la actividad de la enzima ureasa del *H. pylori*. La ureasa hidroliza a la úrea generando compuestos de CO₂ y amonio. El CO₂ difunde a través de la mucosa gástrica a la circulación general,

pasa a la circulación venosa capilar y difunde a través del plexo capilar hacia los alveolos, para ser finalmente expulsado en el aliento espirado. Usando moléculas de carbono marcadas (^{13}C , ^{14}C) este CO_2 puede ser detectado en muestras de aire espiradas por el paciente. Por su cualidad radioactiva, se recomienda evitar el uso de ^{14}C en niños y gestantes. La sensibilidad y especificidad de esta prueba se encuentra alrededor de 88% a 95% y 95% a 100% respectivamente (Ramírez y Sánchez, 2009).

2.11.1.2 Serología: Mediante la técnica de ELISA se detectan IgG o IgA dirigidas contra varios antígenos específicos para *H. pylori*. La sensibilidad y especificidad superan 90%, la erradicación del *H. pylori* se asocia a una lenta, pero progresiva caída en las concentraciones, de modo que la mayoría de las pruebas serán negativas seis meses o un año después de una erradicación efectiva. La reinfección se asocia a una nueva elevación de las concentraciones (Carrillo et al., 2013).

2.11.1.3 Detección del antígeno en heces: Detecta la presencia de antígenos de *H. pylori* en las heces de los pacientes infectados mediante la técnica de inmuno ensayo enzimático. Se realiza en el laboratorio con anticuerpos policlonales. La sensibilidad y especificidad de esta prueba se encuentra alrededor de 94% y entre 86% a 92% respectivamente. La sensibilidad disminuye a 69% si la muestra de heces permanece a temperatura ambiente por 2 a 3 días (Ramírez y Sánchez, 2009).

2.11.1.4 Reacción en cadena de la polimerasa: Por su sensibilidad y especificidad podría transformarse en el método estándar futuro, aunque la ubicuidad de *H. pylori* puede generar problemas por falsos positivos. La posibilidad de estudiar diversos tipos de muestras, incluyendo tejido fijado en parafina, le abre importantes perspectivas en estudios retrospectivos y prospectivos (Alba et al., 2006).

2.11.2 Métodos invasivos

2.11.2.1 Prueba de ureasa en biopsia astral: Constituye el método más rápido y práctico para detectar *H. pylori* en pacientes sometidos a endoscopia. La ureasa producida por *H. pylori* convierte la urea a amonio y CO₂, lo que modifica el pH del medio y provoca el cambio de color que define la reacción como positiva. Su sensibilidad y especificidad son comparables a las de los métodos anteriores. Un problema adicional lo constituye la posibilidad de falsos positivos debido a pinzas de biopsia o endoscopios contaminados (Alba et al., 2006).

2.11.2.2 Histopatología: Constituye el estándar de oro para definir la presencia o ausencia de *H. pylori* por medio de la tinción Giemsa. Debe tomarse la muestra en mucosa antral sana, evitando la región prepilórica y de utilidad en el diagnóstico inicial (Carrillo et al., 2013).

2.11.2.3 Cultivo: Es el método diagnóstico más específico, sin embargo, carece de buena sensibilidad. Para la realización de esta prueba se utilizan diferentes medios como Skirrow, agar Mueller–Hinton, agar infusión cerebro-

corazón o agar Wilkins Chalgren. Este método ofrece la posibilidad de realizar una prueba de sensibilidad antibiótica; sin embargo, es costoso, de larga duración (el tiempo promedio de incubación es de 10 días) y de difícil realización (Ramírez y Sánchez, 2009).

2.11.3 Detección de *H. pylori* en el agua. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Mediante la técnica de PCR es posible detectar el ácido desoxirribonucleico (ADN) de *H. pylori* en concentraciones mínimas, para lo cual se utilizan diferentes iniciadores de secuencias (cebadores) para amplificar varios genes como: el gen *ureA* que codifica para la subunidad A de la enzima ureasa. El gen *glmM* que codifica para una fosfoglucosamina mutasa y secuencias altamente conservadas del gen que codifica para el ácido ribonucleico de la subunidad 16S del ribosoma (ARNr 16S). De todos los genes, el gen *glmM* ha sido el más empleado para el diagnóstico de *H. pylori*, y se reportan muy buenos valores de sensibilidad y especificidad con su uso (Premoli et al., 2004).

La técnica de PCR (PCR, polymerase chain reaction por sus siglas en inglés) fue desarrollada en la década de 1980 por Kary Mullis, quien recibió el Premio Nobel en 1994. Desde su descripción, esta tecnología ha causado una verdadera revolución en la investigación biológica (Valones et al., 2009). Es una técnica biotecnológica que tiene como finalidad el amplificar o reproducir *in vitro* un número de copias de una región específica de ADN, con el propósito de reproducir cantidad suficiente de un fragmento para su evaluación (Premoli et al., 2004).

2.11.3.1 PCR tiempo real

Esta técnica está basada en la reacción en cadena de polimerasa (PCR) y se usa para amplificar y al mismo tiempo cuantificar moléculas de ADN o ADN complementario (ADNc) específicas y así acceder a datos fiables y precisos sobre la expresión genética de las células en estudio (Heid et al., 1996). El término "reacción en cadena" se refiere a los varios ciclos de copiado de un fragmento específico de ADN a partir de un ácido nucleico diana, en este caso, del genoma del agente infeccioso. La región amplificada se caracteriza por dos (o más) oligonucleótidos cortos y dos cebadores que son complementarios con las regiones de ADN que flanquean la secuencia diana. Utilizando una ADN-polimerasa termoestable, que no resulte desnaturalizada durante el ciclo de calentamiento, es posible copiar la secuencia de ADN entre los dos cebadores. Repitiendo de 20 a 40 veces el régimen de ciclos de calentamiento, se obtendrá una cantidad de ADN diana copiado que será suficiente para operaciones ulteriores, tales como la detección, el clonado y la secuenciación. La sensibilidad de diagnóstico de la PCR es muy alta, ya que se producen varios millones de copias de la diana seleccionada. También, puede ser muy alta la especificidad de la reacción, debida a las secuencias nucleotídicas específicas formadas por los oligonucleótidos (cebadores). Los cebadores están diseñados para detectar secuencias nucleotídicas específicas en los genomas de los agentes infecciosos diana seleccionados Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2006).

2.11.3.2 Equipos para realizar la PCR en tiempo real

Los equipos para llevar a cabo la PCR en tiempo real incluyen un termociclador y una unidad capaz de detectar señales fluorescentes (fluorómetro) para monitorear el progreso de la reacción de amplificación, así como un Hardware y un Software para la captura y el análisis de los datos, respectivamente. El termociclador del equipo debe ser capaz de mantener una temperatura uniforme para todas las muestras y ser lo suficientemente rápido en la transición de temperaturas de una etapa a otra (desnaturalización del ADN molde, alineamiento de los oligonucleótidos y síntesis). El sistema fluorométrico consiste en una fuente de energía para excitar a los fluoróforos (a una determinada longitud de onda de excitación) y un sistema de detección, que permita monitorear la señal emitida (a una longitud de onda de emisión). La fuente de energía que proporciona la luz de excitación para los fluoróforos puede provenir de una lámpara (tungsteno), una resistencia (diodo emisor de luz) o un láser. Las diferentes longitudes de onda de emisión se detectan con dispositivos que incluyen filtros, multiplicadores y fotodetectores (Serrato et al., 2014).

2.12 Resistencia antibiótica del *H. Pylori*

Los principales factores que influyen en la efectividad de un esquema de erradicación son, la resistencia antibiótica local y la adherencia al tratamiento (Rodríguez, 2011). Existe una resistencia farmacológica aplicable concretamente a cepas de *H. pylori*, en la cual muestran susceptibilidad a un antibiótico *in vitro* y, sin embargo, son resistentes *in vivo*; la causa principal de esta resistencia es la

dificultad del antibiótico de llegar al foco de la infección a concentraciones suficientes para alcanzar un efecto antibacteriano (Pajares et al., 2007).

A continuación se señala el mecanismo de resistencia para algunos antibióticos:

Amoxicilina: La causa fundamental de resistencia a la amoxicilina es una mutación en el gen 1A-bbp (Pajares et al., 2007).

Claritromicina: Los macrólidos apuntan al lazo peptidil-transferasa del dominio V del ARN ribosomal 23S (rrn) y, conducen a una detención de la elongación del péptido. La resistencia ocurre en *H. pylori* por mutaciones que se dan especialmente en las posiciones 2142 (A2142G, A2142C) y 2143 (A2143G), lo cual lleva, probablemente, a una modificación de la conformación del sitio blanco y una disminución en la fijación. Estas mutaciones conducen a una resistencia cruzada entre todos los macrólidos. Pese al hecho de que el *H. pylori* contiene dos operones rARN, raramente se encuentra una heterocigosidad (Mégraud y Corti, 2009).

Tetraciclinas: La principal causa de resistencia a la tetraciclina es la sustitución única, doble o triple de pares de nucleótidos en el lugar de unión y adherencia de la tetraciclina a la molécula ribosomal rRNA 16S bacteriana (Pajares et al., 2007).

2.13 Coliformes fecales y totales.

El grupo de microorganismos coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana, debido a que éstos son contaminantes comunes del tracto gastrointestinal, tanto del hombre como de los animales de sangre caliente;

están presentes en el tracto gastrointestinal en grandes cantidades, permanecen por más tiempo en el agua que las bacterias patógenas y se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección. (Arcos et al., 2005).

Los coliformes totales se definen como bacterias gram negativas en forma bacilar que fermentan la lactosa a temperatura de (35 a 37) °C y producen ácido y gas (CO₂) en 24 h, aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática β-galactosidasa. Entre ellas se encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* (Larrea et al., 2013). Los coliformes fecales son de origen intestinal. Está constituido por bacterias Gram-negativas capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a las 48 h de incubación a (44.5 ± 0.1) °C (Camacho et al., 2009). Se les denominan termotolerantes por su capacidad de soportar temperaturas más elevadas (Arcos et al., 2005). Además, se pueden encontrar de forma menos frecuente otras especies como: *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae*, pero su origen normalmente es ambiental (fuentes de agua, vegetación y suelos) y sólo ocasionalmente forman parte de la microbiota intestinal (Larrea et al., 2013).

Según las Guías de la Calidad del Agua de Consumo elaboradas por la OMS (Organización Mundial de la Salud) en el año 2004 y los actuales parámetros establecidos a nivel nacional, se considera que estos indicadores microbiológicos, anteriormente mencionados, no deben encontrarse en el agua de consumo humano.


La Dirección General de Normas y Tecnología Industrial (DGNTI) Comisión Panameña de Normas Industriales y Técnicas (COPANIT) 1999. Establece en el “Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 23-395-99”, los requisitos que debe

cumplir el agua potable para consumo humano. Se aplica al agua potable de los sistemas de abastecimiento públicos y privados a través de redes de distribución y agua no distribuida por tuberías (Cuadro 2.1).

Cuadro N° 2.1. Características biológicas reguladas para el agua potable

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	VMP(1)
1. Biológicas		
A. Agua distribuida por tubería		
A.1. Agua tratada que entra al sistema de distribución		
Bacterias coliformes fecales	Nº de colonias / 100 mL	0
Bacterias coliformes totales	Nº de colonias / 100 mL	0
A.2. Agua no sometida a tratamiento que entra en el sistema de distribución		
Bacterias coliformes fecales	Nº de colonias / 100 mL	0
Bacterias coliformes totales	Nº de colonias / 100 mL	3
A.3. Agua en el sistema de distribución		
Bacterias coliformes fecales	Nº de colonias / 100 mL	0
Bacterias coliformes totales	Nº de colonias / 100 mL	3
B. Agua no distribuida por tuberías		
Bacterias coliformes fecales	Nº de colonias / 100 mL	0
Bacterias coliformes totales	Nº de colonias / 100 mL	10
VMP. Valor máximo permitido		

Fuente: (Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 23-395-99).



CAPÍTULO III
Materiales y Métodos

3.1 Tipo de Estudio y tamaño de la muestra

Se realizó un muestreo puntual en temporada seca a 44 acueductos rurales del Occidente de Panamá, los acueductos fueron elegidos con base en criterios tales como: accesibilidad, sitios distantes del centro de captación, tratamiento deficiente del agua y puntos cercanos a sitios de captación. Se colectaron un total de 44 muestras cubriendo 12 distritos incluidos en seis regiones de la provincia de Chiriquí y dos de la Comarca Ngäbe – Buglé (Cuadro 3.1).

Cuadro N° 3.1. Sitios de Muestreo

Región	Distrito	Acueducto - Poblado
Oriente	Tolé	Cerro Viejo
		El Llano. Cerro Viejo
		Cerro Caballo
	Remedios	El María
		Escodú
		El Puerto de Remedios.
	San Félix	Santa Cruz
	San Lorenzo	Las Vueltas
		Sábalo
		San Juan
Palma Real		
Tierras Altas	Dolega	Rovira Arriba
		Dos Ríos
		Toma de Aguas de los Ladrillos
	Boquete	Palo Alto
		Jaramillo Arriba
		Llave de Aguas de la Alcaldía Boquete
		Nuevo Bambito
	Bugaba	Nueva Suiza
		Guadalupe
		Guaca
Central Sur	David	San Pablo Nuevo
		Llano Grande Arriba
		San Pablo Viejo
		Rincón de Gualaca
	Gualaca	Higuerón
		Mata Rica

Región	Distrito	Acueducto - Poblado
Central Norte	Boquerón	Macano
		Bocalatùn
		Santa Rita
		Pedregalito
	Alanje	Santo Tomás
		Guasimo
		Orilla de Río
		Matas Gordas
Occidente	Barú	Bella Vista
		Puerto Balsa
		Limonas Arriba
Comarca	Ngäbe-Bugle (Besikó)	Cerro Viejo
	Ngäbe- Bugle (Nole Düima)	Soloy
		Quebrada de Guabo
		OMA. Corregimiento de Susama
		Boca del Monte
		Boca del Monte

3.2 Colecta de muestras

Las muestras se colectaron siguiendo el protocolo para la toma de muestras de agua para análisis microbiológico, según lo establece el Reglamento Técnico DGNTI-COPANIT 23-395-99, el cual consiste en que la muestra debe tomarse en un envase de plástico o vidrio estéril, la cantidad de muestra requerida para el análisis es de mínimo 300 mL. Se recolectaron 500 mL de muestras de aguas sin clorar en bolsas estériles, Nasco *Whirl-Pack*®. Luego se procedió a rotular los envases con el nombre del lugar, la hora y fecha de la colecta, también se realizó la medición de los parámetros de campo: pH con un multiparámetro portátil Marca HACH modelo Sension 156 y cloro residual con un comparador de color marca HACH, los datos fueron registrados en una cadena de custodia, que es un formato que se utiliza para anotar los datos de campo de las muestras, como: la hora y fecha de la toma de colecta, el punto de muestreo, la localidad, distrito, región y la persona responsable de la colecta. Las muestras fueron transportadas a una

temperatura de (4 ± 2) °C, al Laboratorio de Aguas de la Universidad Autónoma de Chiriquí, área de Microbiología y, por último, al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas (UNACHI).

Al llegar al Laboratorio de Aguas, se entregó la cadena de custodia para que la muestra se ingresará a la base de datos para análisis y, le consignaran códigos de identificación.

3.3 Procesamiento de las muestras

3.3.1 Análisis de coliformes fecales y totales.

Las muestras fueron procesadas no más de 20 horas después de su colecta. Los análisis de coliformes fecales y totales se realizaron siguiendo la técnica de filtración de membrana, establecida en el Standard Methods for Examination of Water and WasteWater. 2012. (9222 B y 9222 D).

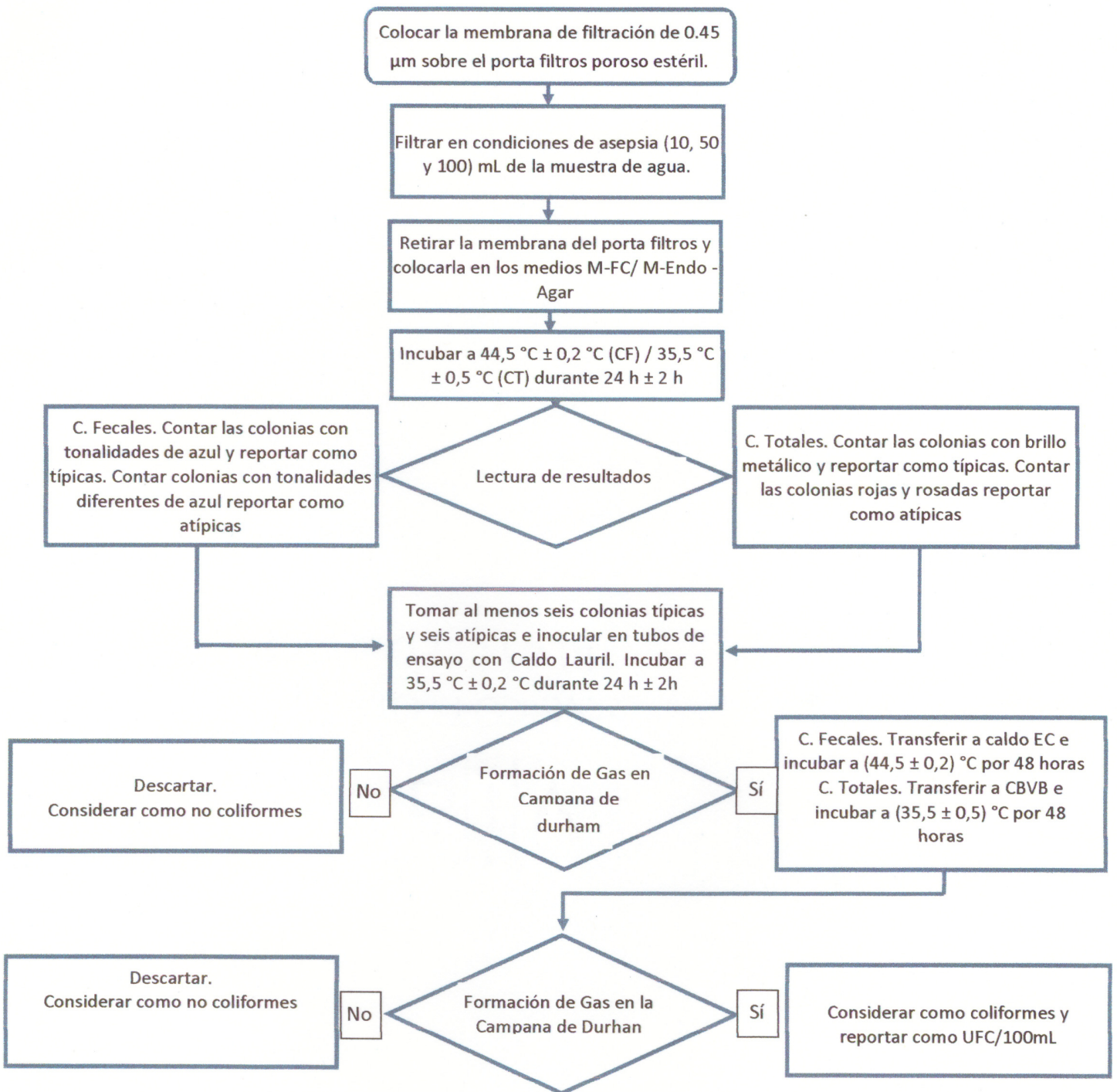


Figura N° 3.1. Técnica para la detección de coliformes en el agua.

3.3.2 Análisis para determinar la presencia de *H. pylori*

3.3.2.1 Extracción de ADN para la determinación molecular de *H. pylori*.

Las muestras fueron procesadas no más de 20 horas después de haber sido colectadas.

La extracción del ADN se realizó utilizando el Kit Comercial para el aislamiento de ADN Rapid Water® Isolation Kit de la casa comercial MO-BIO Laboratories (Carlsbad, CA, USA). La extracción de ADN se realizó según las instrucciones recomendadas por la casa fabricante. Resumidamente, el kit de ADN Rapid Water® considera la filtración de 250 mL agua a través de filtro membrana. Después de la filtración de la muestra, se coloca la membrana a un tubo de 5 mL que contiene una mezcla de micro esferas, para luego realizar una lisis rápida utilizando un tampón de lisis, que favorece el aislamiento de microorganismos a partir del filtro membrana. Inmediatamente después de la lisis, se captura el ADN genómico total en una columna de separación. El ADN de alta calidad se lava y se eluye de la membrana de columna por centrifugación para su uso en los pasos posteriores de los análisis *qPCR*.

3.3.2.1.1 Filtración

Los 250 mL de agua se filtraron utilizando el sistema de filtración por membrana de embudo múltiple "Mamifolds", de tres posiciones de la casa comercial (PALL). Para la retención de las bacterias se utilizó un filtro de membrana de nitrocelulosa, con un diámetro de poro de 0,45 µm.

3.3.2.1.2 Lisis

Luego, con pinzas estériles, se removió la membrana y se colocó dentro del tubo de 5 mL que contenía esferas utilizadas para la remoción mecánica de los microorganismos del filtro. Posteriormente, se calentó durante 10 minutos la solución de lavado RW-1, transcurrido este tiempo, se le agregó al tubo de 5 mL con la membrana, 1 mL de la solución RW-1. El método indica que seguidamente se deben de colocar los tubos de 5 mL con las muestras en un adaptador horizontal para agitar.

El sobrenadante se transfirió a un tubo estéril de colecta de 2 mL, (se recuperaron cerca de 650 μ L). Se procedió a descartar el tubo con las esferas y la membrana. Posteriormente, se centrifugó el tubo de 2 mL a 13 000 rpm durante 1 minuto y el sobrenadante se transfirió a un tubo eppendorf de 2 mL estéril con cuidado de no remover el precipitado. Se descartó el tubo con el precipitado.

3.3.2.1.3 Captura del ADN

Se agregaron 650 μ L de la solución RW-2 y se mezcló cuidadosamente. Luego, se añadió a la columna de separación 650 μ L de la mezcla obtenida y se centrifugaron los tubos a 13 000 g durante un minuto. Este paso se repitió una vez más.

3.3.2.1.4 Lavado

La columna se colocó en un nuevo tubo de colecta y se le agregaron 650 μ L de la solución de lavado RW-3 y, se centrifugaron los tubos a 13 000 g durante un minuto. Se descartó el eluido y como una variante al protocolo, se centrifugó una

vez más la columna, sin ninguna solución de enjuague, esto para eliminar remanentes de la solución de lavado RW-3.

Posteriormente, tras descartar el eluato del remanente de la solución de lavado RW-3, se agregaron 650 μ L de la solución de lavado RW-4 y se centrifugaron los tubos a 13 000 g durante un minuto. Se descartó el eluido y se centrifugó la columna una vez más a 13 000 g durante dos minutos, para remover posibles residuos de las soluciones anteriores.

3.3.2.1.5 Elución

Luego, la columna se colocó en un tubo eppendorf estéril y se agregaron 100 μ L de la solución de lavado RW-5 en el centro de la columna, como una variante al protocolo se dejó la columna en reposo a temperatura ambiente durante cinco minutos para hidratar el ADN adherido a la columna. Transcurridos los cinco minutos, se centrifugaron los tubos a 13 000 rpm por un minuto. Finalmente, se descartó la columna y almacenó el ADN a una temperatura de -20 °C.

La cantidad y calidad del ADN extraído se evaluó utilizando un NanoDrop Lite de la casa comercial (Thermo Scientific, Wilmington, USA).

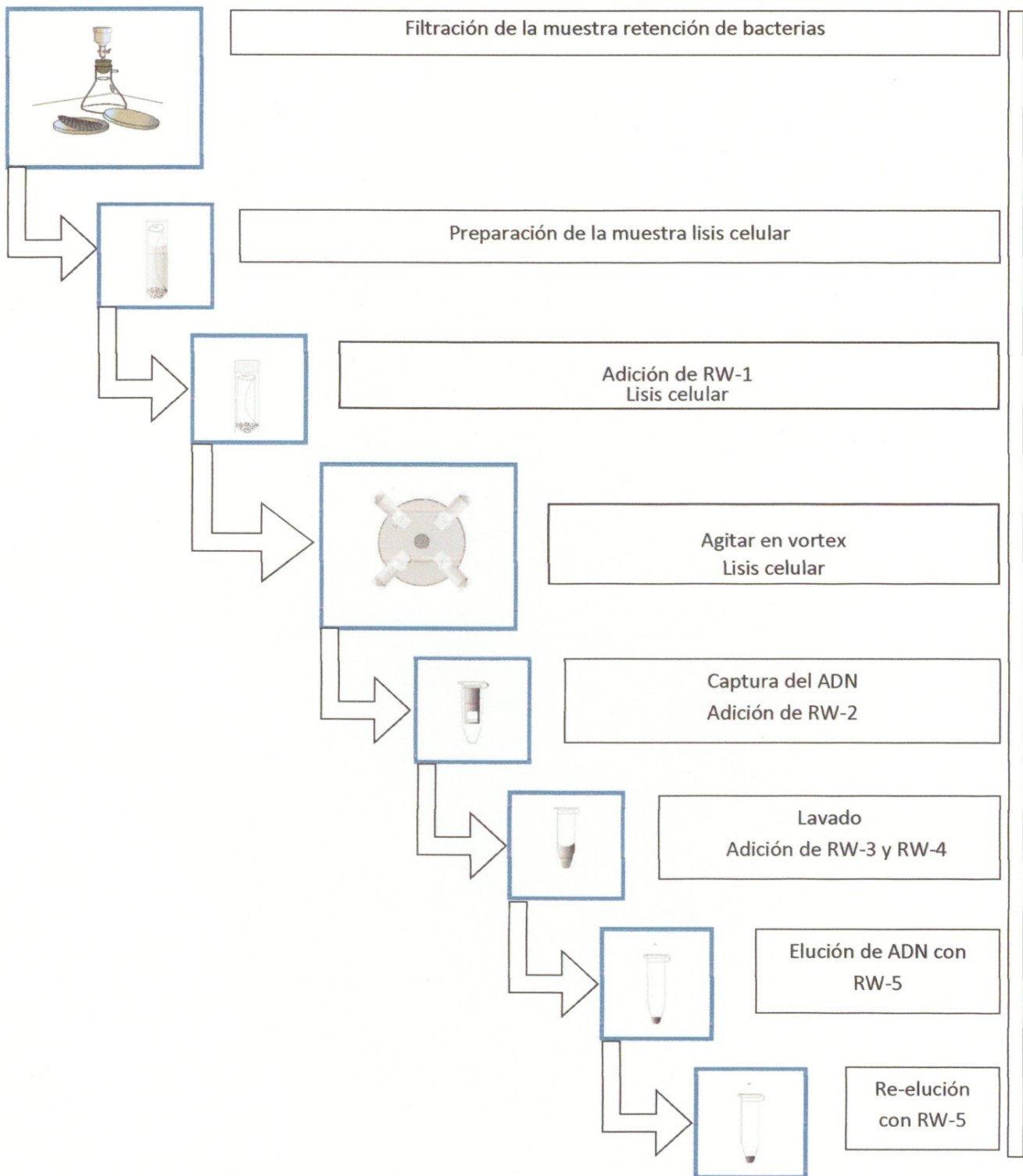


Figura N° 3.2. Técnica para la extracción de ADN de *H. pylori*.

3.3.2.1.6 Análisis molecular PCR Real Time.

Las muestras fueron trasladadas guardando su cadena de frío al Laboratorio de Biología Molecular, del Centro de Investigaciones en Biotecnología "CIB" del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITECR), donde fueron analizadas para determinar la presencia de *H. pylori* por la técnica de reacción de la polimerasa en cadenas (PCR, por sus siglas en inglés) en tiempo real utilizando el equipo Ligthcycler 480, de acuerdo a la metodología estandarizada (Cordero, 2015).

3.3.2.1.7 Preparación de Master Mix


Se preparó una master mix con:

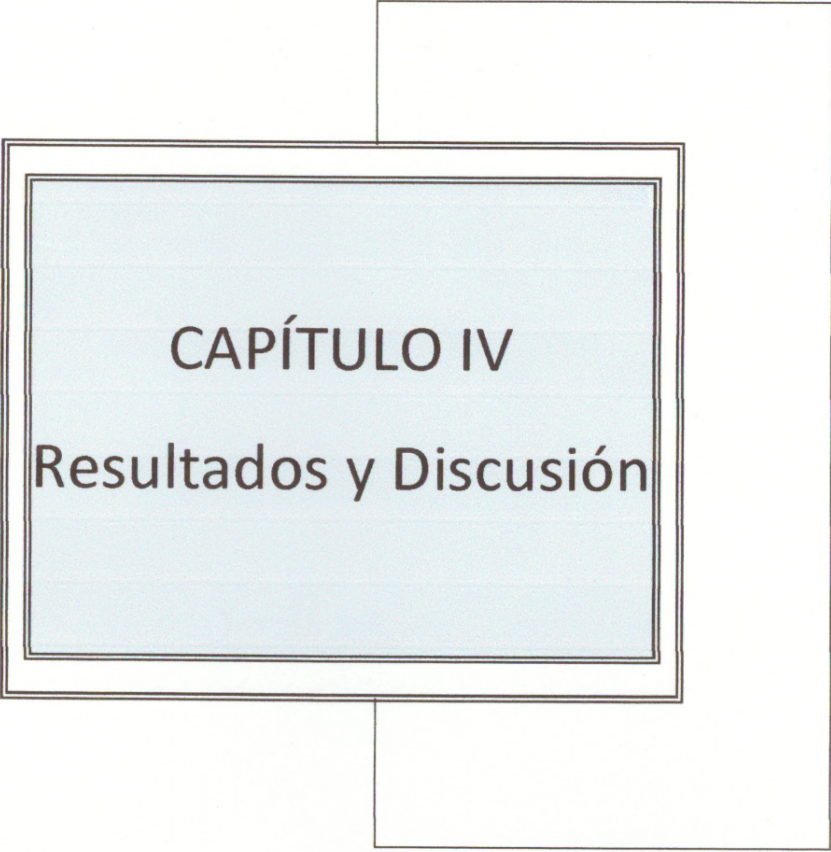
- 5 μL de LightCycler® 480 Probes Master (2X) (Roche Diagnostics GmbH)
- 1 μM de primer glmMFw
- 1 μM de primer glmMRv
- 1 μM de sonda de hidrólisis glmMPb
- 1,5 μL de agua para PCR LightCycler® 480 Probes (Roche Diagnostics GmbH).

Se agregaron 7,5 μL de la master mix por pozo y a cada uno se le agregaron 2,5 μL de la muestra correspondiente para un volumen final de 10 μL (Cuadro 3.2). Se utilizó como control positivo el estándar 1 μL de ADN de *H. pylori* ATCC 51932 y se corrió un control negativo con ADN de *P. aeruginosa* ATCC 27856.

Las curvas de amplificación obtenidas se analizaron por el método de cuantificación por segunda derivada máxima y utilizando la curva estándar perteneciente a 52 °C.

Cuadro N° 3.2. Volumen total y componentes de las reacciones

LightCycler® 480 Probes Master (2X) (Roche Diagnostics GmbH) 5 µL	7.5 µL	
Primer glmMFw 1 µM		
Primer glmMRv 1 µM		
Sonda de hidrólisis glmMPb 1 µM		
Agua para PCR LightCycler® 480 Probes (Roche Diagnostics GmbH) 1,5 µL		
Muestra a analizar	2,5 µL	
Total	10 µL	



CAPÍTULO IV
Resultados y Discusión

4.1 Coliformes

De acuerdo a los resultados microbiológicos de coliformes fecales y totales en las muestras colectados en la región de Oriente, representado por los distritos de Remedios, Tolé, San Félix y San Lorenzo, se puede observar que todos los sitios de muestreo reportan la presencia de coliformes totales con rangos que oscilan desde 6 UFC/100 mL, acueducto de la comunidad de Cerro Caballo, hasta 800 UFC/100 mL acueducto de la comunidad del El Puerto de Remedios (Figura 3). Por otro lado, para esta misma región el 80% de los sitios muestreados reporta la presencia de coliformes fecales, en un rango que oscila de 6 UFC/100 mL hasta 385 UFC/100 mL (Cuadro 4.1).

Cuadro N° 4.1. Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región oriental de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	CF	CT	Cumplimiento
Tolé	Comunidad de Cerro Viejo	95	260	No Cumple
	Comunidad del Llano	385	730	No Cumple
	Comunidad de Cerro Caballo	< 1	6	No Cumple
Remedios	Comunidad de El María	12	600	No Cumple
	Comunidad de Escodú.	6	520	No Cumple
	Comunidad de El puerto de Remedios	450	800	No Cumple
San Félix	Comunidad de Santa Cruz	320	450	No Cumple
San Lorenzo	Comunidad de Las Vueltas	42	140	No Cumple
	Comunidad de Sábalo	< 1	26	No Cumple
	Comunidad de San Juan	260	850	No Cumple

La totalidad de los acueductos de la región de Oriente, no cumplen con los estándares de calidad microbiológicos establecidos en el reglamento técnico de agua potable DGNTI COPANIT 23-395-99 (Cuadro 2.1), agua distribuida por

tubería en el sistema de distribución, donde el límite máximo para coliformes fecales es 0 colonias por 100mL y para coliformes totales es de 3 colonias por cada 100 mL.

El 31 de enero de 1994 el Ministerio de Salud de Panamá (MINSA), en resolución No. 027, estableció que el agua de consumo (ACH) debe estar libre de las presencia de bacterias de origen fecal (Cero "0" coliformes fecales). Posteriormente, el 12 de noviembre de 1999 el Ministerio de Comercio e Industrias mediante resuelto No 596 ratificó el reglamento técnico para agua potable, en la cual se establece que el agua para consumo humano debe estar libre de bacterias coliformes fecales. Ambos documentos establecen que, en nuestro país el agua para considerarse apta para el consumo humano debe estar exentas de bacterias de origen fecal. Cualquier sociedad civilizada debe considerar el suministro de agua potable como una prioridad. Esto es así, porque el agua potable es una necesidad básica para el desarrollo humano, salud y bienestar (Agatemor, 2007). Un suministro adecuado de agua potable es, universalmente reconocido como una necesidad humana básica. Sin embargo, millones de personas en el mundo en desarrollo no tienen fácil acceso a un suministro de agua adecuado y seguro (Ngindu et al., 2007).

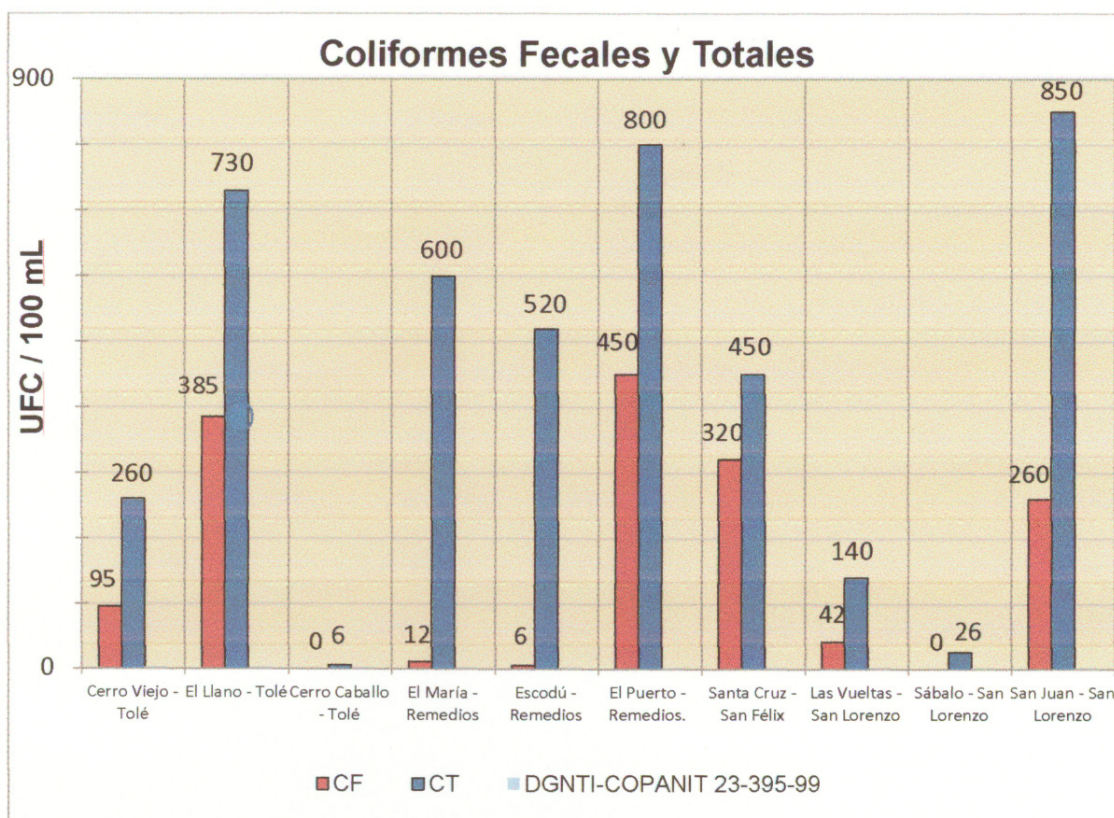


Figura N° 4.1. Coliformes fecales y totales UFC/100mL, región de Oriente.

En el 20% de las estaciones de muestreo de la región de Tierras Altas, no se reporta la presencia de coliformes fecales ni coliformes totales (Comunidad de Dos Ríos, Dolega y comunidad de Jaramillo Arriba, Boquete), estos acueductos cumplen con los estándares de calidad microbiológicos establecidos en el Reglamento Técnico de agua potable DGNTI COPANIT 23-395-99 (Figura 4.2), mientras que en un 80% de los sitios presenta agua no aptas para el consumo humano, ya que, no cumple con los estándares de calidad microbiológicos del Reglamento Técnico DGNTI COPANIT 23-395-99. Es importante señalar que un

40% de los acueductos no se reporta la presencia de coliformes fecales, pero sí de coliformes totales ver (Cuadro 4.2).

Cuadro N° 4.2. Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región de Tierras Altas, provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	CF	CT	Cumplimiento
Dolega	Palma Real	<1	90	No cumple
	Rovira Arriba	<1	6	No cumple
	Dos Ríos	<1	<1	Cumple
Boquete	Ladrillos, acueducto de Boquete	52	130	No cumple
	Palo Alto	<1	660	No cumple
	Jaramillo Arriba	<1	<1	Cumple
	Alcaldía de Boquete	<1	80	No cumple
Bugaba	Nuevo Bambito	34	132	No cumple
	Nueva Suiza.	70	120	No cumple
	Guadalupe	20	130	No cumple

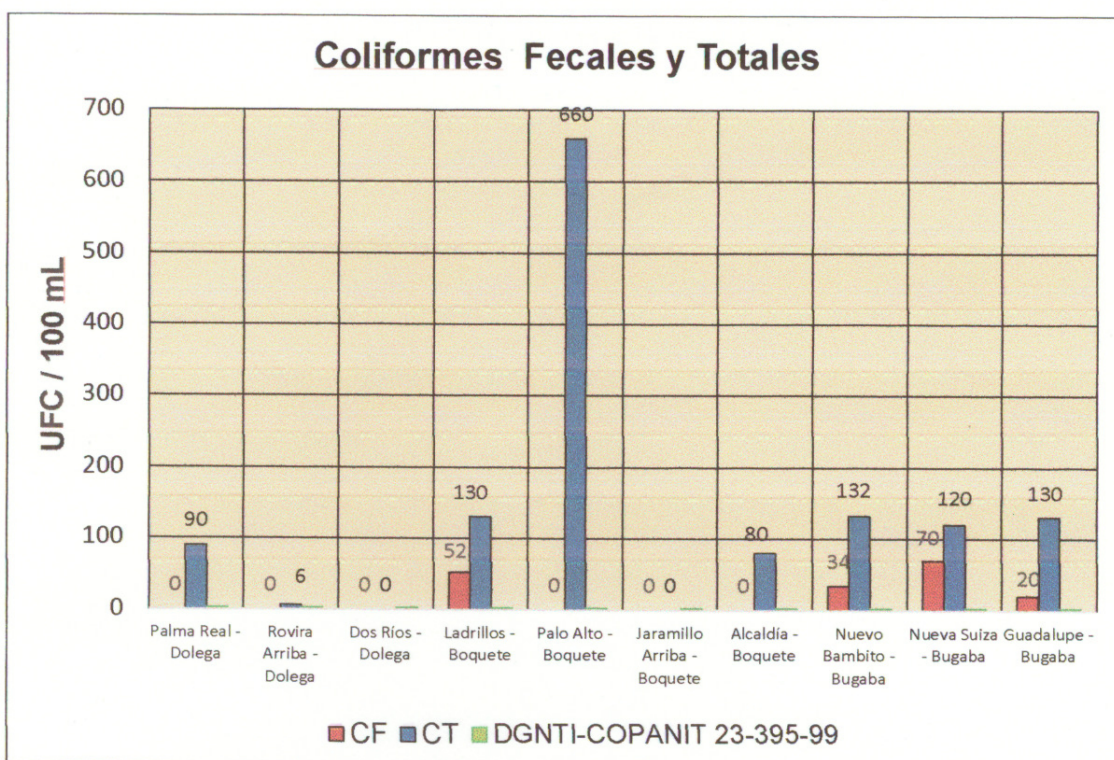


Figura N° 4.2. Coliformes fecales y totales UFC/100mL. Región de Tierras Altas

La región central sur está representada por los distritos de David y Gualaca con 7 sitios de muestreo, para este grupo de muestras solamente el sitio designado como San Pablo Viejo, no reporta valores de coliformes fecales ni totales, siendo el único sitio que cumple con los estándares microbiológicos para el agua destinada a consumo humano de acuerdo a los establecido por (Reglamento Técnico DGNTI-COPNAIT 23-395-99) (Cuadro 4.3); el resto de las estaciones de muestreo reportan al menos 2 UFC/100 mL (Figura 4.3).

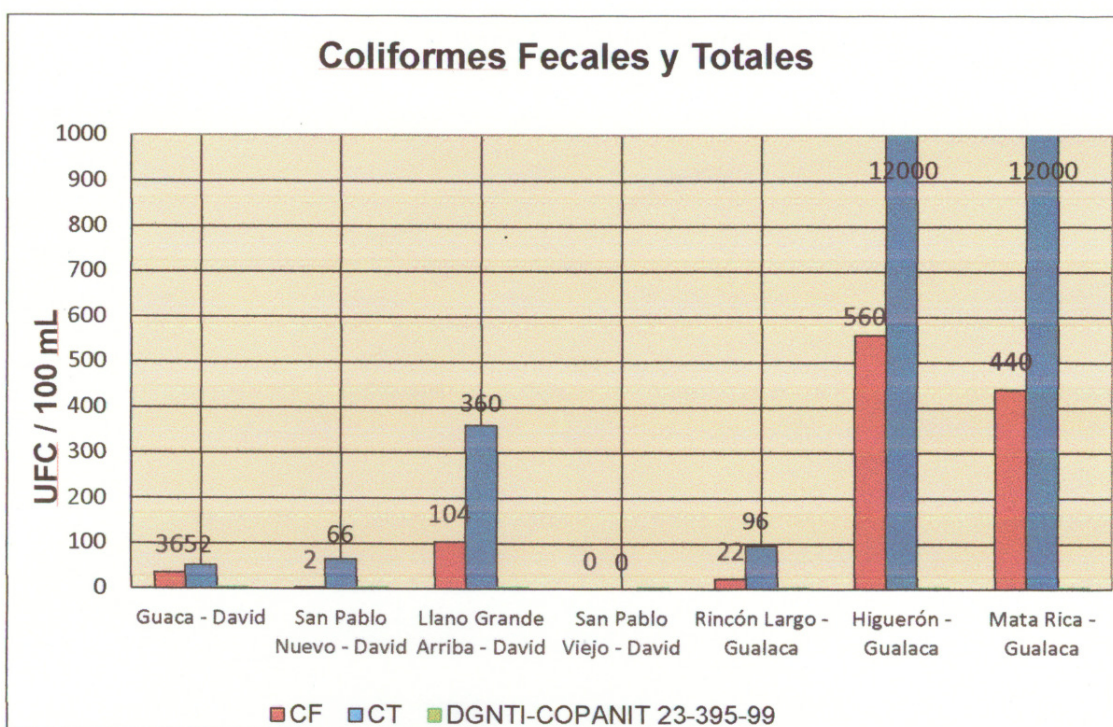


Figura N° 4.3. Coliformes fecales y totales UFC/100mL. Región Central Sur.

Cuadro N° 4.3. Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región Central Sur de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	CF	CT	Cumplimiento
David	Guaca	36	52	No cumple
	San Pablo Nuevo	2	66	No cumple
	Llano Grande Arriba	104	360	No cumple
	San Pablo Viejo	< 1	< 1	Cumple
Gualaca	Rincón Largo	22	96	No cumple
	Higerón	560	12000	No cumple
	Mata Rica	440	INC	No cumple

La región Central Norte representada por los distritos de Boquerón y Alanje cuenta con ocho puntos de muestreo, en tres de ellos no se reporta la presencia de coliformes totales y en cinco de ellos no se reporta la presencia de coliformes fecales; mientras que simultáneamente en tres de ellos no se reporta la presencia

de coliformes fecales ni de coliformes totales (Cuadro N° 4.4), estos acueductos cumplen con los estándares de calidad microbiológicos establecidos en el Reglamento Técnico DGNTI COPANIT 23-395-99 (Figura 4.4).

Cuadro N° 4.4. Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región Central Norte de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	CF	CT	Cumplimiento
Boquerón	Macano	380	1310	No cumple
	Bocalatùn	<1	10	No cumple
	Santa Rita	<1	4	No cumple
	Pedregalito	<1	<1	Cumple
Alanje	Santo Tomas	230	650	No cumple
	Guasimo	<1	<1	Cumple
	Orilla de Río	120	660	No cumple
	Matas Gordas	<1	<1	Cumple

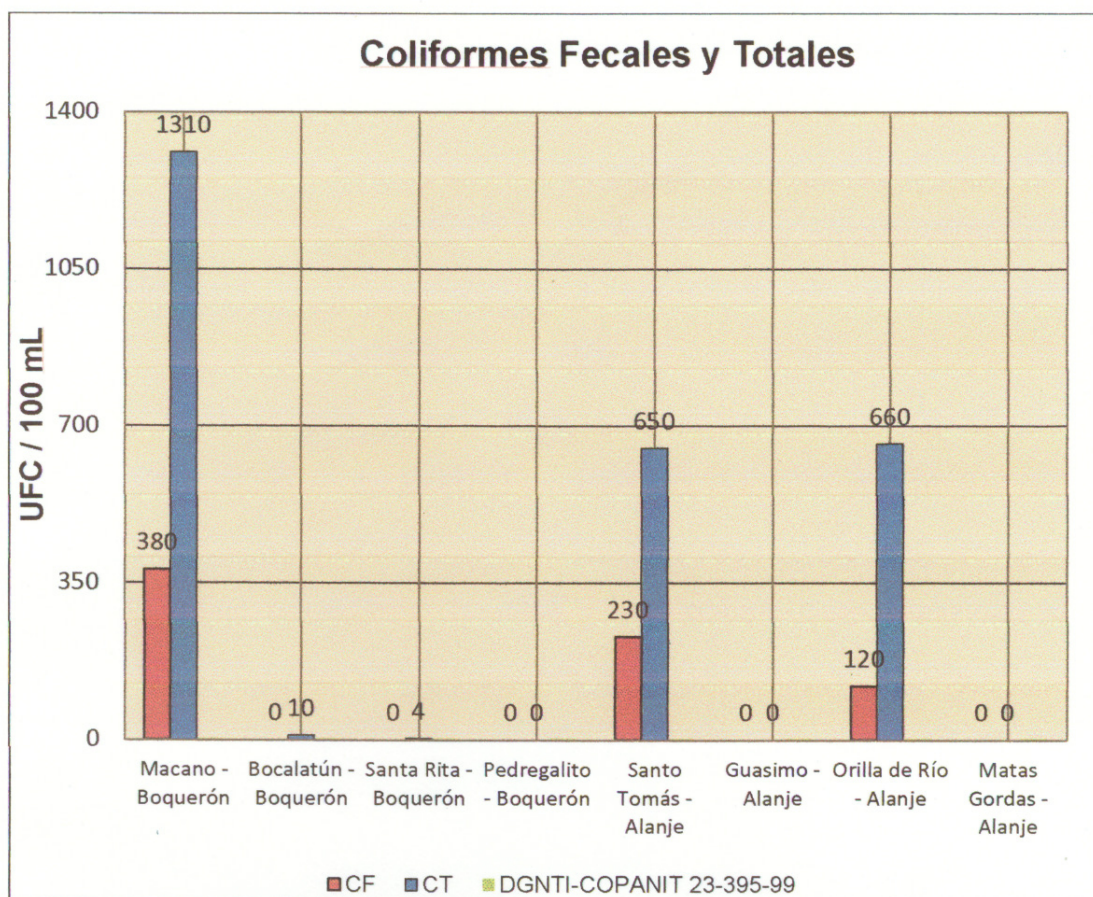


Figura N° 4.4. Coliformes fecales y totales UFC/100mL región Central Norte

La región occidental está representada por el distrito de Barú con tres estaciones de muestreo, en las tres estaciones de muestreo se representaron coliformes totales y, sólo uno de ellos, comunidad de Limones Arriba presentó coliformes fecales con un valor de 4 UFC/100 mL (Cuadro N° 4.5). Ninguno de los acueductos muestreados en esta región cumple con los estándares de calidad microbiológicos establecidos en el Reglamento Técnico DGNTI COPANIT 23-395-99 (Figura N° 4.5).

Cuadro N° 4.5. Datos de coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región de Occidente de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	CF	CT	Cumplimiento
Barú	Bella Vista	< 1	8	No cumple
	Puerto Balsa, Barú	< 1	107	No cumple
	Limonos Arriba	4	64	No cumple

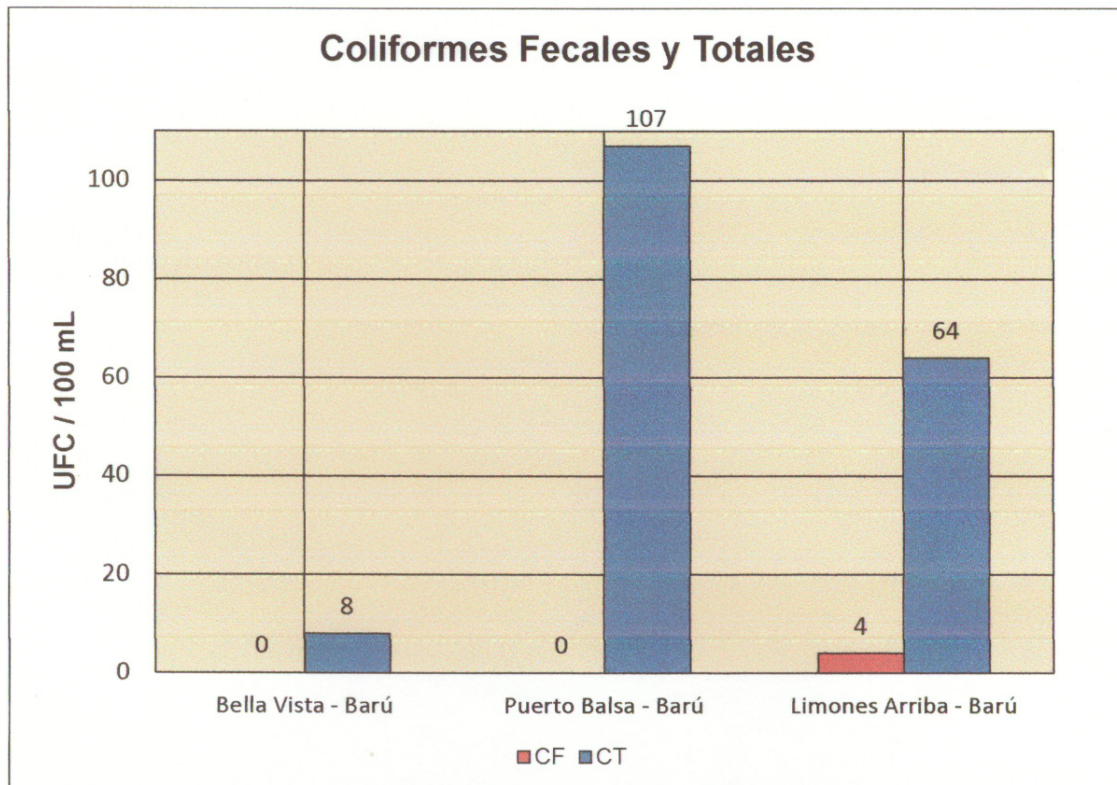


Figura N° 4.5. Coliformes fecales y totales UFC/100mL. Región Occidental.

En la región Sur de la comarca Ngäbe-Buglé se colectaron seis muestras, la totalidad de ellas, el 100% reportan la presencia de coliformes fecales y coliformes totales, por lo tanto, ninguno de los acueductos cumple con los estándares de calidad microbiológicos establecidos en el Reglamento Técnico DGNTI COPANIT 23-395-99 (Figura N° 4.6). Los valores de coliformes fecales oscilan en un rango de 4 UFC/100 mL a 430 UFC/100 mL, mientras que los coliformes totales reportan

valores de 70 UFC/100 mL a 1400 UFC/100 mL (Cuadro N° 4.6). El 50% de las muestras colectadas en esta región fueron de agua almacenada por las personas en tanques de reserva dentro de sus hogares. Este mecanismo constituye una estrategia para garantizar la disponibilidad del vital líquido 24 horas, sin embargo, muchos investigadores han observado que el almacenamiento de agua en el hogar conduce a un deterioro de la calidad del agua debido a su contaminación. Incluso si las familias tienen una fuente de agua limpia para beber, el agua puede contaminarse en el hogar debido a la falta de higiene y de prácticas de mantenimiento a filtros y desinfección de contenedores de agua.

Cuadro N° 4.6. Datos de Coliformes totales y fecales en muestras de acueductos de la región de Comarca Ngäbe-Bugle de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	CF	CT	Cumplimiento
Comarca Ngäbe-Bugle (Besikó)	Cerro Viejo.	64	720	No cumple
	Soloy	32	92	No cumple
Comarca Ngäbe – Bugle (Nole Düima)	Quebrada de Guabo	8	70	No cumple
	OMA. Corregimiento de Susama.	400	1130	No cumple
	Boca del Monte	4	210	No cumple
	Boca del Monte II.	430	1400	No cumple

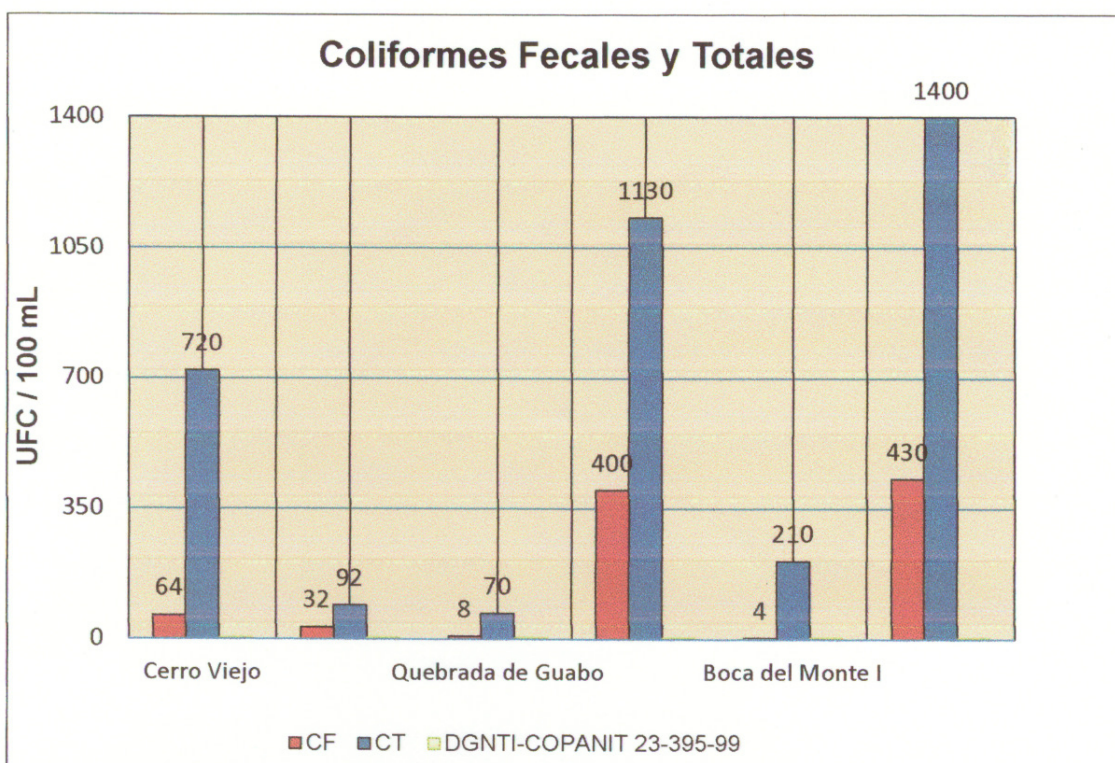


Figura N° 4.6. Coliformes fecales y totales UFC/100mL. Comarca Ngäbe-Bugle.

Con respecto a las condiciones sanitarias de los pozos que abastecen estos acueductos estos en su mayoría fueron deficientes al encontrarse, por ejemplo, estructuras sin tapa o tapas inadecuadas (tablas de madera, cartón, metal oxidado) que en muchos casos no llegan a cubrir la totalidad del orificio, permitiendo de esta manera el ingreso de polvo por las corrientes de aire, así como también heces de animales (gallinas, palomas). También, se observó que los pozos sin cubierta presentaban gran cantidad de algas, insectos, partículas en suspensión y plantas como helechos creciendo en sus laderas. Esta situación puede desmejorar la calidad del agua y ser riesgosa para los pobladores que consumen esta agua, ya que son susceptibles a enfermedades que pueden

afectar directamente su calidad de vida, de igual manera muchos de ellos pueden ser portadores asintomáticos de microorganismos patógenos.

En estas zonas rurales los pobladores obtienen el agua para el consumo humano principalmente de pozos y fuentes superficiales y, hacen uso de ellas sin recibir el tratamiento de potabilización más básico (cloración), como pudo ser verificado en las inspecciones de campo realizadas en conjunto con personal del Ministerio de Salud, donde se comprobó que más del 75% de los puntos muestreados no presentan cloro residual libre.

Un estudio realizado en Europa sobre la presencia de *E. coli* en tuberías de conducción de agua para consumo humano, concluyó que se requería de mayor vigilancia a la red de distribución del agua potable, con la finalidad de diseñar las estrategias adecuadas para mejorar la calidad y suministro de agua, y era necesaria una evaluación continua de la calidad del agua, para así, determinar la probable fuente de contaminación, analizar los entornos comunitarios y tomar medidas de saneamiento para el líquido vital (Juhna et al., 2007).

La contaminación de los pozos, la supervivencia de microorganismos indicadores patógenos depende de varios factores como: la actividad agrícola, la temperatura ambiental, la cercanía a basurales y letrinas, el recubrimiento de su infraestructura, la presencia de vectores, la crianza de animales, las aguas residuales cercanas y las malas prácticas alimentarias (Cutimbo, 2012).

El agua potable, es un servicio básico en cualquier parte del mundo pero, alguna de las comunidades ubicadas en los alrededores de las ciudades, no son

atendidas de igual manera que el área central de las mismas. Cada sistema de gobierno se encarga de distribuir el agua a sus comunidades. Sin embargo, no existe un monitoreo de la calidad del agua y no se lleva un control microbiológico sistemático necesario para asegurar la potabilidad del agua. Por lo que, el objetivo de la presente revisión fue conocer los riesgos microbiológicos asociados al agua de consumo humano.

4.2 *Helicobacter pylori*

En este estudio se encontró que de 44 muestras tomadas de acueductos de distintos poblados de la provincia de Chiriquí y de la región sur de la Comarca Ngäbe-Buglé, 86% (37 acueductos) resultaron positivos a la detección de *H. pylori*, mientras que 14% (siete acueductos) resultaron negativos (Figura 4.7). Esto confirma la presencia de *H. pylori* en acueductos rurales de región occidental de Panamá. En una minuciosa revisión literaria se pudo encontrar que existen en nuestro país estudios con *H. pylori*, sin embargo, no se encontraron publicaciones relacionadas a la presencia de *H. pylori* en el agua.

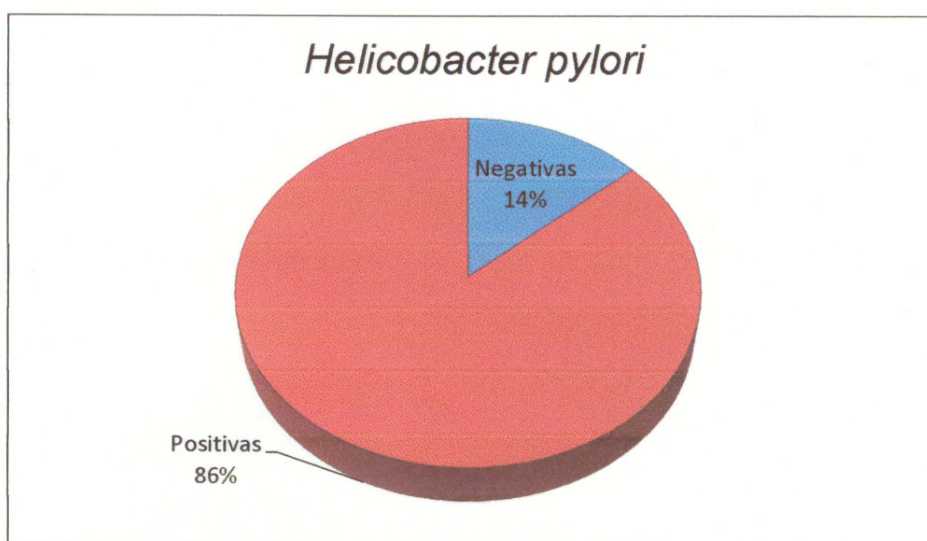


Figura N° 4.7. *H. pylori* muestras de acueductos de la provincia de Chiriquí y Comarca Ngäbe-Buglé: 2015

El 70% de las muestras de la región oriental dieron resultados positivos para *H. pylori*, mientras que el 30% dio resultado negativo (Ver cuadro 4.7). El número de copia de ADN fue muy variable reportando desde valores de 1 copia / 100 mL para la comunidad de Escodú y El Puerto de Remedios hasta 321 copias/100mL en la comunidad de San Juan.

Cuadro N° 4.7. Datos positivos y negativos de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región Oriental de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	Resultado	No de Copias de ADN/100mL
Tolé	Cerro Viejo.	Negativo	N.D
	El Llano	Negativo	N.D
	Cerro Caballo.	Positivo	51
Remedios	El María	Negativo	N.D
	Escodú	Positivo	1
	El Puerto de Remedios	Positivo	1

San Félix	Santa Cruz	Positivo	307
San Lorenzo	Las Vueltas	Positivo	87
	Sábalo	Positivo	76
	San Juan	Positivo	321

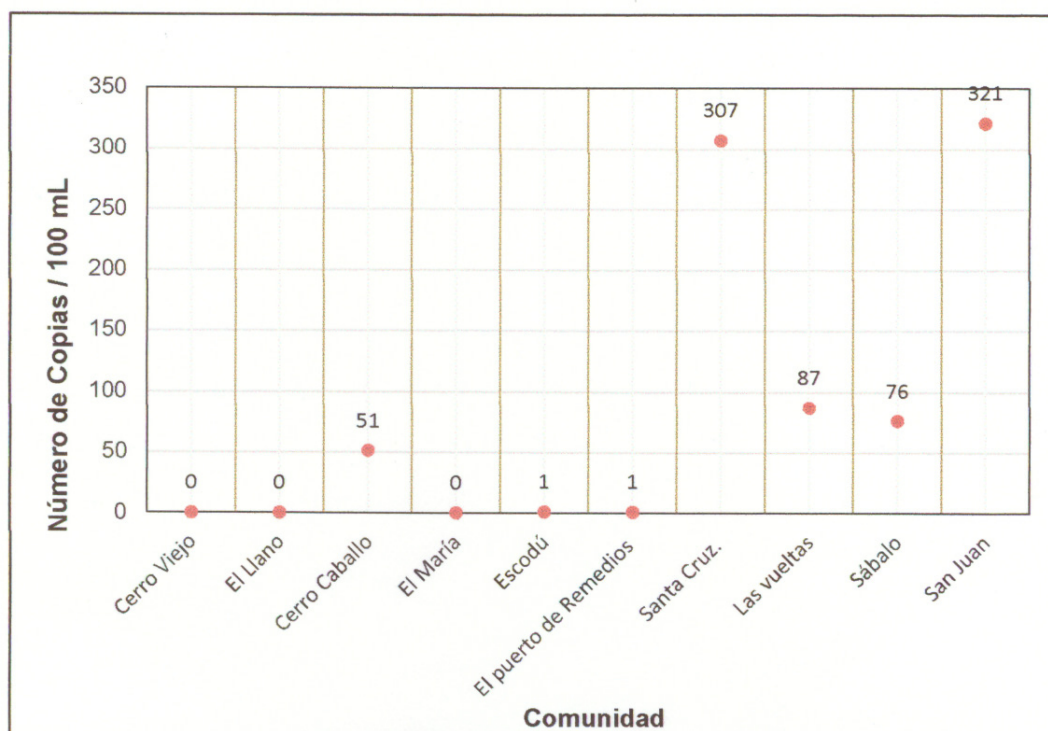


Figura N° 4.8. Número de copias de ADN de *H. pylori* /100 mL en muestras de acueductos de la región de Oriente

El 80% de las muestras de la región de Tierras Altas dieron resultados positivos para *H. pylori*, mientras que el 20% dio resultado negativo (Ver cuadro N° 4.8). El número de copias de ADN para esta región fue la más variable del estudio reportándose desde una 1 copia/100 mL en la comunidad de Palma Real distrito de Dolega hasta 31 000 copia/100 mL en la comunidad de Rovira del mismo

distrito (Ver figura N° 4.9). Por otro lado, sobresale el resultado de la comunidad de Guadalupe con 7500 copia/100 mL.

Cuadro N° 4.8. Datos positivos y negativos de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región de Tierras Altas de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	Resultado	No de Copias de ADN / 100mL
Dolega	Palma Real	Positivo	1
	Rovira Arriba	Positivo	31 000
	Dos Ríos	Positivo	4
Boquete	Toma de Aguas de los Ladrillos	Positivo	25
	Palo Alto Boquete	Negativo	N.D
	Jaramillo Arriba	Positivo	2
	Llave de Aguas de la Alcaldía	Positivo	12
Bugaba	Nuevo Bambito	Positivo	4
	Nueva Suiza	Negativo	N.D
	Guadalupe	Positivo	7500

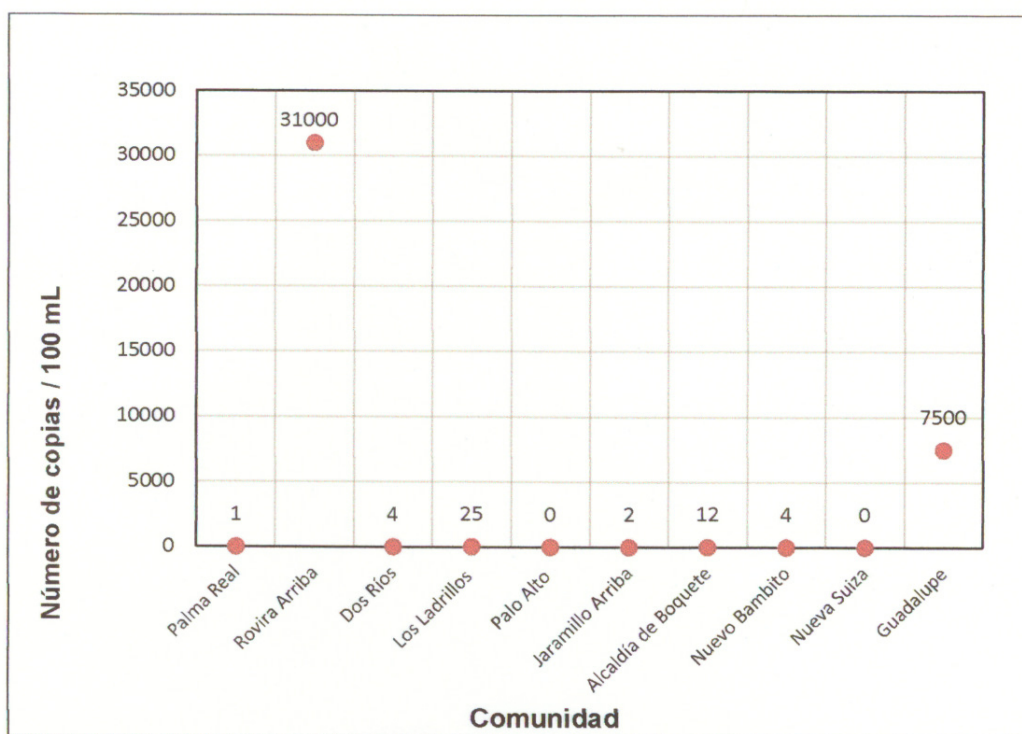


Figura N° 4.9. Número de copias de ADN de *H. pylori* /100 mL en muestras de acueductos de la región de Tierras Altas

En la región Central Sur el 100% de las muestras colectadas dieron resultados positivos y los valores de número de copias se distribuyeron en un rango de 10 copia/100 mL para la comunidad de Guacá en el distrito de David hasta 3100 copias/100 mL para la comunidad de Higuerón en el distrito de Gualaca (Cuadro N° 4.9).

Cuadro N° 4.9. Datos positivos de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región Central Sur de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	Resultado	No de Copias de ADN/100mL
David	Guaca	Positivo	10
	San Pablo Nuevo	Positivo	29
	Llano grande arriba	Positivo	17
	San Pablo viejo	Positivo	145
Gualaca	Rincón de Gualaca	Positivo	476
	Higuerón	Positivo	3100
	Mata Rica	Positivo	277

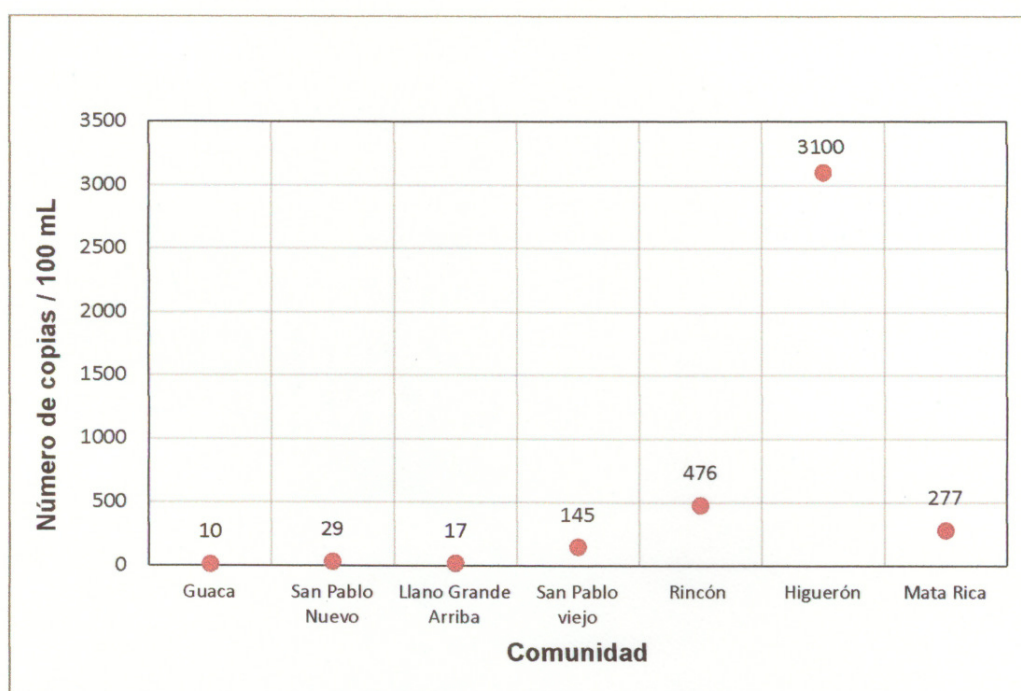


Figura N° 4.10. Número de copias de ADN de *H. pylori* /100 mL en muestras de acueductos de la región Central Norte

En la región Central Norte una de las ocho muestras colectadas dio positivo para *H. pylori*, lo que representa un 12.5% de las muestras, por otro lado, los valores de copias oscilan de 1 copia/100 mL para la comunidad de Orilla de Río en

el distrito de Alanje hasta 194 copia/100 mL para el acueducto de la comunidad de Matas Gordas en el distrito de Alanje (Cuadro N° 4.11).

Cuadro N° 4.10. Datos positivos y negativos de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región Central Norte de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	Resultado	No de Copias de ADN/100mL
Boquerón	Macano	Positivo	3
	Bocalatún	Positivo	135
	Santa Rita	Positivo	10
	Pedregalito	Negativo	N.D
Alanje	Santo Tomás	Positivo	12
	Guasimo	Positivo	28
	Orilla de Río	Positivo	1
	Matas Gordas	Positivo	194

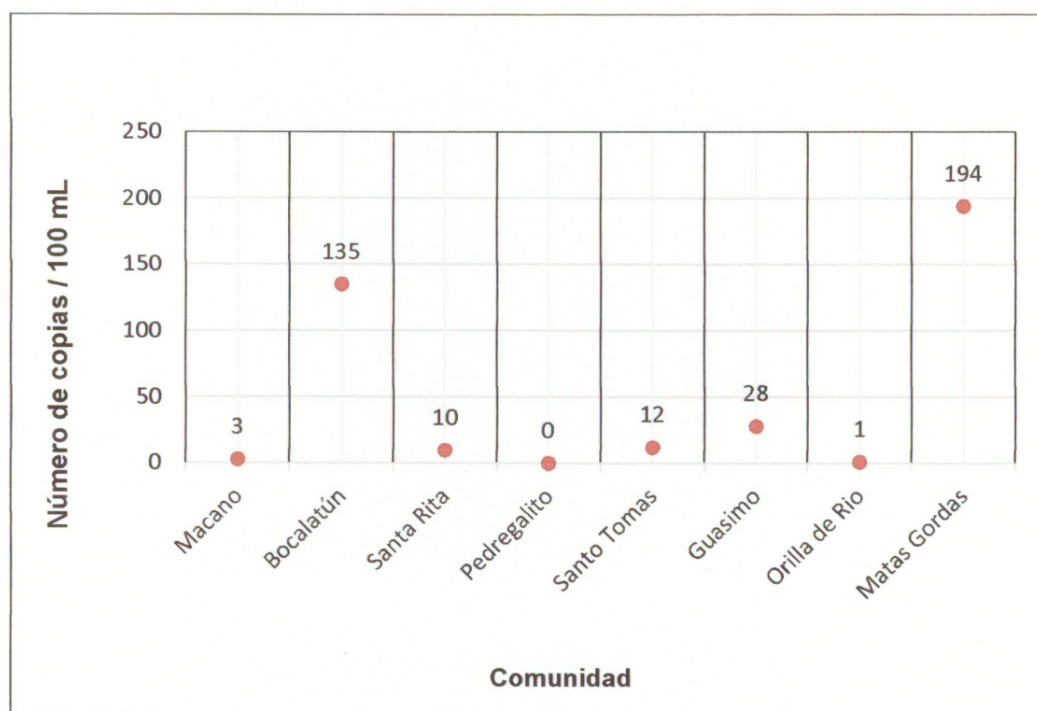


Figura N° 4.11. Número de copias de ADN de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región Central Sur

En la región de Occidente, distrito de Barú, fueron tomadas tres muestras y la totalidad de ellas dieron resultados positivos para *H. pylori*, los valores de números de copias de *H. pylori* fueron relativamente bajos de 1 copia/100 mL a 3 copia/100 mL (Ver Cuadro 4.11).

Cuadro N° 4.11. Datos positivos de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región Occidental de la provincia de Chiriquí.

Distrito	Acueducto - Poblado	Resultado	No de Copias de ADN/100mL
Barú	Bella Vista	Positivo	1
	Puerto Balsa	Positivo	3
	Limonos Arriba	Positivo	2

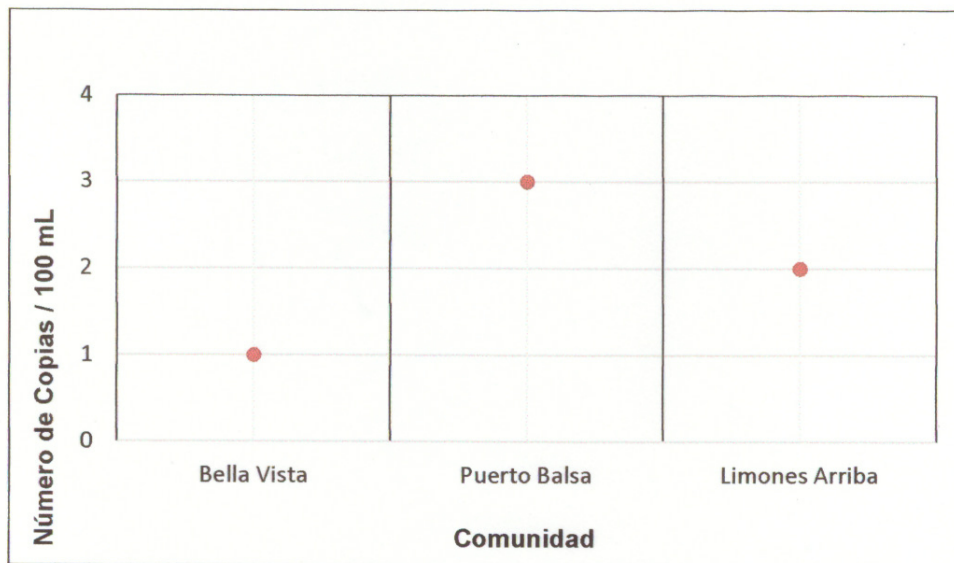


Figura N° 4.12. Número de copias de ADN de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región de Occidente

En la región Comarcal Ngäbe-Buglé se colectaron seis muestras, la totalidad de ellas reportaron resultados positivos para *H. pylori*, en tanto que los valores de copias de ADN osciló en un rango de 24 copia/100 mL para la comunidad de Soloy hasta 1100 copia/100 mL para la comunidad de Boca del Monte (Cuadro N° 4.12).

Cuadro N° 4.12. Datos positivos de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región sur de la comarca Ngäbe-Buglé.

Distrito	Acueducto - Poblado	Resultado	No de Copias de ADN/100mL
Comarca Ngäbe-Bugle (Besikó)	Cerro Viejo	Positivo	188
	Soloy	Positivo	24
Comarca Ngäbe- Bugle (Nole Düima)	Quebrada de Guabo	Positivo	289
	OMA. Corregimiento de Susama.	Positivo	68
	Boca del Monte.	Positivo	250
	Boca del Monte	Positivo	1100

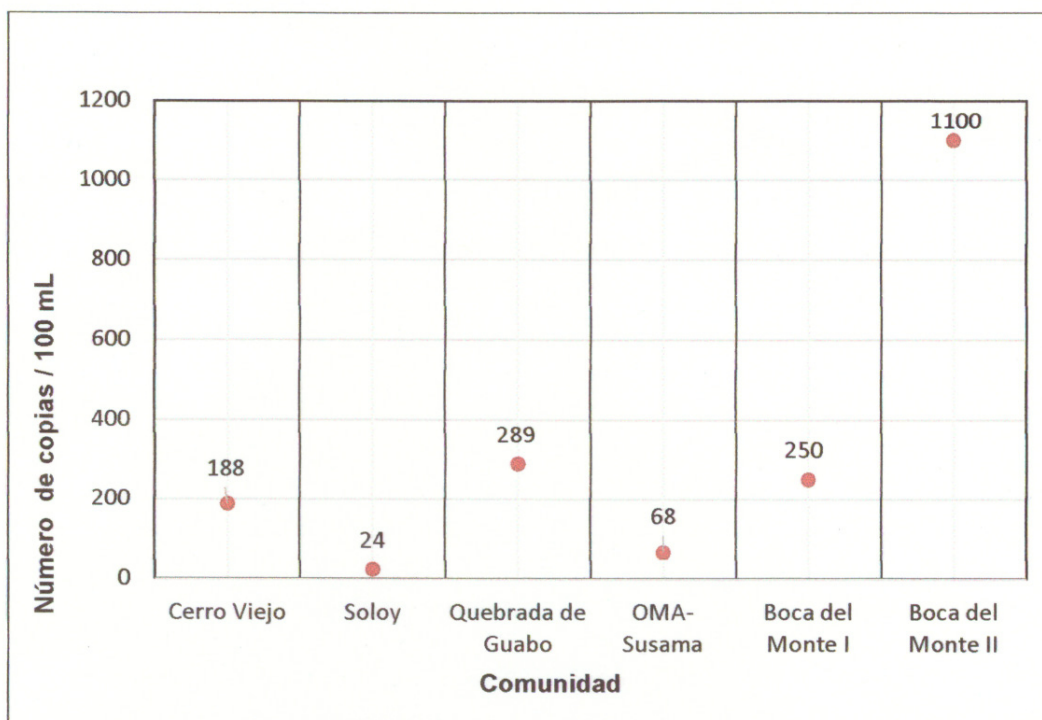


Figura N° 4.13. Número de copias de ADN de *H. pylori* en muestras de acueductos de la región Comarca Ngäbe-Buglé

En general, los resultados obtenidos en esta investigación apoyan la hipótesis de que el agua contaminada es un importante reservorio de *H. pylori* y que puede jugar un papel importante en la adquisición de la infección. De igual manera, parece ser que la teoría fecal-oral de transmisión y/o reinfección es por mucho la más factible.

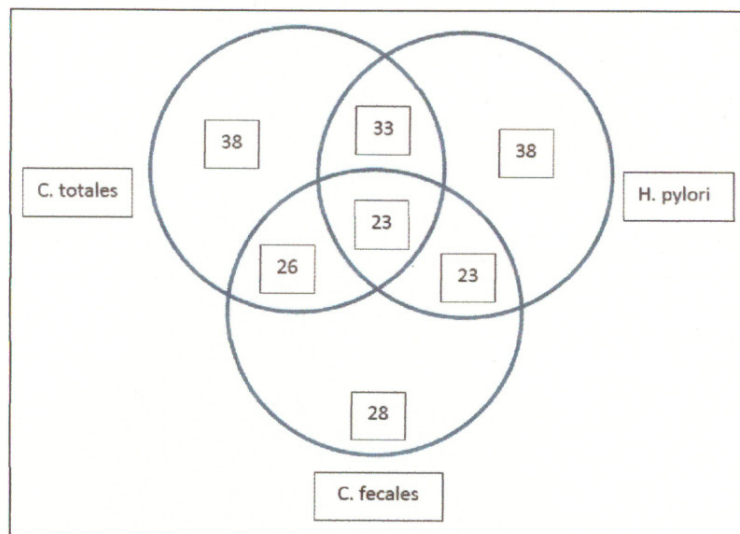


Figura N° 4.14. Presencia simultánea de los tres agentes de estudio.

Se ha determinado que *H. pylori* está presente en diversas fuentes de aguas, por ejemplo: lagos, ríos, agua potable superficial y subterránea, aguas municipales y residuales y ambientes marinos costeros, encontrándose también como microorganismo libre en el agua de mar y asociado a organismos planctónicos. (Fernández, 2011). Se ha sugerido, la asociación al plancton y las formas cocoides como las estrategias que utiliza la bacteria para sobrevivir en el ambiente acuático. Por lo cual, el agua puede actuar como intermediario en la transmisión, donde la bacteria puede permanecer por períodos prolongados antes de ser ingerida en el agua potable, durante el baño o a través de alimentos contaminados (Fernández, 2008). Además, se ha evidenciado que *H. pylori* puede sobrevivir a la cloración del agua potable, mostrando mayor resistencia con respecto a *E. coli*; por lo que, este microorganismo es capaz de tolerar los procesos de desinfección en los sistemas de distribución de agua (Montero, 2009).

Si bien es cierto, se ha comprobado que la infección por *H. pylori* está presente en más de la mitad de la población mundial, la mayoría de las personas infectadas desarrollan gastritis asintomáticas más que patologías severas. Sin embargo, la gastritis asintomática coincide con daños más notorios que pueden favorecer el desarrollo de adenocarcinoma (Denis et al, 2009. De acuerdo a datos publicados en el Boletín del Registro Nacional del Cáncer de Panamá de 2011 se muestra tasas ajustadas entre 9 y 10 casos por cada 100 000 habitantes, similar a las de los cantones (Distritos) con una baja incidencia de cáncer gástrico en Costa Rica.

Cada año se presentan cerca de 85 000 nuevos casos de cáncer de estómago y 75 000 muertes por cáncer de estómago en las Américas (OPS/OMS 2012). El 60% de los nuevos casos y muertes por cáncer de estómago, en las Américas, se presentan en hombres. En América Latina y el Caribe, 9% de los nuevos casos de cáncer y 16% de las muertes relacionadas con cáncer; son por cáncer de estómago. El cáncer de estómago es la segunda causa de incidencia y la sexta causa de mortalidad por cáncer en Panamá. Las mayores tasas de incidencia y mortalidad por cáncer de estómago se presentan en Veraguas, Los Santos y Coclé, mientras que las provincias y comarcas con las menores tasas son Guna Yala, Ngäbe Buglé y Darién. Así, como el cáncer de pulmón, la razón de incidencia y mortalidad del cáncer de estómago es cercana a uno en todas las provincias y comarcas, lo que se explica por la alta letalidad de este tipo de cáncer. El grupo de edad con mayor tasa de mortalidad e incidencia es el de 65 y más años, lo que representa el 61% y el 63% del número de defunciones y nuevos casos, respectivamente. Ocurren 1.2 casos por cada defunción, con una tasa de

letalidad del 82.7%. Las tendencias de las tasas de incidencia y mortalidad por cáncer de estómago entre 2000 y 2010, se mantienen estables (MINSA, 2014).

4.3 Análisis estadístico

Diagramas de Cajas y Bigotes. El análisis estadístico de la información se llevó a cabo utilizando el software Microsoft Excel. Se realizó un análisis comparativo, utilizando diagramas de cajas y bigotes para coliformes fecales, coliformes totales y *H. pylori* por las seis regiones consideradas en el estudio.

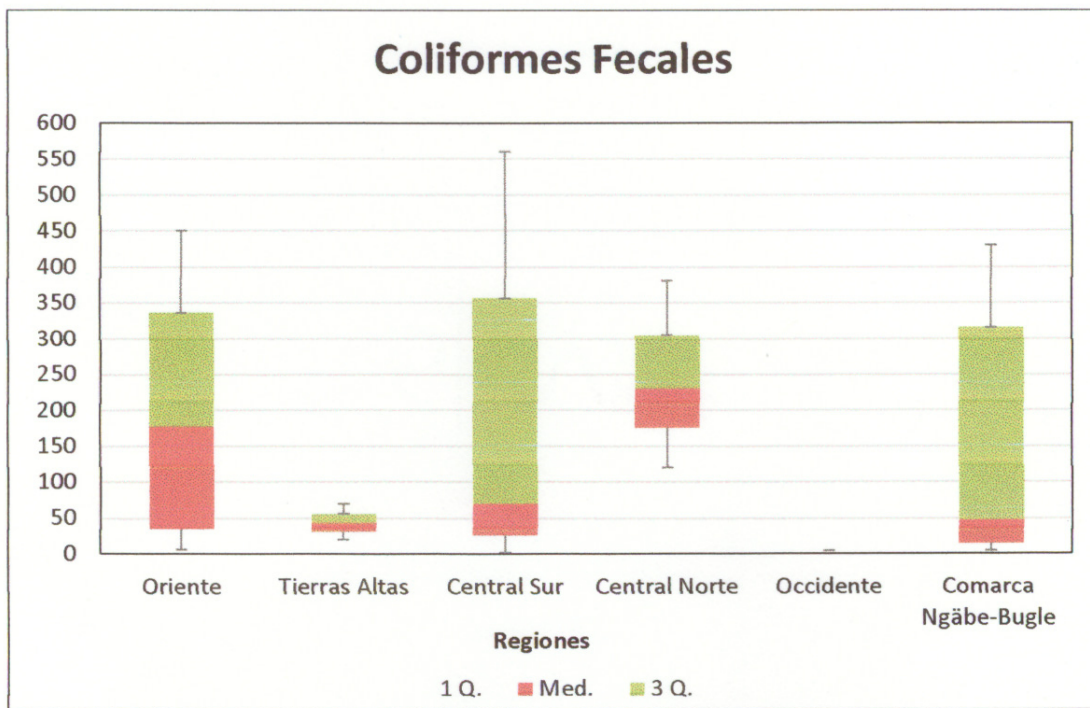


Figura N° 4.15. Dispersión de datos coliformes fecales

Para los coliformes fecales se puede observar que cinco de las seis cajas con excepción de la región de Occidente se traslapan, por lo que se puede concluir que existe similitud en los datos en las regiones de Oriente (figura 4.15), Tierras Altas, Central Sur, Central Norte y Comarca Ngäbe Bugle, sin embargo, la región

de Occidente es totalmente diferente a los demás. Por otro lado, se puede observar que los datos de la región central sur son los más dispersos y los de la región de Tierras Altas son los más uniformes, de igual manera las cajas presenta una considerable asimetría.

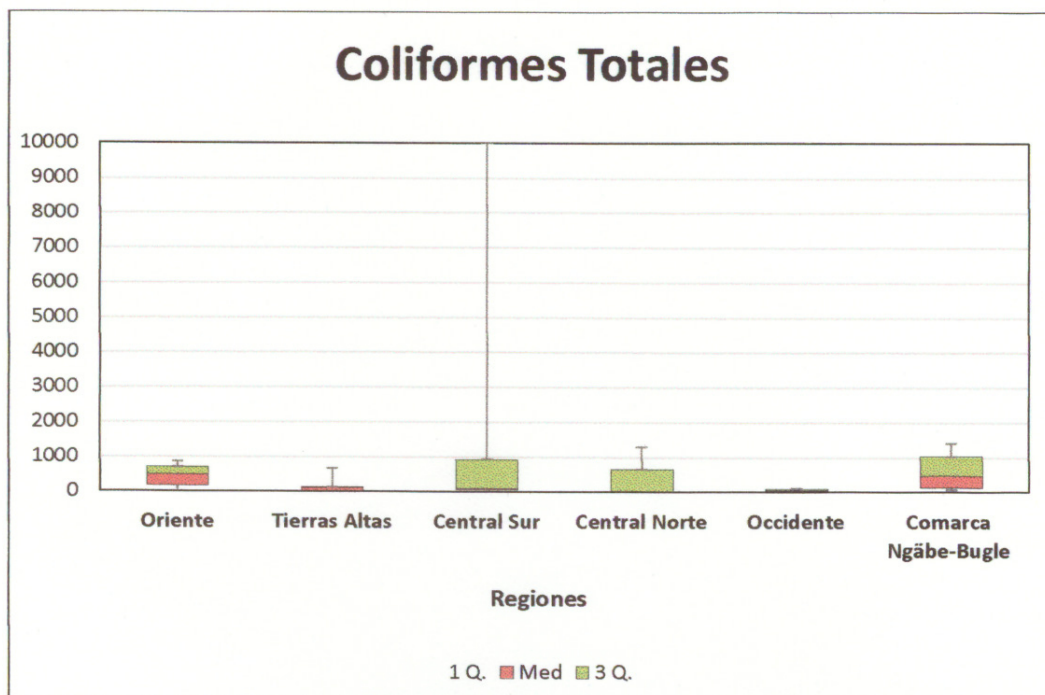


Figura N° 4.16. Dispersión de datos de coliformes totales.

Para los coliformes totales se observa traslapes de las cajas, no obstante, hay diferencias muy importante en cuanto a la simetría de las cajas y la dispersión de los datos. Sobre todo para la caja de la región Central Sur que muestra un bigote superior muy largo, lo que nos indica la presencia valores extremos de coliformes totales.

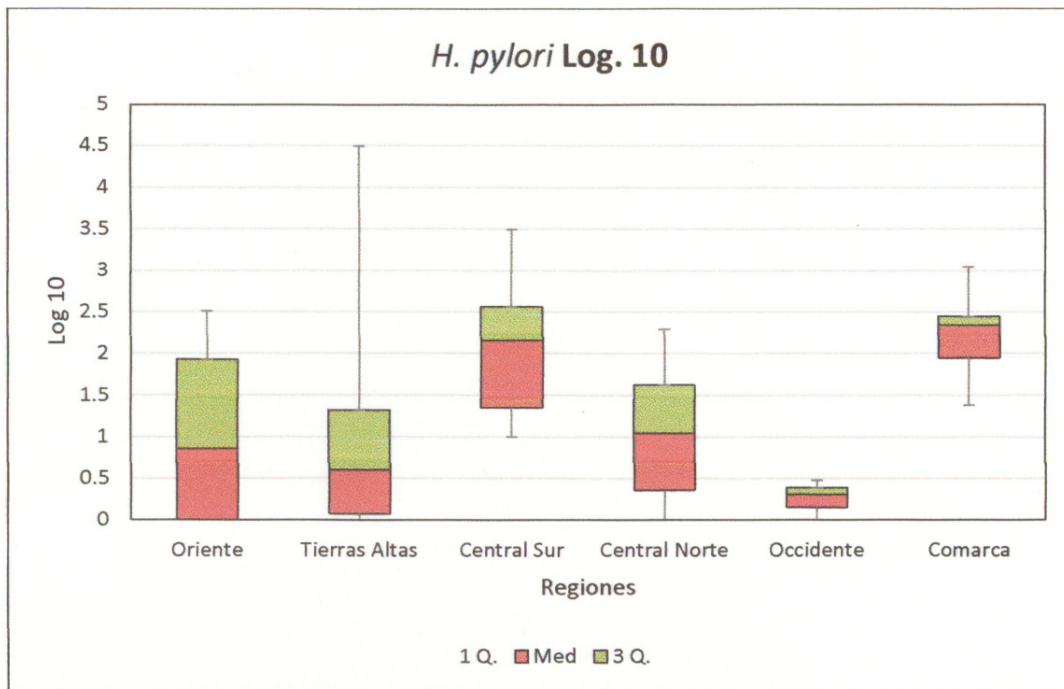
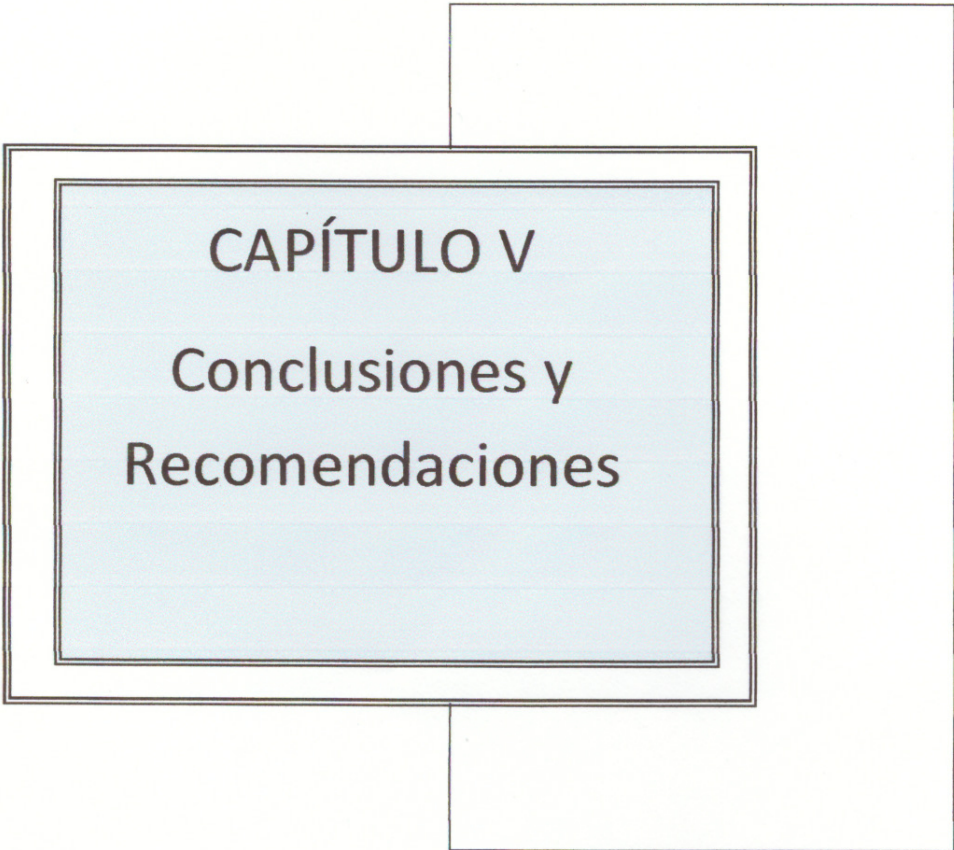


Figura N° 4.17. Dispersión de datos *H. pylori*

Los datos de *H. pylori* debieron ser normalizados para elaborar el gráfico de cajas y bigotes. Se puede observar diferencias significativas en las cajas de la Región de Occidente con las cajas de la región Central Sur y la región de la Comarca Ngäbe Buglé, por otro lado, la caja de la región Central no se traslapa con la caja de la región de la Comarca Ngäbe Buglé. Ver figura 4.17.



CAPÍTULO V

**Conclusiones y
Recomendaciones**

CONCLUSIONES

- Un porcentaje alto de los acueductos muestreados no presentan aguas en condiciones adecuadas para el consumo humano basándose en los valores de coliformes fecales y coliformes totales reportados.
- Luego de haber analizado las muestras para la detección de *H. pylori* por la técnica de qPCR y bajo las condiciones óptimas de reacción, se pudo determinar una amplificación del 86% de las muestras, con concentraciones que van desde 1 a $3,1 \times 10^4$ copias/100mL.
- La presencia de *H. pylori* en el agua de acueductos puede aumentar el riesgo de contraer enfermedades gástricas debido a la relación que presenta este microorganismo con la aparición y complicación de diferentes patologías gastrointestinales, (incluyendo el cáncer gástrico).

RECOMENDACIONES

- Solicitar a las Autoridades del Ministerio de Salud responsables vigilar la salubridad del agua de los acueductos rurales y tomar acciones para mejorar la calidad sanitaria del agua de los acueductos que presentaron contaminación bacteriana.
- Brindar capacitación al personal encargado de las Junta Administradores de Acueductos Rurales JAAR, sobre la importancia de clorinar el agua, como método más sencillo, económico y accesible para mejorar la calidad sanitaria del agua para consumo humano.
- Que la Universidad Autónoma de Chiriquí y/o Ministerio de Salud adquiera los equipos necesarios para implementar la técnica para la detección de *H. pylory* en muestras de agua de consumo humano por medio de la técnica de PCR en tiempo real.

CAPITULO VI

Bibliografía

VI. BIBLIOGRAFÍA

Agatemor, C. y Okolo, P. 2007. University of Benin Water Supply System: Microbiological and Physico-Chemical Assessments. *The Environmentalist*, Volumen 27, pp. 227-239. Disponible en: [http://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1295282](http://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1295282)

Alarcón T., Martínez, M., Urruzuno, P., Cilleruelo, M., Madruga, D., Sebastian, M.,... López, M. 2000. Prevalence of CagA and VacA Antibodies in Children with *Helicobacter pylori*-Associated Peptic Ulcer Compared to Prevalence in Pediatric Patients with Active or Nonactive Chronic Gastritis. *Clin Diagn Lab Immunol*. Volumen 7(5), pp. 842-844. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC95968/pdf/cd000842.pdf>

Alba, R., Toledo, R. y Viana, M. 2006. *Helicobacter pylori*: Clínica, Diagnóstico y Tratamiento. *Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina*. Volumen 158. Disponible en: http://med.unne.edu.ar/revista/revista158/3_158.pdf

Alm R., Ling, L., Moir, D., King, B., Brown, E., Doig, P.,... Trust, T. 1999. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. Volumen 397, pp. 176-80. Disponible en: <http://www.nature.com/nature/journal/v397/n6715/pdf/397176a0.pdf>

American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) y Water Environment Federation (WEF) AWWA, WEF. 2012. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. Edition 21nd.

Andersen, L. y Espersen, P. 1992. Immunoglobulin G Antibodies to *Helicobacter pylori* in Patients with Dyspeptic Symptoms Investigated by the Western Immunoblot Technique. *Journal of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology. Volumen 30 (7), pp. 1743-1751. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC265374/pdf/jcm000310141.pdf>

Arcos, M., Ávila, S., Estupiñán, S. y Gómez, A. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova - Publicación Científica*. Volumen 3(4), pp. 1-116. Disponible en: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/ARTREVIS2_4.pdf

Arévalo, A., Trespacios, A., Otero, W. 2009. Importancia de la proteína CagA en infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Colombiana de Gastroenterología*. Volumen 24(4), pp. 388-395. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01209957200900040009&lng=en&tlng=es

Arteaga, N., Velázquez N., Rivera, S., Olivares, J., Méndez, A., Valencia, P.,... Torres, T. 2013. Análisis in silico de proteínas potencialmente involucradas en la biogénesis de fimbrias en *Helicobacter pylori*. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*

Volumen 70(2), pp. 78-88. Disponible en:
<http://www.scielo.org.mx/pdf/bmim/v70n2/v70n2a3.pdf>

Azevedo, N., Guimarães, N., Figueiredo, C., Keevil, C. y Vieira, M. 2007. A new model for the transmission of *Helicobacter pylori*: role of environmental reservoirs as gene pools to increase strain diversity. *Revista Microbiológica*. Volumen 33(3), pp. 157-69. Disponible en:
[http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/9306/4/Azevedo_CRM\[1\].pdf](http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/9306/4/Azevedo_CRM[1].pdf)

Barragán, C., Gutiérrez A. y Castiblanco, L. 2015. Membrana externa de *Helicobacter pylori* y su papel en la adhesión al epitelio gástrico. *Univ. Méd.* ISSN 0041-9095. Bogotá (Colombia). Volumen 56 (1), pp. 44-62. Disponible en:
<http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v56n1/membrana.pdf>

Bayona, M. y Gutiérrez A. 2013. Biopelículas: un mecanismo de supervivencia de *Helicobacter pylori*. *Biofilm: a survival mechanism of Helicobacter pylori*. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* Volumen 16(2), pp. 335-342. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v16n2/v16n2a07.pdf>

Blanchard, T. y Nedrud, J. 2012. Laboratory maintenance of *Helicobacter* species. *Current Protocols in Microbiology*; supplement 24. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3357201/pdf/nihms353339.pdf>

Blecker, U., Lanciers, S., Keppens, E. y Vandenplas, Y. 1994. Evolution of *Helicobacter pylori* positivity in infants born from positive mothers. J Pediatr Gastroenterol Nutr. Volumen 19(1), pp. 87-90. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7965484>

Boyanova, L., Mitov, I. y Vladimirov, B. 2011. *Helicobacter pylori*. Caister Academic Press. Chair of Microbiology, Medical University of Sofia, Bulgaria. Disponible en: <http://www.horizonpress.com/helicobacter-pylori>

Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B. y Velázquez, O. 2009. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP). Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales Ecoli-NMP_6529.pdf

Carbone, M., Maugeri, T., Gugliandolo, C., La Camera, E., Biondo, C. y Fera, M. 2005. Occurrence of *Helicobacter pylori* DNA in the coastal environment of southern Italy (Straits of Messina). J Appl Microbiol. Volumen 98, pp. 768-774. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2004.02517.x/abstract>

Cárdenas, M., Cruz, O., Gándara, J. y Pérez, M. 2014. Factores de virulencia bacteriana: la "inteligencia" de las bacterias. Elementos 94. Disponible en: <http://www.elementos.buap.mx/num94/pdf/35.pdf>

Carrillo, R., Chablé, F., Zepeda, A. y Gutiérrez Y. 2013. Manifestaciones extraintestinales de *Helicobacter pylori*. Disponible en: <http://medicasur.org.mx/pdf-revista/RMS133-CP01-PROTEGIDO.pdf>

Cellini, L., Di Campli, E., Grande, R., Di Bartolomeo, S., Prenna, M., Pasquantonio M. y Pane, L. 2005. Detection of *Helicobacter pylori* associated with zooplankton. Aquat. Microb. Ecol. Volumen 40, pp. 115-120. Disponible en: <http://www.int-res.com/abstracts/ame/v40/n2/p115-120/>

Cordero, S. 2015. Detección cuantitativa de la bacteria *Helicobacter pylori* en muestras de agua para consumo humano en Costa Rica utilizando la técnica de pcr en tiempo real. Disponible en:

Correa, P. 1992. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process - First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1458460>

Cutimbo C. 2012. Calidad bacteriológica de las aguas subterráneas de consumo humano en centros poblados menores de La Yarada y Los Palos del distrito de

Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Facultad de Ciencias, Escuela Académico Profesional de Biología – Microbiología. Tacna- Perú.

Denis, B., Trejos, J., Tong, V., Miranda, M., Torres, M., Melillo, F., Pérez, I., Rodríguez, C., Sánchez, A., Solís, J. 2009. Factores asociados a sangrado digestivo alto. Servicio de gastroenterología. Complejo Hospitalario Metropolitano Dr. Arnulfo Arias Madrid. Panamá. Rev méd cient. 2011; 24(1):4-11. Disponible en: http://www.revistamedicocientifica.org/index.php/rmc/article/viewFile/278/pdf_23

De Argila C. y Boixeda, D. 2004. *Helicobacter pylori* y enfermedades relacionadas. Servicio de Gastroenterología. Hospital Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá. Madrid. España. Volumen 3 (6), pp. 251. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pidet_articulo=70000216&pidet_usuario=0&pcontactid=&pidet_revista=8&ty=169&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=v3n6a216pdf001.pdf

Dirección General de Normas y Tecnología Industrial - Comisión Panameña de Normas Industriales y Técnicas. 1999. Reglamento técnico 23-395-99 agua potable definiciones y requisitos generales. Resolución N° 597. Disponible en: http://www.idaan.gob.pa/sites/default/files/transparencia/copanit_23_395reglamentotecnico_99.pdf

Dunn B., Cohen H. y Blaser M. 1997. *Helicobacter pylori*. Clinical Microbiology Reviews. American Society for Microbiology. 10 (4): 720–741. Disponible en: <http://cmr.asm.org/content/10/4/720.full.pdf>

EASTON, J. 1998. The Development of a Risk Assessment Methodology to evaluate the adverse human health effect of pathogens found in sewagecontaminate waters. Enviromental Health Engine erring program. University of Alabama at Birmingham. Disponible en: <https://www.google.com/search?q=EASTON,+J.+1998.+The+Development+of+a+Risk+Assessment+Methodology+to+evaluate+the+adverse+human+health+effect+of+pathogens+found+in+sewage+contaminated+waters.&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwj0sMXNrM7WAhUI6CYKHZEiBigQBQgjKAA&biw=1366&bih=613>

EPA United States Environmental Protection Agency. National primary drinking water regulations. 2011. Disponible en: <http://www.epa.gov/safewater>

Fernández, M., Contreras, M., García, M., Michelangeli, F. y Suárez P. 2008. Evidencias de la Transmisión Acuática de *Helicobacter pylori*. Interciencia. Volumen 33 (6). Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Paula_Suarez2/publication/267694224_Evidencias_de_la_transmision_acuatica_de_Helicobacter_pylori/links/5457c5c90cf2cf5164821e85/Evidencias-de-la-transmision-acuatica-de-Helicobacter-pylori.pdf

Fernández, H. 2011. Género *Helicobacter*. un grupo bacteriano en expansión, con características zoonóticas. La gaceta de Infectología y microbiología clínica latinoamericana. Volumen 2 (1). Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?gid=17078&option=com_docman&task=doc_view

García, F. 2002. Vacunas contra *Helicobacter pylori*: ¿una alternativa con impacto global contra el cáncer gástrico?. Revista Costarricense de Salud Pública. Volumen 11(21), pp. 32-36. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140914292002000200007&lng=en&tlng=es

Gené, T. 2002. Manejo de la infección por *Helicobacter pylori* en atención primaria. (Tesis de doctorado). Barcelona, España. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-manejo-infeccio-porhelicobacter-pylori-S0210570508713116>

Goez, M. y Vázquez, J. 1999. Determinación y diferenciación de E. coli y coliformes totales usando el mismo sustrato cromogenico. Textos completo. CEPIS. Disponible en: www.bvsde.paho.org/acrobat/determi.pdf

González L. y Rodríguez B. 2011. Patogénesis de la infección por *Helicobacter pylori*. Pathogenesis of infection due to *Helicobacter pylori*. Revista Cubana de Medicina. Volumen 50. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232011000400010

Goodwin, C., Armstrong, J., Chilvers, T., Peters, M., Collins, M., Sly, L.,... Harper, W. 1989. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori comb. nov. and Helicobacter*

mustelae comb. nov., Respectively. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. Volumen 39, pp. 397-405. Disponible en: <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-39-4-397>

Gutiérrez, B., Vidal, T., Valmaña, C. y Camou, C. 2006. Infección por *Helicobacter pylori* en Santo Domingo, República Dominicana. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. Volumen 25. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086403002006000400002&lng=es&tIng=es

Hacker, J. y Kaper, JB. 2000. Pathogenicity Islands and the Evolution of Microbes. Annual Review of Microbiology. Volumen 54, pp. 641-679. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11018140nn>

Heid, Ch., Stevenes, J., Livac, K., y Williams, M. 1996. Real Time Quantitative PCR. Genome Research. Volumen 6, pp. 986-994. Disponible en: <http://download.bion.com.cn/upload/201011/15/191051b3bnot6uynxzoekt.attach.pdf>

Hernández, F. 1990. Caracterización de Campylobacter, Helicobacter y bacterias curvadas asociadas con gastritis y úlceras pépticas. Revista Costarricense Ciencia Médica. Volumen 11 (3/4), pp. 49-56. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=go>

ogle&base=LILACS&lang=p&nextAction=Ink&exprSearch=107682&indexSearch=I
D

Hernández, M. 2001. *Helicobacter pylori*. La bacteria que más infecta al ser humano. Revista Cubana de Alimentos y Nutrición. Volumen 15(1), pp. 42-54. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol15_1_01/ali07101.htm

Herreros, L., Reyes, G. y Suárez, J. 2011. *Helicobacter pylori*: Revision de los Aspectos Fisiológicos y Patológicos. Revista de los estudiantes de medicina de la Universidad Industrial de Santander. Volumen 24, pp. 287-296. Disponible en https://www.researchgate.net/publication/228716593_Helicobacter_pylori_revision_de_los_aspectos_fisiologicos_y_patologicos

Juhna, T., Birzniece. D., Larsson. S., Zulenkovs. D., Sharipo. A., Azevedo, N.,...
Keevil, C. 2007. Detection of *Escherichia coli* in Biofilms from Pipe Samples and Coupons in Drinking Water Distribution Networks. Applied and Environmental Microbiology. Volumen, 73(22), pp. 7456-7464. Disponible en: <http://aem.asm.org/content/73/22/7456>

Kusters, J., Gerrits, M., Van Strijp, J. y Vandenbroucke-Grauls, C. 1997. Coccoid Forms of *Helicobacter pylori* are the Morphologic Manifestation of Cell Death. Infection and Immunity. American Society for Microbiology. Volumen 65 (9), pp. 3672-3679. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC175523/>

Larrea, J., Rojas, M., Romeu, B., Rojas, N. y Heydrich, M. 2013. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. Revista CENIC Ciencias Biológicas. Volumen 44(3), pp. 24-34. Disponible en: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/articulos/bacterias-indicadoras-decontaminaci%C3%B3n-fecal-en-la-evaluaci%C3%B3n-de-la-calidad-de-las-aguas>

Lee, A. 1994. The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Scand J Gastroenterol Suppl. Volumen 201, pp. 2-6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8047819>.

Linz, B., Balloux, F., Moodley, Y., Manica, A., Liu, H., Roumagnac, P.,... Achtman, M. 2007. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. Nature. Volumen 445:915. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1847463/pdf/nihms-338.pdf>

Luján, M., Calderón, S., Toledo, D., Chávez, M., Benites, S. y Agreda, J. 2008. Detección de Antígenos de Secreción de *Helicobacter pylori* en heces de *Mus musculus* BALB/c ratones infectados experimentalmente, mediante Dot ELISA tipo sándwich. Disponible en: <http://docplayer.es/4048044-Detection-of-secretion-antigens-of-helicobacter-pylori-in-ground-of-mus-musculus-balb-c-infected-experimentally-by-dot-elisa.html>

Ngindu, A. y Wuambui, E. 2007. Quality of Water the Slum Dwellers use: The Case of a Kenyan Slum. *Journal of Urban Health: Bulletin of the New York Academy of Medicine*. 2007. Volumen 84(6), pp. 829-838. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11524-007-9199-x>

Macenlle, R. 2007. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población general adulta de la provincia de Ourense y estudio de factores de riesgo asociados. (Tesis de doctorado). Santiago, Chile. Disponible en: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2375/9788497509657_content.pdf;jsessionid=D0C2CE4E7421D8A0355040DEAA9F8D53?sequence=1

Malato, S., Fernández, P., Maldonado, M., Blanco, J. y Gernjak, W. 2009. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catalysis Today*. Volumen 147, pp. 1-59 Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920586109003344>

Mégraud, F. y Corti, R. 2009. Resistencia bacteriana del *Helicobacter pylori* en el mundo en el año 2009. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*. Volumen 39. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/1993/199317368014.pdf>

Ménard, A., Danchin, A., Dupouy, S., Mégraud, F. y Lehours P. 2008. A Variable Gene in a Conserved Region of the *Helicobacter pylori* Genome: Isotopic Gene Replacement or Rapid Evolution? *DNA Research: An International Journal for*

Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes. Volumen 15(3), pp. 163–168. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2650637/>

Ménard, A., Danchin, A., Dupouy, S., Mégraud, F. y Lehours, P. 2008. A Variable Gene in a Conserved Region of the *Helicobacter pylori* Genome: Isotopic Gene Replacement or Rapid Evolution? DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes. Volumen 15(3), pp. 163–168. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2650637/>

Méndez, J. y González A. 1990. Helicobacter Pylori y patología gastroduodenal en la República de Panamá / *Helicobacter Pylori* and gastroduodenal pathology in the República de Panamá. Revista médica. Panamá. Volumen 15 (2), pp. 96-105. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=93284&indexSearch=ID>

Ministerio de Salud. 2014. Informe del Cáncer de Estómago en Panamá. Disponible en: http://190.34.154.93/rncp/sites/all/files/ca_estomago_2010.pdf

Mobley, H., Mendz, G. y Hazell, S. 2001. *Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics. Washington (DC): ASM Press. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2408/>

Mohaboob, A., Khan, A., Santosh, T., Niyaz, A., Venkateswar, L. y Habibullah, C. 2005. Association between cag-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. *Gastroenterol.* Volumen 11, pp. 6815-6822. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4725035/pdf/WJG-116815.pdf>

Montero, V. 2009. Enfoques ambientales en la epidemiología de la infección por *Helicobacter pylori*. *Revista Costarricense de Salud Pública.* Volumen 18, pp. 84-93. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140914292009000200006

Montero, V., Masís, F., Cascante, G., Hernández, A., Barboza, K., Orozco, J.,... García F. 2011. Hallazgo de la bacteria *Helicobacter pylori* en agua de consumo humano y su relación con la incidencia de cáncer gástrico en Costa Rica. Disponible en: https://www.google.com/?gws_rd=ssl#q=coliformes+y+helicobacter+pylori+consumo+en+agua

Mora A. 2005. Evolución de las guías microbiológicas de la OMS para evaluar la calidad del agua para consumo humano 1984-2004. Laboratorio Nacional de Aguas. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados, Costa Rica. *Revista Costarricense de Salud pública.* Volumen.14. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140914292005000200007

Ogura, M., Pérez, J., Mittl, P., Lee, H., Dailide, G., Tan, S.,...Kalia, A. 2007. *Helicobacter pylori* Evolution: Lineage - Specific Adaptations in Homologs of Eukaryotic Sel1-Like Genes. PLOS COMPUTATIONAL BIOLOGY. Volumen 3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1941758/pdf/pcbi.0030151.pdf>

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2006. Validación y control de calidad de los métodos de PCR utilizados en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Barcelona. Disponible en: http://web.oie.int/esp/normes/fmanual/pdf_es/1.1.3_Validacion_y_control_de_calidad.pdf

Olivares, D. y Gisbert, J. 2006. Factores implicados en la patogenia de la infección por *Helicobacter pylori*. Revista Española de Enfermedades Digestivas Volumen 98(5), pp. 374-386. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082006000500008

Pajares, J. y Gisbert, J. 2006. *Helicobacter pylori*: su descubrimiento e importancia en la medicina. Revista Española de Enfermedades Digestivas Vol. 98 (10), pp. 770-785. Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113001082006001000007&lng=es

Pajares, J., Pajares, R. y Gisbert, P. 2007. *Helicobacter pylori*: resistencia a los antibióticos. Revista Española de Enfermedades Digestivas. Vol. 99(2), pp. 63-70. Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113001082007000200001&lng=es

Palomino, C. y Tomé, E. 2012. *Helicobacter pylori*: Rol del agua y los alimentos en su transmisión. Anales Venezolanos de Nutrición. Volumen 25(2), pp. 85-93. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S079807522012000200005&lng=es&tlng=es

Piñol, F. y Paniagua, M. 1999. Mediadores bacterianos de la inflamación en la gastritis crónica por *Helicobacter pylori*. Revista Cubana Médica. Volumen 38(4), pp. 276-83. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/med/vol38_4_99/med07499.pdf

Pounder, R. y Ng, D. 1995. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. Volumen 9 (2), pp. 33-39. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/14652051_The_prevalence_of_Helicobacter_pylori_in_different_countries

Premoli, G., González, A., Millán, B., Percoco, T. y Vielma, A. 2004. Diagnóstico de *Helicobacter pylori* mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Revista Cubana de Medicina Tropical. Volumen 56 (2), pp. 85-90. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602004000200001

Ramírez, A. y Sánchez, R. 2009. *Helicobacter pylori* 25 años después (1983 - 2008): epidemiología, microbiología, patogenia, diagnóstico y tratamiento. Revista Gastroenterológica. Perú, Lima. Volumen 29(2). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102251292009000200008&lng=es&nrm=iso

Rivas, F., Bohr, U., Oyarzabal, O., Rohde, M., Clarici, A., Wex, T.,... y Backert, S. 2010. Morphologic, genetic, and biochemical characterization of *Helicobacter magdeburgensis*, a novel species isolated from the intestine of laboratory mice. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4369761/pdf/nihms672213.pdf>

Rivas, F. y Hernández, F. 2000. *Helicobacter pylori*: Factores de virulencia, patología y diagnóstico. Revista Biomed 2000. Volumen 11(3), pp. 187-205. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb001136.pdf>

Rivera, M. Contreras, F., Terán, A., Fouilloux, C. 2004. *Helicobacter Pylori*: Enteropatógeno frecuente del ser humano. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. Volumen 23 (2), pp. 109-117. Disponible en:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S07980264200400020003&lng=es&tlng=es

Rodríguez, A. 2011. Resistencia antibiótica del *Helicobacter Pylori*. Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología. Revista Colombiana Gastroenterología. Volumen 26(3). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcg/v26n3/v26n3a01.pdf>

Rodríguez, F. 2014. Cáncer gástrico: Su Relación Con *Helicobacter Pylori*. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. Volumen 71. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2014/rmc141b.pdf>

Sarem, M. y Corti, R. 2015. Rol de las formas cocoides de *Helicobacter pylori* en la infección y la recrudescencia. Gastroenterología y Hepatología. Volumen 39, (1), pp. 28-35. Disponible en: <http://server2.docfoc.us/uploads/Z2015/12/12/WuE8wITClw/b53f2d4206269ada0a506a7362685c45.pdf>

Sasaki, T., Hirai, I. e Yamamoto, Y. 2009. Analysis of *Helicobacter pylori* infection in a healthy Panamanian population. Kansenshogaku Zasshi. PUBFACTS SCIENTIFIC PUBLICATION DATA. Volumen 83(2), pp. 127-32. Disponible en: <http://www.pubfacts.com/detail/19364040/Analysis-of-Helicobacter-pylori-infection-in-a-healthy-Panamanian-population>

Saunders, N., Peden, F., Hood, D., Moxon, E. 1998. Simple sequence repeats in the *Helicobacter pylori* genome. *Molecular Microbiology*. Volumen 27(6), pp. 1091–1098. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2958.1998.00768.x/epdf>

Serrato, A., Rentería, L., Aportela, J. y Sierra E. 2014. Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos. PCR: reacción en cadena de la polimerasa. Disponible en: [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/\\$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/770DBBBD5ADF759505257D4900580FE6/$FILE/HerramientasMolecularesAplicadasEcolog%C3%ADa.pdf)

Solsona, F. 2002. Guías para elaborar normas de calidad del agua de bebida en los países en desarrollo. Organización Panamericana de la Salud. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria, Lima. Disponible en: <http://catalogosuba.sisbi.uba.ar/vufind/Record/FIUBA-OAI-DC:6780/Details>

Suárez, J., Reyes, G. y Herreros, L. 2011. *Helicobacter pylori*: revisión de los aspectos fisiológicos y patológicos. *Medicas UIS*. Volumen 24, pp. 287-296. Disponible en: <http://www.medicasis.org/antiores/volumen24.3/doc3.pdf>

Suerbaum, S. y Michetti, P. 2002. *Helicobacter pylori* Infection. *N Engl J Med*. Volumen 347, pp. 1175-1186 Disponible en: <http://gastronetzaachen.de/pdf/helicobacter.pdf>

Tomb, J., White, O., Kerlavage, A., Clayton, R., Sutton, G., Fleischmann, R.,...
Venter, J. 1997. The complete genome sequence of the gastric pathogen
Helicobacter pylori. Nature © Macmillan Publishers. Volumen 388, pp. 539-547.
Disponible en: <http://www.nature.com/nature/journal/v388/n6642/full/388539a0>

Torres, E. y Rodríguez, B. 2008. Principales factores de patogenia en la infección
por *Helicobacter pylori*. Revista CENIC. Ciencias Biológicas. Volumen 39.
Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181214889011>

Tummuru, M., Cover, T. y Blaser, M. 1993. Cloning and Expression of a High-
Molecular-Mass Major Antigen of *Helicobacter pylori*: Evidence of Linkage to
Cytotoxin Production. Infection and Immunity. Volumen 61(5), pp. 1799-1809.
Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC280768/pdf/iai00017-0215.pdf>

Valones, M., Guimarães, R., Brandão, L., De Souza, P., Carvalho, A. y Crovela, S.
2009. Principles and applications of polymerase chain reaction in medical
diagnostic fields: a review. Brazilian Journal of Microbiology. Volumen 40(1), pp. 1-
11. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822009000100001>

Vergara, G. y Méndez, C. 1991. Riesgos infectocontagiosos del agua de bebida
que se consume en la Ciudad de Lima. Libro de resúmenes de la I Reunión
Científica- ICBAR. UNMSM. pág. 98. Disponible en:

http://vriinvestigacion.unmsm.edu.pe/investigadores/publicaciones.html?investigador=3453_mendez-farro-carmen-rosa

WHO. 2011. World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality, 4th Ed. Vol 1,

Yonezawa, H., Osaki, T. y Kamiya, S. 2015. Biofilm Formation by *Helicobacter pylori* and Its Involvement for Antibiotic Resistance. *BioMed Research International*. Volumen. 2015, pp. 9. Article ID 914791. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/914791/abs/>