



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**EFICACIA DEL TRATAMIENTO GUIADO POR CULTIVO  
EN LA INFECCIÓN POR *Helicobacter pylori***

Tesis para optar al título de doctor

Autor

Ignasi Puig del Castillo

Director

Dr. Xavier Calvet Calvo

Tutor

Dr. Ferran Segura Porta

Programa de doctorat en Medicina

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

2016





Universitat Autònoma  
de Barcelona

El Dr. Xavier Calvet Calvo y el Dr. Ferran Segura Porta, director y tutor de la tesis

### **Certifican**

Que Ignasi Puig del Castillo ha realizado el trabajo de investigación correspondiente a la tesis doctoral titulada “Eficacia del tratamiento guiado por cultivo en la infección por *Helicobacter pylori*” la cual se ha desarrollado en el Departamento de Medicina de la Universidad Autònoma de Barcelona.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, firman el certificado en Barcelona el 14 de Julio de 2016.

Ignasi Puig del Castillo

Doctorando

Xavier Calvet Calvo

Director de la tesis

Ferran Segura Porta

Tutor de la tesis



A mis padres, a quienes se lo debo todo, referentes y ejemplo para mí toda la vida



# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	11
PRESENTACIÓN.....	15
ABREVIATURAS.....	19
INTRODUCCIÓN.....	23
1. Antecedentes del descubrimiento de <i>Helicobacter pylori</i> .....	25
2. Microbiología.....	26
3. Patogenia.....	27
3.1. Factores implicados en la colonización de la mucosa gástrica.....	27
3.1.1. Actividad ureasa.....	27
3.1.2. Actividad catalasa.....	27
3.1.3. Flagelos.....	28
3.1.4. Adhesinas.....	28
3.2. Factores implicados en el daño de la mucosa gástrica.....	28
3.2.1. VacA ( <i>vacuolating cytotoxin</i> ).....	28
3.2.2. Cag A ( <i>cytotoxin-associated gene A</i> ).....	29
3.3. Otros factores.....	29
3.3.1. Lipopolisacárido (LPS).....	29
4. Epidemiología.....	29
5. Clínica.....	30
5.1. Dispepsia.....	31
5.2. Úlcera péptica.....	32
5.3. Adenocarcinoma gástrico.....	32
5.4. Linfoma MALT gástrico de bajo grado.....	33
5.5. Reflujo gastroesofágico.....	33
5.6. Enfermedades extradigestivas.....	34
5.6.1. Anemia ferropénica.....	34
5.6.2. Déficit de vitamina B12.....	34
5.6.3. Púrpura trombocitopénica idiopática.....	35
6. Diagnóstico.....	35



6.1. Métodos no invasivos .....	35
6.1.1. Test del aliento de la <sup>13</sup> C-urea .....	35
6.1.2.- Antígeno en heces.....	36
6.1.3. Serología.....	36
6.2. Métodos invasivos.....	37
6.2.1. Histología.....	37
6.2.2. Test rápido de la ureasa .....	37
6.2.3. Cultivo .....	37
6.2.4. Técnicas moleculares .....	39
7. Tratamiento .....	40
7.1. Indicaciones.....	40
7.2. Generalidades del tratamiento .....	40
7.3. Tratamiento de primera línea .....	44
7.3.1. Tratamiento triple clásico .....	44
7.3.2. Tratamiento cuádruple sin bismuto (IBP, claritromicina, amoxicilina y metronidazol)	44
7.3.3. Tratamiento cuádruple con bismuto (IBP, bismuto, tetraciclina y metronidazol)...	45
7.3.4. Tratamiento de primera línea en alérgicos a la penicilina .....	46
7.4. Tratamiento de segunda línea .....	46
7.4.1. Tratamiento tras el fracaso de la terapia triple .....	46
7.4.2. Tratamiento tras el fracaso de la terapia cuádruple sin bismuto .....	47
7.4.3. Tratamiento tras el fracaso de la terapia cuádruple con bismuto.....	48
7.4.4. Tratamiento de rescate en pacientes alérgicos a la penicilina .....	48
7.5. Tratamiento de tercera línea .....	49
7.5.1. Tratamiento tras un primer fracaso de terapia triple con claritromicina y una segunda	49
línea con levofloxacino.....	49
7.5.2. Tratamiento tras el fracaso de un primer tratamiento con claritromicina y una	50
segunda línea cuádruple con bismuto .....	50
7.5.3. Tratamiento tras el fracaso de un primer tratamiento cuádruple con bismuto y una	50
segunda línea con levofloxacino .....	50
7.6. Tratamiento tras tres fracasos previos .....	50
OBJETIVOS.....	53

ARTÍCULO 1.....	57
ARTÍCULO 2.....	77
DISCUSIÓN .....	95
CONCLUSIONES .....	101
BIBLIOGRAFÍA .....	105



## **AGRADECIMIENTOS**



A Xavi Calvet, a quien le debo prácticamente toda mi formación como investigador; por su disponibilidad mostrada a lo largo de estos años, ofreciéndome el tiempo que no tenía; por haber contribuido de forma importante en mi formación como gastroenterólogo; por sus consejos profesionales y también personales; por poder contar siempre con él. Quedan pendientes más planes no investigadores, como las excursiones a La Mola a la que algunas veces hemos ido, liberado ahora de “todas las tareas que le debo”.

A los que han contribuido en la investigación incluida en esta tesis. A Sheila López, quien inició esta línea de investigación con Xavi cuando aún era una estudiante del último curso. A Jordi Sánchez, de quién mucho he aprendido como médico y como persona. A Mireia Baylina, por su estimable e importante contribución, y al resto de personas, Albert Villoria, Neus Muñoz, David Suárez, Víctor García-Hernando y Javier P. Gisbert, que han hecho posible que se llevara a cabo este trabajo.

A Merche Vergara, por haber sido una tutora excepcional durante mi etapa de formación como especialista en Aparato Digestivo en el Taulí. Por su contribución en mi formación en la hepatología y también investigadora, aunque finalmente me inclinara más por la gastroenterología... Por su apoyo durante la residencia, su confianza y su amistad.

Al resto del departamento de Digestivo del Taulí. A Rafa Campo, Enric Brullet, Eva Martínez y Félix Junquera, por haber contribuido en mi formación como endoscopista, mi actual actividad asistencial e investigadora. A Blai Dalmau, Mireia Miquel, Meritxell Casas, Montse Gil, Valentí Puig y Pilar García, cada uno me ha enriquecido tanto desde el punto de vista médico como personal.

A Francesc Vida, Pau Sort, Francesc Porta, Jordina Llaó y Anna Giménez, mis actuales compañeros de trabajo. Por facilitar y contribuir en prolongar la actividad investigadora.

A mis padres, a quienes se lo debo todo, ejemplo y referentes para mí toda la vida.  
A toda mi familia, por todo el apoyo y cariño recibido a pesar de no poder dedicarles todo el tiempo que quisiera y se merecen.

# **PRESENTACIÓN**





La presente Tesis Doctoral está estructurada siguiendo las directrices de la normativa del RD99/2011 para la presentación de tesis doctorales como un compendio de publicaciones.

Los estudios que conforman esta Tesis Doctoral pertenecen a una misma línea de investigación, dirigida a ofrecer un análisis cualitativo y cuantitativo de la eficacia del tratamiento guiado por cultivo en la infección por *Helicobacter pylori*. Los resultados de estos estudios han sido recogidos en 2 artículos originales publicados en revistas de amplia difusión internacional con un factor de impacto global de 9,23 puntos.

Tras la investigación de la eficacia del tratamiento guiado por cultivo, continuamos investigando la eficacia del tratamiento triple empírico con amoxicilina, metronidazol e inhibidores de la bomba de protones. Los resultados de estos estudios están recogidos en otros 2 artículos diferentes, uno con factor de impacto de 5,31 y el otro remitido para evaluación. Sin embargo, con el objetivo de hacer más concreta la línea de investigación, estos artículos no han sido incluidos en los resultados de la tesis y tan sólo se mencionan en la introducción y en la bibliografía.



## **ABREVIATURAS**



AINEs: anti-inflamatorios no esteroideos.

E-test: test epsilométrico.

IBP: inhibidor de la bomba de protones.

IC: intervalo de confianza.

*H. pylori: Helicobacter pylori.*

ITT: intención de tratar.

LPS: lipopolisacárido

MALT: *mucosa-associated lymphoid tissue.*

PP: por protocolo.

TGC: tratamiento guiado por cultivo.



# **INTRODUCCIÓN**





## **1. Antecedentes del descubrimiento de *Helicobacter pylori***

En 1982, en Australia, en el Royal Hospital de Perth, Barry Marshall y Robin Warren cultivaron por primera vez *Helicobacter pylori* y, posteriormente, demostraron su asociación con la gastritis crónica y la úlcera gástrica y duodenal (1, 2). Sin embargo, hasta finales de los años 80 no se acepta de manera generalizada el alcance de la infección -se trata de una infección con distribución universal que infecta a más del 50% de la población mundial- y su papel patogénico (3, 4).

Muchos científicos estuvieron previamente cerca de cultivar y/o demostrar la relevancia de la infección por *H. pylori*. En Italia, en 1893, Giulio Bizzozero describió la presencia de unas “espiroquetas” resistentes al ácido en el estómago de perros (5). En Japón, Kasai y Kobayashi publicaron también en 1919 la descripción de unas “espiroquetas” en el estómago de mamíferos (6). En humanos, Freedberg comunicaba por primera vez en 1940 la presencia de espiroquetas en la mucosa gástrica (7). Sin embargo no continuó esta línea de investigación y de hecho cambió su área de interés y finalmente se dedicó a la cardiología.

Todas estas publicaciones pasaron desapercibidas. Años después, los estudios de Kimura y Takemoto supusieron también un gran avance al estudiar biopsias gástricas humanas y describir cuadros histológicos, aún vigentes, como la gastritis crónica, la atrofia y la metaplasia (8).

Marshall y Warren estudiaron las biopsias de 100 pacientes (42 no infectados) y observaron una marcada correlación entre la infección y la gastritis o la úlcera. No encontraron relación con la edad, el consumo de tabaco, el alcohol o los AINEs (2). En los años posteriores describieron como la infección aguda provoca un intenso infiltrado inflamatorio por células polimorfonucleares. Un porcentaje pequeño de infectados se curaba, pero la mayoría desarrollaban una infección crónica caracterizada por un infiltrado linfocitoplasmocitario (gastritis crónica activa) (9). La

infección crónica podía ser asintomática o manifestarse como dispepsia. Múltiples estudios posteriores pusieron de manifiesto la relación de la infección, no sólo con la gastritis y la úlcera péptica, sino también con el linfoma MALT de bajo grado y el carcinoma gástrico (10). El cambio de paradigma que supuso en la práctica clínica motivó que en 2005 Marshall y Warren recibieran el premio Nobel de Medicina.

## 2. Microbiología

Tras el primer aislamiento de la bacteria, esta se clasificó inicialmente como perteneciente al género *Campylobacter* con el nombre de *Campylobacter pylori*. Posteriormente, en 1989, se demostró que se trataba de una bacteria perteneciente a un género diferente y pasó a denominarse *Helicobacter pylori*. Este género incluye a día de hoy 35 *Helicobacter* no *pylori* aislados en mucosa gástrica e intestinal, tanto en humanos como en animales (11).

*H. pylori* es una bacteria gramnegativa, espiral, que crece en medios microaerofílicos, con un tamaño de 0,5 a 1  $\mu\text{m}$  de ancho y 3  $\mu\text{m}$  de largo. Posee también entre 2 y 6 flagelos monopolares que facilitan su movilidad. Tanto estos flagelos como la membrana externa están recubiertos por una vaina lipídica que le protege de la degradación en medio ácido (12). La bacteria puede identificarse por la forma de las colonias en la tinción Gram y por las pruebas de la ureasa, catalasa y oxidasa, que son positivas. La temperatura óptima de crecimiento es 37°C y para su cultivo se requieren medios suplementados con suero o sangre.

Presenta tres enzimas que le confieren una actividad ureasa, oxidasa y catalasa. La actividad ureasa le permite convertir la urea en amonio, proporcionándole un microambiente alcalino que aumenta su resistencia a la degradación en medio ácido. Esto permite detectar indirectamente la presencia de *H. pylori* si la muestra se coloca en un medio enriquecido en urea y se dispone de un indicador de pH.

### 3. Patogenia

La infección por *H. pylori* origina casi siempre cambios de gastritis crónica. Sin embargo, una minoría de estos pacientes desarrollarán complicaciones más importantes como úlcera péptica, linfoma MALT gástrico o adenocarcinoma gástrico.

Se ha estudiado extensamente la relación entre los factores de virulencia y la progresión de la infección. Aunque la presencia de *cagA* y *vacA* entre otros se asocia a una mayor probabilidad de progresión de la infección, ninguno de ellos por sí sólo explica toda la patogenia. El desarrollo de complicaciones de la infección crónica parece tener un origen multifactorial y el riesgo aumenta en la medida que se acumulan más factores de virulencia (13).

#### 3.1. Factores implicados en la colonización de la mucosa gástrica

##### 3.1.1. Actividad ureasa

La ureasa es la enzima más abundante en *H. pylori*. La actividad ureasa aumenta sólo cuando hay una disminución del pH (14). Esta enzima hidroliza la urea generando amonio y dióxido de carbono, lo que aumenta el pH a 6 o 7 en su entorno. Es así como *H. pylori* puede mantener un microclima que permite su supervivencia hasta alcanzar la mucosa, donde el pH es aproximadamente 7. La expresión del gen de la ureasa está regulada por la proteína Urel (15), ya que un exceso de amonio también sería perjudicial para la misma bacteria (16).

##### 3.1.2. Actividad catalasa

Es el principal sistema antioxidante de *H. pylori*. La catalasa cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, observándose en el laboratorio la aparición de burbujas. Esta enzima juega un papel relevante en la resistencia a la fagocitosis de los polimorfonucleares (17).

### 3.1.3. Flagelos

Sus 2-6 flagelos monopolares junto con su forma espiral son características fundamentales que permiten su gran movilidad y posibilitan atravesar la capa de moco de la pared gástrica e instalarse en las células epiteliales.

### 3.1.4. Adhesinas

Glicerofosfolípidos, sulfátidos, componentes de la matriz extracelular y secuencias repetidas de N-acetil-lactosamina o de glicoconjugados forman parte de las adhesinas que permiten que *H. pylori* se una a las células epiteliales gástricas. Es un elevado número de adhesinas como HpaA (*Helicobacter pylori adhesin A*), BabA (*blood antigen binding adhesion*), SabA (*sialic acid binding adhesion*) o OipA (*outer membrane inflammatory protein*) las que se adhieren a múltiples receptores para mantener la adherencia a la mucosa gástrica (18-21).

## 3.2. Factores implicados en el daño de la mucosa gástrica

### 3.2.1. VacA (*vacuolating cytotoxin*)

VacA es un importante factor de virulencia, con múltiples acciones en las células diana, incluyendo la inducción de la formación de vacuolas, la disfunción mitocondrial que conduce a la apoptosis, la modulación de las señales de transducción asociadas con la autofagia, la inhibición de la proliferación de células T y la producción de citoquinas inflamatorias (22). La variabilidad alélica de las cuatro regiones del gen vacA está relacionada con la unión a determinados tipos celulares (23). Sin embargo, la asociación entre VacA y las complicaciones clínicas de la infección es controvertida (24). VacA se une a receptores como el receptor de la tirosin fosfatasa (RPTP $\alpha$  y RPTP $\beta$ ), *low-density lipoprotein receptor related protein-1* (LRP1), fibronectina, CD18 y la esfingomielina para facilitar su acción (25), lo que sugiere la participación de estos receptores en la patogénesis de la infección por *H. pylori*.

### 3.2.2. Cag A (*cytotoxin-associated gene A*)

Los individuos infectados por cepas de *H. pylori* que poseen el CagA tienen mayor riesgo de úlcera péptica, linfoma MALT gástrico y adenocarcinoma que los pacientes infectados por cepas de *H. pylori* que no presentan este gen (26-29).

La infección crónica por cepas de *H. pylori* CagA positivas es el factor de riesgo más importante para desarrollar cáncer gástrico. CagA es una proteína de 120-145 kDa codificada por el gen CagA. *H. pylori* CagA positivo inyecta la proteína CagA en las células epiteliales gástricas a través de una estructura de inyección supramolecular. Este sistema de secreción tipo 4 (T4SS) es un ensamblaje formado por múltiples proteínas Cag, entre ellas CagA. La penetración intracelular de la proteína en la célula gástrica huésped estimula la producción de citoquinas e interleuquinas proinflamatorias, como IL-1 e IL-8 (30, 31), pero también actúa como un carcinogénico, activando oncogenes e inactivando genes supresores de tumor (32-34).

## 3.3. Otros factores

### 3.3.1. Lipopolisacárido (LPS)

El LPS de *H. pylori* es una molécula de unión que contribuye a evitar una respuesta inmune eficaz por parte del huésped. Al inducir una baja respuesta inmunológica, la infección por *H. pylori* puede persistir más tiempo que aquellas bacterias que son más agresivas, convirtiéndose en una infección crónica (35, 36).

## 4. Epidemiología

*H. pylori* es la infección crónica más prevalente del mundo, ya que afecta a >50% de la población. En la Figura 1 se puede ver una estimación de la prevalencia de la infección. Esta prevalencia varía en gran medida entre países. En términos generales, la infección es más prevalente en países con un nivel socioeconómico

bajo, como África y la India en que supera al 75%, y más baja en países más desarrollados como los países nórdicos, en que apenas llega al 25% (37). En España, se estima que cerca del 50% de la población está infectada.

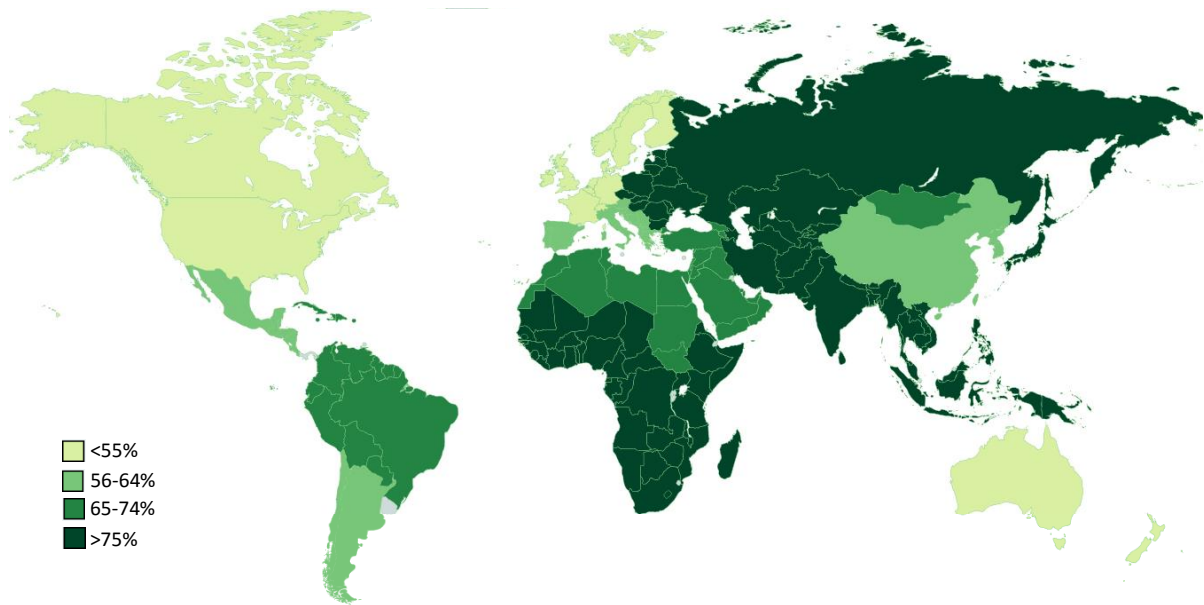


Figura 1. Estimación de la prevalencia de *H. pylori* en el mundo. Modificado de Parkin et al. (38)

Aunque no se conoce con certeza la vía de transmisión, se sugiere que hay una vía directa (oral-oral, gástrica-oral, fecal-oral) y una indirecta (alimentos, bebidas, animales...). En el núcleo familiar, en la infancia (39), probablemente a través de la madre (40), es donde principalmente se ha sugerido que podría transmitirse la infección en países desarrollados. También se ha sugerido una vía de transmisión fecal-oral a través aguas contaminadas. El papel de los animales es controvertido (41, 42).

## 5. Clínica

La infección aguda por *H. pylori* puede producir una sintomatología variable (dispepsia intensa, náuseas, vómitos) o ser asintomática (43). La infección crónica a menudo es asintomática, ya que aproximadamente el 50% de la población está

infectada y la mayoría no presentan síntomas. Cuando la infección por *H. pylori* causa síntomas o enfermedades los más frecuentes son la dispepsia, la úlcera péptica y el cáncer gástrico. Se han publicado numerosos artículos que revisan las manifestaciones clínicas de *H. pylori* (44-48). A continuación se expone un resumen actualizado.

## 5.1. Dispepsia

La dispepsia se define como la presencia de uno o más de los siguientes síntomas: plenitud postprandial, saciedad precoz, dolor epigástrico o ardor epigástrico (49). Cerca del 10-30% de la población presenta dispepsia (50). La dispepsia puede ser secundaria a un trastorno orgánico o funcional. En el caso de que los síntomas remitan tras el diagnóstico y tratamiento de la infección de *H. pylori* se considera que la dispepsia era secundaria a la infección. Si los síntomas persisten tras la erradicación de la infección, se considera una dispepsia funcional. Una revisión Cochrane de ensayos clínicos que comparaban la eficacia del tratamiento erradicador para tratar la dispepsia demostró una disminución del riesgo relativo del 10% con un número necesario de pacientes a tratar de 14 (51).

Ante la presencia de dispepsia, caben 3 estrategias posibles: endoscopia digestiva alta, investigar *H. pylori* mediante métodos no invasivos y tratarlo (estrategia “test and treat”) o tratamiento con inhibidores de la bomba de protones (52). En pacientes jóvenes sin síntomas ni signos de alarma (pérdida de peso, vómitos intensos o recurrentes, disfagia, odinofagia, hemorragia digestiva, masa abdominal palpable, ictericia o adenopatías), se recomienda la estrategia “test and treat”. Si hay signos o síntomas de alarma debe realizarse una endoscopia digestiva alta para descartar cáncer gástrico (44). El tratamiento con inhibidores de la bomba de protones quedaría para aquellos pacientes en los han fracasado las estrategias previas.



La dispepsia funcional, aquella que ha sido investigada y no se ha encontrado ninguna causa que justifique la sintomatología, tiene una fisiopatología compleja en la que participan en distinto grado el sistema nervioso central, una hipersensibilidad visceral, una disminución de la distensibilidad gástrica, retraso en el vaciamiento, etc. El tratamiento es difícil y varía según la clínica predominante (49).

## 5.2. Úlcera péptica

La infección crónica por *H. pylori* puede presentar gastritis predominantemente corporal, hipoclorhidria, gastritis crónica atrófica, úlcera gástrica y aumento del riesgo de cáncer gástrico. En cambio, otros pacientes pueden desarrollar gastritis predominantemente antral, hiperclorhidria y aumento del riesgo de úlcera duodenal (53, 54). *H. pylori* está implicado en más del 90% de las úlceras duodenales y en el 70% de las úlceras gástricas (55, 56). El tratamiento erradicador ha demostrado ser eficaz en la curación de las úlceras gastroduodenales (57) y en disminuir su recidiva hemorrágica (58), pero también en complicaciones asociadas como la estenosis pilórica (59) o la perforación (60).

## 5.3. Adenocarcinoma gástrico

El cáncer gástrico es una de las mayores causas de morbi-mortalidad en el mundo. Se estima que se diagnostican alrededor de un millón de nuevos casos al año siendo el quinto cáncer más frecuente después del de pulmón, mama, colon y próstata (61).

*H. pylori* es un carcinogénico tipo I. Es considerado el carcinogénico infeccioso más prevalente por delante del virus del papiloma humano, virus de la hepatitis B y C, virus Epstein-Barr o VIH. La relación de la infección de *H. pylori* con la progresión a gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal, displasia y carcinoma es conocida desde hace años (62).

Entre un 1% y 3% de los pacientes infectados por *H. pylori* desarrollan un carcinoma gástrico (63); sin embargo, la infección está presente en el 80-90% de los cánceres gástricos (excluyendo los de cardias) (13). La erradicación de *H. pylori* disminuye la incidencia de cáncer gástrico (64) y en los pacientes en los que se reseca un carcinoma o una lesión premaligna, disminuye el riesgo de recurrencia (65, 66). El cribado y erradicación de la infección es coste-efectivo en áreas con alta prevalencia de cáncer gástrico. Sin embargo, en España, donde hay una baja prevalencia de cáncer gástrico, no se recomienda un cribado poblacional si no sólo investigar y tratar si hay antecedentes familiares de cáncer gástrico (44).

#### 5.4. Linfoma MALT gástrico de bajo grado

El linfoma MALT gástrico (*mucosal-associated lymphoid tissue*) representa menos de un 10% de todos los linfomas y un 3% de los cánceres gástricos (67). *H. pylori* está presente en >90% de los linfomas gástricos MALT de bajo grado y actuaría como un estimulador y carcinogénico del sistema linfoide (68). El tratamiento y la erradicación de *H. pylori* conlleva una remisión completa en el 60-90% de los casos aunque en algunos casos el linfoma puede tardar hasta un año en remitir totalmente (69).

#### 5.5. Reflujo gastroesofágico

La relación entre *H. pylori* y el reflujo gastroesofágico (RGE) es controvertida y ha sido ampliamente debatida en los últimos años. Estudios epidemiológicos sugerían una relación inversa entre la prevalencia de *H. pylori* y la severidad de los síntomas por RGE (70). Asimismo, la incidencia de esófago de Barrett y adenocarcinoma esofágico es mayor en los pacientes *H. pylori* negativos, lo que sugiere un papel protector de la infección frente a estas entidades (71). Sin embargo, otros estudios han mostrado que la presencia o ausencia de la infección por *H. pylori* no tiene efecto sobre la severidad o la recurrencia de los síntomas del RGE, así como tampoco

en la eficacia del tratamiento antisecretor. Es decir, la erradicación de *H. pylori* no exacerba la sintomatología preexistente (72) ni afecta la eficacia del tratamiento del RGE (73). El consenso de Maastricht IV recomienda que la presencia de síntomas de RGE en pacientes con *H. pylori* no debería disuadir de tratar la infección (52).

## 5.6. Enfermedades extradigestivas

### 5.6.1. Anemia ferropénica

Aunque no se conoce con certeza el mecanismo por el cual la infección por *H. pylori* podría contribuir al desarrollo de anemia ferropénica, diversos meta-análisis han demostrado una clara relación. En el primero de todos se observó una relación entre la infección y la anemia (74), posteriormente se demostró que la hemoglobina y la sideremia aumentaban tras el tratamiento erradicador (75), y por último un meta-análisis con 16 ensayos clínicos confirmó que el tratamiento combinado (erradicador y hierro) era superior a la ferroterapia aislada (76).

### 5.6.2. Déficit de vitamina B12

Aunque no está suficientemente aclarado, se ha sugerido que la infección por *H. pylori* podría contribuir a la malabsorción de micronutrientes (77). Un meta-análisis con 2400 pacientes encontró una diferencia significativa en los niveles de vitamina B12 de los pacientes infectados frente a los no infectados (78). Un subanálisis incluyendo 5 estudios demostró que la curación de la infección mejoraba los niveles de cobalamina. La infección por *H. pylori* no es la causa más frecuente ni de malabsorción ni de déficit de vitamina B12 y su fisiopatología no es bien conocida. Sin embargo, teniendo en cuenta que > 50% de los déficits de cobalamina son idiopáticos (79), en ausencia de otra causa que lo justifique, se recomienda tratar la infección en estos pacientes.

### 5.6.3. Púrpura trombocitopénica idiopática

Tanto la fisiopatología de la púrpura trombocitopénica idiopática como el lugar que ocupa la infección por *H. pylori* en el desarrollo de esta enfermedad son desconocidos. Sin embargo, una revisión sistemática y meta-análisis incluyendo 25 estudios y 700 pacientes demostró un aumento significativo de las plaquetas con el tratamiento erradicador en el 50% de los pacientes (80).

## 6. Diagnóstico

Los métodos diagnósticos para *H. pylori* se pueden clasificar en invasivos (que requieren de una endoscopia digestiva alta con biopsias) y no invasivos. En general, en pacientes jóvenes con dispepsia y sin síntomas de alarma se tiende a adoptar la estrategia “test and treat” utilizando métodos no invasivos, mientras que cuando se trata de pacientes mayores de 45 años, hay síntomas de alarma, no responden al tratamiento o se quiere realizar un cultivo, se opta por realizar una endoscopia digestiva alta (52).

### 6.1. Métodos no invasivos

#### 6.1.1. Test del aliento de la <sup>13</sup>C-urea

El test se basa en ingerir un líquido que contiene urea marcada con <sup>13</sup>Carbono. Si está presente *H. pylori* en la mucosa gástrica, hidrolizará la urea convirtiéndola en amonio y <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> marcado, que pasará a la circulación sistémica eliminándose por vía respiratoria. Midiendo el <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> exhalado antes y 15-30 minutos después de la ingesta de urea marcada se puede determinar si existe un incremento debido a la actividad de la ureasa de *H. pylori*. La sensibilidad y especificidad de esta prueba son superiores al 95% (81). Es un test sencillo, rápido, fácilmente disponible y cuya validez diagnóstica ha sido ampliamente reproducida (52).

### 6.1.2.- Antígeno en heces

La detección de antígenos de *H. pylori* es un método barato y sencillo aunque los pacientes pueden ser más reacios a recoger la muestra. Los métodos de detección incluyen inmunoanálisis (82) e inmunocromatografía (83). Sin embargo la sensibilidad de los tests basados en la inmunocromatografía es menor que los basados en técnicas ELISA (84). Además, los kits de detección de antígeno monoclonal en heces son más precisos que los policlonales (85). La sensibilidad y especificidad está entre el 90% y el 95%. La sensibilidad puede verse disminuida en los pacientes con diarrea, donde la muestra está más diluida, por disminución de la concentración de *H. pylori*.

El IV consenso internacional de Maastricht acepta para el diagnóstico no invasivo tanto el test de aliento como la detección de antígeno monoclonal en heces (52).

### 6.1.3. Serología

La detección de anticuerpos IgG frente a *H. pylori* es barata y ampliamente disponible. Sin embargo, su sensibilidad está en torno al 75-85% y su especificidad entre el 80 y 90% (86). Al detectarse IgG, claramente no es útil para comprobar la curación de la infección, dado que los anticuerpos persisten tras la curación. Aparte de utilizarse en estudios epidemiológicos puede ser útil en aquellos pacientes en tratamiento con IBP, antibióticos o situaciones con baja concentración de colonización por *H. pylori* (linfoma MALT gástrico, gastritis crónica atrófica con metaplasia intestinal extensa) donde el resto de test presentan una tasa muy alta de resultados falsos negativos.

## 6.2. Métodos invasivos

### 6.2.1. Histología

Mediante una endoscopia digestiva alta se toman muestras, rutinariamente y, en general, sólo del antro. Sin embargo, especialmente si el paciente ha recibido previamente inhibidores de la bomba de protones, la toma adicional de biopsias corporales aumenta la rentabilidad diagnóstica. Este método permite no sólo evaluar la presencia de *H. pylori* si no también los cambios de la mucosa gástrica asociados a la infección (atrofia, metaplasia y displasia).

Las biopsias se evalúan inicialmente con hematoxilina y eosina, pero la especificidad aumenta cuando se evalúa con la tinción de Giemsa, Genta o la tinción de plata de Warthin-Starry. La sensibilidad está en torno al 60-86% y su especificidad es superior al 98% (86). Sin embargo es un método de diagnóstico caro en el que requiere tiempo y profesionales debidamente cualificados.

### 6.2.2. Test rápido de la ureasa

El test rápido de la ureasa también está basado en la actividad ureasa de *H. pylori*. La muestra de mucosa antral se coloca en un sustrato rico en urea. Si *H. pylori* está presente hidrolizará la urea en amonio y CO<sub>2</sub> y el indicador colorimétrico de pH hará que el sustrato vire de color. La sensibilidad está en torno al 80-100% y la especificidad entre el 97-99% (87).

### 6.2.3. Cultivo

El consenso de Maastricht IV recomienda la realización de cultivo y pruebas de susceptibilidad bacteriana cuando (48): a) en primera línea se pretende dar un tratamiento triple con claritromicina en poblaciones con alta prevalencia de resistencias a este antibiótico; b) en segunda línea de tratamiento se ha de realizar

una endoscopia digestiva alta por otro motivo; c) en tercera línea de tratamiento. Sin embargo, la evidencia es de nivel 5 y el grado de recomendación es D.

El cultivo tiene una especificidad cercana al 100% pero una sensibilidad baja. La recogida de la muestra, el transporte, el almacenamiento, el medio de cultivo y las condiciones de incubación (porcentaje de dióxido de carbono y humedad, principalmente) deben seguir un protocolo adecuado para conseguir el crecimiento de *H. pylori*. La gran ventaja de este método diagnóstico es que permite determinar la susceptibilidad a los diferentes antibióticos y así dirigir el tratamiento de una forma individualizada.

Para la toma de muestras se recomienda el protocolo de Sydney (2 muestras de antro 2 de cuerpo y 1 de la incisura) (88). Como en el resto de pruebas diagnósticas (excepto la serología), el paciente debe haber estado al menos 2 semanas sin tomar IBP y 4 semanas sin tomar antibióticos. Las muestras se pueden transportar en fresco si el procesamiento va a ser inmediato o en suero salino si va a ser en las próximas horas. *H. pylori* es una bacteria lábil por lo que si la siembra va a ser posterior a las 6 horas se recomienda un medio de transporte semisólido. Un estudio incluyendo 26 hospitales mostró que en las muestras que tardaron 48 horas en procesarse la tasa de crecimiento del cultivo descendía al 26% frente a las muestras que tardaban 24h y 5h, que era del 33% y 30% ( $p < 0,001$ ) (89). El estudio mostró diferencias significativas en la temperatura, recomendando un transporte por debajo de 24°C en general, preferentemente entre 4 y 10°C.

El procesamiento de la muestra en el laboratorio incluye su homogeneización mediante un mortero de cristal o un triturador eléctrico. Se puede cultivar en medios líquidos -como caldo de Brucella, Mueller-Hinton o infusión cerebro corazón, suplementado con suero bovino fetal- o en medios sólidos -como Mueller-Hinton y agar Columbia, suplementado con sangre al 7-10%. Para evitar el sobrecrecimiento de contaminantes se utilizan antibióticos para los que *H. pylori* se

ha mostrado resistente *in vitro* como son la vancomicina, sulfametoxazol, trimetoprim y polimixina B. Los cultivos son incubados en un ambiente microaeróbico (80%-90% N<sub>2</sub>, 5%-10% CO<sub>2</sub>, 5%-10% O<sub>2</sub>) a 35-37°C durante 5-7 días y una humedad del 95%. La identificación de *H. pylori* se realiza mediante el examen en fresco con un microscopio de contraste de fases para ver la morfología o bien mediante una tinción de Gram. Las pruebas de catalasa, ureasa y oxidasa confirman el diagnóstico.

Diferentes métodos se han utilizado para testar la susceptibilidad bacteriana. En EE.UU., el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) sólo recomienda la dilución en agar (90), ya que los estudio iniciales lo consideraron como el *gold standard* (91, 92). Sin embargo, es un método difícil de llevar a cabo y poco realista en la práctica clínica habitual. La *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) recomienda el uso de E-test (93). Por último la difusión con discos no se recomendó inicialmente por falta de estudio que correlacionaran la concentración mínima inhibitoria y los diámetros de inhibición. Un estudio del 2006 mostró una buen grado de concordancia entre E-test y la difusión con discos (94). Por el contrario, un estudio reciente que compara las tres técnicas halló una buena correlación entre la dilución en agar y E-test, no así con la difusión en discos (95).

#### 6.2.4. Técnicas moleculares

La resistencia a la claritromicina se produce por una mutación en 23S RNA. Se puede detectar mutaciones en esta región mediante PCR, técnicas de secuenciación y otras técnicas de detección genética. La detección de mutaciones en esta región tiene muy buena correlación con la resistencia a la claritromicina (96, 97). Sin embargo, la mutación genética que determina la resistencia a metronidazol y otros antibióticos no está bien determinada.



## 7. Tratamiento

### 7.1. Indicaciones

Las manifestaciones clínicas de *H. pylori* y la eficacia del tratamiento erradicador para curarlas o prevenirlas ha sido expuestas en la sección correspondiente. De acuerdo con esta evidencia científica, se recomienda tratar la infección en las siguientes situaciones (44):

- Úlcera péptica
- Dispepsia no investigada < 55 años y sin síntomas/signos de alarma (estrategia test and treat)
- Dispepsia funcional
- Antecedentes de úlcera que van a requerir tratamiento con AINE o AAS de manera continuada
- Linfoma MALT gástrico de bajo grado
- Resección quirúrgica o endoscópica de un cáncer gástrico
- Familiares de primer grado de pacientes con cáncer gástrico
- Atrofia mucosa gástrica o metaplasia intestinal
- Anemia ferropénica de causa no aclarada
- Púrpura trombocitopénica idiopática
- Déficit de vitamina B12 no explicable por otras causas
- A todo paciente diagnosticado de infección por *H. pylori* se recomienda ofrecer tratamiento erradicador

### 7.2. Generalidades del tratamiento

La eficacia del tratamiento depende en gran parte de las resistencias a los antibióticos, de la dosis, posología y duración de los fármacos (52). Como norma general se intenta evitar un nuevo tratamiento que incluya claritromicina o

quinolonas si previamente estos antibióticos han fracasado, debido a la alta probabilidad de resistencias primarias o secundarias en estos pacientes (98). Se ha sugerido que la disminución de la eficacia del tratamiento con metronidazol en cepas de *H. pylori* resistentes a este antibiótico podrían superarse prolongando el antibiótico y aumentando su dosis (99, 100). Las resistencias a amoxicilina, tetraciclina y bismuto son excepcionales o clínicamente poco relevantes y no habría inconveniente en repetir el mismo antibiótico tras un fracaso previo (101-103). También se ha demostrado que los tratamientos que prolongan la duración 10-14 días y la inhibición ácida potente consigue mayores tasas de erradicación (52, 104, 105).

Recientemente se ha publicado el “IV Conferencia Española de Consenso sobre el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*” (106) donde se resume la evidencia disponible y se proporcionan unas recomendaciones consensuadas entre expertos. En este consenso se consideró tratamiento erradicador efectivo aquel cuya tasa de curación era cercana o superior al 90%. También se tuvo especialmente en cuenta la duración, dosis y posología óptimos de los antibióticos e IBP. Estas pautas de tratamiento se resumen en la Tabla 1.

El consenso español, basándose en parte en la evidencia que aportan los artículos incluidos en la presente tesis, no recomienda el tratamiento guiado por cultivo (TGC) por falta de evidencia de superioridad frente a los actuales tratamientos empíricos. Por este motivo, esta sección de la introducción se limitará a mostrar la eficacia del tratamiento empírico y se deja para los resultados de la tesis la evidencia disponible del TGC.

Tabla 1. Fármacos, dosis y duración de los tratamientos erradicadores para la infección de *Helicobacter pylori*. Modificado de Gisbert et al.(106)

Tratamiento	Fármacos	Posología	Duración (días)
<b>Terapia cuádruple sin bismuto (concomitante)</b>	IBP	Dosis estándar/12 h	14
	Amoxicilina	1 g/12 h	
	Claritromicina	500 mg/12 h	
	Metronidazol	500 mg/12h	
<b>Terapia cuádruple con bismuto (Pylera®)</b>	IBP	Dosis estándar/12 h	10
	Pylera®	3 cápsulas/6 h	
<b>Terapia cuádruple con bismuto clásica</b>	IBP	Dosis estándar/12 h	10-14
	Subcitrato de bismuto	120 mg/6h o 240mg/12 h	
	Doxiciclina	100 mg/12 h	
	Metronidazol	500 mg/8 h	
<b>Terapia cuádruple con levofloxacino y bismuto</b>	IBP	Dosis estándar/12 h	14
	Amoxicilina	1 g/12 h	
	Levofloxacino	500 mg/24 h	
	Subcitrato de bismuto	240 mg/12 h	
<b>Terapia triple con levofloxacino</b>	IBP	Dosis estándar/12 h	14
	Amoxicilina	1 g/12 h	
	Levofloxacino	500 mg/24 h	
<b>Terapia triple con rifabutina</b>	IBP	Dosis estándar/12 h	10
	Amoxicilina	1 g/12 h	
	Rifabutina	150 mg/12 h	

En la Figura 2 se muestra el algoritmo de tratamiento propuesto por el consenso. Teniendo en cuenta que la conferencia de consenso ofrece una evidencia muy actualizada, en esta sección se resumen sus recomendaciones.

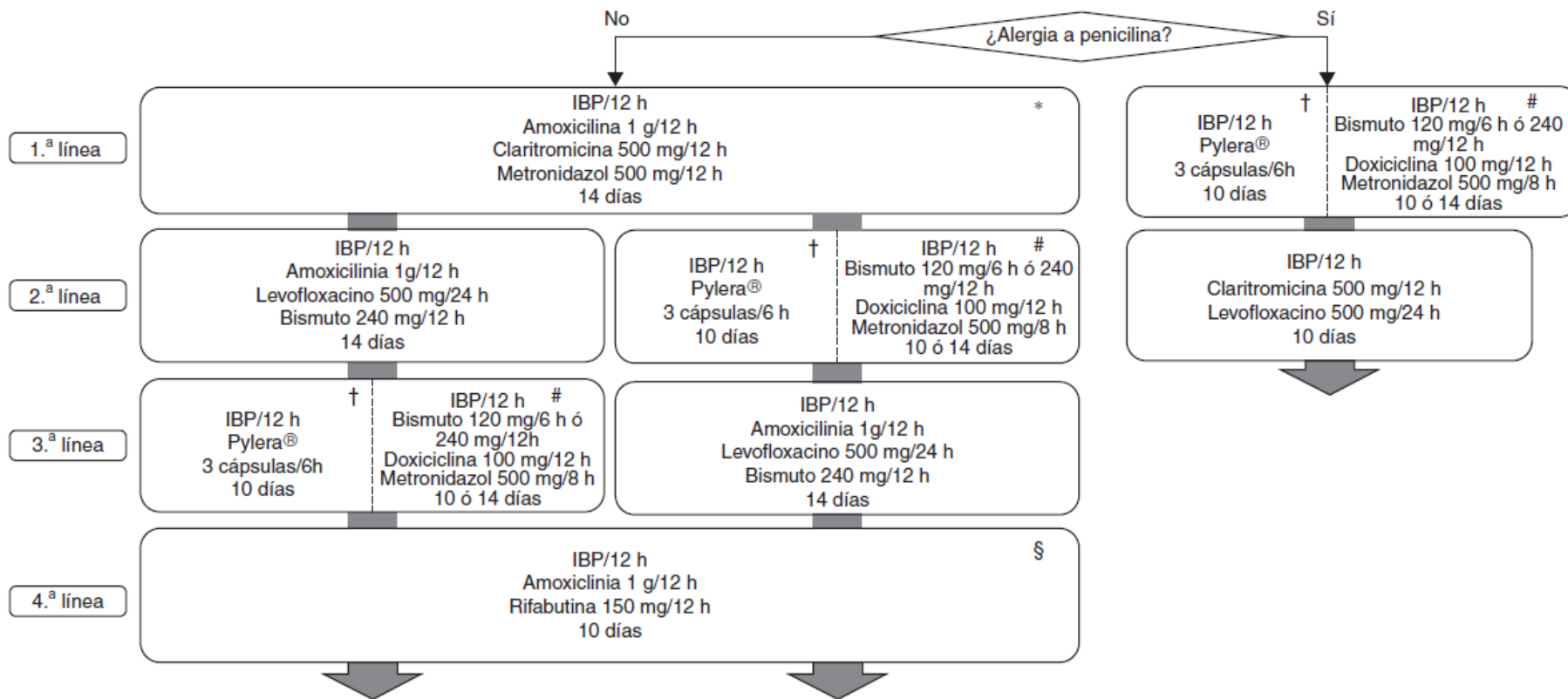


Figura 2. Algoritmo para el tratamiento inicial y de rescate de la infección por *Helicobacter pylori* propuesto por la “IV Conferencia Española de Consenso sobre el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*” (106). Publicado con permiso del editor. Copyright © 2016 Elsevier España, S.L.U., AEEH y AEG. Todos los derechos reservados.

\* La terapia cuádruple con bismuto (IBP, bismuto, tetraciclina y metronidazol) podría ser una alternativa como tratamiento erradicador de primera línea, una vez que su eficacia sea confirmada en nuestro medio. † Existe una nueva formulación con todos los antibióticos incluidos en una única cápsula. # La tetraciclina clorhidrato/hidrócloruro por separado no está comercializada en España; se puede emplear en su lugar doxiciclina (100 mg/12 h), aunque la experiencia es mucho más limitada y existen dudas sobre su equivalencia terapéutica. § Se sugiere reevaluar cuidadosamente la necesidad de erradicar la infección

## 7.3. Tratamiento de primera línea

### 7.3.1. Tratamiento triple clásico

No se recomienda el tratamiento triple clásico con amoxicilina, claritromicina e IBP si la tasa de resistencias a claritromicina es >15% (52) ya que la eficacia entonces es inaceptablemente baja (98). Un estudio andaluz ha mostrado recientemente que la tasa de resistencias a claritromicina era del 18% (107) y una revisión del año 2013 mostró que la eficacia media de este tratamiento en España era del 70% (108). Un estudio posterior alcanzó una tasa de curación del 81% prolongando el tratamiento 14 días con dosis altas de IBP, cifra todavía subóptima (109).

### 7.3.2. Tratamiento cuádruple sin bismuto (IBP, claritromicina, amoxicilina y metronidazol)

El tratamiento cuádruple sin bismuto concomitante es el recomendado actualmente en primera línea de tratamiento (ver posología en la Tabla 1). La eficacia del tratamiento de las terapias cuádruples depende principalmente de las resistencias a claritromicina y metronidazol (98). Varios estudios llevados a cabo en España mostraron una eficacia por ITT de la terapia cuádruple concomitante en torno al 90% (109-113). En estos estudios la eficacia era superior al 90% cuando se administraba durante 14 días. Un meta-análisis también ha demostrado que la eficacia del tratamiento depende de la duración del mismo (114). Por estos motivos se recomienda que la duración del tratamiento sea de 14 días.

El tratamiento cuádruple secuencial consiste en administrar amoxicilina los 5 primeros días y claritromicina y metronidazol los siguientes 5 días, asociado a un IBP los 10 días de tratamiento. A pesar de que los resultados iniciales eran prometedores, varios estudios mostraron una eficacia inferior a la deseada (113, 115), un reciente meta-análisis demuestra que su eficacia no es superior al

tratamiento triple clásico (116) y varios trabajos también muestran que su eficacia es inferior al tratamiento cuádruple concomitante (117, 118). Por estos motivos se desaconseja su empleo.

El tratamiento híbrido está ideado para disminuir la toma de antibióticos en los primeros días con la intención de mejorar la tolerancia y el cumplimiento. Los dos estudios españoles que han evaluado su eficacia mostraban una tasa de erradicación del 90% (110, 112). Sin embargo, otros estudios en Italia y en Corea obtenían unos resultados subóptimos (119, 120). En espera de que se acumule una mayor evidencia sobre su eficacia, por el momento se recomienda su uso como alternativa al tratamiento concomitante.

### 7.3.3. Tratamiento cuádruple con bismuto (IBP, bismuto, tetraciclina y metronidazol)

El consenso español también recomienda la terapia cuádruple con bismuto como una alternativa de tratamiento erradicador en primera línea, una vez que su eficacia sea confirmada en nuestro medio. Este tratamiento tiene como ventaja que la resistencia de *H. pylori* a las tetraciclinas y al bismuto son prácticamente inexistentes y la resistencia a metronidazol podría superarse prolongado y aumentando las dosis del fármaco (121). De acuerdo con los resultados de dos ensayos clínicos y un estudio piloto, su eficacia por ITT está en torno al 85%, pero PP está en torno al 95% (122-124). El motivo es la disminución del cumplimiento por frecuentes efectos secundarios (47-74%). La evidencia de su eficacia en España es limitada debido principalmente a que no se comercializa la tetraciclina. En un futuro será necesario evaluar la eficacia en nuestro medio de la nueva comercialización de metronidazol, bismuto y tetraciclina en una sola cápsula (Pylera®), así como su duración óptima (10-14 días).

#### 7.3.4. Tratamiento de primera línea en alérgicos a la penicilina

En pacientes alérgicos a la penicilina se recomienda el tratamiento cuádruple con bismuto 10-14 días. Los estudios iniciales en estos pacientes empleando terapias triples con metronidazol y claritromicina obtuvieron unos resultados decepcionantes (125, 126). Sin embargo, los estudios con terapia triple con tetraciclina y metronidazol obtuvieron tasas de erradicación del 80-85% (127, 128). Estos resultados podrían mejorarse si se añadiera bismuto ya que minimizaría la reducción de la eficacia debido a las resistencias a metronidazol (129).

#### 7.4. Tratamiento de segunda línea

##### 7.4.1. Tratamiento tras el fracaso de la terapia triple

Como se ha mencionado previamente actualmente se desaconseja el tratamiento de primera línea con IBP, amoxicilina y claritromicina. Sin embargo, en aquellos pacientes que por cualquier motivo lo hayan recibido y requieran un tratamiento de rescate, se desaconseja el empleo de una segunda terapia que incluya claritromicina, ya que su eficacia es <50% (130), probablemente por la presencia de resistencias primaria o secundaria desarrollada tras el primer tratamiento.

Varios estudios han mostrado que la pauta triple con IBP, amoxicilina y levofloxacino era eficaz como tratamiento de rescate tras el fracaso de una primera pauta que incluya claritromicina. Sin embargo, un meta-análisis incluyendo 13 estudios (1.709 pacientes) que comparaba dicha pauta con el tratamiento cuádruple con bismuto encontró tan sólo una tendencia no significativa a favor del tratamiento triple con levofloxacino (79% vs. 70%; OR = 1,43; IC 95% 0,88-2,31), además de un número significativamente menor de efectos adversos con la terapia triple (130). Sin embargo, la diferencia sí que era significativa en el subanálisis con 10 días de tratamiento (89% vs. 66%; OR = 4,22; IC 95% 2,84-6,26). Con la intención de mejorar la eficacia de este tratamiento, un reciente estudio español incluyó 200 pacientes

tras el fracaso de un primer tratamiento basado en claritromicina y evaluó la eficacia de un tratamiento cuádruple con esomeprazol, amoxicilina, levofloxacino y bismuto durante 14 días. Dicha pauta alcanzó una eficacia del 91% (131). Son necesarios más estudios que confirmen la alta eficacia de este tratamiento de rescate.

Por último, el tratamiento de rescate con la terapia cuádruple con bismuto en una sola cápsula (Pylera®) consiguió unas tasas de erradicación del 93 y 95% por ITT y PP en un pequeño estudio con 49 pacientes, lo que también sugiere que es una buena alternativa en segunda línea de tratamiento (132).

#### 7.4.2. Tratamiento tras el fracaso de la terapia cuádruple sin bismuto

El consenso español contiene una revisión sistemática y meta-análisis de los estudios que evalúan tratamientos de rescate tras el fracaso de la terapia cuádruple sin bismuto (concomitante, secuencial o híbrido) (106). La mayoría de los estudios evaluaban un tratamiento con IBP, amoxicilina y levofloxacino y obtuvieron una tasa de erradicación en estas condiciones en torno al 80%. El tratamiento cuádruple con IBP, amoxicilina, levofloxacino y bismuto se ha mostrado eficaz no sólo tras el fracaso del tratamiento triple clásico, si no también como rescate tras las terapias cuádruples sin bismuto, obteniendo tasas de erradicación en torno al 90% (131). Por este motivo, tras el fracaso de la terapia cuádruple sin bismuto, se recomienda el tratamiento cuádruple con IBP, amoxicilina, levofloxacino y bismuto.

Debido a la relativa novedad de los tratamientos cuádruples sin bismuto y a su alta eficacia, hay muy poca evidencia de los tratamientos de rescate más adecuados. Dos estudios con un total de 15 pacientes mostraron una eficacia del 100% y 71% con tratamientos de rescate con terapia cuádruple con bismuto (133, 134). Aunque pueda ser una buena alternativa, son necesarios más estudios antes de recomendar ampliamente su uso.



#### 7.4.3. Tratamiento tras el fracaso de la terapia cuádruple con bismuto

A pesar de la escasa evidencia del adecuado tratamiento en esta situación, tanto el consenso europeo como el español, más reciente, recomiendan un tratamiento con IBP, amoxicilina y levofloxacino con o sin bismuto.

Un único estudio coreano evaluó el tratamiento triple con levofloxacino en esta situación en 28 pacientes, y la tasa de erradicación fue del 67% (135). En otro contexto, tras el fracaso de dos tratamientos previos siendo uno de ellos la cuádruple con bismuto, la eficacia de la terapia triple con levofloxacino está en torno al 60-85% (136-140). Igual que se ha comentado anteriormente, la eficacia podría ser mayor si se añade bismuto al tratamiento con levofloxacino, amoxicilina e IBP (131).

El tratamiento cuádruple sin bismuto tras un tratamiento cuádruple con bismuto no ha sido evaluado específicamente. Sin embargo, si se ha dado un tratamiento cuádruple con bismuto es porque se trata de una área con alta prevalencia de resistencias a claritromicina. En esta situación, parece razonable que en vez de dar en segunda línea de tratamiento una terapia que incluye claritromicina se opte por el tratamiento con levofloxacino, amoxicilina e IBP, que sí se ha demostrado eficaz en áreas con alta prevalencia a resistencias a la claritromicina.

#### 7.4.4. Tratamiento de rescate en pacientes alérgicos a la penicilina

Esta situación representa un reto, al tener limitado el uso de betalactámicos y haber fracasado ya a un primer tratamiento. La mayoría de los estudios incluyen muy pocos pacientes (126, 141-145). El consenso español, con un grado de evidencia muy baja, sugiere un tratamiento cuádruple con bismuto tras el fracaso de un tratamiento triple con metronidazol, claritromicina e IBP. En el caso de fracasar una terapia cuádruple con bismuto recomienda un tratamiento con IBP, levofloxacino y claritromicina.

## 7.5. Tratamiento de tercera línea

### 7.5.1. Tratamiento tras un primer fracaso de terapia triple con claritromicina y una segunda línea con levofloxacino

Tras un primer intento de erradicación con un tratamiento que incluía claritromicina y un segundo fallo de tratamiento con la terapia triple con levofloxacino, el consenso recomienda una cuádruple con bismuto (IBP, bismuto, tetraciclina y metronidazol). La recomendación se basa en un estudio multicéntrico con 200 pacientes en los que había fracasado el tratamiento triple clásico y un segundo tratamiento triple con levofloxacino (146). La tasa de erradicación por ITT fue del 65%.

La línea de investigación que siguió a los resultados de la presente tesis trata esta situación. En una revisión sistemática y meta-análisis que realizamos evaluando la eficacia del tratamiento con IBP, amoxicilina y metronidazol en primera línea observamos que la eficacia era similar a la terapia triple clásica cuando se prolongaba el tratamiento a 14 días, aunque seguía siendo subóptima (147). Sin embargo, un subanálisis incluyendo sólo los estudios que utilizaban los antibióticos y el IBP a dosis altas durante 14 días mostraba una tasa de erradicación media del 90%. En el contexto de un primer fracaso de tratamiento con terapia triple con claritromicina y un segundo con levofloxacino, parecía razonable explorar un tercer tratamiento libre de claritromicina y levofloxacino. Teniendo en cuenta que las resistencias a amoxicilina son excepcionales (148), que las resistencias a metronidazol pueden ser superadas con dosis altas y prolongadas de antibiótico (99, 100) y que la eficacia de las terapias triples aumentan con IBP a dosis altas (104), planteamos un estudio piloto con esomeprazol 40 mg/12h, amoxicilina 1g/8h y metronidazol 500 mg/8h durante 14 días en pacientes con fracaso previo al tratamiento triple con claritromicina en primera línea y a IBP, amoxicilina y levofloxacino en segunda. La eficacia por ITT en los 68 pacientes incluidos fue del

64% (estudio no publicado remitido para evaluación). Aunque esta eficacia es similar a la cuádruple con bismuto, sigue siendo inferior a la deseada.

#### 7.5.2. Tratamiento tras el fracaso de un primer tratamiento con claritromicina y una segunda línea con cuádruple con bismuto

Con el fin de evitar repetir tratar con claritromicina y metronidazol a los pacientes en los que previamente han fracasado estos antibióticos, el consenso recomienda emplear la terapia triple con IBP, amoxicilina y levofloxacino. Aunque la evidencia no es muy amplia, 5 estudios evaluando la eficacia de este tratamiento en esta situación muestran un eficacia entre el 60% y el 86% (136-140).

#### 7.5.3. Tratamiento tras el fracaso de un primer tratamiento cuádruple con bismuto y una segunda línea con levofloxacino

No hay ningún estudio que haya evaluado esta situación. Sin embargo, parece recomendable utilizar un tratamiento cuádruple sin bismuto, ya que la claritromicina no se ha utilizado previamente. Sin embargo esta recomendación se basa en datos indirectos de su eficacia en otras situaciones y su grado de evidencia es muy baja.

### 7.6. Tratamiento tras tres fracasos previos

El consenso recomienda en esta situación valorar cuidadosamente la indicación del tratamiento y si es preciso intentar un cuarto tratamiento con IBP, amoxicilina y rifabutina. En la medida que el beneficio de la curación de la infección sea mayor (linfoma MALT gástrico, hemorragia digestiva grave por úlcera, etc.), habrá más motivo para intentar un cuarto tratamiento y asumir los potenciales efectos adversos que puede suponer.

La resistencia a la rifabutina evaluada en un meta-análisis con 3.000 pacientes es del 1,3% globalmente y de 0,6% en los pacientes que lo recibieron como primera línea

de tratamiento (149). El subanálisis sumando un total de 95 pacientes tratados en cuarta o quinta línea mostró una tasa de erradicación media del 79%. Un 22% del total de pacientes evaluados presentó efectos secundarios, siendo la mielotoxicidad el más relevante. Sin embargo, todos los pacientes normalizaron el mielograma después de acabar el tratamiento.

En nuestro medio, un estudio evaluando en 100 pacientes la eficacia de IBP, amoxicilina y rifabutina durante 10 días obtuvo una tasa de curación por ITT del 50% (150). Cuatro pacientes interrumpieron el tratamiento por efectos adversos. Cuatro pacientes también presentaron mielotoxicidad, si bien remitió una vez acabado el tratamiento.



## **OBJETIVOS**



Realizar una revisión sistemática y meta-análisis de los estudios que evalúen la eficacia del tratamiento guiado por cultivo en primera, segunda y tercera línea de tratamiento.





## ARTÍCULO 1

### **Systematic review and meta-analysis: susceptibility-guided versus empirical antibiotic treatment for *Helicobacter pylori* infection**

Sheila López-Góngora, Ignasi Puig, Xavier Calvet, Albert Villoria, Mireia Baylina, Neus Muñoz, Jordi Sánchez-Delgado, David Suárez, Víctor García-Hernando and Javier P. Gisbert

Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2015 Sep; 70(9): 2447-55











































## ARTÍCULO 2

**Systematic review: third-line susceptibility guided treatment for  
*Helicobacter pylori* infection**

Ignasi Puig, Sheila López-Góngora, Xavier Calvet, Albert Villoria, Mireia Baylina, Jordi Sánchez-Delgado, David Suárez, Victor García-Hernando and  
Javier P. Gisbert

Therapeutic Advances in Gastroenterology 2016; 9(4); 437–448







































## **DISCUSIÓN**





Los principales resultados de la investigación son que una vez se ha realizado una endoscopia digestiva alta, el TGC es más eficaz que el tratamiento triple 7-10 días en primera línea. En segunda línea de tratamiento no hay diferencias significativas entre el tratamiento empírico y el guiado por cultivo. En tercera línea de tratamiento no hay estudios que comparen el tratamiento empírico con el guiado por cultivo. La tasa media de erradicación por ITT basada en estudios observacionales no comparativos alcanza el 72% tras dos fracasos de tratamiento. Sin embargo, los estudios con tratamiento de rescate son pocos y heterogéneos, y no hay evidencia suficiente para extraer una conclusión firme.

Otro hallazgo importante es que la evidencia acerca del TGC es muy limitada. Tan sólo se encontraron 16 estudios que proporcionaran la tasa de erradicación en primera línea o como estrategia de tratamiento de rescate. Una cantidad de estudios muy pequeña si se tiene en cuenta que se han publicado cerca de 3.000 ensayos desde el descubrimiento de *H. pylori*. Además, la calidad de los estudios publicados no es muy buena y la interpretación visual del *funnel plot* advierte de un riesgo de sesgo de publicación.

Otra limitación importante es que la mayoría de los estudios aleatorizan a los pacientes a tratamiento empírico o guiado por cultivo una vez ya se ha realizado la endoscopia o incluso una vez ya se ha obtenido crecimiento de *H. pylori* en el cultivo. Sólo un estudio randomiza a los pacientes previamente a la endoscopia, pero tampoco podemos saber cuántos pacientes rechazaron participar en el estudio. Esto limita la evidencia de su aplicabilidad en la práctica clínica, ya que la mayoría son pacientes con dispepsia en los que se ha diagnosticado *H. pylori* con métodos no invasivos, y la aceptación de una prueba invasiva (endoscopia digestiva alta) puede disminuir la aceptabilidad. Además de ser una prueba más compleja y que requiere dedicación de tiempo por personal cualificado, no es un microorganismo fácil de cultivar, y con frecuencia el cultivo es negativo.

En la mayoría de los estudios el brazo comparativo es una terapia triple 7-10 días y la evidencia frente a las actuales terapias cuádruples recomendadas es prácticamente inexistente. Sólo un estudio compara en primera línea el TGC con un terapia cuádruple con bismuto (151) y encuentra diferencias significativas en favor del TGC. Hasta el momento de publicar los artículos incluidos en la tesis, ningún estudio comparaba el TGC con las actuales terapias cuádruples recomendadas. Sin embargo, recientemente (152) se ha publicado un estudio observacional prospectivo con 300 pacientes no tratados previamente. La tasa de erradicación del TGC no fue significativamente superior a la terapia cuádruple concomitante (94% vs. 87%,  $p = 0,08$ ). No obstante, estos estudios siguen teniendo las mismas limitaciones de aceptabilidad y aplicabilidad incierta, ya que sólo incluyen pacientes una vez se ha recibido el resultado del antibiograma. Recientemente también se ha publicado un ensayo clínico multicéntrico en China, donde evalúan la eficacia del TGC en primera línea frente al tratamiento cuádruple concomitante y el cuádruple con bismuto, amoxicilina, claritromicina e IBP (153). De los 3051 pacientes referidos al hospital por dispepsia, 251 rechazaron participar en el estudio. Tras excluir los pacientes *H. pylori* negativos, 1050 pacientes fueron aleatorizados a hacer una endoscopia digestiva alta y TGC, tratamiento empírico cuádruple concomitante o cuádruple con bismuto. En esta población con alta prevalencia de resistencias a claritromicina y metronidazol, los autores muestran que el TGC fue significativamente más eficaz que el tratamiento cuádruple concomitante y que el cuádruple con bismuto, amoxicilina, claritromicina e IBP (ITT: 89% vs. 78% vs. 77%,  $p < 0.001$ ). Sin embargo, en 32 de 350 pacientes (9.1%) el cultivo fue negativo y están excluidos del análisis por ITT. Asimismo los 251 pacientes (8,3% de los pacientes elegibles) que rechazaron entrar en el estudio tampoco están incluidos en el análisis. Si se tiene en cuenta este 17% de pérdidas, no es tan claro que la efectividad del TGC en la práctica habitual sea superior al tratamiento empírico.

La evidencia del TGC es aún más limitada en tratamientos de rescate. El meta-análisis con 4 ensayos clínicos comparando TGC frente a tratamiento empírico no encontró diferencias significativas. Sin embargo, los resultados no son concluyentes ya que la falta de significación se podría deber al reducido número de estudios y pacientes incluidos en el análisis. Además los tratamientos empíricos eran muy heterogéneos y el reducido número de estudios hace que no se puedan hacer subanálisis con brazos comparativos más homogéneos.

En cuanto a la tercera línea de tratamiento, no se encontró ningún ensayo clínico ni estudio observacional comparativo. En general, las tasas de curación en este contexto no fueron especialmente buenas. La tasa de curación media fue del 72% (IC 95%: 56%-87%), lo que no parece superior a las reportadas previamente con tratamiento empírico (ver sección correspondiente en la introducción). A falta de evidencia comparativa, tanto el tratamiento empírico como el guiado por cultivo parecen estrategias de tratamiento aceptables.

Los hallazgos ponen de relieve la necesidad de estudios bien diseñados evaluando la efectividad del TGC. Un estudio evaluando la efectividad del TGC en primera línea de tratamiento debería incluir pacientes con dispepsia no investigada y aleatorizarlos a una prueba no invasiva o endoscopia digestiva alta y cultivo, con tratamiento empírico o TGC en el caso de infección por *H. pylori*. En segunda y tercera línea de tratamiento los estudios deberían incluir pacientes con una prueba diagnóstica no invasiva positiva y aleatorizarlos a las dos estrategias explicadas previamente.



## **CONCLUSIONES**



La evidencia disponible sugiere que el TGC es más eficaz que el tratamiento triple durante 7-10 días en pacientes a los que se les ha realizado una endoscopia y cultivo.

No hay suficiente evidencia que demuestre que el TGC es superior a los tratamiento cuádruples recomendados actualmente en primera línea.

No hay suficiente evidencia para considerar el TGC superior al tratamiento empírico como rescate tras el fracaso de uno o varios intentos erradicadores.

Son necesarios estudios bien diseñados que evalúen la efectividad del TGC en la práctica clínica, teniendo en cuenta su aceptabilidad y aplicabilidad.





## **BIBLIOGRAFÍA**



1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-5.
2. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-5.
3. Rouvroy D, Bogaerts J, Nsengiumwa O et al. *Campylobacter pylori*, gastritis, and peptic ulcer disease in central Africa. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987; 295: 1174.
4. Pettross CW, Appleman MD, Cohen H et al. Prevalence of *Campylobacter pylori* and association with antral mucosal histology in subjects with and without upper gastrointestinal symptoms. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 649-53.
5. Bizzozero G. Ueber die schlauchförmigen Drüsen des Magendarmkanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel der Schleimhaut Dritte Mittheilung: Hierzu Tafel VII-X. *Archiv für mikroskopische Anatomie* 1893; 42: 82-152.
6. Kasai K KR. Stomach spirochetes occurring in mammals. *J Parasitol* 1919; 6: 1-11.
7. Freedberg A BL. The presence of spirochaetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis* 1940; 28: 639-46.
8. Takemoto T. Endoscopic diagnosis of chronic gastritis. *Diagn Treatment* 1966; 54: 274-85.
9. Warren JR. Gastric pathology associated with *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 705-51.
10. Figura N, Franceschi F, Santucci A et al. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2010; 15 Suppl 1: 60-8.

11. Goodwin CS AJ, Chilvers T, Peters M et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. Nov. and *Helicobacter mustelae* com. Noc., respectively. *Ins Syst Bacteriol* 1989; 39: 397.
12. Amieva MR, El-Omar EM. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2008; 134: 306-23.
13. Wen S, Moss SF. *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 282: 1-8.
14. Marshall BJ, Barrett LJ, Prakash C et al. Urea protects *Helicobacter (Campylobacter) pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology* 1990; 99: 697-702.
15. Rektorschek M, Buhmann A, Weeks D et al. Acid resistance of *Helicobacter pylori* depends on the Urel membrane protein and an inner membrane proton barrier. *Mol Microbiol* 2000; 36: 141-52.
16. Murakami M, Saita H, Teramura S et al. Gastric ammonia has a potent ulcerogenic action on the rat stomach. *Gastroenterology* 1993; 105: 1710-5.
17. Basu M, Czinn SJ, Blanchard TG. Absence of catalase reduces long-term survival of *Helicobacter pylori* in macrophage phagosomes. *Helicobacter* 2004; 9: 211-6.
18. Carlsohn E, Nystrom J, Bolin I et al. HpaA is essential for *Helicobacter pylori* colonization in mice. *Infect Immun* 2006; 74: 920-6.
19. Hage N, Howard T, Phillips C et al. Structural basis of Lewis(b) antigen binding by the *Helicobacter pylori* adhesin BabA. *Sci Adv* 2015; 1: e1500315.

20. Pang SS, Nguyen ST, Perry AJ et al. The three-dimensional structure of the extracellular adhesion domain of the sialic acid-binding adhesin SabA from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 2014; 289: 6332-40.
21. Dossumbekova A, Prinz C, Mages J et al. *Helicobacter pylori* HopH (OipA) and bacterial pathogenicity: genetic and functional genomic analysis of hopH gene polymorphisms. *J Infect Dis* 2006; 194: 1346-55.
22. Palframan SL, Kwok T, Gabriel K. Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 92.
23. Pagliaccia C, de Bernard M, Lupetti P et al. The m2 form of the *Helicobacter pylori* cytotoxin has cell type-specific vacuolating activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 10212-7.
24. Basso D, Zambon CF, Letley DP et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology* 2008; 135: 91-9.
25. Isomoto H, Moss J, Hirayama T. Pleiotropic actions of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA. *Tohoku J Exp Med* 2010; 220: 3-14.
26. Ekstrom AM, Held M, Hansson LE et al. *Helicobacter pylori* in gastric cancer established by CagA immunoblot as a marker of past infection. *Gastroenterology* 2001; 121: 784-91.
27. Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 688-94.
28. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N et al. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 297-301.

29. Erzin Y, Koksal V, Altun S et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA, cagE, iceA, babA2 genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006; 11: 574-80.
30. Hu Z, Ajani JA, Wei Q. Molecular epidemiology of gastric cancer: current status and future prospects. *Gastrointest Cancer Res* 2007; 1: 12-9.
31. Odenbreit S, Puls J, Sedlmaier B et al. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 2000; 287: 1497-500.
32. Franco AT, Israel DA, Washington MK et al. Activation of beta-catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10646-51.
33. Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S et al. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 1003-8.
34. Neal JT, Peterson TS, Kent ML et al. *H. pylori* virulence factor CagA increases intestinal cell proliferation by Wnt pathway activation in a transgenic zebrafish model. *Dis Model Mech* 2013; 6: 802-10.
35. Appelmek BJ, Vandenbroucke-Grauls C. Lipopolysaccharide Lewis Antigens. In: Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL, editors. *Helicobacter pylori: Physiology and Genetics*. Washington (DC); 2001.
36. Li H, Liao T, Debowski AW et al. Lipopolysaccharide Structure and Biosynthesis in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2016.
37. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 Suppl 1:3-15.
38. Parkin DM. International variation. *Oncogene* 2004; 23: 6329-40.

39. Weyermann M, Rothenbacher D, Brenner H. Acquisition of *Helicobacter pylori* infection in early childhood: independent contributions of infected mothers, fathers, and siblings. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 182-9.
40. Konno M, Fujii N, Yokota S et al. Five-year follow-up study of mother-to-child transmission of *Helicobacter pylori* infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 2246-50.
41. Momtaz H, Dabiri H, Souod N et al. Study of *Helicobacter pylori* genotype status in cows, sheep, goats and human beings. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 61.
42. Brown LM, Thomas TL, Ma JL et al. *Helicobacter pylori* infection in rural China: exposure to domestic animals during childhood and adulthood. *Scand J Infect Dis* 2001; 33: 686-91.
43. Sobala GM, Crabtree JE, Dixon MF et al. Acute *Helicobacter pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut* 1991; 32: 1415-8.
44. Gisbert JP, Calvet X, Bermejo F et al. III Spanish Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 340-74.
45. Gisbert JP, Calvet X, Ferrandiz J et al. Clinical practice guideline on the management of patients with dyspepsia. Update 2012. *Aten Primaria* 2012; 44: 727 e1-727 e38.
46. Gisbert JP. *Helicobacter pylori*-related diseases. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36 Suppl 2: 39-50.
47. Sánchez-Delgado J. Nuevas estrategias terapéuticas en la infección por *Helicobacter pylori*. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona; 2013.



48. Evdokimova AG, Zhukolenko LV, Evdokimov VV. New approaches to therapy of *Helicobacter pylori* infection (by the materials of the Maastricht Consensus-IV, Florence, 2010). *Antibiot Khimioter* 2013; 58: 8-12.
49. Stanghellini V, Talley NJ, Chan F et al. Rome IV - Gastroduodenal Disorders. *Gastroenterology* 2016.
50. Mahadeva S, Goh KL. Epidemiology of functional dyspepsia: a global perspective. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2661-6.
51. Moayyedi P, Soo S, Deeks J et al. Eradication of *Helicobacter pylori* for non-ulcer dyspepsia. *Cochrane Database Syst Rev* 2006: CD002096.
52. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA et al. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-64.
53. Ruggiero P. *Helicobacter pylori* infection: what's new. *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25: 337-44.
54. Malfertheiner P. The intriguing relationship of *Helicobacter pylori* infection and acid secretion in peptic ulcer disease and gastric cancer. *Dig Dis* 2011; 29: 459-64.
55. Zapata-Colindres JC, Zepeda-Gomez S, Montano-Loza A et al. The association of *Helicobacter pylori* infection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease. *Can J Gastroenterol* 2006; 20: 277-80.
56. Sonnenberg A. Time trends of ulcer mortality in Europe. *Gastroenterology* 2007; 132: 2320-7.

57. Ford AC, Delaney BC, Forman D et al. Eradication therapy for peptic ulcer disease in *Helicobacter pylori* positive patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2006: CD003840.
58. Gisbert JP, Khorrami S, Carballo F et al. *H. pylori* eradication therapy vs. antisecretory non-eradication therapy (with or without long-term maintenance antisecretory therapy) for the prevention of recurrent bleeding from peptic ulcer. *Cochrane Database Syst Rev* 2004: CD004062.
59. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: *Helicobacter pylori* infection and gastric outlet obstruction - prevalence of the infection and role of antimicrobial treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1203-8.
60. Gisbert JP, Pajares JM. *Helicobacter pylori* infection and perforated peptic ulcer prevalence of the infection and role of antimicrobial treatment. *Helicobacter* 2003; 8: 159-67.
61. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359-86.
62. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992; 52: 6735-40.
63. Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 784-9.
64. Lee YC, Chiang TH, Chou CK et al. Association Between *Helicobacter pylori* Eradication and Gastric Cancer Incidence: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology* 2016; 150: 1113-1124 e5.

65. Jung DH, Kim JH, Lee YC et al. *Helicobacter pylori* Eradication Reduces the Metachronous Recurrence of Gastric Neoplasms by Attenuating the Precancerous Process. *J Gastric Cancer* 2015; 15: 246-55.
66. Jung S, Park CH, Kim EH et al. Preventing metachronous gastric lesions after endoscopic submucosal dissection through *Helicobacter pylori* eradication. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30: 75-81.
67. Zullo A, Hassan C, Cristofari F et al. Gastric low-grade mucosal-associated lymphoid tissue-lymphoma: *Helicobacter pylori* and beyond. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2: 181-6.
68. Park JB, Koo JS. *Helicobacter pylori* infection in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2751-9.
69. Nakamura S, Matsumoto T. Treatment Strategy for Gastric Mucosa-Associated Lymphoid Tissue Lymphoma. *Gastroenterol Clin North Am* 2015; 44: 649-60.
70. O'Connor HJ. Review article: *Helicobacter pylori* and gastro-oesophageal reflux disease-clinical implications and management. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 117-27.
71. Rokkas T, Pistiolas D, Sechopoulos P et al. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and esophageal neoplasia: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1413-7, 1417 e1-2.
72. Yaghoobi M, Farrokhyar F, Yuan Y et al. Is there an increased risk of GERD after *Helicobacter pylori* eradication? A meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1007-13.

73. Klinkenberg-Knol EC, Nelis F, Dent J et al. Long-term omeprazole treatment in resistant gastroesophageal reflux disease: efficacy, safety, and influence on gastric mucosa. *Gastroenterology* 2000; 118: 661-9.
74. Muhsen K, Cohen D. *Helicobacter pylori* infection and iron stores: a systematic review and meta-analysis. *Helicobacter* 2008; 13: 323-40.
75. Huang X, Qu X, Yan W et al. Iron deficiency anaemia can be improved after eradication of *Helicobacter pylori*. *Postgrad Med J* 2010; 86: 272-8.
76. Yuan W, Li Y, Yang K et al. Iron deficiency anemia in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis of randomized controlled trials. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 665-76.
77. Pietroiusti A, Galante A, Magrini A et al. *Helicobacter pylori* interference with micronutrients and orally administered drugs: a new mechanism explaining its role in extragastric disorders. *Mini Rev Med Chem* 2008; 8: 135-41.
78. Lahner E, Persechino S, Annibale B. Micronutrients (Other than iron) and *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter* 2012; 17: 1-15.
79. Andres E, Dali-Youcef N, Vogel T et al. Oral cobalamin (vitamin B(12)) treatment. An update. *Int J Lab Hematol* 2009; 31: 1-8.
80. Stasi R, Sarpatwari A, Segal JB et al. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with immune thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Blood* 2009; 113: 1231-40.
81. Ferwana M, Abdulmajeed I, Alhajahmed A et al. Accuracy of urea breath test in *Helicobacter pylori* infection: meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 1305-14.

82. Braden B, Teuber G, Dietrich CF et al. Comparison of new faecal antigen test with (13)C-urea breath test for detecting *Helicobacter pylori* infection and monitoring eradication treatment: prospective clinical evaluation. *BMJ* 2000; 320: 148.
83. Korkmaz H, Findik D, Ugurluoglu C et al. Reliability of stool antigen tests: investigation of the diagnostic value of a new immunochromatographic *Helicobacter pylori* approach in dyspeptic patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 657-60.
84. Calvet X, Lario S, Ramirez-Lazaro MJ et al. Comparative accuracy of 3 monoclonal stool tests for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection among patients with dyspepsia. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 323-8.
85. Gisbert JP, de la Morena F, Abaira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1921-30.
86. Atkinson NS, Braden B. *Helicobacter Pylori* Infection: Diagnostic Strategies in Primary Diagnosis and After Therapy. *Dig Dis Sci* 2016; 61: 19-24.
87. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. *Ann Transl Med* 2015; 3: 9.
88. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH et al. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-81.
89. Gong YN, Li YM, Yang NM et al. Centralized isolation of *Helicobacter pylori* from multiple centers and transport condition influences. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 944-52.

90. Standards NCFCL. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Ninth Informational Supplement 1999.
91. McNulty CA, Dent J, Wise R. Susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter pyloridis* to 11 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 837-8.
92. Lambert T, Megraud F, Gerbaud G et al. Susceptibility of *Campylobacter pyloridis* to 20 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 510-1.
93. King A. Recommendations for susceptibility tests on fastidious organisms and those requiring special handling. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 Suppl 1: 77-80.
94. Mishra KK, Srivastava S, Garg A et al. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* clinical isolates: comparative evaluation of disk-diffusion and E-test methods. *Curr Microbiol* 2006; 53: 329-34.
95. Ogata SK, Gales AC, Kawakami E. Antimicrobial susceptibility testing for *Helicobacter pylori* isolates from Brazilian children and adolescents: comparing agar dilution, E-test, and disk diffusion. *Braz J Microbiol* 2014; 45: 1439-48.
96. Sakinc T, Baars B, Wuppenhorst N et al. Influence of a 23S ribosomal RNA mutation in *Helicobacter pylori* strains on the in vitro synergistic effect of clarithromycin and amoxicillin. *BMC Res Notes* 2012; 5: 603.
97. Hiyama T, Tanaka S, Masuda H et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin and metronidazole determined by 23S ribosomal RNA and rdxA gene analyses in Hiroshima, Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 1202-7.
98. Graham DY, Lee YC, Wu MS. Rational *Helicobacter pylori* therapy: evidence-based medicine rather than medicine-based evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 177-86 e3; Discussion e12-3.

99. van der Hulst RW, van der Ende A, Homan A et al. Influence of metronidazole resistance on efficacy of quadruple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 1998; 42: 166-9.
100. Graham DY, Osato MS, Hoffman J et al. Metronidazole containing quadruple therapy for infection with metronidazole resistant *Helicobacter pylori*: a prospective study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 745-50.
101. Lambert JR, Midolo P. The actions of bismuth in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11 Suppl 1: 27-33.
102. Dore MP, Osato MS, Realdi G et al. Amoxicillin tolerance in *Helicobacter pylori*. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 47-54.
103. Megraud F. *H pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-84.
104. Villoria A, Garcia P, Calvet X et al. Meta-analysis: high-dose proton pump inhibitors vs. standard dose in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 868-77.
105. McNicholl AG, Linares PM, Nyssen OP et al. Meta-analysis: esomeprazole or rabeprazole vs. first-generation pump inhibitors in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 414-25.
106. Gisbert JP, Molina-Infante J, Amador J et al. IV Conferencia Española de Consenso sobre el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 2016.
107. Navarro-Jarabo JM, Fernandez-Sanchez F, Fernandez-Moreno N et al. Prevalence of Primary Resistance of *Helicobacter pylori* to Clarithromycin and Levofloxacin in Southern Spain. *Digestion* 2015; 92: 78-82.

108. Molina-Infante J, Gisbert JP. Update on the efficacy of triple therapy for *Helicobacter pylori* infection and clarithromycin resistance rates in Spain (2007-2012). *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 375-81.
109. Molina-Infante J, Lucendo AJ, Angueira T et al. Optimised empiric triple and concomitant therapy for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice: the OPTRICON study. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41: 581-9.
110. Cuadrado-Lavin A, Salcines-Caviedes JR, Diaz-Perez A et al. First-line eradication rates comparing two shortened non-bismuth quadruple regimens against *Helicobacter pylori*: an open-label, randomized, multicentre clinical trial. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 2376-81.
111. Molina-Infante J, Pazos-Pacheco C, Vinagre-Rodriguez G et al. Nonbismuth quadruple (concomitant) therapy: empirical and tailored efficacy versus standard triple therapy for clarithromycin-susceptible *Helicobacter pylori* and versus sequential therapy for clarithromycin-resistant strains. *Helicobacter* 2012; 17: 269-76.
112. Molina-Infante J, Romano M, Fernandez-Bermejo M et al. Optimized nonbismuth quadruple therapies cure most patients with *Helicobacter pylori* infection in populations with high rates of antibiotic resistance. *Gastroenterology* 2013; 145: 121-128 e1.
113. McNicholl AG, Marin AC, Molina-Infante J et al. Randomised clinical trial comparing sequential and concomitant therapies for *Helicobacter pylori* eradication in routine clinical practice. *Gut* 2014; 63: 244-9.
114. Gisbert JP, Calvet X. Review article: non-bismuth quadruple (concomitant) therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 604-17.



115. Gisbert JP, Calvet X, O'Connor A et al. Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a critical review. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 313-25.
116. Feng L, Wen MY, Zhu YJ et al. Sequential Therapy or Standard Triple Therapy for *Helicobacter pylori* Infection: An Updated Systematic Review. *Am J Ther* 2016; 23: e880-93.
117. McNicholl AG, Gisbert JP. Ensuring the highest eradication rates in *H. pylori*: the case of non-bismuth quadruple concomitant therapy. *Eur J Intern Med* 2016.
118. Georgopoulos SD, Xirouchakis E, Martinez-Gonzales B et al. Randomized clinical trial comparing ten day concomitant and sequential therapies for *Helicobacter pylori* eradication in a high clarithromycin resistance area. *Eur J Intern Med* 2016; 32: 84-90.
119. De Francesco V, Hassan C, Ridola L et al. Sequential, concomitant and hybrid first-line therapies for *Helicobacter pylori* eradication: a prospective randomized study. *J Med Microbiol* 2014; 63: 748-52.
120. Heo J, Jeon SW, Jung JT et al. Concomitant and hybrid therapy for *Helicobacter pylori* infection: A randomized clinical trial. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30: 1361-6.
121. Megraud F. The challenge of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: the comeback of bismuth-based quadruple therapy. *Therap Adv Gastroenterol* 2012; 5: 103-9.
122. Salazar CO, Cardenas VM, Reddy RK et al. Greater than 95% success with 14-day bismuth quadruple anti- *Helicobacter pylori* therapy: a pilot study in US Hispanics. *Helicobacter* 2012; 17: 382-90.

123. Malfertheiner P, Bazzoli F, Delchier JC et al. *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet* 2011; 377: 905-13.
124. Laine L, Hunt R, El-Zimaity H et al. Bismuth-based quadruple therapy using a single capsule of bismuth biscaltrate, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus omeprazole, amoxicillin, and clarithromycin for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer patients: a prospective, randomized, multicenter, North American trial. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 562-7.
125. Gisbert JP, Gisbert JL, Marcos S et al. *Helicobacter pylori* first-line treatment and rescue options in patients allergic to penicillin. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 1041-6.
126. Gisbert JP, Perez-Aisa A, Castro-Fernandez M et al. *Helicobacter pylori* first-line treatment and rescue option containing levofloxacin in patients allergic to penicillin. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 287-90.
127. Rodriguez-Torres M, Salgado-Mercado R, Rios-Bedoya CF et al. High eradication rates of *Helicobacter pylori* infection with first- and second-line combination of esomeprazole, tetracycline, and metronidazole in patients allergic to penicillin. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 634-9.
128. Matsushima M, Suzuki T, Kurumada T et al. Tetracycline, metronidazole and amoxicillin-metronidazole combinations in proton pump inhibitor-based triple therapies are equally effective as alternative therapies against *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 232-6.

129. Fischbach L, Evans EL. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 343-57.
130. Marin AC, McNicholl AG, Gisbert JP. A review of rescue regimens after clarithromycin-containing triple therapy failure (for *Helicobacter pylori* eradication). *Expert Opin Pharmacother* 2013; 14: 843-61.
131. Gisbert JP, Romano M, Gravina AG et al. *Helicobacter pylori* second-line rescue therapy with levofloxacin- and bismuth-containing quadruple therapy, after failure of standard triple or non-bismuth quadruple treatments. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41: 768-75.
132. Delchier JC, Malfertheiner P, Thieroff-Ekerdt R. Use of a combination formulation of bismuth, metronidazole and tetracycline with omeprazole as a rescue therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40: 171-7.
133. Liu KS, Hung IF, Seto WK et al. Ten day sequential versus 10 day modified bismuth quadruple therapy as empirical firstline and secondline treatment for *Helicobacter pylori* in Chinese patients: an open label, randomised, crossover trial. *Gut* 2014; 63: 1410-5.
134. Kim SJ, Kim JB, Kim JH et al. Efficacy of the 14-day quadruple regimen (proton pump inhibitor, bismuth, tetracycline and metronidazole) as a rescue therapy after failure with the 10-days sequential therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2010; 138: S-470.
135. Kang KK, Lee DH, Oh DH et al. *Helicobacter pylori* eradication with moxifloxacin-containing therapy following failed first-line therapies in South Korea. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 6932-8.

136. Gatta L, Zullo A, Perna F et al. A 10-day levofloxacin-based triple therapy in patients who have failed two eradication courses. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 45-9.
137. Gisbert JP, Castro-Fernandez M, Bermejo F et al. Third-line rescue therapy with levofloxacin after two *H. pylori* treatment failures. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 243-7.
138. Gisbert JP, Gisbert JL, Marcos S et al. Third-line rescue therapy with levofloxacin is more effective than rifabutin rescue regimen after two *Helicobacter pylori* treatment failures. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1469-74.
139. Rokkas T, Sechopoulos P, Robotis I et al. Cumulative *H. pylori* eradication rates in clinical practice by adopting first and second-line regimens proposed by the Maastricht III consensus and a third-line empirical regimen. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 21-5.
140. Gisbert JP, Association HpSGotSG. Letter: third-line rescue therapy with levofloxacin after failure of two treatments to eradicate *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 1484-5.
141. Gisbert JP, Barrio J, Modolell I et al. *Helicobacter pylori* first-line and rescue treatments in the presence of penicillin allergy. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 458-64.
142. Liang X, Xu X, Zheng Q et al. Efficacy of bismuth-containing quadruple therapies for clarithromycin-, metronidazole-, and fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* infections in a prospective study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 802-7 e1.

143. Furuta T, Sugimoto M, Yamade M et al. Eradication of *H. pylori* infection in patients allergic to penicillin using triple therapy with a PPI, metronidazole and sitafloxacin. *Intern Med* 2014; 53: 571-5.
144. Murakami K, Okimoto T, Kodama M et al. Sitafloxacin activity against *Helicobacter pylori* isolates, including those with gyrA mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 3097-9.
145. Tay CY, Windsor HM, Thirriot F et al. *Helicobacter pylori* eradication in Western Australia using novel quadruple therapy combinations. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 1076-83.
146. Gisbert JP, Perez-Aisa A, Rodrigo L et al. Third-line rescue therapy with bismuth-containing quadruple regimen after failure of two treatments (with clarithromycin and levofloxacin) for *H. pylori* infection. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 383-9.
147. Puig I, Baylina M, Sanchez-Delgado J et al. Systematic review and meta-analysis: triple therapy combining a proton-pump inhibitor, amoxicillin and metronidazole for *Helicobacter pylori* first-line treatment. *J Antimicrob Chemother* 2016 (in press).
148. Megraud F, Trimoulet P, Lamouliatte H et al. Bactericidal effect of amoxicillin on *Helicobacter pylori* in an in vitro model using epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 869-72.
149. Gisbert JP, Calvet X. Review article: rifabutin in the treatment of refractory *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 209-21.
150. Gisbert JP, Castro-Fernandez M, Perez-Aisa A et al. Fourth-line rescue therapy with rifabutin in patients with three *Helicobacter pylori* eradication failures. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 35: 941-7.

151. Zhuo RP CX, Wu SZ, Xie JL, Hu SK. Clinical effects of quadruple therapy based on antimicrobial susceptibility testing in treatment of *Helicobacter pylori* associated upper digestive tract diseases. *World Chin J Digestol* 2015; 23: 196-201.
152. Cosme A, Lizasoan J, Montes M et al. Antimicrobial Susceptibility-Guided Therapy Versus Empirical Concomitant Therapy for Eradication of *Helicobacter pylori* in a Region with High Rate of Clarithromycin Resistance. *Helicobacter* 2016; 21: 29-34.
153. Zhou L, Zhang J, Song Z et al. Tailored versus Triple plus Bismuth or Concomitant Therapy as Initial *Helicobacter pylori* Treatment: A Randomized Trial. *Helicobacter* 2016; 21: 91-9.