



7. RESULTADOS

De las 26 muestras sembradas en Agar Casman, se logró la recuperación de 5 cepas, todas provenientes de pacientes con distintas condiciones clínicas (tabla 6.1). En la resiembra en caldo Brucela, se recuperaron únicamente 4 cepas. La cepa que no se logró resembrar fue la 7.

7.1 CULTIVO E IDENTIFICACIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI*

Las bacterias cultivadas en Agar Casman (figura 7.1) mostraron una morfología colonial lisa, translúcida y débilmente β - hemolítica. Se realizaron las pruebas de confirmación de tinción de Gram negativa; catalasa, oxidasa y ureasa positivas (Apéndice C). El cultivo de *H. pylori* en caldo Brucela (figura 7.2), mostró una turbidez fuerte en el medio, la identificación se realizó de la misma manera mencionada anteriormente. La resiembra de *H. pylori* en caldo fue exitosa para 4 cepas, es decir, en la resiembra de las cepas en caldo, la cepa 7 no mostró crecimiento alguno.



Figura 7.1. Cultivo de *H. pylori* en Agar Casman



Figura 7.2. Cultivo de *H. pylori* en caldo Brucella

7.2 ANÁLISIS DE DONADORES

Se analizaron 28 muestras de sangre y 28 muestras de saliva, obteniendo la información relevante mostrada en la tabla 7.1.

Tabla 7.1. Resultados de las muestras de sangre y saliva.

Característica	Número	Porcentaje
Sexo:		
Hombres	7	25.00%
Mujeres	21	75.00%
Grupo Sanguíneo ABO:		
A	11	39.29%
O	17	60.71%
Grupo Sanguíneo Lewis:		
Le ^a	7	25.00%
Le ^b	21	75.00%
Estado Secretor:		
Secretor	14	50.00%
No – Secretor	14	50.00%

El promedio de edad fue de 36.68 años, con un intervalo de 23 a 53 años.



La frecuencia de presentación del grupo sanguíneo A fue mayor a lo esperado según la distribución normal en la población mexicana.

Los porcentajes de grupo sanguíneo Le y su relación con el grupo ABO de los donadores se muestran en la tabla 7.2.

Tabla 7.2. Relación de grupos sanguíneos del sistema Le y ABO de los 28 donadores

Grupo ABO	Número	Porcentaje
Grupo O		
Le ^a	5	29.41%
Le ^b	12	70.59%
Grupo A		
Le ^a	2	18.18%
Le ^b	9	81.82%

Las muestras de saliva fueron divididas en grupos que presentaban los mismos fenotipos. La cantidad de muestras usadas para cada grupo y la división de éstos se muestra en la tabla 7.3.

Tabla 7.3. Distribución de muestras según fenotipo

		Le^a	Le^b
Se	A	1	7
	O	2	4
No - Se	A	1	2
	O	3	8

Las muestras de saliva utilizadas fueron: como el CS Le^bNo–SeA y Le^bNo–SeO, y para el bloqueo de la adhesión Le^aSeA, Le^aSeO, Le^bSeA y Le^bSeO.



7.3 ESTUDIO DE LA ADHESIÓN

Todas las células epiteliales utilizadas expresaban los grupos sanguíneos A y Le^b. Las células fueron fijadas exitosamente, formando una monocapa celular en la laminilla de vidrio.

La adhesión de *H. pylori* no pudo ser observada con la suspensión bacteriana de 100×10^6 células/mL, por lo que se realizó una nueva suspensión, esta vez de 1000×10^6 células/mL. Se observó una leve tinción de las células epiteliales con la Safranina, por lo que éstas tomaron un ligero color rosado, lo que permitió ver células bien delimitadas.

Los resultados obtenidos en el conteo de la muestra 100% A se muestran en la tabla 7.4.

Tabla 7.4. Promedio y σ^2 de bacterias adheridas por célula (100% A)

	100% A	+/- σ^2
Cepa 5	12	3.07
Cepa 17	13	1.75
Cepa 27	14	2.69
Cepa 45	14	4.41

Para el estudio de la muestra CS los resultados de los conteos obtenidos se muestran en la tabla 7.5.

Tabla 7.5. Promedio y σ^2 de Bacterias adheridas por célula (CS)

	CS A	+/- σ^2	CS O	+/- σ^2
Cepa 5	11	3.02	12	2.23
Cepa 17	12	3.40	20	2.98
Cepa 27	11	2.59	22	2.91
Cepa 45	12	2.41	12	1.81



Los resultados para los 4 grupos restantes de SCA (Le^aSeA, Le^aSeO, Le^bSeA y Le^bSeO) se presentan en la tabla 7.6.

Tabla 7.6. Promedio y σ^2 de Bacterias adheridas por célula (SCA)

	Le ^a SeA	+/- σ^2	Le ^a SeO	+/- σ^2	Le ^b SeA	+/- σ^2	Le ^b SeO	+/- σ^2
Cepa 5	10	2.5	10	2.13	8	1.84	9	1.55
Cepa 17	11	3.61	10	2.45	9	2.25	8	1.43
Cepa 27	10	1.91	12	2.46	9	1.81	9	2.30
Cepa 45	12	1.78	12	1.83	9	1.96	8	1.81

Las figuras 7.3 y 7.4 muestran las células epiteliales con presencia de *H. pylori* adherida, las dos imágenes se tomaron de laminillas de la muestra Le^bSeA con la cepa 45 después de la tinción de Gram.

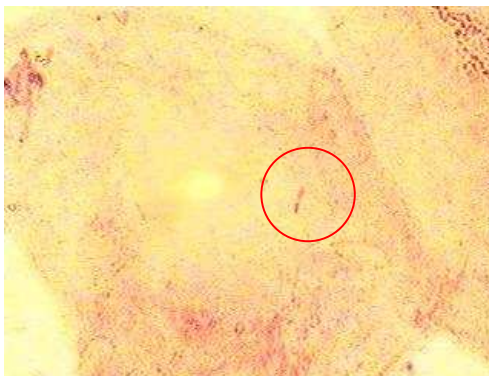


Figura 7.3. (Derecha). **Figura 7.4.** (Izquierda). Imagen al microscopio (100X) compuesto de células epiteliales con *H. pylori* adherida (bacilo Gramnegativo señalado en círculo rojo), tinción Gram.



Estadísticamente, los valores entre las cepas no mostraron diferencias significativas (figura 7.5), por lo que se trabajó únicamente con la variable de antígenos Le solubles, es decir, la presencia y ausencia de éstos y el tipo de antígeno.

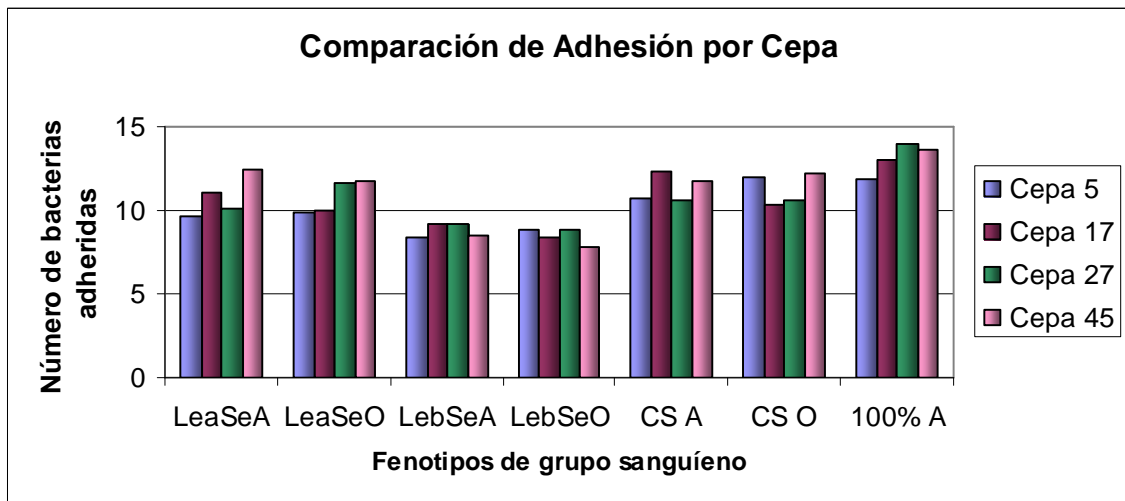


Figura 7.5. Comparación de adhesión por Cepa.

La figura 7.6 muestra los porcentajes de adhesión bacteriana a las células epiteliales en presencia de las diferentes muestras, tomando como 100% el resultado del 100% A. El porcentaje de adhesión más alto es mostrado por la muestra CS O (91.70%), y el más bajo pertenece a la muestra Le^bSeO (66.80%).

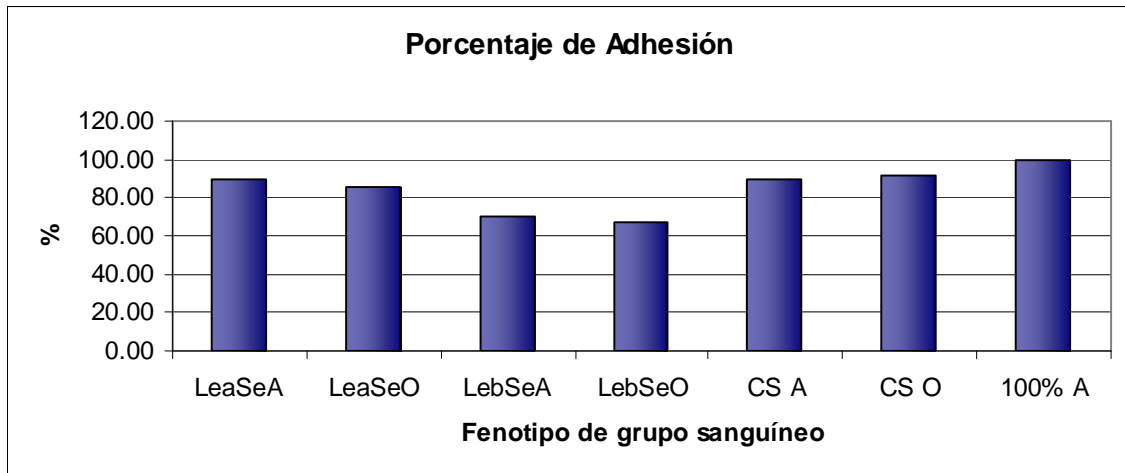


Figura 7.6. Porcentajes de Adhesión.

La tabla 7.7 resume los datos estadísticos de relevancia para la comparación de los grupos de saliva y los resultados para P de la prueba t de Student.

Tabla 7.7. Resumen de datos estadísticos.

	Le ^a SeA	Le ^a SeO	Le ^b SeA	Le ^b SeO	CS A	CS O	100% A
Media	11.35	10.80	8.83	8.45	11.33	11.60	12.65
Varianza	8.28	5.34	3.74	3.18	8.17	8.71	7.21
σ²	2.88	2.31	1.93	1.78	2.86	2.95	2.68
P	1.27x10 ⁻⁰¹	8.38x10 ⁻⁰²	9.72x 10 ⁻⁰⁷	1.25x10 ⁻⁰⁷	5.94x10 ⁻⁰²	1.11x10 ⁻⁰¹	

Teniendo en cuenta el intervalo de confianza fijado ($\alpha = 0.05$), se acepta que las muestras que inhiben la adhesión a células del epitelio bucal pertenecen todas a individuos secretores. En orden de capacidad de inhibición son: Le^bSeO, Le^bSeA y Le^aSeO (tabla 7.5). Tomando en cuenta a 100% A, se sacaron los porcentajes de inhibición de la adhesión. Estos resultados se muestran en la tabla 7.8.



Tabla 7.8. Porcentajes de inhibición de adhesión comparados con 100% A.

Muestra	Media Adhesión	%Inhibición de Adhesión
Le ^a SeA	11.35	10.28
Le ^a SeO	10.80	14.62
Le ^b SeA	8.83	30.24
Le ^b SeO	8.45	33.20
CS A	11.33	10.47
CS O	11.60	8.30
100% A	12.65	0.00

El la tabla 7.8 se puede observar que los antígenos solubles Le^b reducen hasta un 33% la adhesión.

Los grupos que inhibieron la adhesión fueron de salivas con presencia de antígenos. Dentro de éstas las que presentaron el antígeno H fueron más efectivas (figura 7.7).

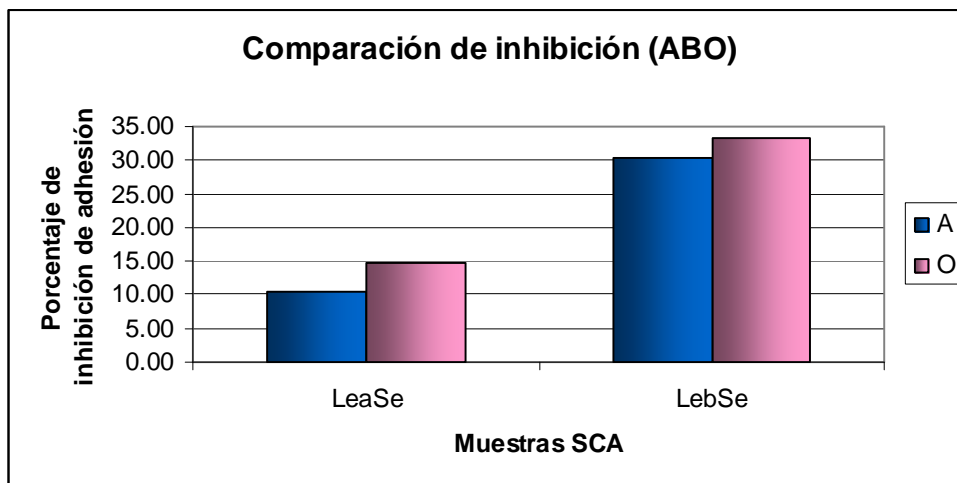


Figura 7.7. Comparación de la inhibición de adhesión entre grupos sanguíneos ABO.