

Detección de *Helicobacter pylori* en muestras de agua y biopelícula de los grifos de las instituciones educativas oficiales en la ciudad de Medellín

Detection of *Helicobacter pylori* in water and biofilm samples from faucets of official educational institutions in the city of Medellín

CLAUDIA MARÍA CUERVO, ÁNGELA MARÍA GAVIRIA • MEDELLÍN (ANTIOQUIA)

Resumen

Introducción: *Helicobacter pylori* (*Hp*) es uno de los agentes infecciosos etiológico de la gastritis crónica, el linfoma de MALT, el adenocarcinoma gástrico y del cáncer gástrico y puede ser transmitido a través del agua.

Objetivo: determinar la presencia de *Hp* por medio de cultivos y PCR en muestras de agua y biopelícula de los grifos de las instituciones educativas oficiales de la ciudad de Medellín, y la presencia de algunos factores de riesgo para la contaminación del agua.

Material y métodos: en 194 instituciones educativas del municipio de Medellín, 2010-2011, se tomó una muestra de agua y biopelícula del grifo, las cuales se sembraron en agar HPSPA y se les realizó una prueba de PCR directa convencional con el gen *ureA*. Además, se realizó una encuesta para evaluar factores de riesgo como antigüedad de la edificación, estado físico y material de los grifos, presencia de tanques o pozos de agua para consumo, disponibilidad de agua potable y disponibilidad de fuentes de agua diferentes a las del acueducto municipal.

Resultados: la frecuencia de ADN de *Hp* por la prueba de PCR en agua y biopelículas fue del 2.1% en cada tipo de muestra y por cultivo fue de 11.3% tanto en agua como en biopelícula. Las muestras de agua positivas por PCR correspondieron a las instituciones educativas ubicadas en Manrique, Villa Hermosa, San Javier y Guayabal, Las muestras de biopelículas positivas estuvieron en los barrios Popular, Villa Hermosa, Palmitas y en Santa Elena.

Conclusiones: *Hp* fue detectado en las muestras de agua y biopelícula obtenidas de las instituciones educativas oficiales de Medellín y se pudo determinar por cultivo en HPSPA y por PCR con el gen *ureA*. Sin embargo, ninguno de los factores de riesgo estudiados fueron predictores para la contaminación. (*Acta Med Colomb* 2017; 42: 121-128).

Palabras clave: *H. pylori*, agua, biopelícula, PCR, gen *ureA*

Abstract

Introduction: *Helicobacter pylori* (*Hp*) is one of the etiological infectious agents of chronic gastritis, MALT lymphoma, gastric adenocarcinoma and gastric cancer and can be transmitted through water.

Objective: to determine the presence of *Hp* by means of cultures and PCR in samples of water and biofilm of the faucets of the official educational institutions of the city of Medellín, and the presence of some risk factors for water contamination.

Material and methods: In 194 educational institutions of the municipality of Medellín, 2010-2011, a sample of water and biofilm of faucet was taken and planted on HPSPA agar and a conventional direct PCR test was performed with the *ureA* gene. In addition, a survey to evaluate risk

Dra. Claudia María Cuervo: Bacterióloga, Magister en Epidemiología. Grupo Biociencias Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia; Dra. Ángela María Gaviria Núñez: Bióloga. Magister en Epidemiología. Grupo Biociencias, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia. Medellín (Colombia). Correspondencia: Claudia María Cuervo Araque. Medellín (Colombia). e-mail: ccuervo@colmayor.edu.co Recibido: 9/III/2016 Aceptado: 27/IV/2017

factors such as age of the building, physical and material condition of faucets, presence of water tanks or wells for consumption, availability of drinking water and availability of water sources other than those of the municipal aqueduct was carried out.

Results: the frequency of *Hp* DNA by PCR test in water and biofilms was 2.1% in each type of sample and by culture was 11.3% in both water and biofilm. The positive water samples by PCR corresponded to the educational institutions located in Manrique, Villa Hermosa, San Javier and Guayabal. Positive biofilm samples were found in Popular, Villa Hermosa, Palmitas and Santa Elena districts.

Conclusions: *Hp* was detected in the water and biofilm samples obtained from the official educational institutions of Medellín and could be determined by culture in HPSPA and by PCR with the *ureA* gene. However, none of the risk factors studied were predictors of contamination. (**Acta Med Colomb 2017; 42: 121-128**).

Keywords: *H. pylori*, water, biofilm, PCR, *ureA* gene

Introducción

Helicobacter pylori (*Hp*) es un bacilo gram negativo, de morfología helicoidal con cuatro a seis flagelos que lo dotan de movilidad, que puede crecer a 37°C en condiciones de microaerofilia, y es productor de catalasa, ureasa y oxidasa. Posee diversos factores de virulencia que contribuyen a la colonización o al daño de la mucosa gástrica en humanos, entre los que se encuentran la citotoxina vacuolizante VacA y la proteína antigénica CagA. Otros factores importantes son la isla de patogenicidad, las proteínas de choque térmico, la ureasa, la capacidad de movilidad y la capacidad de adherencia. Colonizan principalmente el estómago y el duodeno causando úlceras a ese nivel y pueden finalmente desarrollar enfermedades como el linfoma de MALT y cáncer gástrico (1, 2).

Las tasas de infección por *Hp* varían dependiendo de las condiciones socioeconómicas y de las condiciones higiénico sanitarias de los países, los que están en vía de desarrollo varían entre 80 y 90%, mientras que esta tasa disminuye a un rango entre 30 y 50% en los países desarrollados. En los países latinoamericanos llega a 90%; en Colombia la prevalencia en la población mayor de 20 años es 86% y en niños es cercana a 75%. La prevalencia de infección en niños presenta una gran variabilidad con tasas entre 60 y 70% en países como Asia, África y América Latina y menos de 10% en países desarrollados de Europa (3-11).

Los humanos son el único reservorio de *Hp* y las principales vías de transmisión ampliamente estudiadas han sido: oral-oral, gastro-oral y fecal-oral. Así mismo, el bajo nivel socioeconómico y el hacinamiento están asociados con una alta prevalencia de la infección. Las aguas contaminadas con materia fecal también se han implicado como vehículo de transmisión (12-18) y varios estudios a nivel mundial implican al agua potable como un posible mecanismo de transmisión del microorganismo (11,19-24).

La aplicación de la biología molecular en aguas ha permitido no sólo la detección de microorganismos, sino también la enumeración, caracterización, determinación de la actividad microbiana y la funcionalidad de algunos genes. Estas ventajas han permitido que se considere el agua potable y no potable

como un posible vehículo de transmisión de *Hp*. Existen numerosos estudios que han demostrado la presencia de esta bacteria en aguas (24-29). Hace algunos años eran pocas las investigaciones que implicaban el agua como vehículo de transmisión de *Hp*, pero hoy en día hay suficiente evidencia de la presencia de esta bacteria en el agua y biopelículas de los sistemas de distribución de agua potable. En Colombia y específicamente en la ciudad de Medellín no se ha documentado sustancialmente la presencia de *Hp* en aguas tratadas, por ello en esta investigación se evaluó la presencia de *Hp* en muestras de agua y biopelículas de los grifos en las escuelas de la ciudad de Medellín a través de una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) directa convencional.

Métodos

Tipo de estudio

Se realizó un estudio *cross sectional*.

Población y muestra

A partir de los listados de las 409 instituciones educativas oficiales de la Secretaría de Educación de Medellín, se calculó una muestra con el programa *Epi Info en línea* con parámetros como: una proporción esperada de 50%, una confianza de 95% y un error del 5%, arrojando un total de 199 instituciones educativas. Para la selección de las instituciones se tuvo en cuenta su distribución por comunas y se realizó un muestreo aleatorio simple estratificado por comunas en el programa EPIDAT 3.4. Se consideraron como unidad de muestreo las instituciones educativas oficiales de la ciudad de Medellín y como unidades de análisis las muestras de aguas y biopelícula de los grifos de agua de dichas instituciones.

Recolección de información

En cada una de las escuelas participantes previo consentimiento y estandarización de las técnicas de recolección y análisis, se encuestó a una autoridad competente acerca de factores de riesgo para la presencia de *Hp*, tales como: antigüedad de la edificación, estado físico de los grifos de agua, presencia de tanques o pozos de agua para consumo,

disponibilidad de agua potable, disponibilidad de otras fuentes de agua diferentes a las del acueducto municipal. Posteriormente se procedió a recolectar las muestras de agua y biopelículas de los grifos.

Respecto a las muestras de agua, se recolectaron 250 mL en frasco tapa azul estéril, de una llave por cada institución educativa y para las muestras de biopelículas, éstas se tomaron con un aplicador de algodón estéril de la superficie interna de las llaves, se depositó luego en un tubo de ensayo tapa rosca estéril que contenía 3 mL de BHI-DENT(30). Ambos tipos de muestras se mantuvieron en refrigeración máximo durante tres horas hasta su llegada al laboratorio.

Detección de *H. pylori* por cultivo en el agar HPSP

Los 250 mL de agua recogidos se centrifugaron a 4°C, a 2500 rpm durante cinco minutos; se descartó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 5 MI de BHI-DENT, luego se incubó por 48 horas a 35°C en ambiente de microaerofilia. Posteriormente se centrifugó el cultivo a 2500 rpm a 4°C, por cinco minutos, se descartó el sobrenadante y se resuspendió en 300ul de BHI-DENT. Así se sembró luego por duplicado 100 ul en el agar para *H. pylori* con peptona especial HPSPA (30), y los otros 100 ul restantes se utilizaron para la extracción de ADN.

Las muestras directas de hisopados de biopelículas se transportaron en medio líquido y en hielo, para luego incubarse en ambiente de microaerofilia a 35°C, por cinco días; pasado este periodo de tiempo se sembraron en agar HPSPA con revisión de cultivos al tercer día. Cualquier cambio de color en el agar se consideró como indicador de crecimiento en el medio. Como pruebas confirmatorias se realizaron las pruebas de oxidasa, catalasa y ureasa.

Extracción de ADN y detección de *H. pylori* por la técnica de PCR

La extracción del ADN se realizó con el Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Promega, Wiscconsin, USA) siguiendo las instrucciones de la casa fabricante. Para la amplificación de los diferentes fragmentos de ADN del genoma de *H. pylori*, se aplicó una mezcla de reacción compuesta por: agua destilada (29.3 ul); Buffer 10X (5.0 ul); dNTPs (4.0 ul); MgCl₂ (3.0 ul); *ureA F* (1.0 ul); *ureA R* (1.0 ul); Glicerol al 50% (5.0 ul); DMSO (1.0 ul); Taq polimerasa (0.2 ul); y ADN (5.0 ul). Se emplearon los cebadores descritos por Benson y col. específicos para el gen *ureA* HpR 5' ATG GAA GTG TGA GCC GAT TTG-3' y HpF 5' ATA TTA TGG AAG AAG CGA GAG CTG G-3' (25). Esta detección se realizó utilizando como control negativo agua grado reactivo para evitar falsos positivos, y como control positivo se usaron aguas contaminadas con la cepa de la ATCC de *H. pylori* (Tabla 1).

Análisis de los datos

Se creó una base de datos en el programa estadístico SPSS 15v. Inicialmente en el análisis univariado se caracterizaron

Tabla 1. Perfil térmico de PCR para la región *ureA* de *Helicobacter pylori*.

Programa	Paso	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
1	Desnaturalización inicial	95	2 min	1
2(1)	Desnaturalización	95	30 seg	--
2(2)	Acoplamiento	50-47	2 min	6
2(3)	Extensión	72	1min	--
3 (1)	Desnaturalización	95	30 seg	--
3 (2)	Acoplamiento	47-41	1 min	13
3 (3)	Extensión	72	1 min	--
4 (1)	Desnaturalización	95	30 seg	--
4 (2)	Acoplamiento	45	1 min	26
4 (3)	Extensión	72	1 min	--
5	Extensión final	72	5 min	--
6	Almacenamiento	10	Lo necesario	--

Nota: Cebadores:
 HpR 5' ATG GAA GTG TGA GCC GAT TTG-3'
 HpF 5' ATA TTA TGG AAG AAG CGA GAG CTG G-3'

las variables cualitativas, para ello se calculó la frecuencia absoluta y relativa. Sumado a esto, a la variable cuantitativa años de edificación se calculó el promedio y desviación estándar. Los mapas fueron graficados en el programa ArcGis.

Posteriormente, se realizó un análisis bivariado para establecer la asociación entre la presencia de *H. pylori* y las demás variables; para las cualitativas se utilizó la prueba *chi cuadrado* de independencia y se determinaron los OR con su respectivo intervalo de confianza de 95%. Para la variable cuantitativa años de la edificación inicialmente se probó si tenía distribución normal a través de la prueba de Kolmogorov- Smirnov, posteriormente el análisis de la diferencia de medianas se hizo por pruebas no paramétricas, la U de Mann-Withney, se tomó como significancia estadística un valor de $p < 0.05$.

Para evitar sesgos de confusión se realizó un análisis estratificando por la presencia de pozo y por el uso de agua potable. La interacción se evaluó en la regresión logística teniendo en cuenta la variación de la significancia estadística con las diferentes variables y no se observó ninguna posible interacción.

Para el análisis multivariado se ingresaron las variables que en el análisis bivariado dieron un valor de p menor de 0.25 siguiendo los criterios de Hosmer Lemeshow. Se corrió una regresión logística binaria multivariante por el método Introducir (Enter), considerando variable dependiente dicotómica la presencia de *H. pylori* (si/no) y como variables independientes y categóricas estado del grifo, material del grifo, consumo de agua de pozo o tanque y ubicación del grifo.

Resultados

Se evaluaron en total 194 IEO de las cuales se obtuvieron 194 muestras de agua y 194 de biopelícula. La distribución de las escuelas por barrios o comunas y la positividad de las muestras se puede observar en la Tabla 3. La presencia de

H. pylori determinada por cultivo en agar HPSPA fue 11.3% en agua y en biopelículas de 11.3% también. La presencia de ADN de *Hp* en aguas determinada por la prueba de PCR con la secuencia de oligonucleótidos del gen *ureA* fue 2.1% en agua y en biopelícula de 2.1%. Sólo una muestra de biopelícula fue positiva por cultivo y por PCR a la vez.

La positividad de las muestras de agua y biopelículas recolectadas en las diferentes IEO de la ciudad de Medellín se distribuyó según las comunas y se pudo observar que sólo en los barrios de La Candelaria, Laureles, La América y El Poblado no presentaron escuelas positivas para *Hp* por cultivo o PCR ni en agua ni en biopelícula. Las muestras

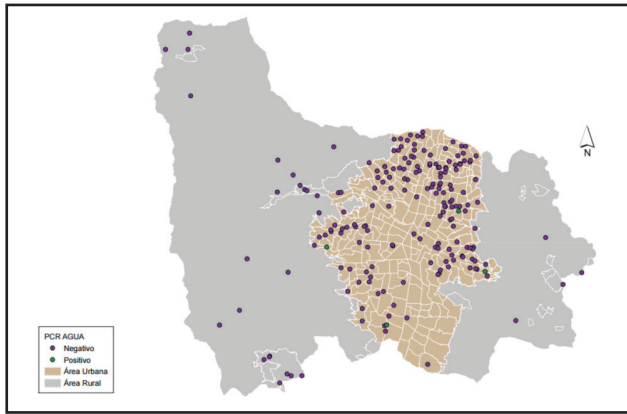


Figura 1. Distribución de las IEO de la ciudad de Medellín positivas por PCR para *H. pylori* en agua según su ubicación en zona urbana o rural.

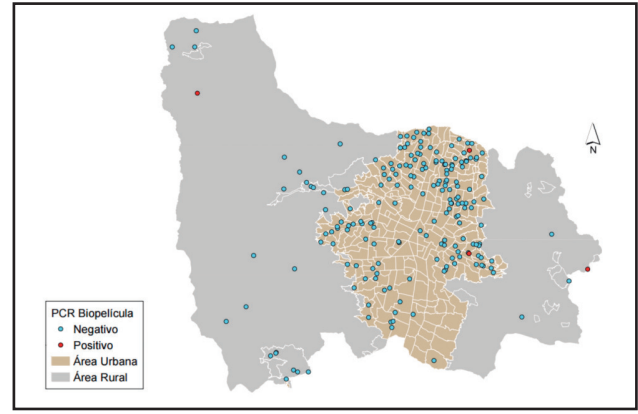


Figura 2. Distribución de las IEO de la ciudad de Medellín positivas por PCR para *H. pylori* en biopelícula según su ubicación en zona urbana o rural.

Tabla 2. Distribución de las muestras de agua y biopelícula positivas para *H. pylori* de las IEO según las comunas o barrios de la ciudad de Medellín. 2011-2012.

Comunas	Barrios	Total de IEO	Biopelícula		Agua		Total de muestras positivas
			Cultivo	PCR	Cultivo	PCR	
1	Popular	12	2	1	1	0	4
2	Santa Cruz	10	1	0	1	0	2
3	Manrique	11	0	0	1	1	2
4	Aranjuez	18	4	0	2	0	6
5	Castilla	12	1	0	1	0	2
6	12 de octubre	15	0	0	4	0	4
7	Robledo	14	10	0	3	0	4
8	Villa Hermosa	17	2	1	0	1	4
9	Buenos Aires	10	1	0	1	0	2
10	La Candelaria	6	0	0	0	0	0
11	Laureles	3	0	0	0	0	0
12	La América	12	0	0	0	0	0
13	San Javier	6	1	0	0	1	2
14	El Poblado	2	0	0	0	0	0
15	Guayabal	7	0	0	0	1	1
16	Belén	12	4	0	3	0	7
50	Palmitas	3	1	1	1	0	3
60	San Cristóbal	10	1	0	1	0	2
80	San Antonio	10	2	0	2	0	4
90	Santa Elena	4	1	1	1	0	2

Tabla 3. Frecuencia de muestras de agua y biopelículas positivas al cultivo en agar HPSPA y en la prueba de PCR

Pruebas	Número (%) Agua	Número (%) Biopelículas
Cultivo en HPSPA	22 (11.3)	22 (11.3)
PCR con gen <i>urea</i>	4 (2.1)	4 (2.1)
Total de muestras analizadas	194	194

Tabla 4. Frecuencia de los diferentes factores de riesgo estudiados en las IEO que hicieron parte de la muestra.

Factores de riesgo		Frecuencia	(%)
Estado del grifo	Bueno	169	87.5
	Malo	25	12.9
Ubicación del grifo	Baños	47	24.2
	Cancha	13	6.7
	Pasillos	19	9.8
	Patio principal	103	53.1
	Restaurante	10	5.2
	Tanque	2	1
Material del grifo	Aleación	67	34.5
	Cobre	114	58.8
	Cromado	11	5.7
	Tanque de pasta	2	1
Presencia de tanques o pozos	No	128	66
	Sí	66	34
Uso de agua potable	No	8	4.1
	Sí	186	95.6
Uso de agua diferente al acueducto	No	172	88.7
	Sí	22	11.3

de las escuelas del resto de comunas si fueron positivas por alguna de las pruebas (Tabla 2).

Las IEO en las que se presentaron positividad por la prueba de PCR estuvieron ubicadas en los barrios Popular, Manrique, Villa Hermosa, San Javier, Guayabal, Palmitas y Santa Elena. La ubicación espacial de las cuatro muestras positivas por PCR no mostró una relación con suministro de agua potable o diferente al acueducto municipal como aguas veredales (Figuras 1, 2).

En cuanto a los factores de riesgo se encontró que la mayoría de las escuelas estaban reformadas hace poco tiempo, el estado de los grifos en 87.5% fue bueno; la ubicación del grifo fue en 53% en el patio principal; el cobre fue el material más frecuente en los grifos con 58.8%. En cuanto al suministro de agua, el 4.1% (8) de las escuelas no tenían agua potable, el 11.3% (22) de ellas utilizaban agua de acueductos veredales (Tabla 4) y sólo 34% (66) tenían pozos. Al analizar los años de la edificación de cada institución se observó un promedio de 39.1 ± 20 años de antigüedad.

En el análisis bivariado, al evaluar la asociación entre la presencia de *Hp* (teniendo en cuenta que la muestra de agua o biopelícula fueron positivas por cualquiera de las dos técnicas) y variables como: estado del grifo, la ubicación del grifo, material del cual estaba hecho el grifo, uso de pozos, agua potable, aguas no potables, años de edificación, no se encontró asociación estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre estas variables (Tabla 5).

Se corrió una regresión logística binaria multivariante considerando como variable dependiente dicotómica la presencia de *Hp* y como variables independientes y categóricas estado del grifo, material del grifo, consumo de

Tabla 5. Factores de riesgo para la contaminación con *Helicobacter pylori*.

Variable	<i>H. pylori</i>			Valor de p
	Positivo No. (%)	Negativo No. (%)	OR	
Estado del grifo				0.162
Bueno	39 (20.1)	130 (67)	0.533 IC (0.219-1.301)	
Malo	9 (4.6)	16 (8.2)		
Ubicación del grifo				0.189
Baños	10 (5.2)	37 (19.1)	0.270 IC (0.134-0.543)	
Cancha	4 (2.1)	9 (4.6)	0.444 IC (0.136- 1.443)	
Pasillos	3 (1.5)	16 (8.2)	0.187 IC (0.054- 0.643)	
Patio	26 (13.4)	77 (39.7)	0.337 IC (0.216- 0.526)	
Restaurante	3 (1.5)	7 (3.6)	0.428 IC (0.110-1.657)	
Tanque	2 (5)	0 (10)		
Material del Grifo				0.0168
Aleación	12 (6.2)	55 (28.4)	0.211 IC (0.110- 0.405)	
Cobre	33 (17)	81 (41.8)	0.432 IC (0.290-0.642)	
Cromado	1(0.5)	10 (5.2)	0.100 IC (0.012-0.781)	
Pasta	2 (1)	0 (0)	0.333 IC (0.034-3.204)	
Presencia de Tanques /pozos				0.128
No			0.568 IC (0.272-1.184)	
Sí	36 (18.6)	92 (47.4)		
	12 (6.2)	54 (27.8)		
Uso agua potable				0.986
No	2 (1)	6 (3.1)	0.986 IC (0.192-5.94)	
Sí	46 (23.7)	140 (72.2)		
Uso de agua diferente al acueducto				0.770
No			1.161 IC (0.27-3.157)	
Sí	42 (21.6)	130 (67)		
	6 (3.1)	16 (8.2)		

agua de pozo o tanque y ubicación del grifo. Se corrió el modelo introducir (enter) encontrándose que el modelo no se ajustó bien a los datos, sólo 1.8% de la variación de la variable dependiente es explicada por las variables incluidas en el modelo. La ecuación final no incluyó ninguna variable indicando que no son variables predictoras de la contaminación por *H. pylori*.

Discusión

La detección de *Hp* en agua por medio del cultivo en agar HPSPA fue 11.3% (22), así mismo en las muestras de biopelículas cultivadas en el medio HPSPA fue 11.3% (22). La presencia de ADN de *Hp* en agua determinada por la prueba de PCR directa con la secuencia de oligonucleótidos del gen *ureA* fue de 2.1% como también en las muestras de biopelículas con 2.1%(44). Sólo una muestra de biopelículas presentó positividad por el cultivo y por PCR.

Estudios realizados en muestras de agua en diferentes países la presencia de *Hp* varía entre 9.8 y 10.8%. Muchos de estos estudios han sido realizados tanto aguas potables como de pozos y no potables. Por ejemplo, en Suecia la frecuencia de *Hp* según pruebas de PCR en muestras de aguas provenientes de pozos privados fue 37.5%, en aguas municipales de 12%, y en los sistemas descarte de aguas 12%. (2-4, 14-16, 20, 25, 28, 31-33). Por el contrario en otros países como Inglaterra un estudio realizado no pudo evidenciar la presencia de células viables de *Hp*, pero si ADN en 26% de las muestras de agua y en 56% en las muestras de biopelículas de los sistemas de distribución de agua potable analizadas, mientras que en Bangladesh no se detectó la presencia de bacteria en aguas. La detección de *Hp* en aguas depende mucho de la técnica utilizada ya que aunque resiste las concentraciones de cloro del agua potable, su transformación a formas viables pero no cultivables y su número escaso en aguas tratadas dificulta su detección. Es por eso que la mayoría de las investigaciones de *Hp* en aguas recomiendan el uso de pruebas moleculares para la detección de las diferentes especies de la bacteria (24, 26-29). En nuestro estudio la prevalencia de *Hp* en aguas obtenidas de las instituciones educativas oficiales (IEO) fue del 11.3% por cultivo y de 2.1% por PCR, datos bajos en relación con estudios realizados en otros países, esto puede ser explicado por la buena calidad del agua en la ciudad de Medellín, por la técnica de procesamiento de las muestras de agua y biopelícula y por los genes utilizados en la técnica de PCR en esta investigación.

La ubicación de las escuelas cuyas muestras fueron positivas en agua y biopelículas para *Hp* por PCR no se encontraron concentradas en una sola zona de Medellín, y no están relacionadas con el tipo de agua municipal o veredal. En las cuatro IEO con muestras de agua positivas por PCR todas tenían agua potable municipal, dos de ellas tenían grifos de cobre y en promedio las edificaciones tenían 36 años de antigüedad. En las cuatro IEO que tuvieron las muestras de biopelículas positivas dos de ellas tenían

grifos de cobre, y todas tenían aguas tratadas municipales, sólo una de las escuelas tenía el agua guardada en pozos. Estos resultados igual a lo encontrado en muchos estudios a nivel mundial demuestran la presencia de *Hp* en aguas tratadas (2, 12, 14).

Cuando se analizan los diferentes factores de riesgo que pudieran estar relacionados con la presencia de las bacterias se encuentran varios estudios a nivel mundial, como el realizado en dos estados de Alemania en aguas de pozos, para cada uno se determinó que el consumir aguas no municipales era un riesgo de contaminación con *Hp*, con un OR: 16.4 IC 95% (3.1-88.5) y un OR: 4 IC 95% (1.3-12.4). Sin embargo, en otro estudio realizado en sistemas de distribución de aguas en Inglaterra, no se detectó por cultivo pero sí por PCR con una prevalencia de 26% (34). Aunque en estudio realizado en Perú por Klein y col. se encontró asociación entre la infección por *Hp* y la exposición a aguas municipales, de pronto esta situación pudiera ser explicada por la calidad de los sistemas de distribución de agua potable. Existe entonces hasta el momento mucha evidencia de la utilidad de las pruebas moleculares como la PCR para la detección de *Hp* en agua y biopelículas.

Otros factores predictores de la contaminación por *Hp* han sido las condiciones socioeconómicas de algunos grupos poblacionales, como se pudo evidenciar en un estudio realizado en Brasil, donde se evaluó el potencial de varios factores de riesgo para adquirir la infección por *Hp* y se observó que la ubicación de la casa en una calle específica y la ausencia de sanitarios, presentaron un OR de 2.03 IC 95% 1.04-2, 12 y un OR de 1.32 con IC 95% 1 - 1.74 respectivamente; por lo cual se concluyó que la infección en los niños estaba asociada con variables indicativas de deficientes medidas de saneamiento y habitacionales (35).

En nuestro estudio las variables analizadas fueron: el estado del grifo, su ubicación en la escuela, el tipo de material del grifo, la presencia de tanques o pozos para almacenar agua, el uso de agua potable y el uso de agua diferente al acueducto, con las cuales no se encontró una relación estadísticamente significativa con la presencia de *Hp* en aguas o biopelículas y luego por medio del análisis de regresión logística se concluyó que no podían ser consideradas en este caso como factores predictores de contaminación. Únicamente el material del grifo presentó una $p < 0.05$ y el OR hallado en los grifos de cobre fue 0.432 con un IC 95% (0.290-0.642), lo que se consideró como factor protector. Esto pudiera ser explicado por los resultados con un trabajo previo por Azevedo en el 2006, donde evaluaron diferentes materiales de los grifos y concluyeron que el cobre puede ser un depósito de *Hp* virulento pero aunque allí las bacterias se fijan más fácilmente, después de fijadas, rápidamente se vuelven no viables y esto puede indicar que por esa razón no fue considerado un factor de riesgo pues esta forma no es cultivable (36).

Con toda la evidencia obtenida hasta el momento, se puede implicar al agua tratada y no tratada como posible

vehículo de transmisión de *Hp* y se hace necesario tener en cuenta que aunque una población disponga de aguas municipales potables y de grifos adecuados, la calidad del agua de la potabilización no es la misma en todas partes, además el estado del acueducto como daños previos que exponen al agua potable a contaminación con materia fecal, la antigüedad del acueducto, presencia de biopelículas en las tuberías, deben estudiarse como factores predictores de contaminación del agua. Aunque en este estudio fue posible detectar la presencia de *Hp* y de su ADN en muestras de agua y biopelícula obtenidas en los grifos de las IEO de la ciudad de Medellín, los factores predictores de la contaminación por *Hp* analizados no presentaron una asociación estadísticamente significativa. Esta situación refleja la existencia de la bacteria en el acueducto y pone en evidencia la presencia de *Hp* en biopelícula formada en el interior de los grifos, lo que puede favorecer permanencia tanto en el grifo como en las paredes de la tubería del agua. Con estos hallazgos se corrobora que el agua tratada es una posible fuente de infección con *Hp* y consumir agua directamente de la llave, práctica muy frecuentemente observada en los niños de las instituciones educativas estudiadas, puede ser una conducta que facilite la contaminación de los grifos con *Hp* y a la vez ser fuente de infección para ellos ya que *este* microorganismo podría resistir al proceso de potabilización y sobrevivir en la biopelícula formada, convirtiendo al agua en un factor de riesgo para la infección por *Hp*.

Es así como el uso de técnicas como PCR y cultivos específicos para *Hp* se hacen necesarios para la detección de esta bacteria en muestras ambientales. En investigaciones adicionales se deberán mejorar las condiciones de la muestra para aumentar la probabilidad de aislamiento de la bacteria, además se debe incluir otras pruebas moleculares que permitan clasificar los aislamientos de *Hp* de aguas y determinar su viabilidad. Además es necesario establecer por otros estudios los factores que están favoreciendo la presencia de *Hp* en los sistemas de distribución de aguas.

Agradecimientos

Los autores agradecen a las instituciones universitarias Colegio Mayor de Antioquia, financiamiento y apoyo durante el desarrollo de esta investigación, a los directivos de las instituciones educativas participantes por su apoyo para la toma de las muestras y la realización de las entrevistas y al docente Julio Quiroga por su colaboración en la georreferenciación.

Financiación

Recursos de la convocatoria interna de investigación de la institución universitaria Colegio Mayor de Antioquia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses.

Referencias

1. **Lawson AJ.** Manual Of Clinical Microbiology. In: ASM press, editor. Manual of Clinical Microbiology. 10th ed. Washington DC.: ASM; 2010. p. 900.
2. **Aziz RK, Khalifa MM, Sharaf RR.** Contaminated water as a source of Helicobacter pylori infection. *J Adv Res.* Cairo University; 2013; **6(4)**: 539–47. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123213000970>
3. **Carter F, Seaton T, Yuan Y, Armstrong D, F. C, T. S, et al.** Prevalence of helicobacter pylori infection in children in the bahamas. *West Indian Med J.* 2012; **61(7)**: 698–702. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L368153785> <http://ojs.mona.uwi.edu/index.php/wimj/article/viewFile/3476/3139> <http://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBA SE&issn=00433144&id=doi:&atitle=Prevalence+of+helicobacter+pyl>
4. **Blankenstein MVAN, Vuuren AJVAN, Looman CWN, Ouwendijk M, Kuipers EJ.** The prevalence of helicobacter pylori infection in the Netherlands. 2013; (April): 794–800.
5. **Syam AF, Miftahussurur M, Makmun D.** Risk Factors and Prevalence of Helicobacter pylori in Five Largest Islands of Indonesia : A Preliminary Study. 2015; 1–15.
6. **Pdf TP, Health BMCP, Ozaydin N, Cali S, Article I, Url A, et al.** Prevalence and risk factors of helicobacter pylori in Turkey : a nationally-representative , cross-sectional. 2013;
7. **Van Hooste W, Charlier A-M, Rotsaert P, Bulterys S, Moens G, van Sprundel M, et al.** Work-related Helicobacter pylori infection among sewage workers in municipal wastewater treatment plants in Belgium. *Occup Environ Med.* 2010; **67(2)**: 91–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20133459>
8. **Moncayo JI, Santacruz JJ, Alvarez AL, Franco B, López MA, Angel A, et al.** Comparison of methods in the diagnosis of Helicobacter pylori infection in Quindío, Colombia. *Colomb Med.* 2006; **37(3)**: 203–12. Available from: <http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/446/1059>
9. **Goodman KJ, Correa P, Tenganá Aux HJ, Ramírez H, DeLany JP, Guerrero Pepinosa O, et al.** Helicobacter pylori infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol.* 1996; **144(3)**: 290–9.
10. **Bastos J, Peleteiro B, Barros R, Alves L, Severo M, et al.** Sociodemographic determinants of prevalence and incidence of helicobacter pylori infection in portuguese adults. *Helicobacter.* 2013; **18(6)**: 413–22.
11. **Travis PB, Goodman KJ, O'Rourke KM, Groves FD, Sinha D, Nicholas JS, et al.** The association of drinking water quality and sewage disposal with Helicobacter pylori incidence in infants: the potential role of water-borne transmission. *J Water Health* 2010; **8(1)**: 192–203. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20009261>
12. **Aziz RK, Khalifa MM, Sharaf RR.** Contaminated water as a source of Helicobacter pylori infection: A review. *J Adv Res* 2015; **6(4)**: 539–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.007>
13. **Amirhooshang A, Ramin A, Ehsan A, Mansour R, Shahram B.** High frequency of Helicobacter pylori DNA in drinking water in Kermanshah, Iran, during June–November 2012. *J Water Health* 2014; **12(3)**: 504. Available from: <http://jwh.iwaponline.com/cgi/doi/10.2166/wh.2013.150>
14. **Bahrami AR, Rahimi E, Safaei HG.** Detection of Helicobacter pylori in City Water , Dental Units ' Water , and Bottled Mineral Water in Isfahan , Iran 2013.
15. **Bellack NR, Koehoorn MW, MacNab YC, Morshed MG.** A conceptual model of water's role as a reservoir in Helicobacter pylori transmission: a review of the evidence. *Epidemiol Infect.* 2006; **134(3)**: 439–49.
16. **Campos VM, Rojas KB, Sandoval JC.** Hallazgo de la bacteria Helicobacter pylori en agua de consumo humano y su relación con la incidencia de cáncer gástrico en Costa Rica. 2011; **24**: 3–14.
17. **Dardavessis T, Kostopoulos I, Arvanitidou M.** Molecular detection of Helicobacter pylori in a large Mediterranean river , by direct viable count fl uorescent in situ hybridization (DVC-FISH) Ilias Tirodimos , Mattheos Bobos , Evangelos Kazakos , Anna-Bettina Haidich , . 2014; 868–74.
18. **McDaniels AE, Wymer L, Rankin C, Haugland R.** Evaluation of quantitative real time PCR for the measurement of Helicobacter pylori at low concentrations in drinking water. *Water Res.* 2005; **39(19)**: 4808–16.
19. **Ramírez A, Chinga E, Mendoza D.** Variación de la prevalencia del H. Pylori y su relación con los niveles de cloro en el agua de la Atarjea , Lima, Perú: Período 1985-2002. *Rev Gastroenterol del Peru* 2003; **24(3)**: 223–9. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292004000300004 <http://www.scielo.org.pe/pdf/rgrp/v24n3/a04v24n3.pdf>
20. **Hultén K, Enroth H, Nyström T, Engstrand L.** Presence of Helicobacter species DNA in Swedish water. *J Appl Microbiol* 1998; **85(2)**: 282–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9750301>
21. **Khan A, Farooqui A, Kazmi SU.** Original Article Presence of Helicobacter pylori in drinking water of Karachi , Pakistan. 1991;
22. **Isolation and identification of Helicobacter pylori from drinking water in Basra governorate.** Iraq 2010; 16(9).
23. **Arias ML, Chaves C, Solano G.** Evaluación de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la detección e identificación de Listeria monocytogenes

- en queso fresco proveniente del Área Metropolitana de San José, Costa Rica. *Arch Latinoam Nutr.* 2010; **60**(1): 391–6.
24. **Watson CL, Owen RJ, Said B, Lai S, Lee J V, Surman-Lee S, et al.** Detection of *Helicobacter pylori* by PCR but not culture in water and biofilm samples from drinking water distribution systems in England. *J Appl Microbiol.* 2004; **97**(4): 690–8.
 25. **Benson J a, Fode-Vaughan K a, Collins MLP.** Detection of *Helicobacter pylori* in water by direct PCR. *Lett Appl Microbiol* 2004; **39**(3): 221–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15287865>
 26. **Nayak a K, Rose JB.** Detection of *Helicobacter pylori* in sewage and water using a new quantitative PCR method with SYBR green. *J Appl Microbiol* 2007; **103**(5): 1931–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17953603>
 27. **Linke S, Lenz J, Gemein S, Exner M, Gebel J.** Detection of *Helicobacter pylori* in biofilms by real-time PCR. *Int J Hyg Environ Health.* 2010; **213**(3): 176–82.
 28. **Amirhooshang A, Ramin A, Ehsan A, Mansour R, Shahram B.** High frequency of *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Kermanshah , Iran , during June – November 2012 Alvandi Amirhooshang , Abiri Ramin , Aryan Ehsan , Rezaei Mansour and Bagherabadi Shahram. 2014; 504–13.
 29. **Douterelo I, Boxall JB, Deines P, Sekar R, Fish KE, Biggs C a.** Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water Res Elsevier* 2014; **65**: 134–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.008>
 30. **Degnan a J, Sonzogni WC, Standridge JH.** Development of a plating medium for selection of *Helicobacter pylori* from water samples. *Appl Environ Microbiol* 2003; **69**(5): 2914–8.
 31. **Fujimura S, Kato S, Kawamura T.** *Helicobacter pylori* in Japanese river water and its prevalence in Japanese children. *Lett Appl Microbiol.* 2004; **38**: 517–21.
 32. **Patricia A, Canón C, Patricia A, Canón C.** Estandarización de la técnica de PCR en tiempo real para la detección de *Helicobacter pylori* en aguas de consumo Estandarización de la técnica de PCR en tiempo real para la detección de *Helicobacter pylori* en aguas de consumo. 2014;
 33. **Percival SL, Thomas JG.** Transmission of *Helicobacter pylori* and the role of water and biofilms. *J Water Health* 2009; **7**(3): 469–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19491497>
 34. **Watson CL, Owen RJ, Said B, Lai S, Lee J V, Surman-Lee S, et al.** Detection of *Helicobacter pylori* by PCR but not culture in water and biofilm samples from drinking water distribution systems in England. *J Appl Microbiol* **97**(4): 690–8.
 35. **Dattoli V, Veiga R, Da Cunha S, Pontes-de-Carvalho L.** Seroprevalence and Potential Risk Factors for *Helicobacter pylori* Infection in Brazilian Children. *Helicobacter.* 2010; **15**(4): 273–8.
 36. **Azevedo NF, Pacheco a P, Keevil CW, Vieira MJ.** Adhesion of water stressed *Helicobacter pylori* to abiotic surfaces. *J Appl Microbiol* 2006; **101**(3): 718–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16907822>