

Departamento de Medicina
Facultad de Medicina
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR
HELICOBACTER PYLORI
y
TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN EN PACIENTES CON
ÚLCERA DUODENAL.

TESIS DOCTORAL
presentada por la Licenciada Dña. Montserrat Forné Bardera,
para optar al grado de Doctor en Medicina.

DIRECTORES DE LA TESIS:
Prof. D. Joan Monés
Prof. D. Josep María Viver Pi-Sunyer

BARCELONA 2001

INDICE

1. PREAMBULO	1
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	5
2.1. Antecedentes históricos sobre bacterias gástricas	6
2.2. Taxonomía	10
2.3. Aspectos microbiológicos de <i>Helicobacter pylori</i>	12
2.3.1. Características morfológicas	12
2.3.2. Características estructurales	13
2.3.2.1. Genoma y Plásmidos	14
2.3.2.2. Composición celular en ácidos grasos, menaquinonas y lípido A	16
2.3.2.3. Proteínas y lipopolisacáridos de la membrana externa	16
2.3.3. Características de virulencia	17
2.4. Epidemiología de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	20
2.4.1. Prevalencia e incidencia de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	20
2.4.2. Factores de riesgo para la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	24
2.4.3. Reservorio y mecanismo de transmisión de <i>Helicobacter pylori</i>	24
2.5. Diagnóstico de la úlcera péptica	26

2.6 .Diagnóstico de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	27
2.6.1. Prueba rápida de la ureasa.....	28
2.6.2. Estudio microbiológico.....	30
2.6.3. Pruebas serológicas.....	33
2.6.4. Histología.....	40
2.6.5. Citología mediante cepillado endoscópico	42
2.6.6. Biología molecular	42
2.6.7. Prueba del aliento con urea marcada con ¹³ C o ¹⁴ C	45
2.6.8. Determinación de gastrina y pepsinógeno	49
2.7. Patología gastrointestinal asociada a <i>Helicobacter pylori</i>	51
2.7.1. Infección aguda	51
2.7.2. Manifestaciones crónicas de la infección	51
2.8. Infección por <i>Helicobacter pylori</i> y úlcera duodenal	59
2.8.1. Prevalencia de la infección en la úlcera duodenal	62
2.8.2. Influencia de <i>H. pylori</i> en la patogenia de la úlcera duodenal.....	65
2.8.3. Influencia del huésped en la patogenia de la úlcera duodenal	68
2.8.4. Alteraciones funcionales gástricas asociadas a la infección crónica por <i>H. pylori</i>	70
2.9. Tratamiento de la infección por <i>Helicobacter pylori</i>	73
2.10. Tratamiento de la úlcera duodenal asociada a <i>Helicobacter pylori</i>	78
2.10.1. Tratamiento de la recidiva ulcerosa	80
2.10.2. Tratamiento de la úlcera duodenal complicada.....	83

2.10.2.1. Hemorragia digestiva	83
2.10.2.1. Úlcera Duodenal perforada	85
2.10.2.3. Estenosis duodenal	86
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	88
4. METODOLOGÍA	93
5. RESUMEN DE LOS RESULTADOS	101
6. DISCUSIÓN	124
7. CONCLUSIONES	136
8. BIBLIOGRAFIA	139
9 . PUBLICACIONES.....	176

Agraiments

Al Professor Dr. Josep Maria Viver Pi-Sunyer, Cap del Servei d'Àparell Digestiu de l'Hospital Mútua de Terrassa i codirector d'aquesta tesi, per acceptar-me, ja fa molts anys, com la primera resident del Servei i haver pogut d'estar tot aquest temps al seu costat i col.laborar en la formació del nostre Servei. La seva humanitat, paciència, amicitat, ajut i estímul constants han estat decisius en la consolidació del nostre Servei Digestiu i en la meua carrera professional.

Al Profesor Dr. Juan Monés per acceptar la codirecció d'aquesta tesi, dedicant-me part del seu temps i experiència.

Als meus companys del Servei d'Àparell Digestiu, Dr. Jorge Espinós i especialment al Dr. Ferran Fernández-Bañares pel seu sentit crític i paciència sense els quals hauria estat difícil la publicació d'aquests estudis.

A la meua amiga i companya, Dra. Maria Esteve, per la seva paciència, estímul constant i consells alhora de redactar la tesi.

Al Dr. Salvador Quintana per a la seva col.laboració en els càlculs estadístics dels treballs d'aquesta tesi.

Al Servei de Anatomia Patològica de l'Hospital Mútua de Terrassa, en especial al Dr. Antonio Salas, per la seva participació en els estudis.

Al Servei de Microbiologia de l'Hospital Mútua de Terrassa, en especial al Dr. Josep Lite i Dra. Eva Cuchi, per la seva col.laboració en els estudis serològics i microbiològics fets en els últims anys.

Al Servei de Microbiologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona, en especial a José Domínguez i Núria Galí, amb els que he tingut el plaer de treballar plegats en l'últim estudi que ha donat aquesta tesi.

Als meus companys de l'Hospital de Mútua de Terrassa, Dr. Jesús Martínez i Dolors Martínez per el seu suport informàtic, a la Conxi Caro pel seu ajut amb les cites bibliogràfiques i en especial al personal del Servei d'Endoscòpies, Núria Rubies, Rosa Tomás i Annabel Polo, pel seu recolzament durant el darrers anys.

A tots els malalts, que han participat en aquests estudis.

A la meva mare i a la Laia.

1. PREAMBULO



CONTEXTO DE LA TESIS DOCTORAL

Esta tesis es el fruto del trabajo de investigación iniciado hace 7 años en el Servicio de Digestivo del Hospital Mútua de Terrassa, sobre el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* y el efecto de la erradicación de la infección en la cicatrización de la úlcera duodenal. Los avances obtenidos son el resultado de la colaboración de los Servicios de Anatomía Patología y Microbiología de nuestro Hospital, del Servicio de Microbiología del Hospital Germans Trias i Pujol de Barcelona y de los médicos de Atención Primaria de nuestra área.

La tesis se ha planteado en dos partes:

1. Estudios sobre la cicatrización de la úlcera duodenal asociada a la infección por *H. pylori*.

Cuando iniciamos los primeros estudios en este sentido, el tratamiento habitual de la úlcera duodenal era los antiseoretos, inhibidores de la bomba de protones o inhibidores H₂, administrados durante un periodo de 4 a 6 semanas. Diversos estudios, demostraron que la erradicación de *H. pylori* aceleraba la cicatrización de la úlcera duodenal. Las pautas erradicadoras más utilizadas en aquel tiempo empleaban varias combinaciones antibióticas durante dos o cuatro semanas. En 1992, se diseñó en nuestro Servicio, un estudio preliminar que valoró en 33 pacientes, la cicatrización de la úlcera duodenal asociada a infección por *H. pylori*, tras la administración de una pauta erradicadora que incluía subcitrato de bismuto coloidal, claritromicina y omeprazol durante siete días sin tratamiento de mantenimiento con antiseoretos. A las cuatro semanas de finalizar el tratamiento, el *H. pylori* se erradicó en 73,3% de los

pacientes y la úlcera se cicatrizó en el 90% de ellos. Estos resultados dieron lugar a una publicación titulada: Tratamiento corto con claritromicina, subcitrate de bismuto coloidal y omeprazol en la úlcera duodenal con *Helicobacter pylori*. Gastroenterol y Hepatol 1993; 9:581-3 y diversas comunicaciones presentadas a Congresos Nacionales e Internacionales.

Basándose en estos resultados, en los años posteriores se diseñaron varios estudios controlados que valoraron la eficacia de pautas de tratamiento corto en la erradicación y en la cicatrización de la úlcera duodenal. Este trabajo ha dado lugar a dos publicaciones que forman parte de la presente Tesis Doctoral, cuyos resultados y conclusiones serán expuestos de forma exhaustiva.

IMPACT OF COLLOIDAL BISMUTH SUBCITRATE IN THE ERADICATION RATES OF *Helicobacter pylori* INFECTION-ASSOCIATED DUODENAL ULCER USING A SHORT TREATMENT REGIMEN WITH OMEPRAZOLE AND CLARITHROMYCIN: A RANDOMIZED STUDY.

Am J Gastroenterol 1995; 90:718-21.

RANDOMIZED CLINICAL TRIAL COMPARING TWO ONE-WEEK TRIPLE-THERAPY REGIMENS FOR THE ERADICATION OF *Helicobacter pylori* INFECTION AND DUODENAL ULCER HEALING.

Am J Gastroenterol 1998; 93:35-38

2. Estudios prospectivos de la eficacia de distintos métodos diagnósticos de la infección por *H. pylori*, en el control postratamiento y en el seguimiento a largo plazo tras el tratamiento erradicador.

Esta línea de investigación ha merecido una beca otorgada por L'Agència d' Avaluació de Tecnologia Médica con objeto de valorar de forma prospectiva la eficacia de los diversos métodos diagnósticos de la infección por *H. pylori* y en el control de la erradicación a corto y largo plazo. Este estudio dio lugar a diversas comunicaciones presentadas a congresos Nacionales.

Coincidiendo con la comercialización de un enzimoimmunoanálisis que detecta un antígeno específico de *H. pylori* en heces, se diseñó un nuevo estudio prospectivo de la eficacia de diferentes métodos diagnósticos, en colaboración con el Servicio de Microbiología del Hospital Germans Trias i Pujol de Barcelona. Este estudio, ha dado lugar a la tercera publicación utilizada en la tesis.

ACCURACY OF AN ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF *Helicobacter pylori* IN STOOL SPECIMENS IN THE DIAGNOSIS OF INFECTION AND POSTTREATMENT CHECK-UP.

Am J Gastroenterol 2000; 95:2200-5

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS SOBRE BACTERIAS GÁSTRICAS

Existen descripciones histológicas de organismos espirales localizados en la cavidad gástrica de seres humanos realizados por autores alemanes desde 1874.¹ Desde que en 1884 se detectó por vez primera en las heces un microorganismo semejante morfológicamente a una espiroqueta² se han descrito una gran variedad de bacterias móviles en forma espiral (helicoidal), patógenas tanto para el hombre como para otras especies animales. Hoy en día se conocen una gran variedad de patógenos que pueden colonizar la mucosa gástrica, entre los que se encuentran: *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*, *Spirillum*, *Campylobacter*, etc. Se desconoce el número exacto de especies existentes en el intestino humano y el papel que éstas desempeñan, tanto en el individuo sano como en el enfermo.³

El hallazgo en animales de una bacteria con forma espiral en la cavidad gástrica se debe a Bizzozero,⁴ que las describió en los perros.

En 1906, Balfour⁵ demuestra la existencia de espiroquetas localizadas en las úlceras gástricas e intestinales de perros y monos. En este mismo año Krienitz⁶ realiza la primera descripción de este tipo de microorganismos en estómagos de pacientes con cáncer gástrico.

En 1938, Doengues⁷ realizó en el primer estudio sistemático sobre la presencia de bacterias helicoidales en estómago. Además de detectar espiroquetas en macacos, este autor describió posteriormente unos organismos similares, asociados a gastritis en el 43% de 242 estómagos humanos obtenidos mediante necropsias. En 1940, Freedberg⁸ demostró que la presencia de microorganismos helicoidales no se debía a una contaminación postmortem.

En 1951, un médico español, Solano, recomendaba la administración de suero y penicilina a los pacientes convalecientes de úlcera duodenal o gástrica, e insistía en la necesidad de una buena higiene dental, por considerar los focos sépticos dentales responsables de las recidivas ulcerosas.⁹

Algunos autores, sugirieron que las bacterias vistas por algunos investigadores en las biopsias gástricas eran secundarias a la contaminación bacteriana proveniente de la cavidad oral, llegada al estómago a través de la comida. Durante las décadas de 1960 y 1970 otros autores observaron también la presencia de bacterias espirales en el estómago, que fueron atribuidas a contaminantes procedentes de la cavidad oral.

En 1971 en nuestro país, Peñarroya¹⁰ de forma empírica, trató la enfermedad ulcerosa con antibióticos (penicilina y metronidazol), publicando resultados comparables a los obtenidos con los antiácidos, únicos fármacos antiulcerosos disponibles en aquella época.

Steer et al.in-Jones¹¹ describen la existencia de bacterias espirales adheridas a la superficie del epitelio gástrico, en pacientes con intensa gastritis asociada a la úlcera gástrica. El cultivo de las biopsias gástricas obtenidas por endoscopia obtuvo *Pseudomonas aureoginosa*, siendo considerada ésta como una contaminación. Steer,¹² continuando la misma línea de investigación, describe la tendencia de estas bacterias a fijarse, también, en las zonas de metaplasia gástrica en el bulbo duodenal de pacientes ulcerosos. En 1984, este mismo autor confirma las formas curvas y espirales de estas bacterias. Probablemente el cultivo positivo a *Pseudomonas aureoginosa*, encontrado por estos autores, fue debido a una contaminación del material endoscópico y que la bacteria vista debiera corresponder a *Helicobacter pylori*.

En Australia, se publican en el año 1979 estudios histológicos y ultraestructurales de la mucosa gástrica en los que se observan bacterias espirales, que en aquel entonces fueron consideradas sin relevancia clínica por no invadir la mucosa. En este

mismo país y en 1984, Marshall y Warren,¹⁴ demuestran que el 98% de los pacientes con histología de gastritis crónica activa tenían microorganismos en la superficie de la mucosa y que el 80% de los pacientes con úlcera gástrica también padecían la infección. Un año más tarde estos mismos autores logran aislar por primera vez la bacteria de forma fortuita tras una incubación accidental de 4 días, reconociéndose que era necesaria una larga incubación para su aislamiento.

En 1983, y al no llegar a un acuerdo en la redacción final de una carta, aparecen en Lancet dos cartas, una escrita por Warren y otra por Marshall. Warren¹⁵ describe la presencia de bacterias curvas y espirales en 135 biopsias gástricas, en estrecha unión con las células del epitelio y con áreas de inflamación de la mucosa gástrica; con distribución continua, focal o parcheada, y más abundante en el antro gástrico. No se observaban bacterias, aún existiendo inflamación, en la mucosa cercana a las lesiones gástricas tales como carcinoma o úlceras pépticas. La infiltración superficial bacteriana se acompañaba de un gran número de polimorfonucleares. Por sus características morfológicas que recordaban a *C. jejuni* más que a las espiroquetas, Warren denominó a estos microorganismos presentes en la mucosa gástrica *Campylobacter like*. Marshall,¹⁶ en su carta, describe el cultivo de la bacteria procedente de biopsias gástricas, después de 3-4 días de incubación utilizando técnicas de aislamiento para *Campylobacter*, así como sus características microbiológicas y bioquímicas, considerando que no se adaptaban claramente al género *Campylobacter* y que podría corresponder al género *Spirillum*. Este autor preconiza que el microorganismo debe desempeñar un importante papel en la patogénia de la gastritis, úlcera péptica y cáncer gástrico.

En 1983, en los *Proceedings of the second International Workshop Campylobacter Infections*, Skirrow¹⁷ sugiere que estas bacterias deben recibir la denominación de *Campylobacter pyloridis* por su localización preferente próxima al píloro.

Nomenclatura que fue revisada más tarde, para adaptarse a las normas de gramática latina, sustituyéndose por la de *pylori*.

En 1985, Marshall ingirió estos microorganismos, en un intento de demostrar los postulados de Koch. Se produjo un cuadro de gastritis con toda la sintomatología acompañante, así como los datos anatomopatológicos, microbiológicos y terapéuticos que eran necesarios para demostrar el efecto patogénico de estas bacterias.¹⁸

Fue en 1989, cuando Goodwin et al.s, estudiando la ultraestructura de la bacteria encuentran características, fundamentalmente en relación con los ácidos grasos celulares, que la diferencian de las bacterias del género *campylobacter*, sugiriendo el nombre de *Helicobacter* (del griego, "bacteria espiral") *pylori*, denominación con la que se le conoce hasta la actualidad, creándose además un nuevo género bacteriano.¹⁹

2. 2. TAXONOMIA

Los métodos genómicos analíticos, especialmente el análisis de secuencias de 16S ribosomales de ácido ribonucleico (rRNA), demuestran que *Campylobacter* y *Helicobacter* son los miembros principales de un grupo distinto de bacterias (rRNA Superfamilia VI) que está relacionado lejanamente con otras eubacterias.²⁰

Este grupo de bacterias tiene en común una serie de características: su forma espirilar-curvada, tener uno o más flagelos, microaerofilia, metabolismo asacarolítico y ecológicamente su adaptación para vivir en el moco.²¹

Diferentes especies del género *Helicobacter* se pueden encontrar en los humanos y otros mamíferos. Las especies del género *Helicobacter* se han dividido en las que colonizan el estómago y las que se localizan en el intestino tanto de hombres como animales. En la Tabla 1 se muestran las diferentes especies del género *Helicobacter* descritas hasta la actualidad.²²⁻²³

TABLA1. Bacteria del género *Helicobacter* y sus asociaciones

Especies	Flagelos		Huésped habitual	Asociación
	Número	Tipo ^a		
Gástricas				
^b <i>H. pylori</i> (especie tipo)	4-8	Up/Bp	Hombre	Gastritis crónica activa; fuerte asociación con úlcera péptica y cáncer gástrico
<i>H. mustelae</i>	4-8	Bp,L	Hurones	No patología, a veces gastritis y ulceración
<i>H. nemestrinae</i>	4-8	Up/Bp	Macaco	No patología
<i>H. acinonyx</i>	4-8	Up/Bp	Leopardo	Gastritis
<i>H. felis</i>	14-20	Bp,F	Gato, perro	No patología/a veces gastritis
<i>H. bizzozeronii</i>	10-20	Bp	Perro	¿No patología?
<i>H. salomonis</i>	5-7	Bp	Perro	¿No patología?
^b <i>H. heilmannii</i>	≥ 9	Bp	¿Gato y perro? Cerdo	Gastritis crónica activa (no común en hombre) ¿gastritis en gatos y perros?
<i>H. Candidatus bovis</i>			Ovejas,carneros	
<i>H. Suncus murinus</i>			Delfines	Gastritis y ulceraciones
Intestinales				
^b <i>H. cinaedi</i>	1-2	Up/Bp	Hámster, perro gato, zorro	No patología en hámster; proctocolitis en hombres
^b <i>H. fennelliae</i>	1-2	Up/BP	?	homosexuales
^b <i>H. canis</i>	2	Bp	Perro	Proctocolitis en hombres
^b <i>H. westmeadii</i>	1	Up	?	homosexuales. ¿Enteritis, hepatitis?Aislado de un niño Bacteriemia en hombres con SIDA
<i>H. typhlonicus</i>			Ratones	
^b <i>H. pullorum</i>	1	Up (noE)	Pollo	¿Hepatitis vibrionica?
<i>H. pametensis</i>	2	Bp	Gaviotas, cerdo	?
<i>H. cholecystus</i>	1	Up	Hámster	Colangiofibrosis, pancreatitis
<i>H. hepaticus</i>	2	Bp	Ratones	Hepatitis; coloniza en ciego et al.on
<i>H. bilis</i>	3-14	Bp,F	Ratones	Hepatitis; coloniza en ciego et al.on
<i>H. rodentium</i>	2	Bp (noE)	Ratones	Hepatitis; coloniza en ciego et al.on
<i>H. muridarum</i>	10-14	Bp,F	Roedores	?
<i>H. trogontum</i>	5-7	Bp,F	Rata	No patología, puede colonizar en estómago y causar gastritis en roedores viejos
^b " <i>Flexispira rappini</i> "	10-20	Bp,F	Ovejas, ratones	No patología conocida Abortos ovinos; ha sido aislado de pacientes con diarrea crónica

^a Up: unipolar, Bp: bipolar, L: lateral, F: fibrillas periplásmicas, (noE): no envainados

^b infecciones en el hombre

2.3. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE *HELICOBACTER PYLORI*

2.3.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

El *H. pylori* es un bacilo gramnegativo en forma de S o de bastón curvado, con una anchura de 0,5-1 μm y una longitud de 2-4 μm .²⁴

El *H. pylori* existe en dos formas: una forma espiral cultivable y una forma cocoide. Ambas, pueden encontrarse en el estómago y en el duodeno, aunque la mayoría presentan la morfología bacilar espiral. La forma cocoide prácticamente no se adhiere a las células epiteliales y, además, tampoco es capaz de inducir la producción de interleucina.²⁵ La conversión morfológica de la forma espiral a la forma cocoide se ha descrito en *H. pylori* cultivado bajo diversas condiciones adversas: aerobiosis, *pH* alcalino, alta temperatura, incubación prolongada, o tras exposición a concentraciones altas de oxígeno, tratamiento con inhibidor de la bomba de protones, o antibiótico, óxido nítrico, etc.²⁶ Como el modo de transmisión todavía no está aclarado, se especula con la posibilidad de que la forma cocoide sea una forma de resistencia, capaz de soportar condiciones adversas que encuentra el *H. pylori* en el medio ambiente, y reversible a la forma espiral en el momento en que se vuelvan a dar las condiciones óptimas.²⁷

El hecho de que cuando el *H. pylori* se encuentra en cultivo durante tiempo prolongado se produzcan cambios degradativos en su composición (baja la cantidad de ADN, ARN, ATP, proteínas inmunogénicas) y cambios en las propiedades de la superficie de la membrana (aumenta la hidrofobicidad), apuntan a que la forma cocoide es manifestación de la muerte de *H. pylori*.^{28,29} Sin embargo, el ADN no se encuentra fragmentado, es decir, puede teóricamente conservar la información genética que le da la capacidad de pasar otra vez a la forma espiral, siendo así una

forma viable.³⁰ Con los conocimientos actuales, no se puede descartar que existan diferentes tipos de formas cocoides.

Numerosos estudios han fracasado a la hora de cultivar estas formas cocoides, lo que ha llevado a denominar a la forma cocoide como "forma viable pero no cultivable" de *H. pylori*. Recientemente, Brenciaglia et al.s,²⁷ demuestran en su estudio que las formas cocoides son viables y metabólicamente activas y capaces de revertir a la forma helicoidal tras 4 semanas de incubación.

Al microscopio óptico, normalmente muestra entre cinco y seis flagelos polares. Cada flagelo está recubierto por una vaina rica en proteínas y lipopolisacáridos, mide unos 30 µm de largo y tiene un bulbo terminal. El núcleo del flagelo está constituido por un filamento, que en su extremo proximal aparece fijado a una matriz de naturaleza desconocida. Las células bacterianas son en su mayoría móviles.

La composición interna de la bacteria, se parece a la de otras bacterias gramnegativas, con un complejo constituido por elementos fibrilares nucleares y ribosomas que se entremezclan entre sí, pudiéndose observar ocasionalmente bacteriófagos.

En cultivos a partir de biopsias y siembras en agar sangre a 37° C y bajo condiciones microaeróbicas, las colonias de *H. pylori* tardan entre 3 y 5 días en aparecer. Las colonias son circulares, con una apariencia convexa y translúcida y con un diámetro de 1-2 mm. En la mayoría de los casos las colonias están rodeadas por una zona ligera de hemólisis.

2.3.2. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

2.3.2.1. GENOMA Y PLÁSMIDOS

El tamaño del genoma del *H. pylori* es pequeño, oscila entre 1,6 y 1,73 Mb, con una composición media G + C de 35,2 mol %.³¹

Se pueden observar plásmidos de diferentes tamaños, que varían entre 1.5 y 23.3 kb, en aproximadamente el 40% de las cepas de *H. pylori*,³² que no se han asociado con fenotipos determinados^{32, 33} ni contienen factores de virulencia reconocidos.

En agosto de 1997 se publicó la secuencia completa del genoma de *H. pylori* 26695,³⁴ sólo 15 años después de que se cultivara por primera vez la bacteria. Posteriormente en 1999, se ha secuenciado el genoma completo de J99, otra cepa de *H. pylori*, permitiendo la comparación de genomas.³⁵

El conocimiento del genoma permite estudiar los genes específicos de *H. pylori* que son esenciales para la colonización, la patogenicidad o la supervivencia de la bacteria.³⁶

H. pylori es un microorganismo que se caracteriza por su enorme diversidad genética. En la mayoría de los genes de *H. pylori* secuenciados hasta ahora, las secuencias de nucleótidos observados muestran una variación del 3% al 5%.³⁷ Además de las diferencias en la secuencia de nucleótidos de los genes individuales, que derivan de numerosas mutaciones puntuales (microdiversidad), también se han observado diferencias en la organización de los genes (macrodiversidad).³⁸ Esta variabilidad de los genes es una característica única de *H. pylori* en comparación con otras bacterias gramnegativas bien estudiadas. El microorganismo es naturalmente competente para captar ADN³⁹, esto puede dar lugar a una recombinación genética entre especies. La recombinación entre cepas de *H. pylori* probablemente es un hecho

muy frecuente, dando lugar a una población con estructura recombinante y genes organizados en forma de mosaico.^{40,41}

La localización de la patogenicidad del CagA está en una parte de un grupo de genes presentes en *H. pylori*. En pacientes con gastritis asintomática y secundaria a la presencia de *H. pylori* el CagA sólo está presente de una forma parcial. Sin embargo, en los pacientes con enfermedad ulcerosa el CagA está presente en su totalidad y sus genes pueden inducir la síntesis de citocinas. Algunos estudios, que serán comentados de forma más extensa en el capítulo de la patogénia de la úlcera duodenal, han demostrado que el CagA desempeña un papel muy importante en la patogenicidad del germen.

En un reciente estudio, se ha analizado la secuencia de ADN del extremo terminal de la isla de patogenicidad (una región altamente polimórfica) de más de 500 cepas de *H. pylori* de 5 continentes. Se han encontrado 3 genotipos de cepas de acuerdo con la presencia de selecciones, inserciones y sustituciones. La distribución más frecuente ha sido: Tipo 1: Se ha encontrado en cepas obtenidas de pacientes españoles, peruanos nativos, ladinos de Guatemala (mezcla de amerindios y europeos ancestrales), africanos nativos y residentes en USA. El tipo II: en cepas de pacientes japoneses y chinos; y el tipo III: en pacientes indios de Calcuta. Las secuencias del gen *cagA* y de los alelos *m1* del gen *vacA* de las cepas obtenidas de peruanos nativos también eran más parecidas a las de los pacientes españoles que las de los asiáticos. La relación existente entre las cepas de españoles y las de latinoamericanos, a pesar de la mayor relación genética de las personas amerindias y asiáticas, nos lleva a sugerir que *H. pylori* puede haber sido llevado al Nuevo Mundo por los conquistadores europeos hace unos 500 años. Este hallazgo sugiere que la infección por *H. pylori* puede haberse diseminado recientemente en la evolución humana.⁴²

2.3.2.2. COMPOSICIÓN CELULAR EN ÁCIDOS GRASOS, MENAQUINONAS Y LÍPIDO A.

En 1985 se describió que la composición fundamental en ácidos grasos de *H. pylori* la formaban el ácido tetradecanoico (14:0), en más del 35%, y el ácido 19-C ciclopropeno, siendo muy baja la proporción en ácido hexadecanoico (16:0)⁴³ Además, el *H. pylori* es el único organismo que posee el ácido 3-hidroxiotadecanoico.⁴⁴ Este perfil de ácidos grasos es muy característico y al mismo tiempo diferencia a *H. pylori* del resto de las bacterias pertenecientes al género *Campylobacter*, lo cual llevó, a crear el nuevo género *Helicobacter*.¹⁹

2.3.2.3. PROTEÍNAS Y LIPOPOLISACÁRIDOS DE LA MEMBRANA EXTERNA

El conocimiento del genoma de *H. pylori* ha sido de gran utilidad en la identificación de las enzimas que participan en la biosíntesis de los lipopolisacáridos.

El núcleo antigénico de la membrana externa de *H. pylori* está constituido por lipopolisacáridos específicos de grupo y por otros antígenos formados por cadenas laterales de lipopolisacáridos específicos de cepa.

El análisis molecular de la estructura de lipopolisacáridos y puede ser de gran utilidad en futuras investigaciones de la biosíntesis de los lipopolisacáridos y el papel de esta molécula en la infección.³⁶

2.3.3. CARACTERÍSTICAS DE VIRULENCIA

El *H. pylori* posee características estructurales y bioquímicas que le permiten colonizar la mucosa gástrica del estómago, inducir daño en los tejidos o liberarse de los mecanismos de defensa del huésped. Entre las características de virulencia podríamos destacar.

La estructura curvoespiral

La propia estructura de la bacteria le permite introducirse a través de la capa de moco gástrico actuando de forma similar a un sacacorchos y favoreciendo por tanto el acercamiento a las células parietales gástricas.⁴⁵

La movilidad

H. pylori posee de 4 a 6 flagelos polares que le confieren una gran movilidad y le permiten desenvolverse en la viscosidad del moco gástrico, el cual, con sus características físico-químicas, es uno de los principales mecanismos defensivos del huésped.⁴⁶

Actividad ureasa

El *H. pylori* es capaz de resistir el ácido a través de una cascada de fenómenos moleculares que mantienen un nivel de pH aproximado de 6 en el espacio periplásmico. Un transportador selectivo de la ureasa, presente en la membrana interna, es inactivado mediante un cambio químico inducido por purinas y urea, el cual se ha introducido mediante infusión en el espacio plásmico independiente. Este

cambio en el transportador selectivo de la ureasa permite que la urea penetre en el citoplasma donde es inmediatamente escindida por la ureasa presente a este nivel, dando lugar a la formación de amoníaco. El amoníaco probablemente se difunde por el mismo canal al espacio periplasmático, manteniendo con su alcalinidad el pH de 6.⁴⁷

Actividad catalasa y superóxido dismutasa

Estas enzimas protegen a la bacteria frente a los factores tóxicos de los metabolitos (H₂O₂) producidos en las reacciones de peroxidación de los ácidos grasos saturados de cadena larga, mecanismos oxidativos de defensa, tanto de los macrófagos como de los neutrófilos del huésped.⁴⁷

Capacidad de adherencia

La membrana que recubre los flagelos desempeña un importante papel en la protección de los flagelos y en su adherencia. Posee una gran variedad de adhesinas que reconocen de forma específica a los receptores de la mucosa gástrica.⁴⁷

Inhibición de la secreción ácida

Su identidad y su mecanismo de acción no es bien conocido; se sabe que es una proteína termolábil que no es tóxica para el epitelio gástrico, si bien podría tener una acción antisecretora sobre las células parietales. Su acción determinaría una hipoclorhídria transitoria en individuos recientemente colonizados, facilitando así el asentamiento de la bacteria.⁴⁸

Capacidad hidrófoba

La hidrofóbia de la superficie del *H. pylori*, se encuentra por encima del 90%, muy superior a la de muchos microorganismos. Esta característica le confiere una mayor afinidad por la mucosa gástrica, facilitando su penetración.⁴⁷

Microaerofilia

El *H. pylori* es un germen microaerófilico, es decir, necesita O₂, a bajas concentraciones. La concentración óptima de O₂ para su crecimiento es entre 2 y 8%. La supervivencia del microorganismo en el interior de la mucosa gástrica, en la que la tensión de O₂ es baja, está asegurada por su microaerofilia, permitiéndole mantenerse en un medio seguro, lejos de los efectos del pH bajo y de la respuesta celular del hospedador.⁴⁸

Los mecanismos de patogenicidad y la respuesta inflamatoria a la infección se comentarán de forma más extensa en la patogenia de la úlcera duodenal.

2.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*

2.4.1. PREVALENCIA E INCIDENCIA DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*

Los estudios de prevalencia de la infección por *H. pylori* muestran importantes diferencias según se analicen poblaciones de diferentes países,⁴⁹ o incluso, en áreas geográficas diferentes de un mismo país.⁵⁰ También, varía según la edad de los grupos de población estudiados,⁵¹ las diferencias étnicas o raciales.⁵²

El riesgo de infección a lo largo de toda la vida en las personas que viven en países desarrollados es de aproximadamente el 40% al 60%; pero llega a ser del 90% o más, en los países en vías de desarrollo, en los cuales más del 50% de la población está ya infectada a los 10 años de edad.⁵³ En cambio, en los países desarrollados sólo un 5% 10% de los niños están infectados a la edad de 10 años.⁵⁴

Debido a las diferencias en la prevalencia y las dificultades para determinar la incidencia según la clínica, ya que los síntomas de infección aguda pasan desapercibidos, los investigadores han sometido a cohortes de población, a pruebas de diagnóstico para *H. pylori*, de forma repetitiva, en un seguimiento de varios años de evolución. La seroconversión anual en adultos en los países en vías de desarrollo fue 1,9%. A pesar de las diferencias en los diseños, los datos procedentes de los estudios realizados en los países industrializados muestran resultados concordantes, con una incidencia estimada de 0,3%-1%, por año.⁵³ En la población infantil de los países desarrollados, la tasa de incidencia fue más elevada que en los adultos, siendo del 2,7 por año; las tasas de incidencia observadas en los estudios prospectivos son muy similares la incidencia de reinfección que se observa en los pacientes tratados.⁵⁴ En Estados Unidos, la tasa de adquisición de la infección fue cuatro veces superior entre la población infantil de raza negra que entre los de raza

blanca y la infección se curó en el 50% de los niños infectados blancos y sólo en el 5% de los niños de raza negra.⁵⁵ En un estudio de cohortes realizado en la población infantil de Tailandia, la incidencia de la infección fue de 7% por 6 meses.⁵⁶

Es ampliamente aceptado que la incidencia de *H. pylori* ha disminuido a lo largo del tiempo en los países industrializados paralelamente con la mejoría de las condiciones higiénicas y socioeconómicas. Aunque no ha sido confirmado por todos los estudios,⁵⁷ es posible que los individuos de mayor edad, pueden haber nacido en una época en la que el riesgo de infección era mayor (efecto cohorte).⁵⁸

Para conocer la seroprevalencia de la infección por *H. pylori* en la población de Terrassa, se realizó un estudio prospectivo desde septiembre-96 hasta octubre-97, de 534 muestras de sueros de individuos entre 1 y 64 años; en las gráficas se muestran la positividad de IgG según la edad de los individuos. La seroprevalencia de la infección en nuestro medio fue superior a la descrita en los países desarrollados, con dos picos de seroprevalencia entre los 7 y 10 años y otra entre los 15 y 16 años.⁵⁹

Tabla 2: Seroprevalencia de IgG –*H. pylori* en la población infantil de Terrassa.

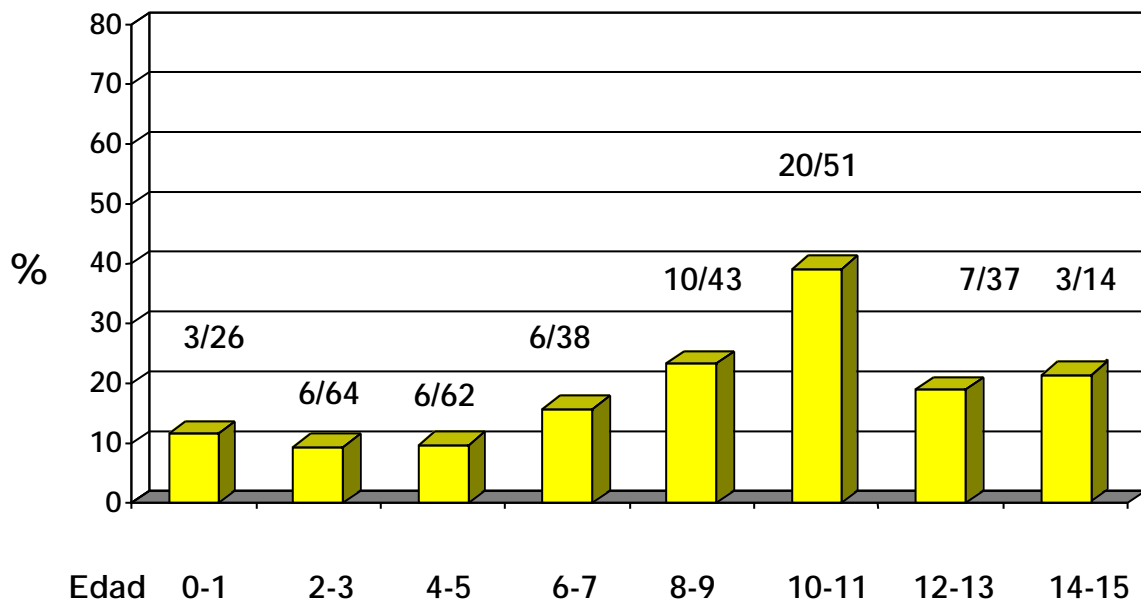
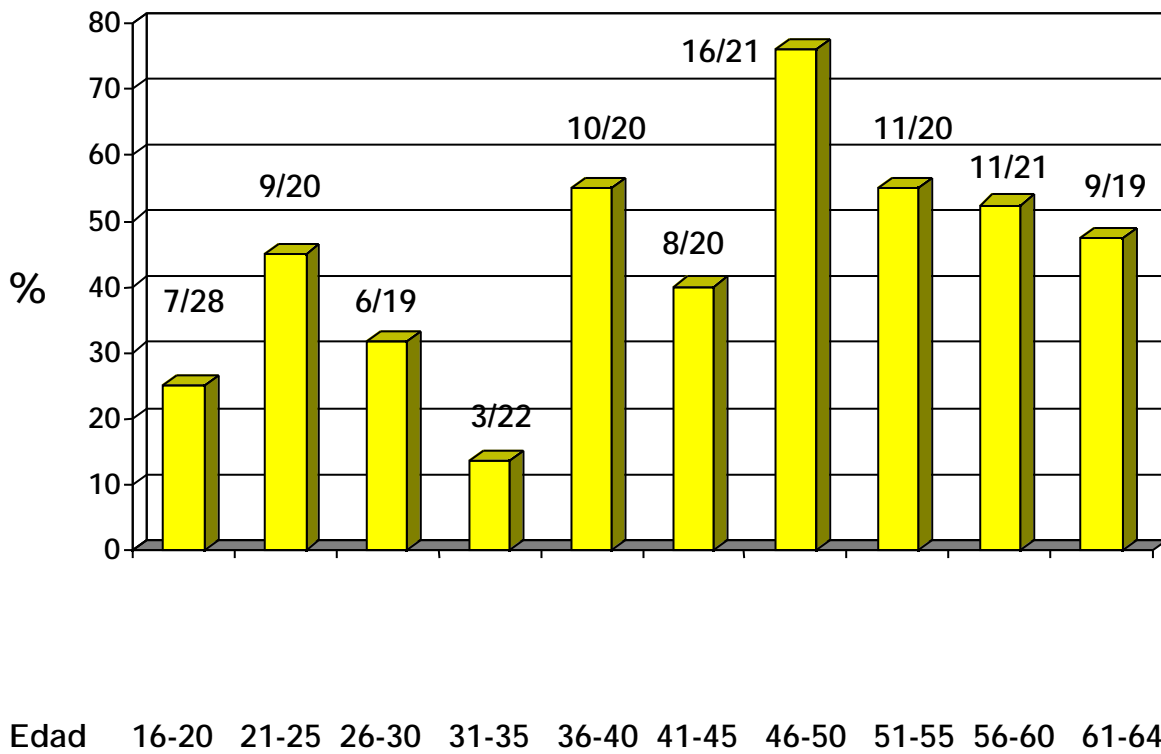


Tabla 3: Seroprevalencia de IgG –*H. pylori* en la población adulta de Terrassa.



2.4.2. FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN POR *H. pylori*

Prácticamente todos los estudios han demostrado que existe una relación inversa entre la infección por *H. pylori* y el nivel socioeconómico⁶⁰ o el nivel de educación.⁶¹ Varios estudios sugieren que el nivel socioeconómico durante la infancia puede ser un indicador más fiable de riesgo de infección por *H. pylori* que el nivel socioeconómico actual, lo que refuerza los datos de incidencia y prevalencia que señalan que la infancia es el periodo crítico para adquirir la infección.^{62, 63}

También se consideran factores de riesgo, los antecedentes familiares (padres) de enfermedad ulcerosa,⁶⁴ cáncer gástrico,⁶⁵ o factores ambientales como las prácticas higiénicas.⁶⁶ El tener el cónyuge infectado no se considera factor de riesgo.⁶⁴

En la mayoría de los estudios, la prevalencia de la infección en relación con la edad es igual para ambos sexos, sin embargo, en algunos países desarrollados, se ha descrito una mayor prevalencia de infección entre los hombres que entre las mujeres.⁶⁷

Se ha descrito una mayor prevalencia de la infección en sujetos de raza negra que en blancos, (hasta del 70% *versus* 34%), independientemente de la edad, sexo, ingresos económicos, nivel educativo o consumo de tabaco y alcohol.⁶⁰

Se ha relacionado la infección por *H. pylori* con determinadas profesiones, fundamentalmente relacionadas con la sanidad. Algunos estudios han encontrado una mayor prevalencia de *H. pylori* frente a *H. pylori* entre el personal de enfermería,⁶⁸ dentistas⁶⁹ y entre médicos endoscopistas.⁷⁰ En este sentido, otros estudios publicados en la literatura han mostrado resultados contradictorios.⁷¹ El consumo de tabaco, alcohol y de fármacos antiinflamatorios no esteroideos no se asocia, en la mayoría de los estudios, a una mayor prevalencia de la infección por *H. pylori*.

2.4.3. RESERVORIO Y MECANISMO DE TRANSMISIÓN de *H. pylori*

La mayoría de los estudios demuestran que el hombre es el principal reservorio de la infección.⁷² Además de la mucosa gástrica, se puede aislar también en otras áreas donde existan células gástricas, siendo la más importante desde el punto de vista patogenético el duodeno, donde es frecuente la presencia de áreas de metaplasia. También se han encontrado en áreas de metaplasia antral en el esófago de Barrett y en el recto.⁷³

Aunque algunos estudios han aislado y cultivado *H. pylori* a partir de muestras de la saliva o de la placa dental, la frecuencia de aislamiento es variable; en otros sólo se ha confirmado su presencia de forma accidental y en otros no se ha conseguido aislar en ninguna de las muestras. Shames et al.,⁷⁴ encuentran mediante estudios de ADN, la misma cepa de *H. pylori* en la placa dental y en el estómago. Estos estudios apoyan la hipótesis de que la cavidad oral, en especial la placa dental, podrían actuar como un importante reservorio. No es conocido el mecanismo por el que el *H. pylori* alcanza la cavidad oral. Es posible que provengan del reservorio gástrico como consecuencia del reflujo gastroesofágico.⁷⁵

El mecanismo de transmisión de la infección, es una de las incógnitas más trascendentales de la epidemiología del *H. pylori* ya que impide la posible aplicación de medidas preventivas. Se barajan diferentes posibilidades siendo la transmisión persona-persona ya sea por contaminación vía fecal-oral o vía oral-oral, la más convincente.

El *H. pylori* se ha detectado también en gatos⁷⁶ y ovejas. A pesar de ello, hasta la actualidad, ningún estudio ha demostrado la contaminación humana a partir de animales infectados, o viceversa. También se han cultivado *H. pylori* a partir de muestras de *Musca domestica*. El *H. pylori* se ha detectado también en gatos⁷⁷ Sin

embargo, Osato et al.,⁷⁸ no consiguen recobrar *H. pylori* en heces tras la exposición a moscas domésticas, lo que iría en contra de que la mosca doméstica pueda comportarse como un vector de transmisión o reservorio de la infección.

2.5. DIAGNÓSTICO DE LA ÚLCERA PÉPTICA

La endoscopia digestiva alta es la exploración de elección cuando se sospecha patología del tracto digestivo superior. Su rentabilidad diagnóstica es superior a la de la radiología y permite además la obtención de biopsias para su estudio histológico, microbiológico, y la prueba rápida de la ureasa. En la actualidad, la práctica de la endoscopia en el estudio de los pacientes con dispepsia es un tema muy controvertido. Sin embargo, hay un consenso generalizado en afirmar que es obligada en pacientes de 45 años que debutan con un cuadro de dispepsia y en todos los pacientes dispépticos cuando hay signos de "alarma".

En los pacientes con úlcera gástrica siempre se realizarán biopsias gástricas para el estudio histológico, a fin de descartar un proceso neoplásico; en estos pacientes, es obligada la práctica de una segunda endoscopia para confirmar la cicatrización de la úlcera.

Aunque lo ideal sería realizar la endoscopia lo antes posible, en la práctica clínica esto no es así, dada la larga lista de espera que hay en la mayoría de los centros, y que hace imposible dejar sin tratamiento a los pacientes sintomáticos.⁷⁹

La mayoría de los pacientes a los que se les realiza la exploración, han recibido o reciben tratamientos con antisecretores que pueden interferir en la detección de

H. pylori o enmascarar patología esofágica, o gastroduodenal previa. Hasta un 75% de las úlceras duodenales cicatrizan con inhibidores de la bomba de protones durante 15 días⁸⁰ y un 30% con placebo.⁸¹

Los costes de la endoscopia varían según los diversos contextos sanitarios. A diferencia de los países Anglosajones, en nuestro País, la endoscopia no es una exploración cara. Un estudio reciente muestra que el coste de una endoscopia (sin biopsias) en un hospital de tercer nivel tiene un coste de 11.800 pesetas.⁸²

Los hallazgos endoscópicos asociados a gastritis por *H. pylori*: patrón vascular aumentado, edema, eritema, patrón nodular, erosiones planas, exudados..., en general, tienen una baja sensibilidad, pero su especificidad es relativamente alta cuando se describe un patrón nodular.⁸³ Además, estos cambios endoscópicos asociados con infección por *H. pylori* se correlacionan con los hallazgos histológicos de inflamación, actividad neutrófila, atrofia y metaplasia.⁸⁴

2.6. DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*

En los últimos años se han publicado varios estudios comparativos de los diferentes métodos diagnósticos de la infección por *H. pylori*, que han confirmado que hasta la actualidad no disponemos de ningún método infalible en el diagnóstico de la infección.

85-88

En general, todos los métodos diagnósticos tienen entre un 5-10% de falsos (+) o falsos (-) y a la hora de valorar nuevas técnicas sólo se puede considerar como verdadero "gol standard" la concordancia de varios métodos.

Clásicamente se han dividido en métodos invasores y no invasores según si precisan o no la práctica de una endoscopia con toma de biopsias. Quizás sería más correcto clasificarlos como "agresivos", ya que la endoscopia es la exploración peor tolerada por el paciente.

2.6.1. PRUEBA RÁPIDA DE LA UREASA

Se basa en la capacidad que tiene el *H. pylori* de producir grandes cantidades de la enzima ureasa. Otras bacterias, (*Proteus*, *Klebsiella*, *Yersinia*) presentes en la mucosa gástrica puede producir ureasa pero en menor cantidad.⁸⁹ Si la biopsia gástrica está infectada por *H. pylori*, la ureasa hidroliza la urea para convertirla en amonio y en anhídrido carbónico. Esta reacción es alcalina, lo que modifica el color del indicador rojo fenol añadido, que cambia de color amarillo a rojo. El cambio de color puede ser inmediato (<5 minutos), lo que indica un mayor número de bacterias, o tardío, hasta 24 horas después de tomar la biopsia.

Aunque las soluciones de urea pueden ser preparadas sin dificultad en los laboratorios de bacteriología, en la práctica clínica, la mayoría de los endoscopistas utilizan preparados (soluciones o gelatinas) comerciales: CLO-test, CU-test, JATROX-test. La sensibilidad y la especificidad, de todas ellas, son en general de más del 90% y del 95%, respectivamente. Recientemente se ha comercializado PyloriTek, que tiene la ventaja de requerir un menor tiempo de lectura. Sin embargo, en un estudio comparativo con CLO-test, en el que se utilizó como "patrón oro" la histología, presentó en la primera hora un mayor número de falsos positivos (29% *versus* 8%).⁹⁰ Así mismo, la sensibilidad del test disminuye de forma ostensible (50%)

en los controles postratamiento.⁹¹ En un reciente estudio, se demuestra que uno de los principales fallos de esta técnica es la lectura inapropiada (antes o después de las 24 horas) del test.⁹²

Los resultados falsos (+) de la prueba rápida de la ureasa, que son raros, pueden producirse en pacientes con intensa aclorhidria por sobrecrecimiento de bacterias productoras de ureasa (*Proteus*, *Klebsiella*, *Yersinia*). También serían falsos (+) los cambios de color que se dan si la biopsia contiene sangre o bilis que puede mostrar una ligera coloración rosada, no rojo intenso.

La sensibilidad de la técnica depende de la cantidad de bacterias en la biopsia. Se necesitan como mínimo 10.000 bacterias para que el resultado sea positivo.⁹³ Pueden haber falsos (-) si el número de gérmenes en la biopsia es escaso, por biopsias de pequeño tamaño, o por baja colonización en pacientes tratados con inhibidores de la bomba de protones, sales de bismuto o antibióticos; algunos autores recomiendan que para confirmar la erradicación tras el tratamiento no se use como único método diagnóstico.⁹⁴ Se ha sugerido que la sensibilidad de la técnica puede aumentar si se toman 2 biopsias gástricas en vez de una. Esto es particularmente importante en pacientes con atrofia y metaplasia intestinal severa que no tienen *H. pylori* en la biopsia que pueden presentar falsos (-) por error de muestra.⁹⁵

La sensibilidad del test disminuye de forma significativa (45,5% *versus* 72%)⁹⁶⁻⁹⁸ en los pacientes con hemorragia digestiva y sin antecedentes de tratamiento previo. Sin embargo, la hemorragia digestiva no parece interferir en los resultados de la histología o del test del aliento en el diagnóstico de la infección.⁹⁶⁻⁹⁸ Esto podría estar en relación con el posible efecto tampón de la albúmina sérica sobre el indicador de *pH*, más que por un efecto directo sobre la inhibición de la actividad de la ureasa.⁹⁹

2.6.2. CULTIVO

El cultivo es el método de mayor especificidad (100%) en el diagnóstico de la infección para *H. pylori*. Sin embargo, la sensibilidad varía mucho entre los diversos centros oscilando entre el 60% y el 98%.^{100, 101}

Su crecimiento es lento. Las primeras colonias suelen aparecer entre el 5º y el 7º día, y pueden tardar hasta 10 días. La identificación del *H. pylori* se hace por la actividad de sus enzimas bacterianas: ureasa, oxidasa y catalasa.¹⁰²

La densidad bacteriana, las condiciones de transporte, los medios de cultivo, las condiciones de incubación o el tratamiento previo del paciente con omeprazol,¹⁰³ antibióticos, sales de bismuto o benzocaina,¹⁰⁴ pueden influir en la sensibilidad del cultivo. Los resultados mejoran al incluir 2 biopsias antrales, procesar lo más rápido posible las muestras o utilizar un medio de transporte comercial (Portagerm-pylori, BioMérieux).¹⁰⁵ Los métodos de esterilización del material de endoscopia han sido otro punto muy debatido. Sin embargo, se ha demostrado, que la preinmersión de las pinzas de biopsias en formalina¹⁰⁶ o su desinfección con glutaraldehído no interfiere en los resultados del cultivo.¹⁰⁷

Para conseguir un buen crecimiento de *H. pylori*, se recomienda, la utilización de dos medios de cultivo no selectivo suplementado con sangre y selectivo con diversos antibióticos que inhiben la flora bucal.¹⁰⁸ En un reciente estudio,¹¹⁰ realizado en el Servicio de Microbiología de nuestro hospital en el que se comparó 3 medios de cultivo y 2 medios de transporte en el aislamiento de *H. pylori*, la utilización de un medio de cultivo con sangre de caballo, suplementos nutricionales y antibióticos, como es el Pylory–agar resultó imprescindible, para obtener sensibilidades superiores al 60%. Aunque se aconseja restringir la utilización de un medio específico de transporte en los casos en los que el procesamiento de la muestra sea superior a las 24 horas¹⁰⁹ en

nuestro estudio el uso de un medio de transporte enriquecido y suplementado con antibióticos incrementó significativamente el aislamiento de *H. pylori* con cualquiera de los medios de cultivo utilizados, a pesar de que las muestras se sembraron en el transcurso de la hora siguiente a su obtención.¹¹⁰

El cultivo de las biopsias gástricas es el más aceptado para aislar *H. pylori*, pero también se ha aislado a partir del cultivo de jugo gástrico y de las heces,¹¹¹ y del material obtenido con la "prueba del hilo" disponible comercialmente¹¹²

Cuando se precisan resultados rápidos se puede utilizar la microscopía directa de biopsias recién obtenidas. Una tinción de Gram es fácil de realizar, con una sensibilidad que suele ser próxima al 90%¹¹³ y una especificidad cercana al 100%, sobretodo si se obtienen muestras simultáneas de antro y fundus.¹¹⁴ La técnica no se puede realizar cuando se utilizan los medios de transporte comercial.

El cultivo de *H. pylori* no es necesario para el diagnóstico rutinario de la infección, y presenta mayores inconvenientes en comparación con otras técnicas diagnósticas, pero es muy válido a la hora de tipificar el organismo y por ahora el único método que permite analizar, de forma rutinaria la sensibilidad a los antibióticos. Si embargo, el cultivo y el antibiograma tienen una indudable utilidad asistencial en los pacientes en los que ha fracasado el tratamiento erradicador. Además, es una técnica indispensable en estudios epidemiológicos y en el control de la evolución de la resistencia a los antibióticos. Permite estudiar los factores de virulencia del germen y nuevos antígenos para técnicas de diagnóstico serológico. Es el único método que demuestra la viabilidad del microorganismo, siendo de gran valor para estudiar posibles vías de transmisión.¹¹⁵

La comparación de las resistencias entre los diversos países es casi imposible dada la falta de estandarización de los métodos de susceptibilidad *in vitro* de los agentes antimicrobianos frente a *H. pylori*, o la determinación del punto de corte entre sensibilidad y resistencia. La mayoría de los autores coinciden con que el E-test

es probablemente el mejor método para comprobar la sensibilidad del *H. pylori*. Recientemente, en Europa y en Estados Unidos, se han intentado unificar los criterios para facilitar y mejorar la monitorización de la resistencia microbiana del *H. pylori* en el futuro.^{116,117}

Existe la opinión generalizada de que asistimos a ante un aumento progresivo de las resistencias a metronidazol y claritromicina a nivel mundial,¹¹⁸ que influiría de forma negativa en la eficacia de los tratamientos más utilizados en la actualidad.

Con respecto al metronidazol, los estudios de susceptibilidad han demostrado resultados discordantes según el método utilizado.¹¹⁹ La prevalencia de resistencia al metronidazol entre las cepas de *H. pylori* es muy variable, incluso entre grupos de población de un mismo país;^{120, 121} oscila entre un 11% y un 70% en los países desarrollados,^{122, 123} llegando casi al 90% en los países en vías de desarrollo.¹²⁴ Esto puede ser debido a la gran heterogenicidad del fenotipo entre las diversas cepas; en un mismo huésped se pueden detectar subpoblaciones de *H. pylori* metronidazol-sensibles y metronidazol-resistentes.¹²⁵

La resistencia a claritromicina varía de unos países a otros, con relación a su utilización sobre todo en el tratamiento de infecciones respiratorias. En Europa oscila entre 1% y 15%. La susceptibilidad *in vitro* muestra una buena correlación con los resultados de los tratamientos. Después de un tratamiento ineficaz, la aparición de resistencia adquirida es elevada.¹²⁶

La incidencia de resistencia a tetraciclinas es baja y excepcional la resistencia a amoxiciclina.¹²⁷

2.6.3. PRUEBAS SEROLÓGICAS

Se basan en la detección de anticuerpos circulantes específicos frente a antígenos de *H. pylori*. Actualmente es posible determinar inmunoglobulinas séricas tipo IgG, IgA, IgM, e IgE específicas frente a *H. pylori*. La inmunoglobulina predominante entre los anticuerpos circulantes es IgG. Estas técnicas indican una exposición al microorganismo, pero no discriminan entre la infección activa o exposición previa en individuos sanos.

Se han utilizado diferentes procedimientos serológicos. Sin embargo, las técnicas de enzimoimmunoanálisis (EIA-ELISA) son las que se utilizan con más frecuencia, constituyen un método diagnóstico rápido y sencillo, y permiten obtener resultados de forma cuantitativa con lo que se pueden establecer diferentes puntos de corte de positividad (cut-off) para diferentes grupos de población, así como evaluar la respuesta al tratamiento. Existen numerosos preparados comerciales. Su rendimiento diagnóstico difiere substancialmente según el fabricante.^{128,129} Los preparados comerciales que determinan IgG son mejores que los que determinan de forma simultánea IgG, IgM e IgA o IgA de forma exclusiva según el estudio comparativo realizado por Laheij et al.¹³⁰ En la mayoría de los estudios publicados, en el diagnóstico de la infección, la sensibilidad de la serología, independientemente del preparado comercial, es alta (90%).^{67,131-134} Sin embargo, la especificidad es más variable,^{129, 130, 135, 136} por la prolongada persistencia de Ac en sangre después de erradicar la infección. A pesar de ello, la especificidad alcanzada en la población infantil, hace que la serología sea un buen marcador para predecir la infección entre esta población. Las discrepancias en cuanto al valor diagnóstico de la serología hacen que estas pruebas tengan que ser convenientemente validadas en la población a estudiar, antes de su aplicación en un determinado medio sociosanitario.¹³⁶

En la tabla 4 se muestra la sensibilidad y especificidad de la serología en población adulta, en los estudios realizados en nuestro país, la mayoría de ellos con un escaso número de pacientes.¹³⁷⁻¹⁴⁵

La rentabilidad de la serología en la monitorización de la terapia se relaciona directamente con los niveles de anticuerpos existentes en el momento del diagnóstico y entre las muestras pre y postratamiento. A fin de evitar la variabilidad inter-ensayo se recomienda analizar simultáneamente las muestras pre y postratamiento.

A las 4-6 semanas después de finalizar el tratamiento, los niveles de Ac séricos descienden en la mayoría de los pacientes independientemente de la efectividad de la terapia. Este descenso inespecífico puede ser debido a una disminución del inoculo bacteriano. A los 3-6 meses después del tratamiento, el descenso continuo de Ac sólo se mantiene en los pacientes realmente curados. En los pacientes no erradicados, tras la caída inicial, si la hubo, esta se mantiene estable o se sigue de una nueva elevación. Los estudios que han valorado la eficacia de la serología en el control a las 4-6 semanas postratamiento han mostrado resultados discordantes^{136, 146}

Tabla 4. Sensibilidad y especificidad de la serología en población adulta, en estudios realizados en nuestro país.

Autor-año	ELISA	Nº	Sensibilidad % (ICdel 95%)	Especificidad % (ICdel 95%)
Navarro , 1992	Pylori stat test Pyloriset (látex)	48	100 46	73 82
Pozuelo, 1993	Biometra	309	89,3	75,7
Juncal, 1998	Pyloriset EIA-G test Chemipharma Hp Plate Milenia-HpG	48	94,3 78,8 85,3 80	88,9 100 87,5 66,7
Forné, 1999	Wanpole	452	90,9 (88-93)	50 (71-89)
Romero, 2000	Pyloriset IgG test	82	91 (75,2-97,7)	50 (13,9-86,1)
Griño, 2000	--	48	88,6	66,6
Gisbert, 2000	Immulate H p-IgG FlexPack™ Hp (serología rápida)	39	96 (79-99) 31 (16-50)	91 (59-100) 91 (59-100)
Gisbert, 2001	--	100	76	62
Lera, 2001	--	314	96 (93-98,4)	71 (60-79,9)

Referencias 137-145

Pocos estudios han valorado la serología en el control a largo plazo de los enfermos tratados. En los estudios publicados, la caída del título de Ac ha oscilado entre un 20%^{88, 147-145} y > 50% a los 6 meses,^{133, 146} y entre un 20%¹⁴⁶ a un 55%^{133, 146, 150} a los 12-24 meses después del tratamiento; algunos autores han descrito valores indetectables de IgG a los 12 y 24 meses después de erradicar la infección.¹⁵¹ Estas diferencias en la rapidez del descenso de Ac podrían ser atribuidas al tipo de Ag utilizado en los diversos kits comerciales. La mayoría de estos preparados comerciales proceden de países desarrollados con baja prevalencia de infección y han sido valorados en la población adulta. En nuestra experiencia, el punto de corte óptimo en el descenso del título de anticuerpos en función de la sensibilidad y especificidad fue del 20% a los 6 y 12 meses y del 30% a los 24 meses.¹⁴¹

Los resultados falsos (+) de la técnica podrían ser secundarios a reactividades antigénicas cruzadas entre *H. pylori* y otras bacterias gramnegativas o que algunos de los pacientes libres de infección pueden presentar serología positiva probablemente debido a contactos previos con el bacilo. Se han descrito falsos (+) de la técnica cuando se utilizan como patrón oro métodos basados en el estudio de biopsias gástricas¹⁵² Sin embargo, algunos falsos (+) de la serología podrían ser, en realidad falsos (-) de otros métodos diagnósticos, ya que un 50% de pacientes con serología positiva y en los que no se pudo confirmar la existencia de *H. pylori* por ningún otro test, tenían gastritis crónica atrófica y/o metaplasia intestinal en las biopsias gástricas. Se ha especulado que estos pacientes presentan probablemente una infección por *H. pylori* con una baja colonización o distribución parcheada lo que impide su detección por el test del aliento o por histología.^{152, 153} Son necesarios más estudios que confirmen estos hallazgos. Otra posible causa de falsos (+) de esta técnica, podría darse en individuos que han erradicado o aclarado recientemente la infección persistiendo todavía cifras elevadas de Ac.

Los resultados falsos (-) pueden deberse, a estados de anergia, variabilidad antigénica de la cepa infectante o latencia de la respuesta immune humoral. Las causas de la ausencia de Ac en pacientes infectados podrían ser varias: a) que los pacientes produjeran Ac circulantes no detectables por los complejos antigénicos utilizados habitualmente o mutaciones;¹⁵⁴ b) fallo de la seroconversión del huésped,¹⁵⁵ c) incompetencia inmunológica para detectar Ag de *H. pylori*,¹⁵⁶ o una respuesta pobre en la producción de Ac en pacientes con infecciones leves por *Hp*.¹⁵³

Existen preparados comerciales tipo ELISA, que utilizan sangre capilar en lugar de suero y que permiten detectar de forma cualitativa y rápida IgG e IgA en la misma consulta. Con algunas excepciones,^{157,158} la mayoría de los estudios publicados demuestran que su sensibilidad y especificidad son inferiores a las obtenidas por una técnica ELISA de laboratorio,^{159,160} la histología, cultivo o el test del aliento,¹⁶¹ por lo que, por ahora, se desaconseja su utilización en la práctica clínica.^{162,163} Además, dado el lento descenso del título de Ac después de la erradicación con persistencia de títulos bajos, los tests cualitativos no están indicados en el control de la erradicación.

Los anticuerpos de *H. pylori* están también presentes en la saliva a una concentración inferior a la observada en la sangre. La sensibilidad y la especificidad son menores que las obtenidas con ELISA en suero o las de la prueba rápida en sangre total. Por todo ello, no es recomendable en la práctica rutinaria.¹⁶ En Japón, se ha comercializado un preparado que detecta Ac anti-*H. pylori* en orina,¹⁶⁵ pero no ha sido validado en Europa ni en Estados Unidos.

La detección de Ac específicos IgA frente a *H. pylori* en heces ha sido descrita por Tinnert et al.¹⁶⁶ En los pacientes infectados, demuestran un incremento en la concentración de Ac frente a preparados de proteínas de membrana y proteínas

flagelares, sugiriendo que la detección de estos Ac podría ser útil para valorar la eficacia del tratamiento a las 5 -7 semanas después de finalizarlo.

La prueba Premier Platinum *HpSA* es un ELISA que utiliza Ac policlonales y que detecta antígeno específico de *H. pylori* en heces. Es una técnica muy sencilla, rápida y accesible a todos los laboratorios, siendo especialmente interesante en el diagnóstico de la infección en niños en los que en ocasiones la obtención de muestras para el test del aliento es dificultosa. Los estudios publicados han demostrado una alta sensibilidad (80%-98%) y especificidad (87%-98%) en el diagnóstico primario de la infección.¹⁶⁷⁻¹⁷⁵ En el control postratamiento, los resultados son algo más discordantes, la sensibilidad osciló entre 68,3% y 95,3% y la especificidad entre 68,3% y 95,4% respectivamente. Se precisan más estudios que definan con claridad su papel en el control postratamiento.^{167-169, 174}

Las discrepancias entre los resultados, de algunos de los estudios publicados, podrían ser debidas a las diferencias en el punto de corte utilizado o que se han estudiado poblaciones de diferentes áreas geográficas. Los resultados dudosos o en el límite de la positividad se han valorado de forma diferente o han sido excluidos del análisis final en algunos estudios. Trevisani et al. ,¹⁷⁶ encuentra un 2,3 % de resultados dudosos del test HpSA en las muestras obtenidas en 300 pacientes, la sensibilidad y la especificidad fue 96,8% y 89,7%, respectivamente. Sin embargo, si los resultados dudosos se valoraban como positivos en el análisis final, los porcentajes fueron 95,8% y 98,7%, respectivamente.

Recientemente, se ha demostrado que la inclusión de pacientes con hemorragia digestiva reciente, interfiere en la sensibilidad (66,7%)¹⁷⁷ y en la especificidad (33,3%- 66,6%) del test.^{142, 178}

Pero la principal discrepancia radica en la presencia de resultados falsos (+) cuando no hay infección. Esto puede ser debido a los antígenos que detecta el test,

que podrían tener reacciones cruzadas con otros antígenos, o detectar antígenos de cepas de *H. pylori* no viables, o a posibles diferencias antigénicas geográficas. Así, Ohkura et al.,¹⁷⁸ describen en su estudio como punto de corte óptimo 0,300, muy superior al descrito por la casa comercial. Esto es posiblemente debido a la alta prevalencia cepas *cagA*+, que se caracterizan por una mayor densidad de colonización del patógeno. Estos resultados confirman la necesidad de validar localmente el test. En el último estudio de Makristathis et al. ,¹⁷⁹ obtiene un menor resultado de falsos (+) respecto un estudio previo, lo que apoyaría la posibilidad de variaciones intertest del HpSA que explicaría los resultados controvertidos descritos en la literatura.

Recientemente se ha comercializado un nuevo ELISA (Femtolab *H. pylori*; Connex, Martinsried, Germany) que utiliza Ac monoclonales contra Ag específicos de *H. pylori*. Los estudios preliminares publicados,¹⁷⁹ la mayoría en forma de abstract,¹⁸⁰⁻¹⁸² han mostrado una mayor eficacia de este test, tanto en el diagnóstico de la infección como en el control postratamiento, siendo equiparable al test del aliento con ¹³C. Son necesarios más estudios que confirmen estos resultados. También ha comercializado un test cualitativo que se puede realizar en la misma consulta y que permite obtener resultados en pocos minutos. Hasta ahora, sólo se ha publicado resultados preliminares en forma de abstract, con muy buenos resultados, sensibilidad 95% y especificidad 95%¹⁸¹

Se ha demostrado que los genes *cagA*, *vacA* e *iceA* confieren propiedades proinflamatorias y actividad citotóxica y vacuolizante al *H. pylori*. La proteína *cagA* es altamente inmunogénica. Más del 95% de los pacientes infectados por cepas *cagA*(+) desarrollan una respuesta serológicamente detectable anti-*cagA* que no se detecta normalmente en los pacientes no infectados;¹⁸³ en casos excepcionales, pueden estar

presentes en individuos sin infección.¹⁸⁴ Sin embargo, la estructura proteica del vacA y su respuesta serológica no está todavía aclarada. Las técnicas disponibles para determinar las cepas citotóxicas son del tipo Western-Blod, ELISA y recientemente inmunoblot recombinante. Los tests serológicos que valoran los marcadores de patogenicidad de *H. pylori*, podrían ser de utilidad a la hora de discernir entre *Helicobacter* "bueno" y "malo" y establecer que pacientes deben tratarse.¹⁸⁵

2.6.4. HISTOLOGÍA

La histología no sólo permite el diagnóstico de la infección, sino que además, proporciona información sobre los cambios morfológicos de la mucosa gástrica evaluando la densidad de *H. pylori*, la severidad de la gastritis, la actividad inflamatoria aguda, el daño epitelial, la presencia gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal o folículos linfoides. La valoración de la graduación de la gastritis según el sistema Sydney es reproducible aunque la valoración de la atrofia puede, mostrar una mayor variabilidad según los observadores.

Las muestras obtenidas pueden ser conservadas hasta su procesamiento en formaldehído. La elección del método de tinción depende más de la experiencia o de las preferencias del anatomopatólogo, que de una clara ventaja de una técnica sobre otra. Las más utilizadas son la tinción de Giemsa, que permite una rápida identificación de *H. pylori*, por su simplicidad y bajo coste es considerada como una de las de elección y la tinción de hematoxilina-eosina, que es la técnica más utilizada para el diagnóstico de las muestras incluidas en parafina. Su principal ventaja es que permite el diagnóstico y la graduación de la lesión histológica, no añadiendo costes ni

tiempo al procesamiento habitual de las biopsias. En los trabajos que comparan métodos de tinción, los mejores resultados se han obtenido con el Giemsa.¹⁸⁶ Sin embargo, otros estudios han obtenido buenos resultados con la hematoxilina-eosina y la tinción de Warthin-Starry.¹⁸⁷ y en otros no se han encontrado diferencias.¹⁸⁸ En los controles postratamiento, algunos autores aconsejan utilizar más de una técnica de tinción para confirmar la erradicación de *H. pylori*.¹⁸⁸

En pacientes sin gastritis crónica atrófica, el *H. pylori* puede aislarse con una densidad similar en toda la mucosa antral. Sin embargo, en pacientes con cambios sugestivos de gastritis crónica atrófica, sería aconsejable realizar la toma de biopsias en la gran curvatura gástrica, en la zona media del cuerpo o antro gástrico.¹⁸⁹

Los falsos (-) de la histología son raros y pueden ser debidos a errores de muestreo, pues la colonización del *H. pylori* es focal y pueden estar influidos por la toma de biopsias en áreas de metaplasia intestinal o de atrofia gástrica, o por un escaso número de bacterias en pacientes que han recibido tratamiento con inhibidores de la bomba de protones o antibióticos, al menos 7 días antes de la endoscopia.

Se han estudiado técnicas de inmunohistoquímica¹⁹⁰ e inmunofluorescencia,¹⁹¹ utilizando anticuerpos monoclonales¹⁹¹ y policlonales¹⁹² frente a *H. pylori*, aplicadas directamente en el material fresco de las biopsias, en cortes congelados, o en tejido fijado en formaldehído. Dada su complejidad, su elevado coste y que no aporta más ventajas sobre las tinciones habituales, no están indicadas como método diagnóstico de rutina.

2.6.5. CITOLOGÍA MEDIANTE CEPILLADO ENDOSCÓPICO

Se ha utilizado como método diagnóstico de la infección por *H. pylori* la realización de una citología mediante cepillado endoscópico y la posterior visualización mediante tinción de Papanicolau.¹⁹³ El germen es fácilmente identificable pero tiene el inconveniente de que el cepillado provoca la rotura del epitelio y de la barrera mucosa, con lo que el *H. pylori* queda expuesto a la acción del ácido gástrico. Este fenómeno puede explicar la baja sensibilidad observada con este método en algún estudio.¹⁹⁴

2.6.6. BIOLOGÍA MOLECULAR

Los métodos de biología molecular, especialmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han aportado una ayuda considerable no sólo en el campo del diagnóstico de la infección si no también en la tipificación bacteriana, en la detección de los factores genéticos responsables de la virulencia y en la resistencia a los antibióticos. Es un método muy sensible y específico, que permite obtener resultados rápidos y a diferencia del cultivo las muestras no requieren un medio transporte especial. Sin embargo, son técnicas laboriosas que requieren personal experimentado por no disponer de preparados comerciales y no están estandarizadas para su utilización como método de rutina en el diagnóstico de la infección.

Su gran sensibilidad puede dar lugar a falsos (+) de la técnica ya que puede detectar ADN de bacterias no viables. La PCR permite la amplificación y detección de un fragmento de ADN específico de *H. pylori*, y proporciona un control precoz del

resultado del tratamiento erradicador. La muestra más utilizada es la biopsia gástrica fijada en formaldehído o en parafina, aunque también se puede utilizar cualquier líquido orgánico: jugo gástrico, heces, bilis o saliva. La renovación constante de la mucosa gástrica conlleva el vertido permanente de bacterias al jugo gástrico que puede ser aspirado mediante sonda nasogástrica,¹⁹⁵ o con el uso de una cápsula ligada al extremo de un hilo.¹⁹⁶ Las diferencias de sensibilidad y especificidad obtenidas en los diferentes estudios pueden ser debidas a los diferentes tipos de tratamiento de la muestra antes de la extracción del ADN.¹⁹⁷

Aunque la mayoría de los métodos diagnósticos por PCR son técnicas de inmunoelectroforesis en gel, cada vez se extiende más el empleo de los métodos colorimétricos que permiten su automatización y obtener resultados más rápidos. Recientemente se han comercializado tres preparados que han sido comparados con PCR por inmunoelectroforesis y utilizando la histología y el cultivo como "patrón oro". La sensibilidad osciló entre 80%-85% y la especificidad entre el 68%-88%. En el control postratamiento la especificidad fue sólo del 50%.¹⁹⁸

Las técnicas de PCR utilizando muestras de heces son técnicamente difíciles porque la presencia de polisacáridos en las heces, procedentes de vegetales de la dieta, que inhiben la polimerasa.¹⁹⁹ La especificidad es muy buena, pero la sensibilidad es baja (73%).²⁰⁰

Los estudios que han valorado la detección de *H. pylori* por PCR en cavidad oral han mostrado resultados discordantes, en general con una baja sensibilidad, concluyendo que la mucosa oral no es uno de los sitios de colonización preferente de *H. pylori*.²⁰¹

También se ha detectado *H. pylori* en la bilis²⁰² y en tejido hepático²⁰³ mediante PCR y diversos estudios han demostrado la posibilidad de su implicación en la patogenia de hepatopatías idiopáticas que afectan al ser humano.

La PCR permite identificar los genes característicos de *H. pylori*. El mayor interés radica en la detección del gen *CagA*, que identifica las cepas más virulentas relacionadas con la úlcera péptica y el cáncer gástrico²⁰⁴ o en la investigación del gen *vacA* que se ha asociado con una mayor producción de citotoxinas.²⁰⁵ La búsqueda de estos genes se puede realizar directamente sobre la biopsia,²⁰⁶ o a partir de la cepa aislada en el cultivo.²⁰⁷

En un futuro próximo, la PCR se podrá utilizar para determinar la resistencia a los antibióticos. Ello será posible, gracias a los estudios sobre el mecanismo de las resistencias a los macrólidos, que viene determinado por una disminución de la fijación de estos macrólidos a los ribosomas, asociado a mutaciones en las posiciones 2143 y 2144 del gen del RNA ribosómico 23S.²⁰⁸

Se han desarrollado técnicas de PCR y secuenciación que permiten determinar que mutación se asocia a la resistencia a claritromicina de una cepa de *H. pylori* directamente de las biopsias gástricas sin necesidad del cultivo.^{209, 210}

Dada la gran variabilidad genética de *H. pylori*, el desarrollo de la PCR y la posibilidad del análisis del RNAr 16S por secuenciación, permite su identificación directamente a partir de los tejidos infectados,²¹¹ siendo de gran importancia a la hora de valorar aspectos epidemiológicos, detección de infecciones mixtas o en los estudios de reinfección o recrudescencia tras el tratamiento.²¹²

2.6.7. PRUEBA DEL ALIENTO CON UREA MARCADA CON ^{13}C o ^{14}C

La prueba del aliento se basa en la capacidad de la ureasa producida por *H. pylori* para hidrolizar con rapidez una solución de urea marcada, bien con ^{13}C o ^{14}C . El anhídrido carbónico marcado se absorbe, difunde a la sangre, es transportado a los pulmones y de allí excretado a través del aliento espirado. El ^{13}C tiene la ventaja frente al ^{14}C de que se trata de un material estable y no radioactivo, lo que permite realizar las pruebas tantas veces como sea necesario. Su inconveniente es que precisa para su medición un espectrómetro de masas, que es un utillaje caro. Las muestras se conservan a temperatura ambiente y pueden ser remitidas al centro de referencia sin requerir un medio de transporte especial.²¹³

Desde que en 1987 Graham et al.²¹⁴ describen la primera prueba del aliento específicamente diseñada para detectar *H. pylori* con el isótopo radiactivo ^{13}C , con la intención de simplificarla y optimizar su precisión, la técnica ha sufrido diversas modificaciones. La necesidad del ayuno previo a la prueba ha sido ampliamente debatida. Se recomienda el ayuno entre 4-6 horas antes de la prueba. Los resultados de los estudios son contradictorios; en algunos, no varían independientemente de que los pacientes estén en ayunas o no,^{215, 216} por el contrario, en otros estudios²¹⁷ encuentran un aumento de falsos (-) de la prueba cuando se realiza sin ayuno previo. La "comida de prueba" para enlentecer el vaciamiento gástrico, ha sido sustituida por la administración de ácido cítrico; el descenso del *pH* duodenal, disminuye la motilidad antral y relaja el fundus gástrico.²¹⁸ Además, disminuye la posibilidad de contaminación por flora orofaríngea productora de ureasa.²¹⁹

El tiempo de recogida de la muestra, las dosis del isótopo, los puntos de corte, o si el paciente ha de estar en decúbito supino y realizar cambios posturales durante la

misma, son otras de las modificaciones efectuadas.²¹³ En la actualidad, en la mayoría de los centros se utiliza el estándar europeo que consiste en:

1. Ayuno de 6 horas antes de realizar la prueba.
2. Ingestión de una solución azucarada de ácido cítrico edulcorada.
3. A los 10 minutos se tomarán las 2 primeras muestras basales de aliento espirado.
4. Inmediatamente se administrará la urea marcada con ^{13}C a dosis de 100mg disuelto en 50 ml de agua.
5. Mientras el paciente permanece sentado, y a los 30 minutos se procederá a la recogida de 2 nuevas muestras de aire espirado.

Los resultados son emitidos en unidades . Esta unidad es de uso internacional y es la expresión en tantos por mil de la relación de $^{13}\text{C} / ^{12}\text{C}$ del problema con respecto al patrón. Si la diferencia entre el valor basal y el valor de los 30 minutos es mayor de 5 unidades , se considera la prueba positiva para infección para *H. pylori*. El valor del punto de corte afecta a la sensibilidad y a la especificidad de la prueba: un valor bajo aumenta la sensibilidad y disminuye la especificidad; por el contrario, si se aumenta el punto de corte, la sensibilidad disminuye y la especificidad aumenta. Cuando se utiliza este método en adultos el punto de corte es de 3-5, reduciéndose a 3 en niños. Cuando el punto de corte se localiza en 5 unidades , la sensibilidad (98%-100%) y la especificidad (92%- 100%) en pacientes no tratados es muy alta;²¹³ sin embargo, en los controles postratamiento los resultados son algo más discordantes.^{220, 221}

Para aumentar la especificidad de la técnica, en los controles postratamiento, la prueba es mejor realizarla entre 4-6 semanas después de finalizar el tratamiento. Las causas más frecuentes de falsos (-) son la realización de la prueba antes de las 4 semanas de finalizar el tratamiento erradicador, o la toma de inhibidores de la bomba

de protones, antibióticos o sales de bismuto en el momento de la prueba o en los días previos.¹⁶² Aunque hay un consenso general, sobre el efecto adverso de los inhibidores de la bomba de protones, (17%-61% de falsos negativos), no queda claro cuando se ha de suspender el tratamiento antes de realizar la prueba. Se recomienda suspender el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones un mes antes, siempre que sea posible, a fin de mejorar su eficacia; pero se ha demostrado que entre 5 y 7 días son suficientes para revertir el efecto adverso de estos fármacos sobre la prueba.²²²⁻²²⁵ Savarino et al.,²²⁶ sin embargo, sugieren que lo más correcto sería suspender el tratamiento 2 semanas antes de la prueba.

Aunque los inhibidores H² no tienen efecto sobre *H. pylori*, estudios recientes han demostrado que Ranitidina a dosis altas puede causar alrededor de un 20% de falsos negativos de la técnica, revirtiendo este efecto si se suspende el tratamiento 5 o 7 días antes de la prueba.^{222, 224, 226}

Otra causa de falso (-) del test del aliento es un vaciamiento gástrico rápido, como ocurre en los pacientes con gastrectomía. Sin embargo, un trabajo demostró una sensibilidad y especificidad similar en los pacientes gastrectomizados que en los pacientes sin cirugía gástrica.²²⁷

En pacientes a los que se les ha realizado una endoscopia en las 4 horas anteriores, el resultado del test del aliento también puede ser falsamente negativo debido al cambio de la presión parcial de oxígeno en la luz gástrica que puede disminuir la actividad ureásica de *H. pylori*.²²⁸

También pueden obtenerse resultados falsos (+) por la producción de ureasa por otras bacterias en pacientes con aclorhídria, como consecuencia de una gastritis crónica atrófica, o por las bacterias orofaríngeas productoras de ureasa en caso de recoger las muestras de aliento antes de tiempo. En los primeros 15 minutos, las bacterias orofaríngeas pueden hidrolizar la ¹³C-urea a ¹³CO₂ para pasar directamente al aliento sin pasar por los pulmones;²²⁹ o por el contrario, si la toma de las muestras

se retrasa demasiado, se produce otra pequeña elevación por la acción hidroelectrolítica sobre la urea de la flora bacteriana colónica.²³⁰

Con la intención de reducir costes se han diseñado el sistema LARA (*Laser Assisted Ratio Analyzer*) basada en la capacidad analizadora del radar, y en la medición por infrarrojos NDIRS (Non-dispersive, Isotope, Selective, Infrared spectorcopy). Son alternativas válidas al espectómetro de masas, aunque tienen el inconveniente de que el número de muestras que se pueden procesar de forma simultánea es menor.²¹³

Estos aparatos pueden utilizarse en la misma consulta y permiten la obtención de los resultados en pocos minutos y no precisan de personal especializado para la lectura de los resultados. Los primeros estudios publicados han demostrado una excelente correlación entre el análisis de las muestras de aliento con espectroscopia con infrarrojos y el espectómetro de masas.^{231 - 233} En el diagnóstico de la infección el test del aliento con infrarrojos ha demostrado con una alta sensibilidad (96%- 100%) y especificidad (98%-100%) altas.²³⁴⁻²³⁶ En nuestro país, hasta la actualidad, sólo se ha publicado un estudio en forma de abstract en el que se ha valorado la efectividad del test del aliento mediante análisis con infrarrojos en pacientes con dispepsia, la sensibilidad fue de 89 % y la especificidad de 55 %.²³⁷ A pesar de los resultados previos, la especificidad con esta nueva técnica fue inferior a la obtenida cuando el test del aliento se analiza con espectómetro de masas.

2.6.8. DETERMINACIÓN DE GASTRINA Y PEPSINÓGENO

Diversos estudios han demostrado que la infección por *H. pylori* se asocia con una elevación de las concentraciones séricas de gastrina y pepsinógeno,²³⁸⁻²⁴⁰ que se observan tanto en individuos sanos infectados como en pacientes con úlcera péptica. Así mismo, la erradicación de *H. pylori* se acompaña de un descenso de las concentraciones séricas de gastrina y pepsinógeno, tanto en los pacientes con úlcera duodenal²⁴¹⁻²⁴³ o gástrica.²⁴⁴ En un reciente estudio, Bermejo et al.,²⁴⁴ concluyen que en los pacientes con úlcera gástrica la disminución de la gastrina se detecta inmediatamente después de la erradicación y se mantiene con el paso del tiempo. Sin embargo, la disminución de los valores basales de pepsinógeno I y II, se manifiesta al mes de finalizar el tratamiento y disminuye lentamente en los primeros 6 meses después de la erradicación y posteriormente permanece estable. En los pacientes con úlcera gástrica la comprobación del descenso de las concentraciones basales de pepsinógeno II es un método útil, precoz e indirecto para la confirmación de la erradicación y los valores de gastrina, pepsinógeno I y II podrían ser útiles en la valoración de la mejoría de la gastritis a los 6 meses después de finalizar el tratamiento.

En la Tabla 5 se resumen los valores de sensibilidad y especificidad de las distintas técnicas diagnósticas obtenidas en nuestro Servicio ²⁴⁵ y sus costes respectivos aproximados (presupuestos del año 2001).

Método diagnóstico	Sensibilidad	Especificidad	Coste ptas.
Endoscopia sin biopsias			8.200
P. de la ureasa rápida	97%	94,1%	600
Histología	98,2%	100%	4.100
Cultivo / antibiograma	77,4%	100%	1.900 / 3.900*
T. Aliento ¹³ C	95.5%	93.5%	5.100
Serología - ELISA	91%	50%	2.400
<i>HpSA</i> en heces	89,5%	77,8%	4.100

* Utilizando un medio de transporte comercial (Portagerm)

2.7. PATOLOGÍA GASTROINTESTINAL ASOCIADA A LA INFECCIÓN POR *H. pylori*.

2.7.1. INFECCIÓN AGUDA

Desde el aislamiento del *H. pylori* dos investigadores, Marshall ¹⁸ y Morris ²⁴⁶ han ingerido el organismo de forma voluntaria desarrollando el síndrome de gastritis aguda asociada a *H. pylori*. En el caso de Marshall el cuadro se resolvió espontáneamente, mientras que en el de Morris la infección se cronificó requiriendo tratamiento erradicador. El periodo de incubación osciló entre 2 y 7 días. Clínicamente el síndrome de la infección aguda se caracteriza por dolor epigástrico, náuseas, vómitos, flatulencia y malestar general. En algunos casos puede aparecer fiebre o vómitos mucosos. Es característico que estos síntomas se prolonguen durante una semana, desapareciendo posteriormente, sea o no, eliminado el microorganismo.

2.7.2. MANIFESTACIONES CRÓNICAS DE LA INFECCIÓN.

En las biopsias del antro gástrico de los pacientes adultos infectados por *H. pylori* se demuestra en la práctica totalidad de los casos, degeneración del epitelio de superficie que se relaciona estrechamente con la proporción de *H. pylori* en íntimo contacto con la membrana plasmática celular. ²⁴⁷ El infiltrado celular crónico inflamatorio que caracteriza a esta gastritis crónica se compone fundamentalmente de linfocitos, células plasmáticas y un pequeño número de eosinófilos. Existe una buena

correlación entre la densidad del infiltrado celular y el grado de extensión de la colonización por *H. pylori*.^{248, 249} La inflamación crónica aparece inicialmente en el antro, pero gradualmente se extiende desde la curvatura menor hasta afectar de forma difusa a todo el cuerpo gástrico. En la mayoría de los pacientes, todo el estomago está afectado, pero en algunos casos, habitualmente pacientes con úlcera duodenal y úlceras prepilóricas, la inflamación se mantiene más pronunciada en el antro, siendo mínima en el cuerpo gástrico. Se le añade el calificativo de "activa" si además del infiltrado celular crónico existe, una infiltración de polimorfonucleares localizados en la lámina propia, afectando el epitelio foveolar o la superficie de la mucosa. Se ha demostrado que desde un punto de vista endoscópico existe poca correlación entre los hallazgos macroscópicos y los hallazgos histológicos.²⁵⁰

El hallazgo de folículos linfoides, agregados de linfocitos con centros germinales, es otra de las características de las gastritis asociadas al *H. pylori*.²⁵¹ La forma más común de las gastritis, conocida hasta ahora como gastritis crónica tipo B o gastritis antral, quedaría englobada dentro de las gastritis crónicas y se asociaría a la presencia de *H. pylori*. La prevalencia de *H. pylori* en los pacientes con gastritis antral tipo B es prácticamente del 100%.

En una elevada proporción de pacientes con gastritis asociada a *H. pylori* con el paso de los años se produce una gastritis crónica atrófica y metaplasia intestinal. La atrofia se caracteriza por una pérdida del tejido glandular y de células parietales productoras de ácido, que es sustituido por tejido conectivo y metaplasia intestinal. La metaplasia intestinal se encuentra más frecuentemente en los pacientes *H. pylori* positivos que en los negativos.²⁵² La prevalencia, intensidad y extensión de la atrofia glandular en los pacientes con gastritis aumenta con la edad,²⁵³ posiblemente en relación con la duración de la inflamación.²⁵⁴

En general, la atrofia es máxima a nivel de la curvatura menor, en la región de la incisura.²⁵⁵ Según progresa la atrofia glandular gástrica disminuye la presencia de *H. pylori* en el estómago,²⁵⁶ ya que el *H. pylori* sólo coloniza el epitelio gástrico y no se encuentra en áreas de metaplasia intestinal.

La asociación de la gastritis con la úlcera duodenal es un hecho bien conocido; la gastritis es predominantemente antral, con poca afectación del cuerpo y fundus gástrico.²⁵⁷ Hay estudios epidemiológicos y de seguimiento en los que se observa como la gastritis precede a la ulceración.²⁵⁸ Se ha sugerido que el mecanismo por el que el *H. pylori* puede causar una ulceración en la mucosa duodenal sería el desarrollo de metaplasia gástrica a nivel del bulbo duodenal, que está presente en la mayoría de los enfermos con úlcera duodenal, y que en todos ellos existe una colonización por *H. pylori*.²⁵⁹ Ello, daría lugar a una duodenitis activa, que sería la responsable de la alteración de los mecanismos de defensa de la mucosa duodenal y finalmente a la aparición de la úlcera.

El papel de la infección en la úlcera gástrica es más discutible. A diferencia de la úlcera duodenal, la gastritis es generalmente una pangastritis con metaplasia intestinal y un cierto grado de atrofia de la mucosa del cuerpo gástrico.²⁵⁸ Es posible, que la mucosa gástrica sea más vulnerable a la acción de agentes nocivos debido a la existencia de atrofia producida por *H. pylori*. La prevalencia de la infección en la úlcera gástrica es inferior a la descrita en la úlcera duodenal. Sin embargo, cuando se excluyen los pacientes con antecedentes de ingesta de AINES, la prevalencia es similar (96%), a la descrita en la úlcera duodenal.²⁶⁰ Los cambios inflamatorios producidos en la mucosa, la liberación de radicales libres de oxígeno desde los granulocitos y el estímulo de la secreción de gastrina y del pepsinógeno podrían ser los mecanismos por los que el *H. pylori* puede dar lugar a la aparición de la úlcera gástrica.

Cáncer gástrico

Sólo una minoría de los pacientes infectados desarrollarán cáncer gástrico. El papel exacto que juega el *H. pylori* en la carcinogénesis todavía no se ha definido con exactitud. Se han propuesto varias hipótesis para explicar la asociación entre *H. pylori* y cáncer gástrico. La más aceptada es la capacidad que tiene el microorganismo para desencadenar gastritis crónica y metaplasia intestinal que serían las lesiones precursoras del adenocarcinoma gástrico.²⁶¹ Aunque la metaplasia intestinal puede ser secundaria a la infección existen otros factores como el reflujo biliar, la edad, o factores hereditarios que pueden favorecer el desarrollo de metaplasia intestinal. Se ha especulado, que las cepas que expresan el gen *cagA* pueden dar lugar a un patrón inflamatorio más severo y podrían tener una mayor prevalencia entre los pacientes con cáncer gástrico. En un estudio seroepidemiológico,²⁶² los pacientes infectados con cepas *cagA* positivas tenían una probabilidad 5,8 veces superior de desarrollar cáncer gástrico que los pacientes no infectados, sin embargo, estos resultados no han sido confirmados por otros autores.²⁶³ Tampoco queda claro el impacto de la infección por *H. pylori* en las alteraciones genéticas y cambios moleculares que pueden influir en la carcinogénesis. Sin embargo, la disminución del índice de apoptosis y el incremento de la proliferación celular en los pacientes infectados con cepas *cagA* respecto a los pacientes *cagA* negativos o los pacientes sin infección por *H. pylori* apuntarían a estos factores como posibles mecanismo de carcinogénesis. Además, la carcinogénesis puede producirse por otros mecanismos: las toxinas y otras sustancias dañinas secretadas por el *H. pylori* o por el propio huésped como resultado de la respuesta inmunológica desencadenada por la infección. Crabtree et al.²⁶⁴ demuestran que las cepas *cagA* positivas inducen la secreción de IL-8 por las células epiteliales gástrica. El incremento de la concentración intragástrica de amonio,

el efecto de las lipasas y proteasas producidas por el *H. pylori*, las citoquinas proinflamatorias, la disminución en la secreción de ácido ascórbico, potente antioxidante capaz de eliminar radicales de oxígeno libres y nitritos, y de impedir la formación de nitrosaminas.²⁶⁵

Los estudios epidemiológicos demuestran que las características epidemiológicas (áreas de distribución de alta y baja prevalencia) del adenocarcinoma gástrico y de la infección son similares. Por otro lado en las regiones con alta prevalencia de cáncer gástrico, la infección se contrae generalmente en la infancia, lo cual es poco frecuente en áreas con baja prevalencia de cáncer gástrico. Así, Correa et al.²⁶⁶ encuentran una relación directa entre alta prevalencia de la infección en regiones con mayor riesgo de cáncer gástrico y además esta mayor prevalencia de infección y cáncer se relacionó con el bajo nivel socioeconómico. Los estudios epidemiológicos transversales que valoran la prevalencia de la infección por *H. pylori* en los pacientes con adenocarcinoma gástrico, estimada a partir de las biopsias gástricas obtenidas en el momento del diagnóstico de la neoplasia demuestran una cifra significativamente mayor que la encontrada en los controles sanos.²⁶⁷ Cuando la prevalencia de la infección se realiza empleando métodos serológicos en lugar de la histología, la prevalencia todavía ha sido superior 82%²⁶⁸ - 100%.²⁶⁹ La explicación más verosímil de las diferencias entre la histología y la serología sería que la mayoría de estos pacientes tienen gastritis crónica atrofica y focos de metaplasia intestinal lo que supone una disminución del aislamiento de *H. pylori* en las biopsias gástricas.

Los estudios serológicos de casos y controles demuestran que el *H. pylori* es un factor de riesgo para el desarrollo de un adenocarcinoma gástrico.²⁷⁰ Los estudios de mayor interés son los realizados de forma prospectiva, es decir, la serología se obtiene en sujetos sanos antes de que desarrollen el cáncer gástrico. Forman et al.,²⁷¹ Parsonnet et al.,²⁷² y Nomura et al.,²⁷³ con seguimientos de entre 6 y 25 años,

concluyen, que la prevalencia de la infección en los pacientes con adenocarcinoma gástrico es del 69%, 84%, y 94%, respectivamente, y que al compararlas con las obtenidas en los controles dan como resultado una *odds ratio* promedio de 3,8 (IC 95%: 2,3-6,2) para el desarrollo de un carcinoma gástrico en los pacientes infectados. Este valor asciende a 8,7 en los pacientes que fueron diagnosticados 15 o más años después de la comprobación de una serología positiva, lo que demuestra una tendencia ascendente de la *odds ratio* según se alarga el periodo de seguimiento.

Sin embargo, estos paralelismos de los estudios transversales y epidemiológicos pueden ser meramente circunstanciales y no implicar necesariamente una relación causal.

Por último, la OMS ha clasificado la relación entre *H. pylori* y adenocarcinoma gástrico en la categoría I, lo que indica que se considera un factor carcinogénico demostrado.²⁷³ La presencia de *H. pylori* supone un factor de riesgo para el desarrollo de todo tipo de tumores gástricos, pero la relación es mayor con el adenocarcinoma de tipo intestinal que con el difuso. Así, Parsonnet et al.,²⁷⁴ describieron una prevalencia de *H. pylori* del 89% de los tumores de tipo intestinal, mientras que sólo fue del 32% de los de tipo difuso. Por otro lado Sipponen et al.²⁷⁵ encontraron una prevalencia similar (71%) en ambos tipos de neoplasia, intestinal y difuso. La prevalencia de la infección parece distinta en función de la localización de la neoplasia. Así, el adenocarcinoma cardial no se relaciona con la infección, a diferencia de lo que ocurre con el carcinoma de cuerpo y antro y fundus gástrico.²⁷⁶

Linfoma MALT

Se ha relacionado a *H. pylori* con el linfoma gástrico de tejido linfoide asociado a mucosas de bajo grado (MALT). El linfoma MALT representa alrededor del 10% del total de linfomas y un 3% del total de neoplasias gástricas.²⁷⁷

En la mucosa gástrica normal no se encuentra tejido linfoide organizado, sin embargo, en los linfomas gástricos de bajo grado los cambios histológicos observados se asemejan en gran medida a los de tejido linfoide asociado a mucosas. La adquisición de este tejido es característica de las personas infectadas por *H. pylori*, pero también se ha relacionado con algunas enfermedades autoinmunes como el síndrome de Sjögren,²⁷⁸ u otras enfermedades infecciosas como la hepatitis C.²⁷⁹ La incidencia de linfoma gástrico de bajo y alto grado es superior en poblaciones con alta prevalencia de infección por *H. pylori*, y la infección por *H. pylori* se ha descrito en el 90% de los pacientes con linfoma MALT de bajo grado.²⁷⁷ Algunos estudios han demostrado que el crecimiento del tumor depende de la estimulación antagónica por parte del *H. pylori* sobre los linfocitos T, lo que provoca la producción por parte de estas células de diversas citocinas como la interleucina 2 y 8 que a su vez estimularían a los linfocitos B localizados en la corona externa de los folículos linfoides. Esto induce una transformación maligna en células centrocitoides marginales monoclonales, que infiltran y destruyen el epitelio mucoso, formando las lesiones linfoepiteliales tan características de este tipo de linfomas.²⁸⁰ En algunos casos, la afectación histológica de la gastritis crónica asociada a infección por *H. pylori* se asocia a proliferación linfoide manifiesta (hiperplasia linfoide focal), siendo difícil su diferenciación con el linfoma MALT. Si la persistencia del estímulo antigénico prosigue, el linfoma MALT de bajo grado puede evolucionar a linfoma MALT de alto grado, que se caracteriza por la aparición de células grandes: centroblastos e inmunoblastos²⁸⁰

La regresión del linfoma MALT tras el tratamiento puede ser lenta. Las series publicadas confirman tasas de remisión del 60% al 70% en los linfomas MALT de bajo grado tras la erradicación.^{281, 282} Los estudios con mayor tiempo de seguimiento sugieren que la remisión permanece estable al año del seguimiento.^{283, 284} Se ha demostrado que los linfomas MALT que afectan sólo a la mucosa o submucosa, responden mejor al tratamiento,²⁸² y que la presencia de un patrón difuso o la localización del linfoma en la zona proximal del estomago son factores de mal pronóstico.²⁸⁴ Se han descrito casos aislados de regresión de linfoma MALT de alto grado tras el tratamiento erradicador²⁸² lo que sugiere que la erradicación de *H. pylori* asociada a la quimioterapia o la radioterapia puede ser una estrategia opcional en estos pacientes.

2.8. *HELICOBACTER PYLORI* Y ÚLCERA DUODENAL.

En el último siglo, la mayor parte de los estudios que han evaluado la patogénesis de la úlcera péptica se han centrado en la influencia de la secreción ácida en la fisiopatología de la enfermedad. La famosa sentencia de Karl Schwartz,²⁸⁵ "sin ácido no hay úlcera", centró las investigaciones, así como los tratamientos, que se basaban en la neutralización del ácido o en la reducción de su secreción. Se prescribían dietas suaves con alto contenido en leche, ya que los alcalinos eran el pilar fundamental del tratamiento. Se recomendaba la ingesta de alimento frecuente y en poca cantidad para evitar la distensión antral y así reducir la secreción ácida. Las técnicas quirúrgicas también tenían un objetivo, reducir la secreción de ácido. Estas incluían la sección del nervio vago (fase cefálica), la extirpación del antro (disminuir la secreción de gastrina) y parte del cuerpo gástrico (reducción de la masa de células parietales). Durante los años 70 se desarrollaron las técnicas para cuantificar el ácido producido por un individuo en respuesta a un alimento. Así se estableció la base científica para el uso de los antiácidos. La introducción de los antiseoretos H_2 y la endoscopia de fibra óptica proporcionaron grandes avances en el reconocimiento de la historia natural de la úlcera péptica. Se demostró que el tratamiento con los antagonistas de los receptores H_2 , aceleraba la cicatrización de las úlceras y que se mantenían en remisión si se prolongaba el tratamiento, disminuyendo con ello las complicaciones de la enfermedad. La introducción de los inhibidores de la bomba de protones supuso una cicatrización de la úlcera y una mejoría de los síntomas más rápida que las obtenidas por los antiseoretos H_2 y con escasos efectos secundarios. Su eficacia ha sido suficientemente demostrada frente al placebo, pero cuando se abandona el tratamiento con antiseoretos, la recidiva de la úlcera es constante. Se cifra en

60%-70% en el primer año y en más del 90% a los 3 años.²⁸⁶ Incluso con el tratamiento de mantenimiento la recidiva oscila entre el 15% y el 30%.²⁸⁷

La infección por *H. pylori* como ocurre con otros patógenos demostrados, no cumple estrictamente los criterios de Koch ya que no se ha logrado experimentalmente el desarrollo de la úlcera péptica. Un problema fundamental es no disponer de modelos animales adecuados. Gisbert et al.,²⁸⁸ realizaron una exhaustiva revisión de los criterios de Bradford-Hill²⁸⁹ que definen con mayor precisión una relación causal. Los estudios publicados y sin distinciones geográficas demuestran prevalencias próximas al 100% en los enfermos con úlcera duodenal. A pesar de ello, no existe una relación específica entre *H. pylori* y úlcera duodenal, pues el microorganismo puede estar presente en pacientes asintomáticos. Sin embargo, esta situación se da en otras enfermedades infecciosas como en la hepatitis B o en la salmonelosis. Así, la especificidad no constituye un componente esencial de los criterios de causalidad. El *H. pylori* es el agente causal, pero no es suficiente por sí mismo para provocar la enfermedad. La úlcera duodenal es una entidad multifactorial y como en cualquier enfermedad infecciosa, el efecto desencadenado por el *H. pylori* dependerá de varios factores: la virulencia del germen, la susceptibilidad del huésped, factores ambientales y la edad en la que se contrae la infección. Se ha demostrado la relación temporal existente entre la infección por *H. pylori* y el desarrollo de gastritis, que representa un factor de riesgo para el desarrollo posterior de úlcera duodenal. También se puede estimar la relación temporal a partir del efecto de la erradicación de *H. pylori* en la recidiva ulcerosa. Por otro lado, en diversos estudios se ha comprobado que una mayor densidad de *H. pylori* se relaciona con una mayor gravedad de las lesiones histológicas y mayor tasa de recidivas ulcerosas.

Las evidencias clínicas que demuestran que el *H. pylori* es la causa principal de úlcera duodenal, son concluyentes. Los tratamientos con antiinflamatorios no

esteroideos (AINES) son la segunda etiología más frecuente. Excepcionalmente las úlceras duodenales pueden ser secundarias a una hipersecreción gástrica como las ocasionadas en el síndrome de Zollinger-Ellison o a enfermedades propias de la mucosa como la enfermedad de Crohn, linfoma u otras infecciones: tuberculosis, citomegalovirus...

La interacción de AINES y *H. pylori* es muy controvertida. Podrían tener un efecto sinérgico en su acción ulcerogénica, pero por otro lado se ha sugerido la posibilidad de que los AINES puedan proteger de los efectos de la infección por *H. pylori*. El mantenimiento de la integridad de la mucosa gástrica es un proceso biológico que depende del balance entre proliferación y muerte celular programada o apoptosis. La rotura del equilibrio entre estos dos factores influirá en la carcinogénesis y en la ulcerogénesis de la mucosa gástrica.²⁹⁰ El *H. pylori* induce un aumento de la apoptosis del epitelio gástrico^{291, 292} e incrementa la proliferación celular como se deduce de distintos estudios.^{292, 293} Es posible que la apoptosis sea un mecanismo de regulación para contrarrestar el aumento de la proliferación celular, desencadenada por *H. pylori*. El mecanismo de inducción de apoptosis durante la infección es desconocido. Además, se ha visto que tras la erradicación de *H. pylori* el índice de apoptosis se normaliza. Se ha hipotetizado que el aumento de la apoptosis inducida por la infección puede contribuir a la atrofia gástrica y favorecer la carcinogénesis.²⁹⁴ Los resultados obtenidos en un reciente estudio, sugieren que los tratamientos con AINE pueden contrarrestar el exceso de apoptosis desencadenado en los sujetos infectados por *H. pylori*.²⁹² Ni los estudios epidemiológicos ni los estudios terapéuticos han mostrado resultados concluyentes;²⁹⁵ aunque la mayoría de las publicaciones parecen indicar que la infección por sí sola no incrementa el riesgo de ulceración en pacientes tratados con AINES, un reciente metaanálisis de estudios caso-control de los pacientes que consumen AINES de forma habitual, demuestra que la probabilidad

de padecer una úlcera péptica es doble en los pacientes infectados por *H. pylori* que en los sujetos sin infección.²⁹⁶

2.8.1. PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori* EN LA ÚLCERA DUODENAL

La prevalencia de la infección en la úlcera duodenal es del 95% o más en la mayoría de los estudios realizados en distintas zonas del mundo.^{288, 297} Sin embargo, en Estados Unidos se han descrito recientemente prevalencias menores (61% a 73%) a las descritas en otros países.^{298, 299} Estas variaciones pueden deberse a la metodología utilizada en el diagnóstico de la infección, a los elevados porcentajes de resultados discordantes no confirmados por otros métodos diagnósticos que se observan en algunos de los estudios, a la inclusión de pacientes que toman antibióticos o AINES y a la edad, la raza y prevalencia de la infección en la población estudiada.³⁰⁰ En América del Norte la prevalencia de la infección en la población general es inferior a la descrita en otros países. Kurata y Nogawa,³⁰¹ demuestran que la tasa de prevalencia de úlcera duodenal, que puede atribuirse a la infección por *H. pylori*, disminuye cuanto menor es la prevalencia de la infección por *H. pylori* en la población general. La prevalencia de la úlcera duodenal ha disminuido en los últimos años, siguiendo la misma tendencia que la infección por *H. pylori* entre la población general de los países desarrollados,^{49,95} ya sea por el efecto de la terapia erradicadora o por las mejoras en el nivel socioeconómico. Es posible, que en el futuro aumente la tasa de úlcera duodenal no asociada a infección por *H. pylori*.³⁰²

En España, los datos disponibles, en su mayoría basados en series pequeñas, muestran una alta prevalencia de la infección en la úlcera duodenal. Recientemente, Gisbert et al.³⁰³ han descrito una prevalencia de 95,3% en la serie más amplia publicada hasta ahora en nuestro país. Treinta y seis de los 774 pacientes con úlcera duodenal fueron *H. pylori* - negativas, de ellos el 55% estaban recibiendo AINES, el 25% antibióticos, el 3% ambos fármacos y sólo un 0,8% se consideraron úlceras duodenales idiopáticas. En el análisis multivariante (regresión logística), la ingestión de fármacos y antibióticos fueron las únicas variables que se relacionaron con la prevalencia de úlcera duodenal *H. pylori*-negativa. Son necesarios nuevos estudios epidemiológicos, en distintas áreas geográficas y con un número importante de pacientes, para confirmar una posible disminución de la prevalencia de la infección en la úlcera duodenal.

2.8.2. INFLUENCIA DE *H. pylori* EN LA PATOGÉNIA DE LA ÚLCERA DUODENAL

El mecanismo por el cual *H. pylori* produce úlcera duodenal es desconocido. Los sujetos infectados presentan una gastritis superficial que se cronifica en la mayoría de los pacientes sin provocar enfermedad clínica.²⁶⁹ Sólo un 15 a 20% de éstos desarrollaran úlcera duodenal.³⁰⁴ La gastritis crónica por *H. pylori* altera los mecanismos defensivos de la mucosa gástrica y aumenta su susceptibilidad frente a los efectos lesivos de la secreción ácida gástrica. El grado y la distribución de la gastritis serán un factor determinante en la alteración de la secreción ácida gástrica, que puede contribuir a la patogenia de la ulcerogénesis. Los pacientes con una

gastritis crónica antral, y por tanto con una masa de células parietales normal o aumentada, presentan una secreción ácida incrementada. Sin embargo, los pacientes con mayor cronicidad de la infección en los que la gastritis afecta, además, al cuerpo gástrico presentan una atrofia de la mucosa gástrica, y por tanto, una secreción ácida disminuida.

La hipersecreción gástrica y la incapacidad duodenal para neutralizarla por reducción de la secreción de bicarbonato, ocasionará una sobrecarga duodenal de ácido, que puede ejercer un efecto lesivo directo sobre la mucosa, o indirecto mediante la inducción de metaplasia gástrica en el duodeno,³⁰⁵⁻³⁰⁷ necesaria para la colonización duodenal por *H. pylori* y que favorecería la aparición de la úlcera duodenal. Además, la metaplasia gástrica duodenal se ha correlacionado con la cronicidad y con las recidivas de la úlcera duodenal.³⁰⁸

Los estudios *in vitro*, demuestran que la bilis inhibe el crecimiento de *H. pylori*.^{309, 310} Recientemente, Graham y Osato³¹¹ han demostrado en su estudio que la sobrecarga de ácido en el bulbo duodenal es un factor clave, en la colonización de *H. pylori* en un medio hostil, al precipitar las sales biliares con glicina que inhiben el crecimiento del microorganismo.

Cada vez existen más datos a favor de que la evolución de la infección parece depender de la distinta virulencia de las diferentes cepas de *H. pylori*, de la respuesta del huésped y de factores genéticos y ambientales.

2.8.2. INFLUENCIA DE *H. pylori* EN LA PATOGENIA DE LA ÚLCERA DUODENAL

Las investigaciones han demostrado la gran variabilidad genética de *H. pylori*. Se han descrito variaciones en la secuencia de nuevos genes que codifican tanto factores de virulencia como de patogenicidad. Estas variaciones alélicas se han correlacionado con el comportamiento biológico y las repercusiones clínicas de la infección.³¹²

Entre los factores de patogenicidad de *H. pylori*, que contribuyen directamente a la rotura de la barrera mucosa destacan: las toxinas, los mediadores de la inflamación y la estimulación de la secreción ácida gástrica.

El *H. pylori*, al igual que otros microorganismos, es capaz de transferir segmentos de ADN a diferentes cepas o especies. Este fragmento de ADN puede permanecer separado o incorporarse al genoma principal. Si codifica una serie de factores de virulencia se puede considerar como isla de patogenicidad. La isla de patogenicidad es una estructura compleja constituida por diversos genes; uno de ellos, el gen *cagA* codifica la proteína CagA.³¹³

El potencial ulcerogénico de las cepas de *H. pylori* parece depender de la producción de la proteína CagA, asociada a citotoxicidad, que es el efecto lesivo característico de *H. pylori* sobre las células epiteliales y que consiste en la formación de numerosas vacuolas intracitoplasmáticas, por aumento de la permeabilidad de aniones a través las membranas lisosomales.³¹³ Estas vacuolas son consecuencia de la acción de la citotoxina vacuolizante (VacA) segregada por *H. pylori*.

Los estudios de biología molecular^{315, 316} demuestran que entre el 60 y el 70% de las cepas de *H. pylori* poseen el gen *cagA* y prácticamente todas expresan la proteína

de alto peso molecular (128 kD) codificada por este gen. Todas las cepas de *H. pylori* presentan el gen *cagA*, pero sólo alrededor del 50% producen la citotoxina (66 kD), que induce la vacuolización de las células eucariotas. Esto podría ser debido a que el gen *vacA* que codifica la citotoxina tiene una estructura en mosaico con tres posibles formas de presentación en la secuencia señal s1 -(s1a, s1b) y s2- y en la región central de la proteína (alelos m1 y m2).³¹⁷

Los estudios realizados en países Europeos han confirmado la asociación del gen *cagA+vacAs1*,³¹⁸⁻³²⁰ o *vacAs1m1*^{321, 322} con úlcera duodenal.³²³ Sin embargo, esta asociación no se ha demostrado en niños³²⁴ ni en poblaciones asiáticas, donde la tasa de infecciones por cepas *cagA+*, *vacAs1m1* de *H. pylori* en pacientes con úlcera duodenal es superponible a la observada en pacientes con dispepsia y gastritis crónica, sugiriendo que el pronóstico de la infección es independiente de la virulencia bacteriana.³²⁵⁻³²⁷ Por tanto, los datos disponibles hasta la actualidad no permiten considerar al gen *vacA* como un factor predictivo de capacidad ulcerogénica o de respuesta al tratamiento, pero sí predecir el status *cagA*.

Diversos estudios han demostrado que las cepas *cagA* (+) se han asociado con una mayor densidad de *H. pylori* en la mucosa gástrica,³²⁸ mayor producción de interleucinas (IL-8,³²⁹ IL-10 e IL-12³³⁰) y ocasionan más inflamación en la mucosa gástrica que las cepas *cagA* (-).³³¹

Se han descrito dos alelos *iceA1* y *iceA2*, de un nuevo gen de *H. pylori* *iceA* (inducido por la adherencia de la bacteria con el epitelio gástrico), se ha asociado con úlcera péptica e incremento de IL8 en la mucosa.^{323, 327, 332, 333} Estos resultados no han sido confirmados en un extenso estudio multicéntrico³³⁴ que estudió la presencia de *iceA* en pacientes con úlcera duodenal, úlcera gástrica, cáncer gástrico y gastritis, no encontrando asociación entre la presencia de *iceA* y la clínica de los enfermos.

La gran diversidad de cepas de *H. pylori* ha generado nuevas recombinaciones de genotipos en pacientes infectados por cepas diferentes. Esta frecuente recombinación puede constituir uno de los mecanismos de virulencia de *H. pylori* que le permiten adaptarse al huésped y propagar mutaciones cromosómicas que le confieren resistencia a los antibióticos. Entre los factores de virulencia de *H. pylori* que le permiten desarrollarse en un medio hostil destacan: la motilidad, las proteínas de adaptación (ureasa y catalasa) y de adhesión (adhesina). Se han descrito variantes moleculares de los genes de la ureasa y de los que codifican la flagelina,³³⁵ pero los estudios no han sido concluyentes sobre la asociación entre estas variantes genéticas y úlcera péptica. Aunque no se sabe con certeza, si la adhesión del germen a las células del epitelio es necesaria para la cronificación de la infección, hay evidencias de que este factor puede favorecer el desarrollo de patología más grave.²⁴⁷ Las moléculas bacterianas implicadas en la adhesión son diversas. Se ha demostrado la relevancia del gen *babA*, que codifica una adhesina que le permite unirse al antígeno Lewis^b.³³⁶ Esta glucoproteína presente en cantidades importantes en la superficie celular de los individuos no secretores de los grupos sanguíneos ABO, es un receptor importante de adhesinas de superficie de *H. pylori*. Esto apoyaría un dato epidemiológico conocido desde hace tiempo, la mayor prevalencia de úlcera péptica en los individuos del grupo sanguíneo 0 y en los no secretores.³³⁷⁻³³⁹ En un estudio alemán,³⁴⁰ se ha demostrado que la presencia del gen *babA2* se asocia de forma significativa con úlcera duodenal y adenocarcinoma gástrico distal.

La resistencia al ácido es fundamental en la patogenia de *H. pylori*. La actividad de la ureasa es la responsable de la supervivencia del microorganismo en un medio hostil. Aunque existen indicios de que la arginasa pueda contribuir en determinadas condiciones a la supervivencia del *H. pylori*, la clave parece ser un único gen que produce la *ure1*, que codifica para un canal compuerta transportador específico para

la urea, que se activa a pH ácido, con lo que si el pH gástrico se alcaliniza (después de una comida), la urea no entra en el citoplasma y no puede ser escindida por la ureasa, evitándose un posible efecto letal alcalino sobre el *H. pylori*. Marca por tanto, el flujo de entrada de urea al citoplasma que será descompuesta en CO₂ y NH₄ + por la ureasa citoplasmática.³⁴¹

2.8.3. INFLUENCIA DEL HUÉSPED EN LA PATOGÉNIA DE LA ÚLCERA DUODENAL.

A pesar de que una gran parte de las infecciones están producidas por cepas citotóxicas potencialmente ulcerogénicas, sólo una pequeña proporción de los pacientes desarrollan úlcera duodenal. El avance en el estudio genético de *H. pylori* que ha demostrado su gran variabilidad patogénica, podría explicar en parte estos datos epidemiológicos; sin embargo, aunque menos conocidos, son los factores relacionados con la susceptibilidad o la resistencia del huésped a la infección los que sin duda tienen un papel crucial en el desarrollo de las lesiones de la mucosa.³⁴²

La edad en que se adquiere la primoinfección por *H. pylori* puede influir en la posibilidad de desarrollar úlcera péptica gástrica o duodenal; si la infección se adquiere en edades tempranas, la probabilidad de desarrollar gastritis crónica atrófica y una disminución secundaria de la secreción ácida gástrica favorecerá la úlcera gástrica y existirá una menor posibilidad de desarrollar una úlcera duodenal. En cambio, si la infección se adquiere en edades más tardías, en los que la gastritis

afectará predominantemente al antro gástrico, la secreción ácida estará aumentada y favorecerá la aparición de la úlcera duodenal.

Estudios experimentales avalan la posible predisposición individual a desarrollar úlcera duodenal. Así, se ha observado que varias líneas de ratones consanguíneos responden de manera diferente a una misma carga de cepas de *H. pylori*.³⁴³

En cuanto a la susceptibilidad genética, un estudio realizado en gemelos, ha demostrado la influencia de los factores genéticos en la adquisición de la infección, con una mayor coincidencia entre las parejas de gemelos homocigotos que entre los heterocigotos.³⁴⁴ Por otro lado, los portadores del grupo sanguíneo O tienen una frecuencia de úlcera duodenal un 30% a un 40% más elevada que aquellas con el grupo sanguíneo A, B o AB. Las personas con antígenos no secretores de los grupos sanguíneos tienen un riesgo de úlcera duodenal superior a un 50%, pero en las que tienen grupo sanguíneo O y no son secretoras el riesgo de úlcera duodenal es un 150% más elevado.³³⁷⁻³³⁹ Se ha demostrado la importancia del antígeno Lewis b de los grupos sanguíneos en la adhesión de *H. pylori* al epitelio gástrico, por la interacción de una adhesina específica de la bacteria con los antígenos Lewis S y H tipo2, lo que sugiere que la susceptibilidad a la lesión y la gravedad de la misma puede estar determinada por factores genéticos.³⁴⁵ Únicamente en un estudio se ha descrito un mayor porcentaje de pacientes infectados por *H. pylori* e individuos con el grupo sanguíneo O.³⁴⁶ Sin embargo, la mayoría de los autores no han encontrado diferencias en la prevalencia de la infección,^{347, 348} ni en la inflamación inducida por la infección por *H. pylori*³⁴⁹⁻³⁵¹ con relación a los diferentes grupos sanguíneos ABO ni con el factor Rhesus.³⁴⁸

También es posible, que los cambios genéticos se desarrollen en el huésped durante la infección, como consecuencia de la misma, como se ha demostrado en los pacientes que desarrollan un linfoma MALT.³⁵¹

Aunque la reacción inflamatoria de la lámina propia de la mucosa gástrica se da en todos los pacientes infectados, la respuesta del huésped puede ser distinta y el grado de hipersecreción gástrica puede ser también un factor predisponente para el desarrollo de úlcera duodenal.

Entre los factores ambientales que parecen tener mayor importancia en la gastritis antral (o como factor de riesgo de patología ulcerosa atribuida a *H. pylori*) son la dieta y el antecedente de enfermedades febriles durante la infancia.³⁵²

2.8.4. ALTERACIONES FUNCIONALES GÁSTRICAS ASOCIADAS A LA INFECCIÓN CRÓNICA POR *H. pylori*

Se ha demostrado que la hipergastrinemia que presentan los pacientes infectados por *H. pylori* es secundaria a la alteración en el control inhibitorio de las células G por la somatostatina. El mecanismo por el que se produce la inhibición de la síntesis de somatostatina no está aclarado. Se ha demostrado, que la concentración de somatostatina, la densidad de células D en la mucosa gástrica y las concentraciones de ARN mensajero de la somatostatina en el antro están disminuidas en individuos infectados por *H. pylori*, comparado con controles no infectados³⁵³⁻³⁵⁶ y que la concentración de somatostatina en la mucosa gástrica es inversamente proporcional a la severidad de la inflamación crónica.³⁵⁷ La inhibición de la somatostatina se ha relacionado con la liberación local de citocinas como el factor de necrosis tumoral-alfa o la IL-8, producidas por células inflamatorias.³⁵⁸ Otros posibles mecanismos serían: la producción del catabolito de la histamina (*N*- α -metil-histamina) producida por la

actividad *N*-histamina metiltransferasa que posee *H. pylori* y que es un potente inhibidor de la somatostatina,³⁵⁹ o la elevación del pH en la superficie de la mucosa gástrica mediada por el amoníaco producido por la acción de la ureasa del *H. pylori*.³⁶⁰ La liberación de somatostatina antral es fundamental por su acción directa en la regulación de la liberación de gastrina en presencia de ácido³⁶¹ o para que la colecistocinina pueda ejercer su efecto sobre las células G antrales en los enfermos infectados.³⁶²

Además de perder el reflejo de la inhibición fisiológica de la secreción ácida, en los sujetos infectados, la inhibición de la secreción ácida secundaria a la distensión antral está alterada, contribuyendo a mantener una hipersecreción ácida postprandial.³⁶³

La hipergastrinemia inducida por *H. pylori* es debida a un aumento selectivo de la gastrina G17, la forma producida en el antro gástrico y se normaliza totalmente tras la erradicación de la infección.³⁶⁴ Este hallazgo no es sorprendente, ya que en general, la infección por *H. pylori* es más intensa en antro gástrico donde se localizan las células G productoras de gastrina y las células D productoras de somatostatina.

A pesar de que la hipergastrinemia es similar en todos los pacientes infectados por *H. pylori*, desarrollen úlcera o no, la secreción ácida basal^{365, 366} y la estimulada con pentagastrina,³⁶⁶ están aumentadas en los pacientes ulcerosos *H. pylori*-positivos pero no en los pacientes infectados asintomáticos,^{365, 366} que muestran valores similares a los de los sujetos sanos. Por el contrario, la secreción ácida estimulada con péptido liberador de gastrina (GRP), esta claramente aumentada en todos los pacientes infectados.³⁶⁶ Este péptido estimula la secreción ácida a través de la liberación de gastrina, pero a su vez estimula la liberación de péptidos inhibidores, simulando la secreción ácida estimulada por la comida. Esto confirmaría los hallazgos de otros estudios, el fracaso de los reflejos inhibidores en los pacientes

infectados por reducción de la concentración de somatostatina antral. La respuesta secretora estimulada por la gastrina, tan exagerada en los pacientes ulcerosos en comparación con las personas infectadas sin úlcera, posiblemente está en relación con una mayor masa de células parietales,³⁶⁸ ya que la infección no altera la sensibilidad de las células parietales a la gastrina.³⁶⁹

Tras la erradicación de la infección, los niveles de gastrina y pepsinógeno se normalizan rápidamente,^{242, 243} la secreción ácida basal y la estimulada con péptido liberador de gastrina se reducen de forma significativa^{366, 368} pero no se producen cambios en la secreción ácida máxima.³⁶⁸ Esto es debido a que la pentagastrina ejerce su efecto sobre las células parietales, y la infección por *H. pylori* no influye en la secreción ácida máxima y la erradicación del germen no se asocia a cambios significativos en dicha secreción.

Los estudios que han valorado el efecto de la infección sobre la motilidad gastrointestinal no son concluyentes. La motilidad interdigestiva, la motilidad postprandial y la velocidad del vaciamiento gástrico parecen normales en los sujetos infectados.

2.9. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*

Dieciséis años después del reconocimiento del papel del *H. pylori* en la etiopatogénia de la úlcera duodenal, la búsqueda del tratamiento " ideal " para erradicar la infección, continua. Hasta la actualidad, se han publicado múltiples trabajos que han comparado un gran número de tratamientos de duración muy variable, de 24 horas hasta 4 semanas, que han utilizado diversos fármacos en múltiples combinaciones y a dosis diferentes. El tratamiento " ideal " anti-*H. pylori* debería ser eficaz, barato, fácil de seguir por el paciente y sin efectos secundarios. Debe conseguir una erradicación superior al 80%, cuando se administran con intención de tratar, e inducir la menor resistencia posible a los antibióticos. Uno de los factores que influyen más en la eficacia del tratamiento y en la aparición de resistencias secundarias, sobretodo en las pautas de tratamiento corto, es el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente.^{370, 371}

Los principales fármacos utilizados para el tratamiento de la infección por *H. pylori* son los que a continuación se enumeran.

Fármacos antisecretores

El descenso del pH gástrico, inducido por la inhibición de la secreción ácida gástrica, favorece el efecto de los antibióticos. Los inhibidores de la bomba de protones tienen un efecto bactericida *in vitro*, pero *in vivo* se ha demostrado que lo que hacen es disminuir la cantidad de *H. pylori* sin conseguir su erradicación; esto podría ser debido al aumento del pH gástrico.³⁷² No se han encontrado diferencias significativas entre los diferentes inhibidores de la bomba de protones

Algunos estudios no han encontrado diferencia entre los inhibidores de la bomba de protones y los antagonistas H₂, pero la experiencia general apoya el uso de los primeros como fármacos de primera elección.

Bismuto

Los compuestos de bismuto se vienen utilizando desde hace más de 200 años para tratar la dispepsia.³⁷³ Todavía hoy, se desconoce con exactitud cual es el mecanismo de acción frente a *H. pylori*. Tienen propiedades antimicrobianas frente a *H. pylori* y tanto *in vivo* como *in vitro*, destruyen la integridad de la pared de las células bacterianas y bloquean la adhesión de *H. pylori* a la superficie de la mucosa del estomago e inhiben la actividad proteolítica, ureásica y fosfolipídica del germen.³⁷⁴ En nuestro país el bismuto está disponible en forma de subcitrato de bismuto coloidal (SBC) y ranitidina-citrato de bismuto (RBC). Los efectos secundarios más frecuentes son el sabor metálico y heces oscuras durante el tratamiento.

Antibióticos

Amoxicilina (penicilina)

Inhibe la síntesis de la pared de las células bacterianas. Es muy activa frente a *H. pylori* y por ahora la descripción de resistencias es excepcional.³⁷⁵ Aunque es estable a pH ácido, la disminución de la acidez gástrica aumenta su actividad.³⁷⁶

Los efectos secundarios más frecuentes son las reacciones alérgicas (más del 10% de la población) y las diarreas.

Clarithromicina (macrólido)

Inhibe la síntesis de proteínas en la bacteria. La claritromicina es más estable que la eritromicina y tiene una buena actividad frente a *H. pylori* a dosis bajas. Alcanzan altas concentraciones en el moco. La claritromicina no es estable a pH ácido,^{376, 377} por ello su actividad se ve favorecida cuando se administra junto a antisecretores.

Las resistencias primarias y adquiridas a estos compuestos, en nuestro país, son más bajas que las de los nitroimidazoles y están en relación con su utilización previa en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio superior. Las pautas que utilizan este fármaco tienen una alta tasa de fallos ante cepas resistentes a claritromicina.³⁷⁸ El efecto secundario más frecuente es el mal sabor de boca.

Metronidazol, tinidazol (nitroimidazoles)

Los nitroimidazoles tienen una buena actividad frente a *H. pylori*, son muy estables a un pH bajo³⁷⁹ y sus efectos secundarios más frecuentes son el sabor metálico, la neuropatía y cuando se ingiere alcohol el enrojecimiento facial y los síntomas gastrointestinales. La mayor desventaja de estos compuestos es la alta frecuencia de resistencias tanto primarias como adquiridas.

Tetraciclina

Inhibe la síntesis proteica de la bacteria y es muy activa frente a *H. pylori*. Es estable a pH bajo.^{373, 379} La doxiciclina, otra tetraciclina que es excretada en la bilis y es activa (aunque no curativa) contra *H. pylori*, se puede usar en pacientes que presentan infección por *H. pylori* en un muñón de estómago operado.³⁷³ Estos fármacos no deben administrarse a los niños ni a las embarazadas.³⁷⁹

Otros antibióticos

Los nitrofuranos (nitrofurantoína y furazolidina) han demostrado buenos resultados contra *H. pylori*, pero no existen series amplias en estudios controlados.

Las quinolonas (ciprofloxacino, norfloxacino, ofloxacino)³⁷³ y la rifampicina o su derivado la rifabutina son potentes inhibidores *in vitro* de *H. pylori* y pueden ser útiles como terapia de rescate en fallos de la pauta triple y la cuádruple.³⁸⁰

Esquemas de tratamiento

Las pautas de tratamiento triple, que incluyen un inhibidor de la bomba de protones o RBC y dos antibióticos, administradas durante una semana, son por ahora las pautas de primera elección, recomendadas en las diversas conferencias de consenso realizadas en Europa y Asia; son las que se administran de forma mayoritaria en los centros de atención primaria.⁷⁹ En general, la eficacia terapéutica de la combinación de un inhibidor de la bomba de protones con claritromicina y amoxicilina o metronidazol es similar. La prevalencia de cepas resistentes a claritromicina o metronidazol, los costes del tratamiento y las opciones de una segunda pauta terapéutica, son factores que pueden ser determinantes a la hora de determinar el tratamiento de elección. Sin embargo, cuando se utiliza RBC, la eficacia terapéutica de la combinación de claritromicina con un nitroimidazol, es algo superior a la obtenida cuando se combina con claritromicina y amoxicilina.³⁸¹ Consiguen una tasa de curación mucho más elevada que con un sólo antibiótico (terapia "dual").

Estos tratamientos son bien tolerados por los pacientes, y con una alta tasa de erradicación tal como se ha demostrado en los diversos estudios, aunque en ocasiones estas tasas han mostrado diferencias según donde se han realizado los estudios; se ha descrito una menor eficacia de estos tratamientos según si se

administran dentro de estudios protocolizados o de forma rutinaria en los centros de atención primaria. Además, la eficacia de estos tratamientos puede estar comprometida por la resistencia a los antibióticos, en especial a la claritromicina.³⁷⁸

Cuando fracasa el tratamiento triple, se recomienda, como tratamiento de segunda elección, las pautas cuádruples, que combinan un inhibidor de la bomba de protones, subcitrate de bismuto coloidal, metronidazol o tinidazol y amoxicilina o tetraciclina. Las tasas de erradicación obtenidas con estas terapias son altas, pero tienen el inconveniente de ser peor toleradas por los pacientes, dado el importante número de pastillas que deben ingerir.

A pesar de ello, muchos expertos sugieren para que las pautas cuádruples deberían ser utilizadas como pauta de primera elección, en áreas con alta tasa de resistencia a claritromicina, para paliar el fallo del tratamiento de las pautas triples en estos casos y prevenir la aparición de resistencias secundarias.³⁸²

Recientemente, se ha comercializado un nuevo preparado, Helicide (Laboratorios Axcan Pharma, Canadá), que combina en una misma cápsula: SBC (40 mg), metronidazol (125 mg) y tetraciclina (125 mg); en los estudios preliminares, administrada 3 veces al día en combinación con omeprazol, consigue una tasa de erradicación similar a la obtenida con la pauta triple; además, según este mismo estudio, el tratamiento sería eficaz en cepas resistentes a metronidazol.³⁸³

2.10. TRATAMIENTO DE LA ÚLCERA DUODENAL ASOCIADA A INFECCIÓN POR *H. pylori*

En la última década, los múltiples trabajos publicados han proporcionado datos suficientes para recomendar de forma inequívoca, como tratamiento de elección de la úlcera duodenal asociada a infección por *H. pylori*, la erradicación de la infección.^{162, 384-386}

Los estudios de coste-eficacia tanto en modelos teóricos como clínicos, demuestran que la erradicación de *H. pylori* es la conducta más eficiente desde el punto de vista económico cuando se compara con los tratamientos antisecretores de mantenimiento o intermitentes. para el tratamiento de la úlcera duodenal.^{387, 388}

En áreas como la nuestra, con alta prevalencia de la infección en la úlcera duodenal, algunos autores han abogado por el tratamiento empírico de la infección en pacientes con úlcera duodenal activa no complicada o con antecedentes conocidos de úlcera duodenal.⁹²⁻⁹⁴

Se ha demostrado que la erradicación de la infección cicatriza las úlceras refractarias al tratamiento con antisecretores^{392, 393} y acelera la cicatrización de la úlcera duodenal. Treiber y Lambert,³⁹⁴ analizaron el impacto de la erradicación de la infección sobre la tasa de cicatrización de la úlcera duodenal mediante la revisión sistemática de 60 estudios incluyendo 4339 pacientes que en los pacientes que erradicaron *H. pylori*, y encontraron que la cicatrización se produce en el 95% de los casos frente a un 76% en los pacientes con infección persistente.

Se ha demostrado que el añadir un inhibidor de la bomba de protones a las pautas de tratamiento erradicador mejora la tasa de erradicación, reduce el impacto de la

resistencia primaria y puede disminuir la aparición de resistencias secundarias frente a los tratamientos con dos antibióticos.³⁹⁵ Por otra parte, la mayoría de los autores que han empleado inhibidores de la bomba de protones en las pautas de tratamiento erradicador, prolongaban el tratamiento con antisecretores hasta completar las 4 semanas para completar la cicatrización de la úlcera duodenal. Sin embargo, en los últimos años, diversos estudios han confirmado que los tratamientos cortos de 7 días son suficientes para cicatrizar la úlcera duodenal, siendo innecesario prolongar el tratamiento con inhibidores de la bomba de protones,^{396, 397} hecho que coincide con nuestra experiencia.^{398, 399}

El impacto de la inhibición de la secreción ácida durante y después del tratamiento erradicador en la cicatrización de la úlcera duodenal no ha sido evaluado de forma exhaustiva por el potencial prolongamiento del dolor y molestias digestivas,^{99, 396, 400} o por problemas éticos con el grupo placebo. Sólo un estudio ha demostrado alguna evidencia en este sentido.⁴⁰¹ La utilización concomitante de antisecretores en el tratamiento erradicador, demuestra ser más beneficioso en la cicatrización de la úlcera sólo en los pacientes que no erradican la infección. Además, con los antisecretores la tasa cicatrización de la úlcera aumenta entre 7-20%.^{394, 402} En cambio, prolongar el tratamiento antisecretor tras el tratamiento erradicador no aporta ningún beneficio en los pacientes que erradican la infección. Gisbert et al.,⁴⁰³ observaron que en los pacientes en los que persistía la úlcera duodenal a pesar de haber erradicado la infección, la cicatrización se producía sin necesidad de añadir tratamiento con antisecretores. Ello puede ser debido a que la desaparición de la bacteria da lugar a la remisión del componente inflamatorio agudo y a una rápida granulación cicatricial. Por ello, prolongar el tratamiento antisecretor después de la erradicación, sería justificable sólo en pacientes con úlcera duodenal complicada (hemorragia, estenosis) y en pacientes con reflujo gastroesofágico asociado.

2.10.1. TRATAMIENTO DE LA RECIDIVA ULCEROSA

Los estudios a largo plazo (3-10 años) de la historia natural de la infección por *H. pylori* y la úlcera duodenal tras la erradicación han demostrado que la reinfección en los países desarrollados es infrecuente, con una tasa de reinfección anual que oscila entre el 0% y el 6%^{288, 404-410} y que la recidiva ulcerosa disminuye de forma drástica en los pacientes que erradican la infección, incluso entre los fumadores^{407, 411, 412}. En la mayoría de los estudios la recidiva ulcerosa suele aparecer en el primer año postratamiento, oscila entre el 2% y el 11% y casi siempre se asocia a reinfección o a recrudescencia de la infección.⁴¹³

En la revisión efectuada por Tytgat,⁴¹⁴ incluyendo 27 estudios de seguimiento de úlcera duodenal postratamiento erradicador con 1881 pacientes, la recidiva ulcerosa anual fue del 58% en los pacientes *H. pylori*-positivos frente un 2,6% entre los pacientes que erradicaron la infección. Además, se ha demostrado la mayor eficacia del tratamiento erradicador frente a los tratamientos de mantenimiento con antisecretores en la recidiva de la úlcera duodenal.⁴¹⁵ La eficacia de la prevención de la recidiva ulcerosa es independiente de los fármacos utilizados y sólo guarda relación con la capacidad erradicadora del tratamiento, siendo las recidivas más frecuentes con las pautas de menor eficacia y en los 6 primeros meses después de finalizar el tratamiento,⁴¹⁶ lo que sugiere que algunas de las reinfecciones son en realidad recrudescencias de la infección.⁴¹⁷ En Estados Unidos se han descrito tasas de recidiva ulcerosa más altas; un reciente meta-análisis demuestra un 20% de recidiva ulcerosa a los 6 meses después de erradicar la infección.⁴¹⁸ La úlcera duodenal puede recidivar en los pacientes que han negativizado la infección por *H. pylori*, y no se debe

a un aumento de la secreción ácida gástrica.¹¹³ La mayoría de las recidivas son secundarias a ingesta de AINES.^{407, 414, 419-422}

Clásicamente las úlceras refractarias al tratamiento antisecretores se han relacionado con la infección por *H. pylori* y la ingesta de AINE, pero estos no son los únicos factores relacionados con la refractariedad de la úlcera péptica. En un reciente estudio intervencionista de Lanas et al.,⁴²² encuentran un 15% de úlceras refractarias idiopáticas entre 80 pacientes estudiados. Al igual que en otros estudios, en un grupo de estos pacientes, el tabaco fue el único factor que podía relacionarse con la recidiva ulcerosa.

El drástico descenso de la recidiva ulcerosa prácticamente ha abolido la cirugía electiva de la úlcera duodenal. Sin embargo, una importante proporción de pacientes presentan recidiva ulcerosa después de la intervención quirúrgica antiulcerosa, siendo más frecuente en los pacientes con úlcera duodenal que en los pacientes con úlcera gástrica.⁴²³ La vagotomía incompleta y la inadecuada resección del antro gástrico son los factores que más influyen en esta recidiva ulcerosa, que se ha descrito entre 10% y 20% de los pacientes sometidos a una vagotomía gástrica proximal^{424, 425} y una proporción inferior al 5% después de una gastrectomía con gastroduodenoanastomosis (Billroth I o Billroth II). En estos pacientes pueden ser necesarios los tratamientos de mantenimiento con antisecretores para evitar la recidiva ulcerosa.^{426, 427}

La prevalencia de la infección después de la vagotomía se ha descrito entre el 80 y 100% de los pacientes; en los gastrectomizados la prevalencia de la infección es menor (50%), probablemente en relación con reflujo biliar y la hipoclorhidria secundaria a la gastrectomía. Lee et al.⁴²⁸ estudiaron 93 pacientes, 73 con gastrectomía parcial y 20 con vagotomía. La infección por *H. pylori* se confirmó en el 49% de los casos con gastrectomía y en el 65% de los pacientes con vagotomía total.

El 42% de los pacientes con recidiva ulcerosa en el grupo de gastrectomía fueron *H. pylori*-positivos frente al 65% de los pacientes con vagotomía. La prevalencia de *H. pylori* fue similar entre los pacientes con ó sin recidiva ulcerosa lo que sugiere que la infección no influye en la tasa de recidiva de la úlcera péptica en los pacientes tratados quirúrgicamente por úlcera duodenal. Otros autores atribuyen la recidiva ulcerosa a vagotomías incompletas más que a la infección por *H. pylori*.^{425, 429}

En conclusión: el papel de *H. pylori* en la recidiva ulcerosa postquirúrgica no está claro. Son necesarios más estudios que proporcionen resultados más concluyentes y esto será muy difícil de conseguir, dado el drástico descenso del número de intervenciones por complicaciones de la úlcera duodenal, que ha provocado que este tipo de cirugía sea una práctica extraordinaria para la mayoría de los cirujanos de nuestro país.

2.10.2. TRATAMIENTO DE LA ÚLCERA DUODENAL COMPLICADA

2.10.2.1. HEMORRAGIA DIGESTIVA

Entre un 20% y un 25% de los pacientes con úlcera duodenal desarrollarán a lo largo de su vida complicaciones secundarias. La hemorragia digestiva es la más frecuente. Puede incidir en un 15 a 20% de los pacientes con úlcera duodenal,⁴³⁰ con una mortalidad secundaria a la hemorragia del 6% al 7% de los pacientes.⁴³¹ En muchas ocasiones la hemorragia es la primera manifestación de la úlcera duodenal.⁴³²

La prevalencia de la infección por *H. pylori* en la úlcera duodenal sangrante ha mostrado resultados contradictorios. Diversos estudios han demostrado una menor prevalencia de *H. pylori* en la úlcera duodenal sangrante, (42% a 72%) que la observada en la úlcera duodenal no complicada. Por el contrario, Gisbert et al.,⁴³¹ demuestran en su serie una prevalencia de *H. pylori* prácticamente del 100%. Estos resultados han sido corroborados por otros autores.⁴³³⁻⁴³⁵ Esta discordancia en los estudios de prevalencia puede ser debida a la inclusión de pacientes con antecedentes de ingesta de AINES, reconocida o no; el tratamiento previo con omeprazol y sobretodo el número y la sensibilidad de los métodos diagnósticos utilizados para valorar la infección. Así, si se utiliza una serología positiva como criterio diagnóstico se puede sobrestimar la prevalencia de la infección.^{97, 98} Se ha demostrado que la sensibilidad del test rápido de la ureasa en los pacientes con hemorragia por úlcera duodenal es muy inferior a la observada en los pacientes con úlcera duodenal sin hemorragia.^{96-98, 436, 437} La hemorragia no afecta a la sensibilidad de la histología, cultivo o test del aliento con ¹³C.^{97,99} Se ha especulado que los falsos negativos podrían ser debidos a la capacidad bactericida del suero humano

frente a *H. pylori*,⁹⁷ el uso de omeprazol endovenoso como tratamiento de la úlcera duodenal sangrante. Recientemente, Leung et al.s⁹⁹ han demostrado que el efecto negativo de la sangre sobre el test rápido de la ureasa es debido a la inhibición del indicador de pH, más que por un efecto directo sobre la inhibición de la actividad de la ureasa. La albúmina, principal proteína sérica, actuaría como tampón sobre el efecto alcalino del amonio al liberar iones H⁺.

Los pacientes con antecedentes de hemorragia digestiva por úlcera duodenal tienen una mayor probabilidad de sufrir un nuevo episodio de hemorragia.^{96-99, 431-438} El tratamiento de mantenimiento con antisecretores reduce, aunque no evita, las recidivas hemorrágicas, ni la tasa de mortalidad de esta complicación.⁴³¹

Desde que Graham et al.⁴³⁹ demostraron por primera vez que la erradicación de *H. pylori* disminuía la recidiva hemorrágica por UD a los 6 meses de seguimiento, múltiples estudios con un número importante de pacientes,^{432, 440-443} han confirmado estos resultados. Sin embargo, en la mayoría de ellos, el tiempo medio de seguimiento fue relativamente corto (12 a 25 meses). Macri et al.,⁴⁴⁴ con un tiempo de seguimiento de 4 años, demuestra de forma clara la eficacia del tratamiento erradicador en la prevención de la recidiva hemorrágica. La tasa de recidiva hemorrágica en los pacientes *H. pylori*-negativos fue significativamente inferior (4,3%) en comparación con la presentada por los pacientes con infección persistente (88,8%). Esta diferencia tuvo todavía mayor significación si se analizan los pacientes con una posible reinfección o recrudescencia por posible fallo del tratamiento (0% *versus* 81,8%).

Estos resultados implican que actualmente, el tratamiento de elección ante una hemorragia por úlcera duodenal es endoscópico⁴⁴⁵ con inyección de adrenalina y sustancias esclerosantes sobre el vaso sangrante, seguido del tratamiento erradicador si se confirma la infección. Sólo se recurrirá al tratamiento quirúrgico ante el fallo de las técnicas endoscópicas. No existen estudios que demuestren de forma

concluyente las ventajas de la cirugía definitiva frente a técnicas menos agresivas, como la sutura del vaso sangrante, combinado con el tratamiento antisecretor y la erradicación de *H. pylori*.

En estos pacientes es obligatorio confirmar la erradicación de la infección después del tratamiento, por la alta tasa de recidiva hemorrágica que presentan. En los casos que falle el tratamiento erradicador es necesario indicar una segunda pauta de tratamiento; y si no se consigue erradicar la infección se aconseja la administración de tratamiento antisecretor de mantenimiento.

2.10.2.2. ÚLCERA DUODENAL PERFORADA

La perforación duodenal representa aproximadamente un 5% de las complicaciones de la úlcera duodenal. La prevalencia de la infección en la úlcera duodenal perforada oscila entre 47% y el 88%.^{446, 447} Estas diferencias son debidas a los métodos diagnósticos utilizados para detectar la infección, a los tratamientos con antisecretores previos a la perforación que reciben la mayoría de estos enfermos y sobretodo a la edad de la población estudiada, ya que en grupos de mayor edad, la incidencia de úlcera duodenal asociada a ingesta de AINES es superior.⁴⁴⁸ La técnica quirúrgica más utilizada en estos casos es la sutura simple y el tratamiento de mantenimiento con antisecretores.⁴⁴⁹ Sin embargo, esta técnica presenta una alta incidencia de recidiva ulcerosa, alrededor del 42% de los pacientes a los 42 meses de seguimiento,⁴⁴⁶ precisando en ocasiones una segunda intervención. Por ello, en la década de los 80 se añadió a la sutura simple la vagotomía gástrica proximal. Chu et al.⁴⁴⁷ estudian

163 pacientes con úlcera duodenal perforada sin antecedentes de ingesta de AINES y encuentran como factores pronósticos independientes de recidiva ulcerosa la infección por *H. pylori* y el sexo masculino. Recientemente, Ng et al.⁴⁵⁰ han demostrado, en un estudio aleatorizado, que la erradicación del *H. pylori* asociada a la sutura simple sin vagotomía gástrica proximal o troncular, es la opción más adecuada para tratar a estos pacientes, con una escasa recidiva ulcerosa. Al año de seguimiento, la recidiva fue significativamente menor en los pacientes tratados con terapia erradicadora que en los que recibieron tratamiento de mantenimiento con antisecretores (5% frente a 95%). La tasa de remisión es comparable a la obtenida en la úlcera duodenal no complicada y similar a la obtenida en los pacientes tratados con sutura simple de la úlcera duodenal más vagotomía proximal. Por ello, el tratamiento de elección en la úlcera duodenal perforada es la sutura simple convencional o por laparoscopia⁴⁵¹ y el tratamiento de *H. pylori* en los pacientes infectados, especialmente en pacientes jóvenes; excepto en pacientes con antecedentes de fracaso del tratamiento erradicador o en los que se haya descartado la infección previamente.⁴⁵²

2.10.2.3. ESTENOSIS DUODENAL

La estenosis pilórica se produce como consecuencia de los procesos de cicatrización y retracción de las úlceras. La incidencia de esta complicación ha disminuido notablemente, alcanzando cifras inferiores al 5% en los pacientes ulcerosos, posiblemente en relación con la mayor eficacia de los tratamientos

antisecretores. La estenosis péptica puede resolverse con la dilatación endoscópica⁴⁵³ y tratamiento antisecretor concomitante, pero algunos pacientes requieren tratamiento quirúrgico. Diversos estudios han demostrado la eficacia del tratamiento erradicador en esta complicación de la úlcera duodenal, que por ahora se perfila como tratamiento de elección en la estenosis duodenal frente a los tratamientos endoscópicos y quirúrgicos.⁴⁵⁴⁻⁴⁵⁷

Pocos temas en medicina han experimentado un cambio tan drástico e importante en su manejo como ha sucedido con la úlcera duodenal. La introducción del tratamiento antibiótico en la terapéutica de la úlcera duodenal, ha supuesto uno de los avances más importantes en el mundo de la Gastroenterología y ha representado un cambio sustancial en la historia natural de la enfermedad. La obtención de la secuenciación completa del genoma de *H. pylori* ha abierto muchas posibilidades para obtener, en un futuro no muy lejano, una vacuna útil que es la única estrategia posible para erradicar de forma masiva la infección.

3. JUSTIFICACIÓN y OBJETIVOS

I. OBJETIVOS SOBRE EL TRATAMIENTO DE LA ÚLCERA DUODENAL ASOCIADA A INFECCIÓN DE LA MUCOSA POR *H. pylori*

Los resultados de los primeros estudios que valoraron la cicatrización de la úlcera duodenal en pacientes en los que se había erradicado la infección apoyaban la hipótesis de que la erradicación de la infección podía acelerar la cicatrización de la úlcera duodenal,^{458, 459} y lo que es más importante, reducía de forma drástica la recidiva de la úlcera duodenal de un 80% a un 20% al año de seguimiento.^{458- 464} Además, la desaparición de la infección se acompaña de una desaparición de los infiltrados inflamatorios agudos y de la restitución de la lesión epitelial, independientemente del tratamiento utilizado.^{461, 464-466}

Las pautas de erradicación que combinan sales de bismuto con metranidazol y tetraciclinas administrados durante 4 semanas han demostrado ser muy eficaces en la erradicación de la infección.⁴⁶⁷ La complejidad de estos tratamientos, sus efectos secundarios y la aparición de resistencias al metronidazol estimularon la búsqueda de otras opciones terapéuticas, de menor duración y con mejor seguimiento por los pacientes.^{468, 469} La inclusión de inhibidores de la bomba de protones en las pautas de erradicación, como el omeprazol, ha demostrado ser útil al aumentar la biodisponibilidad de los antimicrobianos, mediante un aumento del ph de la mucosa gástrica.^{468, 470-474.}

En base a estas evidencias, se realizaron los dos primeros estudios objeto de la presente tesis doctoral, con los siguientes objetivos.

1. Evaluar el impacto del subcitrato de bismuto coloidal con las pautas de tratamiento corto, en la erradicación de la infección y en la cicatrización de la úlcera duodenal.
2. Valorar la eficacia de las pautas de tratamiento corto en la erradicación de la infección por *H. pylori* y en la cicatrización de la úlcera duodenal.
3. Estudiar la evolución de los parámetros histológicos de la gastritis tras la erradicación de la infección.
4. Evaluar si dosis altas de omeprazol aumentan la eficacia de dos pautas de tratamiento previamente validadas en la erradicación de la infección por *H. pylori*.

II. OJETIVOS SOBRE LA EFICACIA DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN LA INFECCIÓN Y EN EL CONTROL DE LA ERRADICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*.

El test rápido de la ureasa es el método más utilizado en el diagnóstico de la infección *por H. pylori* debido a su precio, rendimiento diagnóstico y la facilidad para obtener un resultado en el mismo gabinete de endoscopia. El cultivo de las biopsias gástricas nos permite conocer la sensibilidad antibiótica de *H. pylori*. El estudio histológico y las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa, presentan así mismo, un alto rendimiento diagnóstico. Sin embargo, todos estos métodos requieren de la realización de una endoscopia digestiva alta y son por tanto métodos agresivos. Los métodos no agresivos más utilizados son la serología, que tiene una serie de limitaciones, y el test del aliento con urea marcada con ^{13}C , que es una exploración cómoda para el paciente, fácil de realizar y con un alto rendimiento diagnóstico, constituyendo el método de elección en el control de la erradicación. Recientemente, se ha desarrollado un nuevo método de ELISA para detectar la presencia de antígenos de *H. pylori* en las heces. Sin embargo, los estudios que han valorado este nuevo método diagnóstico son escasos,¹⁶²⁻¹⁶³ y tampoco hay información suficiente sobre su utilidad en el control de la erradicación. Algunos resultados preliminares han sugerido que el test podría ser útil en el control precoz de la erradicación de la infección, inmediatamente después de finalizar el tratamiento.

1. El objetivo principal del presente estudio fue determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del test HpSa en el diagnóstico

de la infección comparándolo con los métodos diagnósticos más habituales en nuestro medio como la histología, el test rápido de la ureasa y el test del aliento con urea marcada con ^{13}C .

2. Valorar la eficacia del test HpSa en el control de la erradicación inmediatamente después de finalizar el tratamiento.

3. Estudiar la eficacia del test HpSa en el control de la erradicación de la infección por *H. pylori* a las 6 semanas y a los 6 meses después de finalizar el tratamiento.

4. Validar en nuestro medio el punto de corte con mayor sensibilidad y especificidad del test HpSA.

4. METODOLOGÍA

En los estudios en los que se valoraron pautas de tratamiento erradicador la metodología utilizada fue:

Criterios de inclusión: pacientes con úlcera duodenal activa diagnosticada por endoscopia e infección de la mucosa gástrica por *H. pylori*. Los estudios fueron aprobados por el Comité Ético de Ensayos Clínicos de nuestro hospital. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes.

Criterios de exclusión: la toma de antibióticos en los 30 días previos al diagnóstico, embarazo o lactancia, alteraciones de las pruebas de coagulación, enfermedades concomitantes que pudiesen interferir en la evaluación del tratamiento en estudio, antecedentes de hemorragia digestiva reciente, cirugía gástrica, esofágica o duodenal y úlcera esofágica o gástrica activa en el momento de la endoscopia.

Los pacientes diagnosticados de úlcera duodenal, que cumplieran los criterios de inclusión fueron randomizados de forma consecutiva mediante un sistema de sobres cerrados en uno de los dos grupos de tratamiento en estudio. En el momento de la endoscopia se tomaron 5 biopsias de mucosa antral: una para el test de la ureasa rápida, dos para el estudio microbiológico y dos para el estudio histológico. En el control postratamiento se tomaron, además, dos biopsias adicionales de cuerpo gástrico para el estudio histológico, para descartar la infección. Se consideró que había infección por *H. pylori* si el cultivo fue positivo o el test rápido de la ureasa y el estudio histológico de las biopsias gástricas fueron positivos para *H. pylori*

Al finalizar el tratamiento se valoró el cumplimiento del tratamiento por el paciente, contando la medicación sobrante, la respuesta clínica y se registraron los efectos adversos a la medicación.

A las 4 semanas después de finalizar el tratamiento, se realizó una segunda endoscopia evaluándose, la presencia o ausencia de *H. pylori* en antro y cuerpo gástrico, el aspecto macroscópico de la mucosa gástrica y la cicatrización de la úlcera duodenal. Los pacientes en que se detectó persistencia de la úlcera duodenal, se consideraron fracaso de tratamiento e iniciaron tratamiento con omeprazol 20 mg/día durante cuatro semanas y se retiraron del estudio. Se consideró que se había erradicado la infección si el test de la ureasa rápida, el estudio histológico de las biopsias y el cultivo fueron negativos.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar y como proporciones. Para establecer las diferencias entre variables cualitativas se utilizó la χ^2 , aplicando el test de Fischer en las variables categóricas y la *t* de Student en la comparación de medias. Se calculó el intervalo de confianza (95% IC) de la diferencia de las proporciones observadas en la erradicación de *H. pylori* y de la cicatrización de la úlcera duodenal. Además, en el segundo estudio los resultados obtenidos en ambos grupos se analizaron por intención de tratar y según protocolo.

Los cambios histológicos observados en las muestras obtenidas al inicio del estudio y en los controles postratamiento se compararon utilizando el test de Fisher. Se consideró significativa una $p < 0,05$. Se utilizó el programa SPSS para el análisis estadístico.

En el estudio de valoración de los métodos diagnósticos se incluyeron 188 pacientes no consecutivos. La metodología utilizada fue:

Criterios de inclusión: pacientes a los que se les realizó una endoscopia por presentar sintomatología digestiva alta. Los estudios fueron aprobados por el Comité Ético de Ensayos Clínicos de nuestro hospital. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes.

Criterios de exclusión: la ingesta de bismuto, antibióticos o inhibidores de la bomba de protones en los 15 días previos a la endoscopia. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Ensayos Clínicos de nuestro hospital. Los pacientes dieron su consentimiento informado.

En el diagnóstico de la infección la presencia de *H. pylori* se determinó en todos los pacientes con el test rápido de la ureasa (con una sola biopsia de mucosa antral), con el estudio histológico de dos biopsias de mucosa antral y con la determinación de antígeno de *H. pylori* en heces. Para el diagnóstico de la infección, ninguna de las pruebas se consideró como patrón oro. Se valoró que el paciente estaba infectado por *H. pylori*, si, fueron positivas como mínimo dos de las pruebas diferentes a la determinación de antígeno en heces.

Los pacientes que recibieron tratamiento erradicador fueron controlados a las 6 semanas y a los 6 meses después de finalizar el tratamiento. Se repitió una determinación de antígeno en heces y se comparó con el test del aliento con ^{13}C que, en el control postratamiento se consideró como patrón oro. En los pacientes con úlcera gástrica o antecedentes de intervención quirúrgica sobre el estómago se repitió, además, la endoscopia con toma de biopsias. En 70 pacientes se tomó una muestra

de heces adicional obtenida a las 24 horas después de finalizar el tratamiento y el resultado obtenido, se comparó con el test del aliento realizado a las 6 semanas.

Prueba rápida de la ureasa: se utilizó el preparado comercial Jatrox-test , Röhm Pharma Laboratories, Germany. Se tomó una biopsia de mucosa antral que fue introducida inmediatamente en la solución de urea. La prueba se consideró que era positiva cuando el color de la solución cambió de amarillo a rojo. Se valoraron los cambios de color en cualquier momento de las 24 horas siguientes a la toma de la biopsia.

Histología: Las biopsias remitidas para el estudio anatomopatológico fueron fijadas en formaldehído al 10% durante un período de 12-24 horas, y posteriormente incluidas en parafina, tiñéndose con las técnicas de hematoxilina-eosina. La valoración histológica se hizo siguiendo el Sistema de Sydney Actualizado,⁴⁷⁵ graduando de 0 a 3 las siguientes variables morfológicas: densidad de *H. pylori*, actividad inflamatoria, inflamación crónica, atrofia glandular y metaplasia intestinal. Además se consideraron, sin gradarlas, la presencia o ausencia de daño del epitelio de superficie y folículos linfoides en la lámina propia de la mucosa. Todos los ítems se valoraron por separado en las biopsias de antro y cuerpo gástrico. El examen se llevó a cabo por un único investigador.

Estudio microbiológico: dos biopsias de mucosa antral fueron transportadas en suero fisiológico estéril al Servicio de Microbiología y procesadas en la primera hora tras su extracción. Se cultivaron en placas con agar-sangre en una atmósfera microaerófila. Para el estudio de susceptibilidad antimicrobiana se utilizó la técnica de E-test (AB BiodisK).

Test del aliento con ^{13}C -urea: El test se realizó siguiendo las normas del protocolo Europeo.⁴⁷⁶ Se utilizó un preparado comercial (TAUKIT Isomed S.L.). Se tomaron 2 muestras de aire espirado en condiciones basales y otra toma 30 minutos después de la administración de ^{13}C -urea diluida en agua, previa ingesta de 200ml de una solución de ácido cítrico. Las muestras de aire espirado fueron analizadas mediante un espectómetro de masas de relación isotópica en el laboratorio de referencia de nuestra área sanitaria. Se consideró resultado positivo si a los 30 minutos se apreciaba un enriquecimiento de CO_2 marcado por el isótopo por el isótopo $> 5 \text{ ‰}$, indeterminado si fue de entre $4,5 \text{ ‰}$ y 5 ‰ , y negativo si fue $< 4,5 \text{ ‰}$ respecto a los valores basales.

Determinación de antígeno de *H. pylori* en heces: as muestras de heces fueron congeladas a -70° hasta su lectura. El análisis se efectuó independientemente en los dos laboratorios que participaron en el estudio. Los investigadores desconocían el resultado de las otras pruebas utilizadas en el diagnóstico de la infección. Se utilizó un ensayo inmunoenzimático -EIA - (Premier Platinum *HpSA* Meridian Diagnostics, Inc, River Hills Drive, Cincinnati, OH, USA). Se diluyó 50 μl de una muestra de heces con 200 μl del diluyente. Se incubó 50 μl de la muestra diluida en placa de EIA. Se añadió 1 gota de Ac conjugado y se incubó 1 hora a temperatura ambiente. Después del lavado, se añadieron 2 gotas del substrato incubándose 10 minutos más. Se detuvo la reacción con 2 gotas de solución de paro. El punto de corte utilizado fue el recomendado por la casa comercial una densidad óptica de 0,160 si se utiliza una lente (450nm) y 0,120 con doble lente (450/630nm).

Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresaron como proporciones, y las variables cuantitativas como medias \pm desviación estándar. Se consideró significativa una $p < 0,05$. Se utilizó la χ^2 o el test de Fischer cuando estaba indicado en las variables categóricas y la t de Student en la comparación de las variables cuantitativas. Se analizó la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. La evolución de los valores de absorbancia media del test HpSA en muestras, según los pacientes hubiesen o no erradicado la infección, fueron analizadas mediante la prueba de la varianza (ANOVA). Todo el análisis estadístico se realizó utilizando SPSS programa estadístico Windows (SPSS, Chicago,IL)

La reproducibilidad interobservador y la concordancia interobservador se analizó utilizando el análisis el coeficiente de correlación intraclass como primera medida de concordancia.

Se valoraron diferentes puntos de corte del test HpSA, entre 0,100 y 0,210; para cada uno de estos puntos se calculó el número de verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos. Así, cada punto de corte generó un valor de sensibilidad y especificidad. Estos datos se utilizaron para obtener el punto de corte del test HpSA con la mayor sensibilidad y especificidad, utilizando las curvas ROC (*receiver operating characteristics*, características operativas del receptor). El área bajo la curva ROC y el intervalo de confianza (95%IC) se calculó mediante el programa ROC Analyzer. Si el área bajo la curva ROC era 0,5, el valor diagnóstico de la prueba no era superior al azar. Sin embargo, si el área bajo la curva ROC tenía el valor 1, la prueba es capaz de discernir perfectamente entre presencia o ausencia de infección. El intervalo de confianza del 95% se utilizó para valorar la hipótesis del valor 0,5. Si el área del 95% IC no incluía el valor 0,5, entonces había evidencia de

que el test HpSA tenía la capacidad de discernir entre presencia o ausencia de infección.

5. RESULTADOS

1. IMPACT OF COLLOIDAL BISMUTH SUBCITRATE IN THE ERADICATION RATES OF *Helicobacter pylori* INFECTION-ASSOCIATED DUODENAL ULCER USING A SHORT TREATMENT REGIMEN WITH OMEPRAZOLE AND CLARITHROMYCIN: A RANDOMIZED STUDY.

M. Forné, J.M. Viver, J.C. Espinós, I. Coll, F. Tresserra and J. Garau.

Am J Gastroenterol 1995; 90:718-21.

PACIENTES

En este estudio se incluyeron 61 pacientes con úlcera duodenal activa diagnosticada por endoscopia y asociada a infección de la mucosa gástrica por *H. pylori*.

Los pacientes incluidos en el estudio fueron randomizados en dos grupos para su tratamiento. En el grupo A, los pacientes fueron tratados con omeprazol (Pépticum, Laboratorios Andrómaco, España) 20 mg / 12 horas, durante 8 días. A las 24 horas después de iniciar el omeprazol se añadió claritromicina (Klacid, Laboratorios Abbot, España) 500mg / 12 horas y SBC (Gastrodenol, Laboratorios Cantabria, España) 120 mg / 6 horas, durante 7 días. En el Grupo B: los pacientes fueron tratados con las mismas dosis de omeprazol y claritromicina durante 8 y 7 días respectivamente, sin SBC. Ningún paciente recibió tratamiento de mantenimiento con antiseoretos. Al finalizar el tratamiento se valoró: el cumplimiento del tratamiento contabilizando la medicación sobrante, los efectos adversos, los síntomas gastrointestinales y la ingesta de medicación diferente a la del estudio. Se registraron como efectos adversos los

síntomas gastrointestinales, si se producía una exacerbación mayor que la que cabría esperar de la enfermedad, en pacientes en los que el tratamiento resultara ineficaz.

Todos los pacientes completaron el tratamiento. Las características de los pacientes fueron similares en ambos grupos (Tabla 6). En ambos grupos hubo una rápida mejoría del dolor y de los otros síntomas gastrointestinales. En la Tabla 7 se muestran los resultados obtenidos, en cuanto a la erradicación de la infección y la cicatrización de la úlcera duodenal, en el control endoscópico practicado a las 4 semanas después de finalizar el tratamiento.

El *H. pylori* se erradicó en 25 / 31 (80,6%) de los pacientes en el grupo A y en 15 / 30 (50%) de los pacientes en el grupo B ($p = 0,016$); la diferencia entre las proporciones fue 30,6; (95%) IC: 7,98 - 53,3. La cicatrización de la úlcera se documentó en 30 / 31 (96,8%) de los pacientes en el grupo A; el único paciente en el que la úlcera duodenal no cicatrizó se confirmó la persistencia de la infección. En el grupo B, la úlcera duodenal se cicatrizó en 25 / 30 (83%) de los pacientes ($p = ns$); la diferencia entre las proporciones fue 13, 4; (95%) IC: 1,27 - 28,2; entre los 25 pacientes del grupo B que cicatrizaron la úlcera duodenal, 23 erradicaron la infección y en 12 persistió la infección por *H. pylori*. Entre los restantes 5 pacientes del grupo B, en dos no se pudo demostrar la cicatrización de la úlcera duodenal por problemas técnicos, en el primero por estenosis pilórica y el segundo por estenosis bulbar; sin embargo, ambos pacientes erradicaron la infección. En los otros 3 pacientes, la úlcera persistió. Sin embargo, en dos, la infección se erradicó. Si sólo se incluyen en el análisis final los pacientes valorados por endoscopia, la cicatrización de la úlcera se logró en 25 / 28 (89,3%) de los pacientes.

Los efectos adversos al tratamiento fueron escasos y en ningún caso obligaron a interrumpir la medicación. Dos pacientes refirieron sabor metálico (uno en cada en

grupo), y otro paciente del grupo B refirió náuseas y deposiciones pastosas durante el tratamiento.

El estudio histológico de las biopsias mostró una mejoría de índice de gastritis en el control postratamiento en 47 (77%) de los pacientes, no cambió en 10 (16%) y empeoró en 4 (7%). Se observó que en la mayoría de los pacientes que mostraron un empeoramiento del índice gastritis persistía el *H. pylori* en las biopsias y aquellos que mostraron una mejoría habían erradicado la infección; sin embargo, las diferencias no alcanzaron significación estadística ($p = 0,057$) (Fig 1).

Finalmente, la mejoría de los parámetros histológicos tampoco mostró diferencias cuando se valoró si los pacientes habían sido tratados con o sin bismuto ($p < 0,94$), probablemente ello sea debido al tamaño de la muestra.

Tabla 6. Características de los pacientes incluidos en el estudio.

	Grupo A	Grupo B
Pacientes (n)	31	30
Varones / mujeres	24 / 7	17 / 13
Edad media (\pm DS)	46,8 \pm 12,5	46 \pm 15,5
Dispepsia ulcerosa > 1 año	29	28
Fumador (> 10cig /día)	17	17
Ingesta de AAS o AINE	0	1

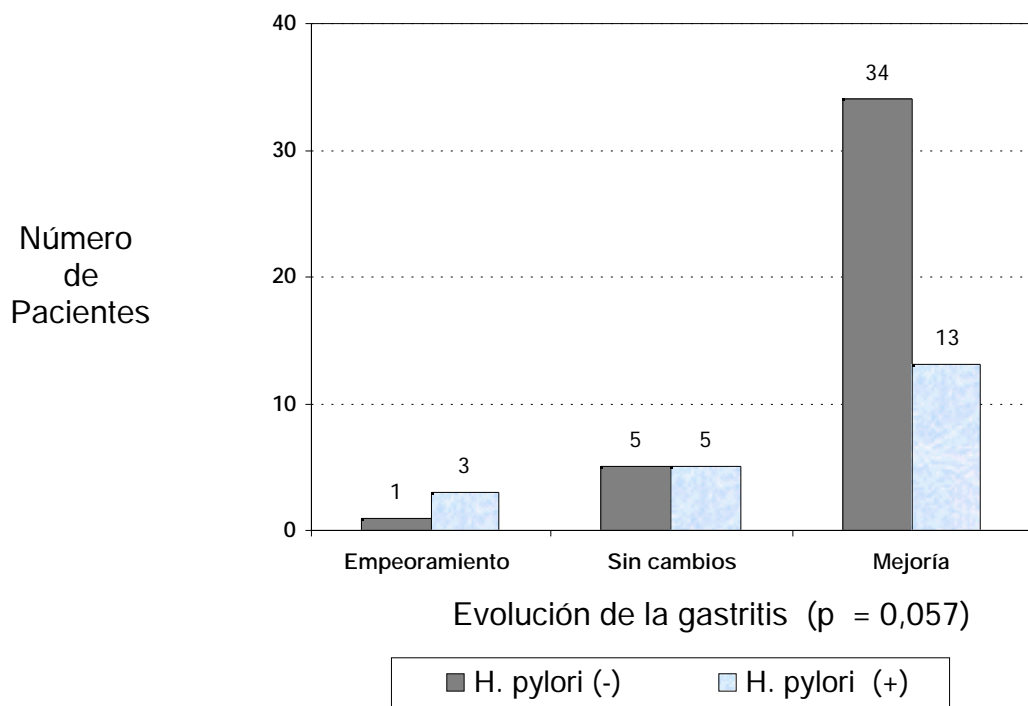
Tabla 7. Resultados postratamiento

	<i>Grupo A</i>	<i>Grupo B</i>	<i>p</i>
Erradicación <i>H. pylori</i> (+)	25 / 31 (80,6%)	15 / 30 (50%)	0,016
Cicatrización de la UD	25 / 25 (100%)	13 / 15 (86,6%)	
UD persistente	0 / 25 (0%)	1 / 15 (6,6%)	
Cicatrización UD no demostrada		1 / 15 (6,6%)	
Erradicación <i>H. pylori</i> (-)	6 / 31 (19,3%)	15 / 30 (50%)	NS
Cicatrización de la UD	5 / 6 (83,3%)	12 / 15 (80%)	
UD persistente	1 / 6 (16,6%)	2 / 15 (13,3%)	
Cicatrización UD no demostrada		1 / 15 (6,6%)	
Efectos secundarios	1 / 31 (3%)	2 / 30 (6,7%)	NS

Efectos secundarios: sabor metálico (un paciente de cada grupo), náuseas y heces pastosas (un paciente del grupo B)

NS, no significativa

Fig. 1. Evolución de la gastritis y presencia de *H. pylori*



2. RANDOMIZED CLINICAL TRIAL COMPARING TWO ONE-WEEK TRIPLE-THERAPY REGIMENS FOR THE ERADICATION OF *Helicobacter pylori* INFECTION AND DUODENAL ULCER HEALING.

M. Forné, J.M. Viver, M. Esteve, F. Fernández-Bañares, J. Lite, J.C. Espinós, S. Quintana, A. Salas and J. Garau.

Am J Gastroenterol 1998; 93:35-38.

PACIENTES

Se incluyeron 182 pacientes con úlcera duodenal asociada a infección de la mucosa gástrica por *H. pylori* que fueron randomizados consecutivamente mediante sobres cerrados en dos grupos de tratamiento. En el grupo OCB (n = 91) los pacientes fueron tratados con omeprazol 40 mg (Pépticum, Laboratorios Andrómaco, España) y claritromicina 500 mg cada 12 horas (Bremón, Laboratorios PENSA, España) más SBC 120 mg cada 6 horas (Gastrodenol, Laboratorios Cantabria, España) durante 7 días. En el grupo OCA (n = 91) los pacientes fueron tratados con las mismas dosis de omeprazol y claritromicina más amoxicilina 1 gr cada 12 horas durante 7 días. Se controló la ingesta de otros fármacos durante el tratamiento y durante la fase de seguimiento hasta confirmar la cicatrización de la úlcera. Ningún paciente recibió tratamiento de mantenimiento con antiseoretos.

Dos pacientes, uno en cada grupo, se perdieron durante el seguimiento, y uno en el grupo OCA se excluyó del estudio por inclusión inadecuada (el test de la ureasa rápida

fue positivo pero la tinción de Gram y el estudio microbiológico e histológico de las biopsias gástricas fueron negativas para *H. pylori*).

Las características de los pacientes fueron similares, sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 8).

Hubo una rápida mejoría de los síntomas en ambos grupos.

Los resultados obtenidos, tanto en el análisis por protocolo (Tabla 9) como en el análisis por intención de tratar (Tabla 10), en la erradicación de *H. pylori* y en la cicatrización de la úlcera fueron similares en ambos grupos de tratamiento. Por intención de tratar, el *H. pylori* se erradicó en 75 de los 91 pacientes (82,4% en el grupo OCB y en 80 de los 90 pacientes (88,9%) en el grupo OCA ($p = 0,21$); en el análisis por protocolo, los resultados fueron: 75 de 90 (83,3%) *versus* 80 de 90 (89,9%), respectivamente. La diferencia entre proporciones fue 6,5%, 95%IC = -3 a 16; $p = 0,19$ (Tabla 4). La cicatrización de la úlcera se documentó por intención de tratar en 83 de los 91 pacientes (91,2%) y en el análisis por protocolo en 83 de los 90 pacientes (92,2%) en el grupo OCB. En este grupo, 7 pacientes tenían úlcera en el control endoscópico realizado a las 4 semanas después de finalizar el tratamiento; 5 de ellos tenían *H. pylori* y 2 habían erradicado la infección en las biopsias de la mucosa gástrica. La cicatrización de la úlcera duodenal no se pudo confirmar adecuadamente en estos 2 últimos pacientes que habían erradicado el *H. pylori*, uno por estenosis pilórica y el segundo por estenosis medio bulbar que dificultaron el paso del endoscopio. En el análisis por intención de tratar, estos 2 pacientes se valoraron como úlcera persistente y fueron tratados con omeprazol 20 mg/día durante 4 semanas y se confirmó por endoscopia la cicatrización de la úlcera al finalizar el tratamiento.

En el grupo OCA, la cicatrización de la úlcera se confirmó por intención de tratar en 82 de los 90 pacientes (91,1%) y por protocolo en 82 de los 89 pacientes (92,1%) ($p = 0,98$). Siete pacientes tenían úlcera duodenal persistente; en 5 de ellos se había erradicado el *H. pylori* y en los 2 restantes la infección persistió. La cicatrización de la úlcera fue significativamente superior en el grupo de pacientes que erradicó el *H. pylori* (148 de 155; 95%) que entre los que persistió la infección (17 de 24; 70,8%). La diferencia entre proporciones fue 24,7%, 95%IC = 6,17 a 43,1; $p < 0,01$.

Los efectos adversos a la medicación fueron poco frecuentes y leves. Un paciente en el grupo OCA presentó deposiciones pastosas en los 2 últimos días del tratamiento y persistieron durante 7 días más y en ningún momento le impidió realizar su actividad habitual. Un paciente en el grupo OCB presentó una erupción cutánea atribuida a claritromicina y que obligó a suspender el tratamiento con claritromicina en el quinto día de tratamiento; a pesar de ello, la úlcera estaba cicatrizada y la infección se erradicó. Otro paciente del grupo OCB presentó aftas en orofaringe pero completó el tratamiento.

El cultivo de las biopsias gástricas fue positivo en 104 de 182 pacientes (57%), pero la susceptibilidad antibiótica sólo se obtuvo en 47 cepas (45%). Todos los aislados fueron sensibles a amoxicilina y tetraciclinas; un paciente (2%) fue resistente a claritromicina y 6 pacientes (12,7%) mostraron resistencias a metronidazol.

Tabla 8. Características de los pacientes incluidos en le estudio.*

	Grupo OCB	Grupo OCA
Pacientes (n)	90	89
Varones / mujeres	54 / 37	64 / 27
Edad media (años) \pm DS	47,8 \pm 13,5	45,8 \pm 14
Historia de dispepsia ulcerosa (años) \pm DS	12,3 \pm 12	12,7 \pm 11,2
Pacientes con 2 úlceras	4	4
No fumadores	49	44
Fumador (<20cig / >20 cig día)	24 / 5	21 / 6

* Sin diferencias estadísticamente significativas

DS: desviación standard

Tabla 9. Resultados de la erradicación de *H. pylori* y de la cicatrización de la úlcera duodenal en ambos grupos en el análisis por protocolo. ⁺

	<i>Grupo OCB</i>	<i>Grupo OCA</i>	<i>p</i>
Erradicación <i>H. pylori</i>	75 / 90 (83,3 %)	80 / 89 (89,9 %)	0,19
Cicatrización de la UD	73 / 75 (97,3 %)	75 / 80 (93,7 %)	
UD persistente	2 / 75 (2,7 %)	5 / 80 (6,2 %)	
No erradicación <i>H. pylori</i>	15 / 90 (16,7%)	9 / 89 (10%)	
Cicatrización de la UD	10 / 15 (66,7%)	7 / 9 (77,8%)	NS
UD persistente	5 / 15 (33,3%)	2 / 9 (22,2%)	
Efectos adversos	2	1	

+ No hubo diferencias con significación estadística. Un paciente presentó una erupción cutánea y otro aftas en orofaringe. Un paciente presentó deposiciones pastosas.

Tabla 10. Resultados de la erradicación de *H. pylori* y de la cicatrización de la úlcera duodenal en ambos grupos en el análisis por intención de tratar

	<i>Grupo OCB</i>	<i>Grupo OCA</i>	<i>p</i>
Erradicación <i>H. pylori</i>	75 / 91 (82,4 %)	80 / 90 (88,9 %)	0,21
Cicatrización de la UD	83 / 91 (91,2%)	82 / 90 (91,1%)	0,98

I I. EFICACIA DE LOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN LA INFECCIÓN Y EN EL CONTROL DE LA ERRADICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*.

ACCURACY OF AN ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF *Helicobacter pylori* IN STOOL SPECIMENS IN THE DIAGNOSIS OF INFECTION AND POSTTREATMENT CHECK-UP.

M. Forné, J. Domínguez, F. fernández_Bañares, J.Lite, M. Esteve, N. Galí, J.C. Espinós, S. Quintana and J.M. Viver.

Am J Gastroenterol 2000; 95:2200-5

PACIENTES

Se incluyeron 188 pacientes, 117 (62,2%) hombres, con una edad media de $50 \pm 16,7$ años. Los diagnósticos endoscópicos se describen en la Tabla 6.

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR *H. pylori*

Se diagnosticó infección por *H. pylori* en 152 (80,9%) pacientes. La prevalencia de la infección por *H. pylori* fue diferente según el diagnóstico endoscópico; el porcentaje de infección positiva para *H. pylori* se describe en la Tabla 11.

La absorbancia media del test HpSA para los pacientes *H. pylori*-positivos y *H. pylori*-negativos fue $1,16 \pm 0,89$ (rango 0,001-3,81) y $0,17 \pm 0,44$ (rango 0,001-2,38), respectivamente ($p=0,001$). La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de los 4 métodos diagnósticos utilizados se describen en la Tabla 6. La densidad óptica media en los falsos (+) del test HpSA fue $0,62 \pm 0,83$ (rango 0,123- 2,4). Dos de los 8 resultados falsos (+) mostraron resultados ligeramente superiores al punto de corte (densidad óptica 0,123 y 0,126). La densidad óptica media entre los resultados falsos (-) del test HpSA fue $0,06 \pm 0,04$ (rango 0,001-0,118).

En el diagnóstico de la infección el área por debajo de la curva ROC para el test HpSA fue 0,88 (95%IC 0,83-0,95) (Fig 2). Utilizando como punto de corte el valor 0,130, en lugar de 0,120 (recomendado por el fabricante), la sensibilidad fue similar (89,5%; 95%IC, 85-94), pero la especificidad fue superior (83,3%; 95% IC 67-94). Cuando se estudiaron otros puntos de corte la seguridad del test no se incrementó el valor diagnóstico.

Los tres pacientes portadores de gastroyeyunostomía mostraron resultados positivos del test HpSA. En dos de ellos la infección también se confirmó con los otros métodos diagnósticos. El tercer paciente que recibía tratamiento de mantenimiento con omeprazol, a dosis altas, tenía un TAU negativo pero en el estudio de biopsias fundicas el test de la ureasa rápida y la histología fueron positivos para *H. pylori*.

EFICACIA DE HpSA EN EL CONTROL DE LA ERRADICACIÓN.

La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo obtenidos en los controles realizados a las 24 horas, a las 6 semanas y a los 6 meses después de finalizar el tratamiento se describen en la Tabla 12.

A las 24 horas después de finalizar el tratamiento, los 8 pacientes que tenían el TAU positivo a las 6 semanas, tenían valores negativos de HpSA en heces (Tabla 13). Por otro lado, 9 pacientes con TAU negativo tenían el test HpSA positivo en heces. Las densidades ópticas medias del test HpSA en los pacientes *H. pylori*-positivos y en los pacientes *H. pylori*-negativos fueron $0,024 \pm 0,0013$ y $0,025 \pm 0,004$, respectivamente ($p = 0,46$).

A las 6 semanas postratamiento, el área bajo la curva ROC para el test HpSA fue 0,78 (95%IC, 0,66 - 0,90) (Fig 3). En este control, los puntos de corte 0,120 y 0,130 mostraron una sensibilidad y especificidad similares. En el control realizado a los 6 meses, el área bajo la curva ROC para el test HpSA fue 0,65 (95%IC, 0,45 - 0,85) (Fig 4). En este control, tampoco se obtuvieron diferencias al comparar los valores 0,120 y 0,130, como puntos de corte.

En 20 de los 30 pacientes con resultados discordantes del test HpSA a las 6 semanas, se pudo realizar un control a los 6 meses, se repitió el TAU y la determinación del test HpSA en heces, lo que permitió su reclasificación en falsos (-) o falsos (+) (Tabla 14). Dos pacientes considerados como falsos (-) del test HpSA test a las 6 semanas y a los 6 meses fueron negativos. Los otros casos fueron correctamente reclasificados a los 6 meses. Basándonos en estos datos, la sensibilidad y especificidad para el test HpSA a las 6 semanas hubiera sido de 74% y 87,7% respectivamente.

Partiendo desde el momento del diagnóstico de la infección, se comparó la evolución de los valores de absorbancia media para el test HpSA a las 6 semanas y los 6 meses después del tratamiento, según los pacientes hubiesen erradicado o no, la infección (Fig 5). Como se observa en la gráfica, el valor de absorbancia media disminuyó de forma significativa a las 6 semanas, independientemente de que los pacientes hubiesen erradicado o no, la infección ($p < 0,001$).

Para estudiar la reproducibilidad del método, se estudiaron 8 muestras de heces independientemente dos veces por el mismo investigador. El coeficiente de correlación interclase fue 0,82. Para valorar la variabilidad interobservador, se estudiaron 10 muestras de heces de forma simultánea por dos investigadores. En este análisis, el coeficiente de correlación interclase fue 0,74. Los resultados confirmaron una buena correlación entre los dos investigadores.

Tabla 11. Principales diagnósticos endoscópicos de los pacientes incluidos en el estudio.

Diagnósticos endoscópicos	Nº de pacientes (%)	<i>H. pylori</i> (+) %
Úlcera duodenal	61 (32,4%)	96,7
Úlcera gástrica	27 (14,4%)	81,5
Duodenitis erosiva	41 (21%)	85
Gastritis erosiva	36 (19%)	19
Esofagitis / hernia de hiato	27 / 46 (14 / 24%)	88 / 78
Úlcera en boca anastomótica (antrectomía+ GE tipo Billroth I)	1 (0,5%)	100
Vagotomía + piloroplastia	1 (0,5%)	100
Gastroyeyunostomía	3 (1,6%)	100
Normal	22 (11%)	77

Tabla 13. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de los 4 métodos utilizados en el diagnóstico de la infección.

	HpSA	TAU	TRU	Histología
Sensibilidad %	89,5	93,4	90	94
(95% IC)	(85 - 94)	(88 - 97)	(84 - 94)	(89 - 97)
Especificidad %	77,8	90	94	100
(95% IC)	(61- 90)	(80 - 97)	(81 - 99)	(90 - 100)
VPP %	94,4	97,3	98,6	100
(95% IC)	(89 - 97)	(93 - 99)	(95 - 100)	(97 -100)
VPN %	63,6	82	69,4	80
(95% IC)	(48 –78)	(66 – 92)	(54 - 82)	(65 – 90)
Falsos (+)	8	4	2	
Falsos (-)	16	7*	15	9
Indeterminado		3		
Nº pacientes	188	188	188	188

* 3 pacientes tenían antecedentes de cirugía gástrica (vagotomía más piloroplastia,gastroyeyunostomía y antrectomía más gastroenteroanastomosis tipo Billroth I)

Tabla 13. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de los valores de *HpSA* test a las 24 horas, a las 6 semanas y a los 6 meses después de finalizar el tratamiento erradicador.

	24 horas	6 semanas	6 meses
Sensibilidad % (95% IC)	0 % (0-34)	70,4% (50-86)	50% (16-84)
Especificidad % (95% IC)	85,2% (74-93)	81,6% (75-89)	79,3% (67-89)
VPP % (95% IC)	0% (0-34)	47,5% (31.5-64)	25% (7-52)
VPN % (95% IC)	85,2% (74-93)	91,2% (85-97)	92% (81-97,8)
CRM *	74,3 %	80%	75,7%
Falsos (+)	9	21	12
Falsos (-)	8	8	4
Nº pacientes	70	142	64

* Correlación relativa entre los dos métodos (CRM)

♦ 6 pacientes se perdieron durante el seguimiento

Fig 2. Área de la curva ROC del test HpSA en el diagnóstico de la infección

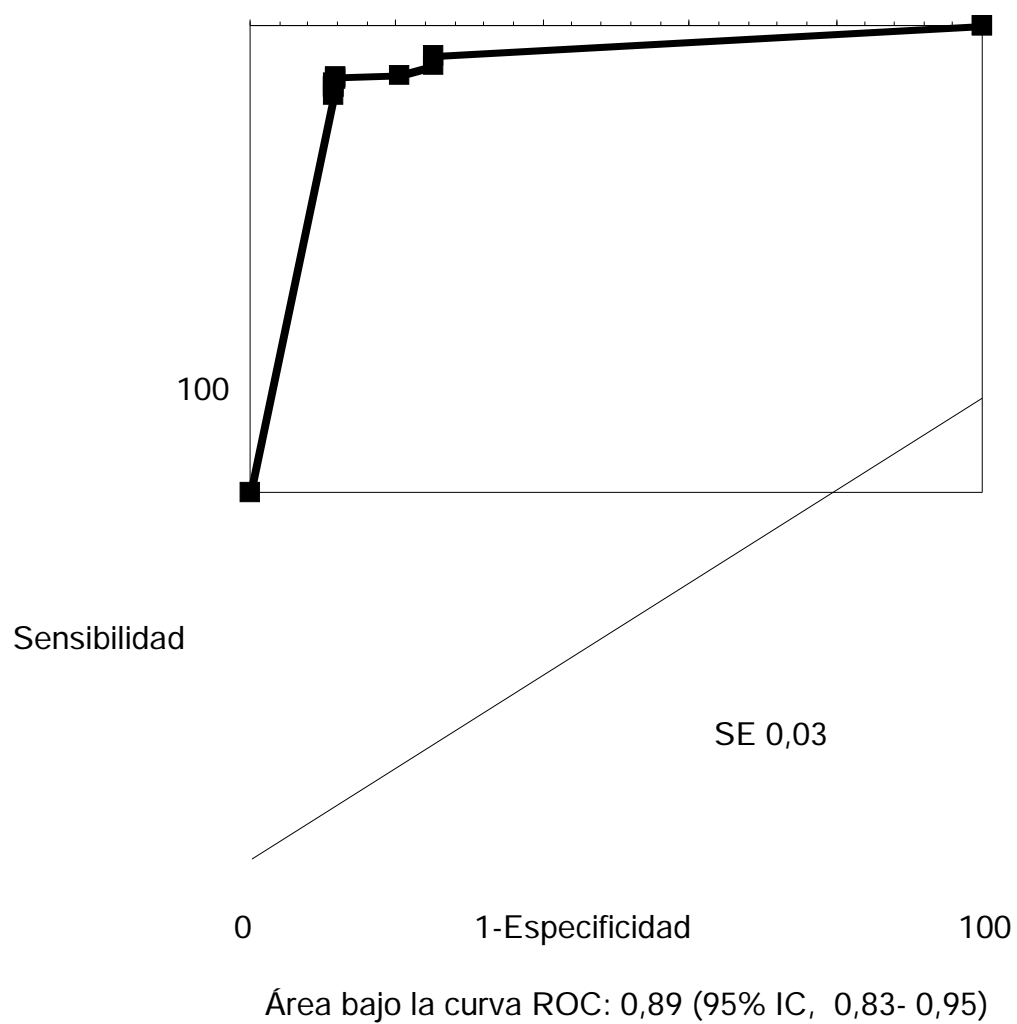
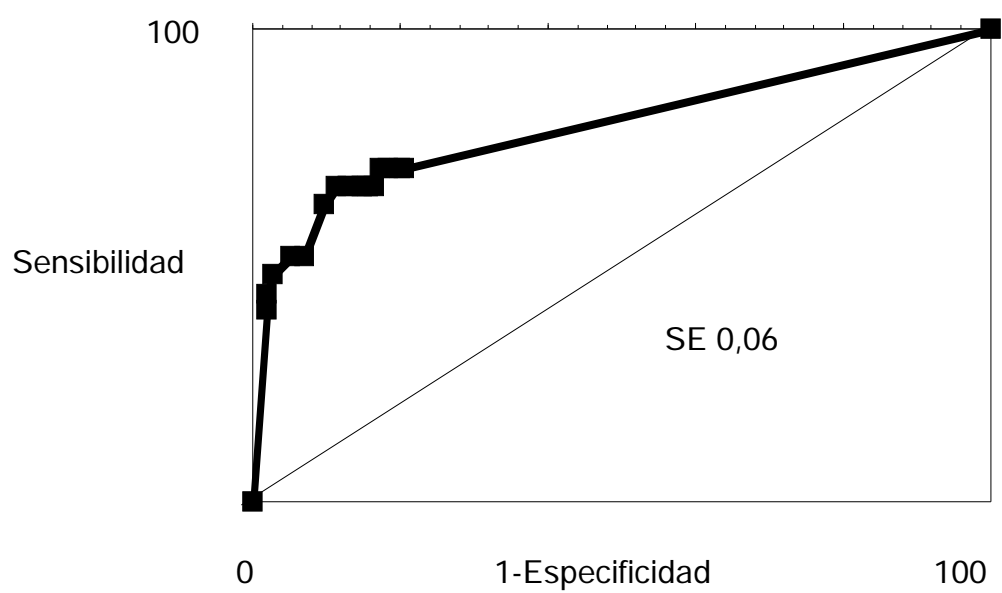
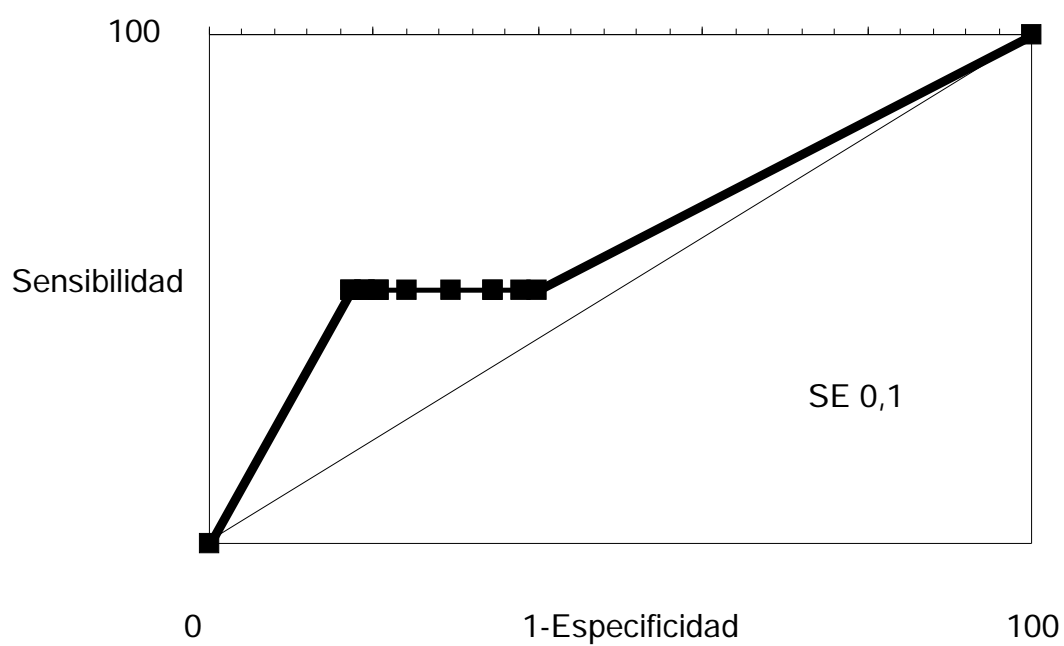


Fig 3. Área de la curva ROC del test HpSA a las 6 semanas después de finalizar el tratamiento.



Área bajo la curva ROC: 0,78 (95%IC, 0,66-0,90)

Fig 4. Área de la curva ROC del test HpSA a los 6 meses después de finalizar el tratamiento.



Área bajo la curva ROC: 0,65 (95%IC, 0,45-0,85)

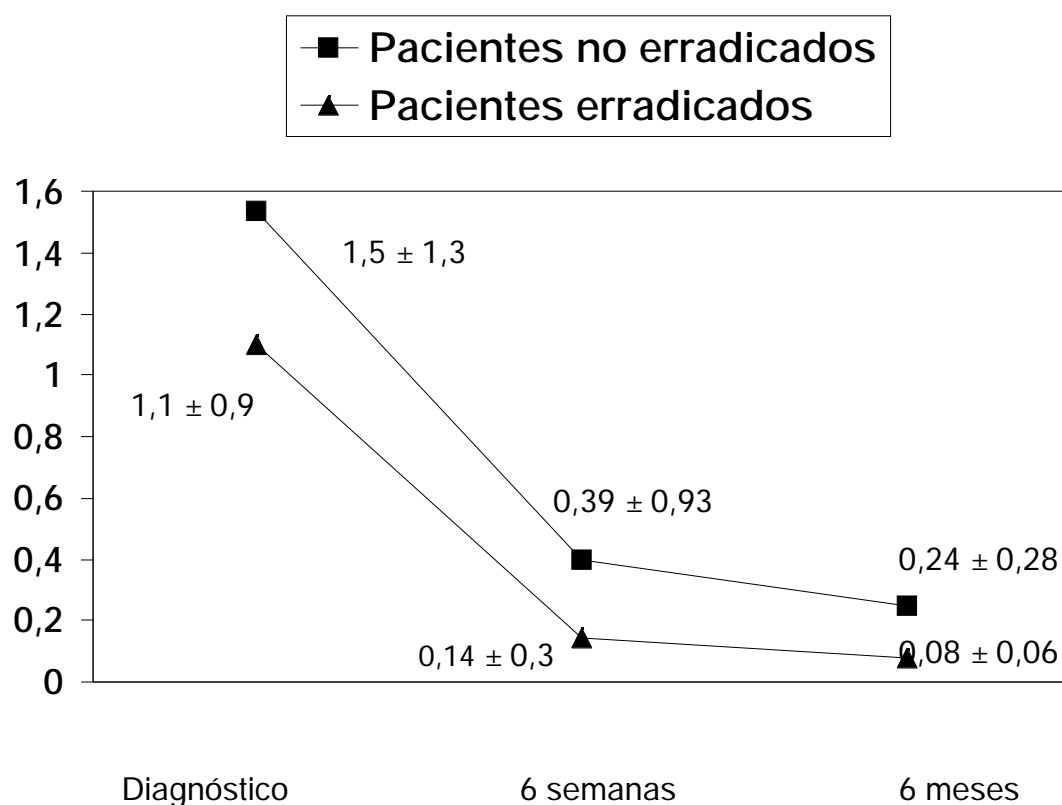


Fig 5. Evolución de los valores de absorbancia media del test HpSA desde el momento del diagnóstico hasta los 6 meses después del tratamiento erradicador en muestras pareadas según los pacientes hubiesen erradicado (58 pacientes) o no (8 pacientes) la infección por *H. pylori*. Cuatro de los 70 pacientes se perdieron durante el seguimiento. ($p < 0,001$; diagnóstico *versus* 6 semanas y 6 meses tanto en los pacientes que erradicaron la infección como en los que persistió el *H. pylori*.)

Tabla 14. Evolución de 20 de los 30 resultados discordantes del test *HpSA* a las 6 semanas

6 semanas	6 meses	Reclasificación del test <i>HpSA</i>
4 pacientes <i>HpSA</i> (-) y TAU (+)	(N=1) <i>HpSA</i> (+) y TAU (+)	Falso (-) del test <i>HpSA</i> a las 6 semanas
	(N=2) <i>HpSA</i> (-) y TAU (-) *	No valorable
	(N=1) <i>HpSA</i> (-) y TAU (+)	Falso (-) del test <i>HpSA</i> a las 6 semanas y a los 6 meses
15 pacientes <i>HpSA</i> (+) y TAU (-)	(N=8) <i>HpSA</i> (+) y TAU (-)	Falso (+) del test <i>HpSA</i> a las 6 semanas y a los 6 meses
	(N=7) <i>HpSA</i> (-) y TAU (-)	Falso (+) del test <i>HpSA</i> a las 6 semanas
1 paciente <i>HpS</i> (-) y TAU Indeterminado	(N=1) <i>HpSA</i> (-) y TAU (+)	Falso (-) del test <i>HpSA</i> a las 6 semanas y a los 6 meses

* Dos casos considerados como falsos (-) del test *HpSA* a las 6 semanas recibieron una segunda pauta de tratamiento erradicador y el TAU a las 6 semanas y a los 6 meses fue negativo. A los 6 meses el test *HpSA* fue (-) con un valor similar al obtenido en el control realizado a las 6 semanas.

Cuatro de los pacientes tenían valores de *HpSA* en el punto de corte.

6. DISCUSIÓN

I. IMPACT OF COLLOIDAL BISMUTH SUBCITRATE IN THE ERADICATION RATES OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION-ASSOCIATED DUODENAL ULCER USING A SHORT TREATMENT REGIMEN WITH OMEPRAZOLE AND CLARTHROMYCIN : A RANDOMIZED STUDY.

Diversos estudios han demostrado que la erradicación de *H. pylori* favorece la cicatrización de la úlcera duodenal.^{458, 459} A pesar de los buenos resultados obtenidos con las pautas triples, estos tratamientos suelen presentar efectos secundarios a la medicación en un 20% a un 30% de los pacientes,^{467, 477} las tasas de erradicación son inferiores en zonas con alta prevalencia de resistencia a metronidazol⁴⁷⁸ o dan lugar a la aparición de resistencia a metronidazol en los casos en los que falla el tratamiento, y suelen tener un mal cumplimiento por el paciente por su larga duración y por el número elevado de tabletas que es necesario tomar diariamente.

En el presente estudio, se obtuvo una alta tasa de erradicación de *H. pylori* en el grupo de pacientes tratados con omeprazol, claritromicina y SBC y se consiguió una elevada tasa de cicatrización de la úlcera en ambos grupos con pautas de tratamiento de sólo 8 días de duración. El cumplimiento del tratamiento por los pacientes fue excelente y los efectos secundarios a la medicación fueron mínimos.

En un estudio preliminar realizado en nuestro servicio,⁴⁷⁹ 33 pacientes consecutivos diagnosticados de úlcera duodenal por endoscopia en los que se confirmó infección de la mucosa gástrica por *H. pylori* fueron tratados con omeprazol, SBC y claritromicina durante sólo 7 días sin tratamiento antisecretores de mantenimiento. A las 4 semanas después de finalizar el tratamiento, el *H. pylori* se erradicó en 22 de los 30 (73,3%) pacientes, y la úlcera cicatrizó en 27 de los 30 (90%) pacientes. En el presente estudio, nosotros hemos comparado la eficacia de dos

pautas de tratamiento corto (8 días) siendo la única diferencia entre ambos grupos de tratamiento el añadir SBC (grupo A) a la combinación de un antisecretor (omeprazol) y un antibiótico (claritromicina). La superior tasa de erradicación de *H. pylori* obtenida en el grupo A (80,6% *versus* 50%, $p = 0,012$) apoyarían los resultados de estudios previos⁴⁸⁰ que hipotetizaban que el SBC potenciaba la acción de los antibióticos por su propia actividad antibacteriana intrínseca o porque frenaba la aparición de resistencias antibióticas.^{481, 482} La tasa de erradicación obtenida en nuestro estudio piloto (73%) fue similar a la obtenida en el grupo de pacientes de este estudio (80,6%); la única diferencia entre ambas pautas de tratamiento fue la dosis de omeprazol, utilizada (20mg/día *versus* 40mg/día) y el hecho de que en el presente estudio los pacientes fueron premedicados 24 horas antes con omeprazol 40mg /día. Se tuvo en consideración el impacto de la actividad *in situ* de la claritromicina. Este antibiótico es significativamente más activo *in vitro* frente a *H. pylori* que la eritromicina o la azitromicina a pH neutro. Los 3 antibióticos son entre 8 y 32 veces menos eficaces a pH bajo.⁴⁸³ Desdichadamente, no fue posible obtener la sensibilidad antibiótica de las cepas de *H. pylori* lo que no permitió establecer una relación entre susceptibilidad antibiótica y tasa de erradicación.

La tasa de erradicación obtenida en el grupo A de tratamiento (80,6%) fue similar a la obtenida en el estudio piloto realizado por Logan et al.⁴⁸⁴ (Administrando omeprazol 40mg/d y claritromicina 500mg/8 h durante 14 días) y fue superior a la obtenida por el mismo autor con una semana de tratamiento con CBS 120mg/6h, amoxicilina 500mg/6h y metronidazol 400mg cinco veces al día en los días 5 al 7.⁴⁸⁵

Es importante remarcar la alta tasa de cicatrización de la úlcera duodenal obtenida con sólo 8 días de tratamiento, similar a la obtenida en nuestro estudio piloto.⁴⁷⁸ Fue superior entre los pacientes que erradicaron la infección (100% y 86,6% frente 83,3%

y 80% para los grupos A y B, respectivamente), aunque no hubo diferencias estadísticas significativas. Es posible que si el número de pacientes hubiese sido superior las diferencias tendrían significación estadística. Los resultados superan a los obtenidos en los estudios que han valorado omeprazol 20mg/d durante 2 semanas y son comparables a los obtenidos en los estudios que han valorado el mismo antisecretor a las mismas dosis pero durante 4 semanas.^{80, 486} Estos resultados apoyarían la teoría de que la erradicación de *H. pylori* aceleraría la cicatrización de la úlcera duodenal, confirmada por recientes estudios, que han obtenido una alta tasa de cicatrización de la úlcera duodenal sin utilizar drogas antisecretoras.^{396, 485} Las ventajas de esta pauta de tratamiento son la excelente tolerancia por parte del paciente con mínimos efectos secundarios y un excelente cumplimiento por el paciente al ser el número de pastillas diarias aceptable.

El análisis de los cambios histológicos mostró que los pacientes que erradicaron la infección presentaron una mejoría del índice de gastritis. La mejoría histológica no se relacionó con la administración de bismuto. Estos resultados son contradictorios con los descritos por Neri et al.,⁴⁸⁷ estos autores describieron que el SBC favorecía la curación de la gastritis asociada a la infección por *H. pylori* por un mecanismo independiente de la erradicación de la bacteria. Esta diferencia en los resultados puede deberse a que estos autores sólo estudiaron un parámetro de la gastritis crónica, la atrofia, mientras que en nuestro estudio se valoró la suma de los parámetros de la inflamación (actividad inflamatoria e inflamación crónica) que puede ser calculada con mayor precisión.

2. RANDOMIZED CLINICAL TRIAL COMPARING TWO ONE-WEEK TRIPLE-THERAPY REGIMENS FOR THE ERADICATION OF *Helicobacter pylori* INFECTION AND DUODENAL ULCER HEALING.

Diversos estudios han sugerido que la erradicación de *H. pylori* no sólo acelera la cicatrización de la úlcera duodenal^{406, 488} sino que además disminuye la recidiva de la úlcera péptica gástrica^{463, 489} y duodenal.^{459, 464} Estudios recientes han demostrado que ello es posible con pautas de tratamiento de 7 días de duración sin la necesidad de añadir tratamiento antisecretor.⁴⁹⁰⁻⁴⁹⁶ Este estudio confirma que las pautas de tratamiento erradicador de corta duración son muy eficaces tanto para la erradicación de la infección como para la cicatrización de la úlcera duodenal y que el SBC, además, es una buena alternativa a la amoxicilina en estas pautas de tratamiento. Tal como se demostró en otros estudios,^{396,398,485, 490-498} una alta tasa de cicatrización de la úlcera se obtuvo en los pacientes que erradicaron la infección. Así, ambas pautas de tratamiento son útiles en el tratamiento de la úlcera duodenal asociada a la infección por *H. pylori* y con un coste similar. Sin embargo, la pauta OCB tiene la ventaja de administrar sólo un antibiótico y puede administrarse en los pacientes alérgicos a la penicilina.

En este estudio, se han utilizado dosis de omeprazol superiores a las habituales con la intención de conseguir una superior tasa de erradicación de *H. pylori*, basándonos en los resultados de estudios previos que demostraron tasas de erradicación progresivamente superiores al incrementar la dosis de omeprazol cuando se administraba junto a amoxicilina.^{499, 500} De hecho, el omeprazol tiene una acción antimicrobiana intrínseca, aunque su mecanismo de acción es todavía desconocido.

Los estudios *in vitro* han demostrado que este inhibidor de la bomba de protones tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *H. pylori*. En este sentido, el omeprazol podría tener un efecto sinérgico tal como la inhibición de la ureasa en un medio ácido,^{501, 502} o la capacidad de inhibir la P-tipo adenosinatrifosfatasa de la membrana del *H. pylori*.⁵⁰³ Por otro lado, el omeprazol puede favorecer el efecto de los agentes antimicrobianos disminuyendo el pH y el volumen de jugo gástrico, potenciando así su concentración en el jugo gástrico.^{504, 505} Además, el omeprazol puede reducir la respuesta inflamatoria asociada a la inflamación aguda y crónica de la mucosa gástrica. Así, la función efectiva de los neutrófilos es pH dependiente y es inhibida a pH <6,8.⁵⁰⁶ Los resultados de este estudio no apoyan la hipótesis de que dosis superiores de omeprazol mejoren la erradicación de *H. pylori*, cuando se utilizan en las pautas OCA, ya que los estudios que han utilizado dosis inferiores (20 mg /12 h) obtienen similares tasas de erradicación.^{495, 496, 507} Por el contrario, en los estudios que se utiliza la amoxicilina como único antibiótico,^{499, 500} las dosis de omeprazol pueden tener mayor relevancia. Esta aparente discrepancia podría justificarse por la diferencia en la estabilidad de los antibióticos utilizados, que pueden estar influenciados por los cambios del pH gástrico. En este sentido, Goddard et al,⁵⁰⁸ demuestran que el omeprazol incrementa la concentración de amoxicilina en el jugo gástrico, plasma y saliva, pero no influye en la concentración de claritromicina.

Sin embargo, cuando se utiliza la pauta OCB no está claro si las dosis de omeprazol influyen en la tasa de erradicación de *H. pylori*. En dos estudios previos realizados en nuestro Servicio utilizando esta misma combinación terapéutica, la erradicación obtenida fue 73,3% y 80,6% utilizando dosis de omeprazol de 20 mg/d⁵⁰⁹ y 20 mg /12h,³⁹⁸ respectivamente. En el presente estudio, utilizando dosis de 40 mg/12, la erradicación fue superior (83,6%); estos resultados podrían sugerir una relación dosis-respuesta; estos resultados deberán confirmarse en futuros estudios diseñados a tal fin.

La potencial toxicidad del bismuto cuando se administra asociado a dosis altas de omeprazol merece un comentario. Se ha sugerido que su biodisponibilidad local y sistémica depende del pH gástrico.⁵¹⁰ En este estudio, el omeprazol aumentó la biodisponibilidad sistémica del bismuto a partir del SBC, pudiendo dar lugar a manifestaciones sistémicas por su posible citotoxicidad.⁵¹⁰ Sin embargo, en nuestros estudios, no se observaron efectos secundarios cuando el SBC a 120 mg/6h se administró con omeprazol a dosis con 20 mg/d,⁵⁰⁹ 20 mg/12h³⁹⁸ o 40 mg/12h. Lamentablemente, no fue posible realizar niveles plasmáticos de bismuto para confirmar estos resultados

3. ACCURACY OF AN ENZYME IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF *Helicobacter pylori* IN STOOL SPECIMENS IN THE DIAGNOSIS OF INFECTION AND POSTTREATMENT CHECK-UP.

En la Atención Primaria en muchos casos, ya sea por la dificultad de realizar una endoscopia o por tratarse de pacientes jóvenes, se necesitan métodos no invasivos para diagnosticar la infección por *H. pylori*. En la actualidad hay evidencia inequívoca de que el TAU es un método eficaz en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en este ámbito. En un estudio previo realizado en nuestro Servicio, demostramos que la sensibilidad y especificidad del TAU en el diagnóstico de la infección fue 95,5% (95%IC, 92 –98) y 93,3% (95%IC, 79 –99), respectivamente,²⁴⁵ resultados similares a los obtenidos en otros estudios.⁵¹¹ El TAU es fácil de realizar y no requiere un medio de transporte especial hasta el centro de referencia, pero sí, son necesarios instrumentos especializados y caros para el análisis de las muestras.

Recientemente se ha comercializado un nuevo enzimoimmunoensayo para la detección de antígeno de *H. pylori* en las heces. El test HpSA es una prueba fácil y rápida que no requiere para su realización de equipamientos caros. Recientemente, se han publicado 3 estudios que han valorado la eficacia del HpSA test en el diagnóstico de la infección y en el seguimiento de los pacientes tras el tratamiento erradicador.¹⁶²⁻¹⁶⁴ En estos estudios, en el diagnóstico de la infección en pacientes sintomáticos no tratados la sensibilidad osciló entre 89% y 94% y la especificidad entre 90% y 94%. En el presente estudio la sensibilidad obtenida fue similar (89,5 %). Sin embargo, la especificidad fue inferior (77,8 %) a la descrita previamente,¹⁶²⁻¹⁶⁴ e inferior a la obtenida en el mismo estudio con el TAU, el test rápido de la ureasa o la histología. La diferencia observada con respecto a la sensibilidad obtenida en el estudio de Vaira et al.,¹⁶⁴ que obtuvo una superior sensibilidad del test (94%), podría justificarse por la exclusión del análisis final, de los pacientes con resultado

indeterminado del test HpSA. Si estos pacientes se incluyesen, la sensibilidad obtenida sería 91,7%, similar a la obtenida en el presente estudio en el que por definición no hubo resultados indeterminados. En este sentido, en un reciente estudio de Trevisani et al.¹⁷⁶ la especificidad del test HpSa varió de un 89,7% a un 98,7% al valorar los resultados indeterminados (2,3 %, sobre una muestra de 300 pacientes) como positivos.

En tres pacientes con cirugía gástrica previa que fueron *H. pylori* –positivos, el test HpSA fue positivo. Aunque el número de casos fue escaso, en los pacientes con antecedentes de cirugía gástrica, en los que el TAU es menos preciso, el test HpSA podría ser un buen método diagnóstico.

Por otro lado, no hay acuerdo sobre el punto de corte óptimo del test HpSA. Así, desde el inicio del estudio, el punto de corte utilizando doble lente (450/630 nm) ha sido modificado por la misma casa comercial de 0.100 a 0.120. En el presente estudio, el punto de corte se validó para la población que se estudiaba. Así, el valor 0,130 fue el que obtuvo igual sensibilidad (89,5%; 95%CI, 84-94) pero la especificidad fue superior, (83,3%; 95%IC, 70-93).

Los estudios preliminares,⁵¹²⁻⁵¹⁴ series con un escaso número de pacientes, que han valorado la determinación de antígeno de *H. pylori* en heces, antes y después del tratamiento, demostraron que los niveles de antígeno en heces descienden rápidamente tras el inicio del tratamiento erradicador. Por ello, se sugirió que el test HpSA podría ser útil para la valoración precoz de la eficacia del tratamiento erradicador. Sin embargo, la evolución de los niveles de antígeno en heces en los pacientes en que falló el tratamiento erradicador no había sido previamente evaluado. En nuestro estudio, se observó en todos los pacientes, un marcado

descenso de la absorbancia media a las 24 horas después de finalizar el tratamiento, sin discriminar entre los pacientes que habían erradicado o no el *H. pylori*. Por otro lado, la sensibilidad para el diagnóstico de infección persistente fue nula, demostrando que el test HpSA no es útil para la monitorización precoz de la eficacia del tratamiento.

La discrepancia entre los resultados del test HpSA y el TAU fue superior en el control realizado a las 6 semanas que en el control basal. La sensibilidad y especificidad del test HpSA descendió del 70,4% y 81,6%, respectivamente, siendo insuficiente comparado con los resultados del TAU. En estudios previos la sensibilidad y especificidad entre las 4 y 8 semanas después de finalizar el tratamiento fue muy variable, oscilando entre 68,3% y 95,3% y entre 68,3% y 95,4%, respectivamente.¹⁶²⁻¹⁶⁴ Sin embargo, en ninguno de estos estudios se hizo un seguimiento a largo plazo después del tratamiento. A los 6 meses, la sensibilidad del test fue todavía inferior (50%), y no mejoró cuando se valoraron diferentes puntos de corte.

La persistencia de un test HpSA positivo en algunos de los pacientes con TAU negativo a las 6 semanas y 6 meses fue un hallazgo inesperado. Existen algunas causas que podrían justificar estos resultados. Una posibilidad podría ser la existencia de falsos resultados del TAU. Sin embargo, esto representaría un bajo porcentaje de discrepancias entre el TAU y el test HpSA. Además, en nuestra serie la concordancia de los resultados del TAU respecto al test HpSA, cuando se comparan los resultados obtenidos a las 6 semanas y a los 6 meses fue del 94,5% y del 55,5%, respectivamente. El único resultado discordante del TAU fue un paciente con un resultado indeterminado a las 6 semanas y que fue positivo en el control efectuado a los 6 meses. Por otro lado, Markkristathis et al.¹⁶² sugieren, que un mes puede ser un periodo muy corto para evaluar la eficacia del tratamiento erradicador con el test

HpSA. Sin embargo, en nuestro estudio la evaluación se realizó a las 6 semanas y a los 6 meses después de finalizar el tratamiento. Ocho de los 15 pacientes que fueron falsos (+) con el test HpSA a las 6 semanas permanecieron positivos a los 6 meses, lo que sugiere que el tiempo transcurrido tras la finalización del tratamiento y la realización del test, entre 4 y 6 semanas no es el motivo de los resultados falsos (+). Otra posibilidad puede ser la eliminación durante tiempo prolongado de residuos no viables tras la muerte de la bacteria. En este sentido, el DNA de *H. pylori* puede ser detectado a las 4 semanas después de finalizar el tratamiento por técnicas de PCR en las heces de pacientes que han erradicado la infección.¹⁶² En condiciones normales, el *H. pylori* tiene una apariencia bacilar. En condiciones ambientales desfavorables o tras la exposición a antibióticos puede dar lugar a la conversión de la forma bacilar a la forma cocoide que es la manifestación morfológica de la muerte celular sin capacidad infectiva. Así, podría ser, que tras el tratamiento erradicador, el test HpSA podría detectar proteínas antigénicas resultantes de la degradación de dos formas morfológicas diferentes de *H. pylori*.²⁸ Finalmente, el test HpSA podría tener reacciones cruzadas con antígenos de otras cepas de *Helicobacter* que pueden colonizar al hombre, tales como el *Helicobacter heilmannii* y *Helicobacter pullorum*, dando una respuesta específica–*H. pylori* en el test HpSA.⁵¹⁵ En este sentido, son necesarios más estudios que evalúen la especificidad antigénica del test HpSA frente otras especies de *H. pylori*.

Posteriormente a la aceptación de este artículo, se han publicado algunos estudios cuyos resultados creemos interesantes comentar ya que pueden ser útiles a la hora de valorar la discordancia entre los resultados publicados. Así, en un reciente estudio, Makristathis et al.¹⁷⁹ obtiene un menor resultado de falsos (+) que en un estudio previo de los mismos autores, lo que apoyaría la posibilidad de variaciones intertest del HpSA y posibles diferencias entre los kits comercializados. De mayor interés es

señalar que la inclusión de pacientes con antecedentes de hemorragia digestiva reciente puede influir disminuyendo la sensibilidad (66,7%)¹⁷⁷ y en la especificidad (33,3%-66,6%)^{142,178} del test HpA.

7. CONCLUSIONES

1. En el tratamiento de la erradicación de *H. pylori*, las pautas de 7 días, consiguen muy buenos resultados, tanto en la cicatrización de la úlcera duodenal asociada a la infección por *H. pylori* como en la erradicación de la infección.
2. La cicatrización de la úlcera duodenal asociada a infección por *H. pylori* obtenida con pautas de tratamiento erradicador corto es similar a la obtenida con omeprazol durante 4 semanas y superior a la obtenida cuando se administra el antisecretores durante 15 días.
3. La pauta de tratamiento con omeprazol 40 mg/d x 8 días, SBC 120 mg cuatro veces al día y claritromicina 500mg cada 12 horas durante 7 días, o omeprazol 40 mg / 12h, claritromicina 500 mg / 12 horas con amoxicilina 1 gr / 12h o SBC 120 mg / 6h, son muy eficaces en la erradicación de *H. pylori* y en la cicatrización de la úlcera duodenal. Su cumplimiento es muy bueno y los efectos secundarios mínimos.
4. El SBC aumenta la acción del omeprazol y de la claritromicina en la erradicación de *H. pylori*.

5. La dosis de omeprazol, cuando se utilizan estas combinaciones terapéuticas, no parece que juegue un papel importante en la erradicación de *H. pylori*.

6. Los pacientes que erradican la infección de la mucosa gástrica presentan una mejoría del índice de gastritis.

7. El test HpSA, utilizando el punto de corte de 0,130, puede ser útil en el diagnóstico primario de la infección por *H. pylori*, con una sensibilidad similar a la obtenida por la histología, el test de la ureasa rápida y el TAU, aunque con menor especificidad.

8. El test HpSA no es útil en el control de la erradicación de la infección a las 24 horas después de finalizar el tratamiento.

9. Los resultados del presente estudio demuestran que el test HpSA es ineficaz en el control de la erradicación a las 6 semanas de finalizar el tratamiento por su menor precisión en comparación con el TAU.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Bottcher. Dorpater Medizinische Zeitschrift 1874; 5:148.
2. Escherich, T. Klinisch-therapeutische Beobachtungen aus der cholera epidemie in Neapel. Munchener Medizinische Wochenschrift 1884; 31:561-4.
3. Ruane, P.J., Nakata, M.M., Reinhardt, J.F., et al. Spirochete-like organisms in the human gastrointestinal tract. Rev Infect Dis 1989; 11:184-96.
4. Bizzozero, G. Sulle ghiandole tubulari del tube gastroenterico a sui rapporti del loro collépitelio de rivestimento della mucosae. Atti R Accad Sci, Torino 1892-1893;23:233-51.
5. Balfour , A.A. Haemogregarine of mammals and some notes on trypanosomiasis in the Anglo-Egyptian Sudan. J Trop Med 1906;9:81-92.
6. Krienitz, W. Ueber das auftreten von spirochaeten verschiedener form im mageninhalte bei carcinoma ventriculi. Dtsch Med Wochenschr 1906;32:872-3.
7. Doengues, J.L. Spirochetes in gastric glands of macacchus rhesus and humans without definite history of related disease. Arch Pathol 1939;27:49-77.
8. Freedberg, A.S., Barron. L.E. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis 1940;7:443-58.
9. Solano, J.A. La úlcera de estómago y su tratamiento por la asociación de suero de convaleciente y penicilina. Gütemberg-Hijo de Ramírez, Guadalajara 1951.
10. Peñarroya, J.F. Contribución al tratamiento de la úlcera gastroduodenal con la asociación de antibióticos y prednisona. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina, Valencia 1971.
11. Steer, H.W., Colin-Jones, D.G. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. Gut 1975; 16:590-7.
12. Steer, H.W. Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. J Clin Pathol 1975; 28: 639-46.
13. Fung, W.P., Papadimitriou, J.M., Matz, L.R. Endoscopic histologic and ultrastructural correlations in chronic gastritis. Am J Gastroenterol 1979;71:269-79.
14. Marshall, B.J., Warren, J.R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1984; 1:1311-4.
15. Warren, J.R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983,1:1273.
16. Marshall, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983,1:1273-5.
17. Skirrow, M.B. Taxonomy and biotyping. En: Pearson, A.D., Skirrow, M.B., Rowe, B., Davies, J., Jones, D.M. (eds). *Campylobacter* II. Proceedings of the Second

- International Workshop on Campylobacter infections. London , Public Health Laboratory Service, 1983;33-8.
18. Marshall, B.J., Amstrong, J.A., McGeachie, D.B., et al. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985; 142:436-9.
 19. Goodwin, C.S., McConnell, W., McCulloch, R.K., et al. Cellular fatty acid composition of *Campylobacter pylori* from primates and ferrets compared with those of other *Campylobacters*. *J Clin Microbiol* 1989; 27:938-43.
 20. Vandamme, P., Falsen, E., Rossau, R., et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter pylori* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. *Int J Syst Bacteriol* 1991; 41:88-103.
 21. Mégraud, F. *H. pylori* species heterogeneity. En: Hunt R.H. y Tytgat G.N.J. eds. *Helicobacter pylori*. Basic mechanisms to clinical cure. Lancaster: Kluwer Academic Publishers; 1994: 28-40.
 22. Skirrow, M.B.. En: *Helicobacter pylori*: Microbiología, Clínica y Tratamiento: Retos para el Siglo XXI, Madrid, Prous Science, 1999.
 23. De Groote, D., Lee, A. Other *Helicobacters*. *Curr Opin in Gastroenterol*, 2000; 16:S56-60.
 24. Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:720-41.
 25. Cole, S.P., Cirillo, D., Kagnoff, M.F., et al. Coccoid and spiral *Helicobacter pylori* differ in their abilities to adhere to gastric epithelial cells and induce interleukin-8 secretion. *Infect Immun* 1997; 65:843-6.
 26. Sheri, P. Effect of nitric oxide on *Helicobacter pylori* morphology. *J Infect Dis* 1999;180:1713-7.
 27. Brenciaglia, M.I., Fornara, A.M., Scaltrito, M.M., et al. *Helicobacter pylori*: cultivability and antibiotic susceptibility of coccoid forms. *Internal J Antimicrob Agents* 2000; 13:237-41.
 28. Kusters, J.G., Gerrits, M.M., van Strip, A.G., et al. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infect Immun* 1997; 65:3672-9.
 29. Enroth, H., Wreiber, K., Rigo, R., et al. In vitro aging of *Helicobacter pylori*: changes in morphology, intracellular composition and surface properties: *Helicobacter* 1999; 4:7-16
 30. Ren, Z., Pang, G., Musicka, M. et al. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* can be viable. *Microbios* 1999;97:153-63.
 31. Beji, A., Mégraud, F., Vincent, P. et al. GC content of DNA of *Campylobacter pylori* and other species belonging or related to the genus *Campylobacter* . *Ann Inst Pasteur Microbiol* 1988; 139:527-34.

32. Minnis, J.A., Taylor, T.E., Knesek, J.E. et al. Characterization of a 3.5-kbp plasmid from *Helicobacter pylori*. *Plasmid* 1995; 34:22-36.
33. Tija, T.N., Harper, W.E.S., Goowin, C.S. Plasmids in *Campylobacter pyloridis*. *Microbiol Lett* 1987; 36:7-11.
34. Tomb, J.F., White, O., Kerlavage, A.R., et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 338:539-47
35. Alm, R.A., Trust, T.J. Analysis of the genetic diversity of *Helicobacter pylori*: the tale of two genomes. *J Mol Med* 1999; 77: 834-46.
36. Monteiro, M.A., Appelmeik, B.J., Rasko, D.A., et al. Lipopolysaccharide structures of *Helicobacter pylori* genomic strains 26695 and J99, mouse model *H. pylori* Sydney strain, *H. pylori* P466 carrying sialyl Lewis X, and *H. pylori* UA915 expressing Lewis B classification of *H. pylori* lipopolysaccharides into glycotype families. *Eur J Biochem* 2000;267:305-20.
37. Gamer, J.A., Cover, T.L. Analysis of genetic diversity in cytotoxin-producing and non-cytotoxin producing *Helicobacter pylori* strains. *J Infect Dis* 1995; 172:290-3.
38. Jiang, Q., Hratsuoka, K., Taylor, D. E. Variability of gene order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. *Mol Microbiol* 1996;20:833-42.
39. Nedenskov- Sorensen, P., Bukhoim, G., Bovre, K. Natural competence for genetic transformation in *Campylobacter pylori*. *J Infect Dis* 1990; 161:365 –6.
40. Goa, M.F., Kapur, Y., Graham, D.Y., et al. Population genetic analysis of *Helicobacter pylori* by multilocus enzyme electrophoresis: extensi allergic diversity and recombinational population structure. *J Bacteriol* 1996;178: 3934-8.
41. Atherton, J.C., Karita, M., Gonzalez-Valencia, G., et al. Diversity in -vaca mid-region sequence type among *Helicobacter pylori* strain from Japan, China, Thailand and Peru. *Gut* 1996;39:A73.
42. Kersulite, D., Mukhopadhyay, A.K., Velapatiño, B., et al. Differences in genotypes of *Helicobacter pylori* from different human populations. *J Bacteriol* 2000; 182:3210-8.
43. Goodwin, C.S., McCulloch, R.K., Armstrong, J.A., et al. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *J Med Microbiol* 1985; 19:257-67.
44. Lambert, M.A., Patton, C.M., Barret, T.J., et al. Differentiation of *Campylobacter* and *Campylobacter*-like organisms by cellular fatty acid composition. *J Clin Microbiol* 1987; 25:706-13.
45. Hazell, S. L., Lee, A., Brady, L., et al. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986; 153:658-63.

46. Williams, S.E., Turneberg, L.A. La retardation of acid diffusion by pig gastric mucus: a potential role in mucosal protection. *Gastroenterology* 1980;79:299-304.
47. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9:1-13.
48. Blaser, M.J. Hypotheses on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* 1992;102:720-27.
49. Broutet, N., Gisbert, J.P., Pajares, J.M. Epidemiology. *Curr Opin Gastroenterol* 1999;15 (Suppl1):S43-4
50. Stroffolini, T., Rosmini, F., Ferrigno, L., et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of Italian military students. *Epidemiol Infect* 1998;120:151-5.
51. Taylor, D.N., Parsonnet, J. The epidemiology and natural history of *Helicobacter pylori*. En: Blaser, M.J., Smith, P.D., Ravdin, J.I., Greenberg, H.B., Guerrant, R.I. (eds.) *Infections of the gastrointestinal tract*. New York : Raven press, 1995;551-64
52. Rothenbacher, D., Bode, G., Berg, G., et al. Prevalence and determinants of *Helicobacter pylori* infection in preschool children: a population-based study from Germany. *Int J Epidemiol* 1998;27:135-41
53. Becker, S.L., Smalligan, R.D., Frame, J.D., et al. Risk of *Helicobacter pylori* infection among long-term residents in developing countries. *Am J Trop Med Hyg* 1998;58:305-8.
54. Parsonnet, J. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9 (Suppl2): 45-52
55. Malaty, H.M., Graham, D.Y., Wattigney, W.A., et al. Natural history of *Helicobacter pylori* infection in childhood: 12-year follow-up cohort study in a biracial community. *Clin Infect Dis* 1999;28:279-82.
56. Isenbarger, D.W., Bodhidatta, L., Hoge, C.W., et al. Prospective study of the incidence of diarrheal disease and *Helicobacter pylori* infection among children in an orphanage in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59:796-800.
57. Veldhuyzen van Zanten, S.J.O., Pollak, P.T., Best, L.M., et al. Increasing prevalence of *Helicobacter pylori* with age: continuous risk of infection in adults rather than cohort effect. *J Infect Dis* 1994;169:434-7.
58. Gause-Nilsson, I., Gnarpe, H., Gnarpe, J., et al. *Helicobacter pylori* serology in elderly people: a 20-year longitudinal population study in 70-90 year-olds. *Age Ageing* 1998;27:443-6.
59. Gómez, L., Forné, M., Lite, J. et al. Seroprevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población de Terrassa. *Rev Esp Enf Ap Dig* 1998; 90: (Suppl1) A 242.

60. Hopkins, R.J., Rusell, R.G., O'Donnoghue, J.M., et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Seventh-day Adventist and other groups in Maryland. Lack of association with diet. Arch Intern Med 1990;150:2347-8.
61. Eurogast Study Group. Epidemiology and risk factors for *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. Gut 1993;34:1672-6.
62. Malaty, P.D., Graham, D.Y. Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. Gut 1994;35:742-5.
63. Webb, P.M., Knight, T., Greaves, S. Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood: evidence for person to person transmission in early life. BMJ 1994;308:750-3.
64. Kikuchi, S., Kurosawa, M., Sakiyama, T. *Helicobacter pylori* risk associated with sibship size and family history of gastric diseases in Japanese adults. Jpn J Cancer Res 1998;30:1109-12.
65. Brenner, H., Rothenbacher, D., Bode, G. The individual and joint contributions of *Helicobacter pylori* infection and family history of the risk for peptic ulcer disease. J Infect Dis 1998;177:1124-7.
66. Malaty, H.M., Graham, D.Y. Isaksson, I., et al. Co-twin study of the effect of environment in monosygotic twins, reared apart, on acquisition of *H. pylori* infection. Am J Epidemiol 1998; 148:793-7.
67. Lin, S.K., Lambert, J.R., Nicholson, L., et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* in a representative Anglo-Celtic population of urban Melbourne. J Gastroenterol Hepatol 1998;13:505-10.
68. Wilhoite, S.L., Ferguson, D.A., Soike, D.R. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies among nurses. Arch Inter Med 1993;13:708-12.
69. Lin, S.K., Lambert, J., Morais, M. et al. The prevalence of *Helicobacter pylori* in practising dental staff and dental students. Aust Dent J 1998;43:35-9.
70. Gullini, S., Bocini, S., Contarini, D, et al. Transmission of *Campylobacter pylori* by endoscopy examination possible? Endoscopy 1998;20:162.
71. Monés, J., Martín de Argila, C., Samitier, R.S. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in medical professionals in Spain. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999;11:239-42.
72. Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M. et al. Routes de transmission of *Helicobacter pylori* infection. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998;30:S279-85.
73. Marshall, B. J., Royce, H., Annear, D.I. et al. Original isolation of *Campylobacter pylori* from human gastric mucosa. Microbiol Lett 1984;25: 83-88.
74. Shames, B., Krajden, S., Fuksa, M. et al. Evidence for the occurrence of the same strain of *Campylobacter pylori* in the stomach and dental plaque. J Clin Microbiol 1989;27:2849-50.

75. Oshowo, A., Tunio, M., Gillam, D., et al. Oral colonization is unlikely to play an important role in *Helicobacter pylori* infection. Br J Surg 1998;85:850-2.
76. Neiger, R., Dieterich, C., Burnens, A., et al. Detection and prevalence of *H. pylori* in pet cats. J Clin Microbiol 1998; 36:634-7.
77. Grübel, P., Hoffman, J.S., Chong, F.K., et al. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) for *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1997;35:1300-3.
78. Osato, M.S., Ayub, K., Le, H.H., et al. Houseflies are an unlikely reservoir or vector for *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1998;36:2786-8.
79. Martínez- Sánchez, G., Saperas, E., Benavent, J. et al. Actitud de los médicos de atención primaria de la área metropolitana de Barcelona frente al diagnóstico y tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori* en enfermedades gastroduodenales. Gastroenterol Hepatol 1999; 21:473-8.
80. Cooperative Study Group . Double blind comparative study of omeprazole ranitidine in patient with duodenal or gastric ulcer: a multicentre trial. Gut 1990; 31:653-6.
81. Peterson, W.L., Elashoff, J. Placebos in clinical trials of duodenal ulcer: the end of an era? Gastroenterology 1980;79:585-8.
82. Bordas, J.M., Llach, J., Ginès, M.A., et al. Costes de la endoscopia digestiva en hospitales de tercer nivel. Gastroenterol y Hepatol 1999; 22:38.
83. Calabrese, C., Di Febo, G., Bandi, G. et al. Correlation between endoscopic features of gastric antrum, histology and *Helicobacter pylori* infection in adults. Ital J Gastroenterol Hepatol 1999; 31:359-65.
84. Ohkusa, T., Fujiki, K., Takashimizu, I. et al. Endoscopic and histologic comparison of non ulcer dyspepsia with and without *Helicobacter pylori* infection evaluated by the modified Sydney System. Am J Gastroenterol 2000;95:2195-99.
85. Cutler, A.F., Havstad, S., Ma, C.K. et al. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterology 1995; 109:136-41.
86. Andersen, L.P., Kiillerick, S., Pedresen, G. et al. An analysis of seven different methods to diagnose *Helicobacter pylori* infections. Scand J Gastroenterol 1998; 33:24-30.
87. Faigel, D.O., Childs, M., Furth, E.E. et al. New Noninvasive test for *Helicobacter pylori* gastritis. Comparison with tissue-based gold standard. Dig Dis Sci 1996; 41:740-8.
88. Barthel, J.S., Everett, D.E. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: the "gold standard" and the alternatives. Rev Infect Dis 1990;12:S107-14.
89. Goldie, J., Jalali, S., Hunt, R.H. et al. Study of media and pH requirements for the growth of *Campylobacter pylori*. Gastroenterology 1988; 94:A150.

90. Chen, Y.K., Godil, A., Wat, P.J. Comparison of two rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* 1998; 43:1636-40
91. Murata, H., Kawano, S., Tsuji, S. et al. Evaluation of the Pyloritek-test for detection of *Helicobacter pylori* infection in cases with and without eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:2102-5.
92. Prince, M.I., Osborne, J.S., Ingoe, L. et al. CLO-test in the UK: inappropriate reading and missed results. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:1251-4.
93. Deltenre, M., Glupczynski, Y., De Pérez, M. et al. The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24(Suppl.160):19-24.
94. Guidelines for clinical trials in *H. pylori* infection. Technical annex: test used to assess infection. *Gut* 1997; 41(Supl 2):10-189.
95. Laine, L., Chun, D., Stein, C. et al. The influence of size or number of biopsies on rapid urease tests results: a prospective evaluation. *Gastrointest Endosc* 1996; 43:49-53.
96. Romero-Gómez, M., Vargas, J., Utrilla, D. et al. Estudio prospectivo sobre la influencia de la hemorragia por ulcus gastroduodenal en los métodos diagnósticos de infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 1998; 21:13-7.
97. Tu, T.C., Lee, C.L., Wu, C.H., et al. Comparison of invasive and noninvasive tests for detecting *Helicobacter pylori* infection in bleeding peptic ulcers. *Gastrointest Endosc* 1999; 49:302-6.
98. Lee, J.M., Breslin, N.P., Fallon, C., O' Morain, C.A. Rapid urease tests lack sensitivity in *Helicobacter pylori* diagnosis when peptic ulcer disease presents with bleeding. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1166-70.
99. Leung, W.M.K., Sung, J.J.Y., Siu, K.L.K., et al. False-negative biopsy urease test in bleeding ulcers caused by the buffering effects of blood. *Am J Gastroenterol* 1998;93:1914-8.
100. Logan, R.P.H., Polson, R.J., Misiewicz, J. et al. Simplified single sample ¹³Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*: comparison with histology, culture, and ELISA serology. *Gut* 1991; 32:1461-4.
101. Adamsson, I., Nord, C.E., Sjöstedt S. et al. The value of different detection methods of *Helicobacter pylori* infection in cases with and without eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 1998; 27:138-42.
102. Versalovic J, Fox JG. *Helicobacter*. Manual of Clinical Microbiology. 7th Edition. 727-38.
103. Dickey, W., Kenny, B.D., McConnell, J.B. Effect of proton pump inhibitors on the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10:289-93.

104. Czinn, S.J., Carr, H.S., Speck, W.T. Effect of topical anesthetic agents on *Campylobacter pylori*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1989;9:46-8.
105. Heep, M., Scheibl, K., Degrell, A. et al. Transport and storage of fresh and frozen gastric biopsy specimens for optimal recovery of *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1999; 37:3764-6.
106. Yousfi, M.M., Reddy, R., Osato, M.S., et al. Culture of *Helicobacter pylori* :effect of preimmersion of biopsy forceps in formalin. Helicobacter 1996; 1:62-4.
107. Elizalde, J.I., Gómez, J., Ginès, A., et al. Biopsy forceps disinfection technique does not influence *Helicobacter pylori* culture. Am J Gastroenterol 1998; 93:1450-2.
108. Fresnadillo, M.J., Rodríguez-Rincón, M., Blázquez, M. et al. Comparative evaluation of selective and nonselective media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. Helicobacter, 1997; 2:36-9.
109. Roosendal, E.R., Kuipers, E.J., Peña, et al. Recovery of *H. pylori* from gastric biopsies is not depending on the transport medium used. J Clin Microbiol 1995; 33:2798-80.
110. Cuchi, E., Forné, M. Comparative evaluation of two transport media and three culture media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. Gut 2000; 47 (suppl1):A9
111. Thomas JE, Gibson, G.R., Darboem, M.K. et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. Lancet 1992; 340:1194-5.
112. Pérez-Trallero, E., Montes, M., Alcorta, M., et al. Non-endoscopic method to obtain *Helicobacter pylori* for culture. Lancet 1995; 345:622-3.
113. Parsonnet, J., Welch, K., Compton, C. et al. Simple microbiologic detection of *Campylobacter pylori*. J Clin Microbiol 1988; 26:948-9.
114. Montgomery, E.A., Martin, D.F., Peura, D.A. Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by Gram's stain. Am J Clin Pathol 1988 ;90:606-9.
115. Parsonnet, J., Shmueli, H., Haggerty, T. Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. JAMA 1999; 282:2240-45.
116. Glupczinski, Y., Andersen, L.P., López-Brea, M. et al. Toward standardization of antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*: preliminary results by a European Multicentre Study Group. Gut 1998; 43(Suppl2):A47.
117. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performed standards for antimicrobial susceptibility testing. Ninth Informational Supplement NCCLS document M100-S9, vol19, nº1. Wayne, PANCCLS;1999.
118. Mégraud, F. Epidemiology of antimicrobial resistance. Gastroenterology 1998; 115:1278-82.

119. Mégraud, F., Lehn, N., Lind, T. et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicentric trial: the MACH 2 study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999 ;43:2747-52.
120. López-Brea, M., Domingo, D., Sánchez, I. et al. Estudio comparativo de la actividad de claritromicina y metronidazol en aislamientos clínicos de *H. pylori* de diferentes regiones de España. VII Congreso Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Palma de Mallorca, 1988.
121. Pérez-Trallero, E., Montes, E., Alcorta, M. et al. Susceptibilidad antibiótica de *Helicobacter pylori* VII Congreso Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Palma de Mallorca, 1988.
122. Glupczyński, Y, European Multicentre Study Group on Antibiotic Susceptibility of *Helicobacter pylori* . Results of a multicenter European survey in 1991 of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:777-81.
123. Karim, Q.N., Logan, R.P.H. Emerging patterns of *Helicobacter pylori* antimicrobial resistance in Europe . *Gut* 1996; 39:A51.
124. Reddy, R.M., Osato, M., Gutiérrez, O. et al. Metronidazole resistance is high in Korea and Colombia and appears to be rapidly increasing in the US. *Gastroenterology* 1996;10:A236.
125. Van der Wouden, E.J., de Jong, A., Thys, J.C. et al. Subpopulations of *Helicobacter pylori* are responsible for discrepancies in the outcome of nitroimidazole susceptibility testing. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1484-6.
126. Tompkins, D.S., Perkin, J., Smith, C. Failed treatment of *Helicobacter pylori* infection associated with resistance to clarithromycin. *Helicobacter* 1997; 2:185-7.
127. Van Zwet, A.A., Vandenbroucke-Grauls, C.M.J.E., Thijs, J.C. et al. Stable amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1998; 352:1595.
128. Vaira, D., Holton, M., Menegatti, M. et al. New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45(Suppl 1):123-7.
129. Wilcox, M.H., Dent, T.H., Hunlet, J.O. et al. Accuracy of serology for the diagnosis of *H. pylori* infection : a comparison of eight kits. *J Clin Pathol* 1996; 49:373-6.
130. Laheji, R.J.F., Straatman, H., Jansen, J.B.M.J., et al. Evaluation of commercially available *Helicobacter pylori* serology kits: a review. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2803-9.
131. Thijs, J.C., Van Zwet, A.A., Thijs, W.J. et al. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:2125-9.
132. Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M. et al. Blood tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998;43(Suppl 1):39-46.

133. Sörberg, M., Engstrand, L., Ström, M. et al. The diagnostic value of enzyme immunoassay and immunoblot in monitoring eradication of *Helicobacter pylori*. Scand J Infect Dis 1997; 29:147-51.
134. Evans, D.J., Evans, D.G., Graham, D.Y. et al. A sensitive and specific serologic test for detection of *Campylobacter pylori* infection. Gastroenterology 1989; 96:1004-8.
135. McNulty, C., Nair, P., Watson, B.E. et al. A comparison of six commercial kits for *Helicobacter pylori* detection. Community Dis Public Health 1999; 2:59-63.
136. Szeto, M.L., Lee, C.K., Li, K.F., et al. Evaluation of five commercial serological tests for the detection of *Helicobacter pylori* infection in Chinese. Aliment Pharmacol Ther 2001;15:703-6
137. Navarro, F., Coll, P., Sainz, S., et al. Evaluación de dos preparados comerciales para la detección de anticuerpos específicos de *Helicobacter pylori* en pacientes sometidos a gastroscopia. Estudio de la seroprevalencia en la población asintomática. Enferm Infecc Microbiol Clin 1992; 10: 190-4.
138. Pozuelo, M.J., Martín de Argila, C, Cantón, et al. Detección de IgG sérica (ELISA) frente a *Helicobacter pylori*: relación con la edad y patología gastroduodenal. Rev Esp Enferm Apar Digest 1993;83:415-20.
139. Juncal, A.R., Garea, M.T., Cid, A. et al. Evaluación de cuatro enzimoimmunoanálisis comerciales para el diagnóstico serológico de la infección por *Helicobacter pylori*. Enferm Infecc Microbiol Clin 1998; 16:185-9.
140. Forné, M., Quintana, S., Lite, J., et al. Utilidad de la serología en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* y en el control postratamiento en pacientes con úlcera duodenal. Rev Esp Enferm Apar Dig 1999;(Supl I):A29.
141. Griño, P., Pascual, S., Sáez, J, et al. Infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con hemorragia digestiva alta de origen péptico. Comparación de métodos diagnósticos. Gastroenterol Hepatol 2000; 23 :A132.
142. Romero-Gómez, M., Vargas, J., Grande, L., et al. Utilidad de la detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en heces en el diagnóstico de infección y en el control de la erradicación tras el tratamiento. Med Clin (Barc) 2000;114:571-3.
143. Gisbert, J.P., Cruzado, A.I., Cabrera, M.M., et al. Serología "rápida" para el diagnóstico de infección por *H. pylori*. Estudio de su validez frente a un patrón de referencia y de su concordancia con la serología clásica. Gastroenterol y Hepatol 2000;23:159-63.
144. Gisbert, J.P., Cruzado, A.I., Benito, D., et al. La estrategia "testar y endoscopiar" ante el paciente dispéptico. ¿Es útil y segura? . Gastroenterol y Hepatol 2001; 24:A160.
145. Lera, I., Ducóns, J.A., Montoro, M., et al. Falta de efectividad de la serología en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*. Gastroenterol y Hepatol 2001; 24:A160.

146. Culter, A. F., Schubert, A., Schubert, T. Role of *Helicobacter pylori* serology in evaluating treatment success. *Dig Dis Sci* 1993; 12:2262-6.
147. Laheji, R.J.F., Witteman, E.M., Bloembergen, O. et al. Short-term follow-up by serology of patients given antibiotic treatment for *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1193-6.
148. Kosunen, T.U., Seppälä, K., Sarna, S., Sipponen, P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1992; 339:893-5.
149. Bretagne, J.F., Caekaert, A., Barthelemy, P., et al. Long-term follow-up of *Helicobacter pylori* serology after successful eradication: a cohort of 203 patients tested by ELISA and HELISALtm rapid blood tests. *Gastroenterology* 1998; 114:A80.
150. Weil, J., Bell, G.D. Detection of *Campylobacter pylori* by the ¹⁴C-urea breath test. En Rathbone, BJ, Heatley VR (eds.). *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease. Oxford: Blackweell Sci, 1989:74-87.
151. Feldman, M., Byron, C., Lee, E., et al. Role of seroconversion in confirming cure of *Helicobacter pylori* infection. *JAMA* 1998; 280:363-5.
152. Testoni, P.A., Colombo, E., Cattani, L. et al. *Helicobacter pylori* serology in chronic gastritis with antral atrophy and negative histology for *Helicobacter*-like organisms. *J Clin Gastroenterol* 1996; 22:182-5.
153. Karnes, W.E., Samloff, M.I., Siurala, M. et al. Positive serum antibody and negative tissue staining for *Helicobacter pylori* in subjects with atrophic body gastritis. *Gastroenterology* 1991; 101:167-74.
154. Talley, N.J., Kost, L., Haddad, A. Et al. Comparison of commercial serological test for detection of *Helicobacter pylori* antibodies. *J Clin Microbiol* 1992; 30:3146-50.
155. Ching, C.K., Thompson, S., Buxton, C. et al. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit for serological diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in a group of non-ulcer dyspepsis sufferers. *Postgrad Med J* 1993; 69:456-60.
156. Newell, D.G., Stacey, A.R. Isotype and specificity of local and systemic anti-*Helicobacter pylori* antibodies. En: Menge, H., Gregor, M., Tytgat, G.N.J., Marshall, B.J., McNulty, C.A.M., (eds.). *Helicobacter pylori* 1990. Berlin: Springer Verlag 1991:83-9.
157. Laine, L., Knigge, D., Faigel, D. et al. Fingerstick *Helicobacter pylori* antibody test: better than laboratory serological testing? *Am J Gastroenterol* 1999; 94:3464-7.
158. Van der Ende, A., van der Hulst, R.W.M., Roorda, P. et al. Evaluation of three commercial serological tests with different methodologies to assess *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37:4150-2.
159. Talley, N.J., Lambert, J.R., Howell, S. et al. An evaluation of whole blood testing for *Helicobacter pylori* in general practic. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12:641-5.

160. Chey, W.D., Murthy, U., Shaw, S. et al. Comparison of three fingerstick, whole blood antibody tests for *Helicobacter pylori* infection: a United States multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1512-6.
161. Mowat, C., Murray, L., Hilditch, T.E. et al. Comparison of Helisal rapid blood test and 14C-Urea breath test in determining *Helicobacter pylori* status and predicting ulcer disease in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 1998;93:20-2.
162. Sainz, R., Borda, F., Domínguez, E. et al. Grupo Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Apar Digest* 1999; 91:777-84.
163. Duggan, A.E., Elliot, C., Logan, R.F.A. Testing for *Helicobacter pylori* infection: validation and diagnostic yield of a near patient test in primary care. *BMJ* 1999; 319:1236-9.
164. De Pascalis, R.D., De Pezzo, M.D., Nardone, G. et al. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for determining salivary Immunoglobulin G response to *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1999; 37:430-2.
165. Miwa, H., Hirose, M., Kikuchi, S. et al. How useful is the detection kit for antibody to *Helicobacter pylori* in urine (URINELISA) in clinical practice? *Am J Gastroenterol* 1999; 94:3460-3.
166. Mattsson, A., Tinnert, A., Hamlet, A., et al. Specific antibodies in sera and gastric aspirates of symptomatic and asymptomatic *Helicobacter pylori*-infected subjects *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:228-93.
167. Makristathis, A., Pasching, E., Schütze, K. et al. Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1998;36:2772-74.
168. Vaira, D., Malfertheiner, P., Mégraud, F. et al.. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. *Lancet* 1999; 354:30-33.
169. Trevisani, L., Sartori, S., Galvani, F. et al.. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in feces: a prospective pilot study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1830-3.
170. Lehmann, F., Drewe, J., Terracciano, L. et al. Comparison of a stool immunoassay with standard methods for detecting *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 1999; 319:1409.
171. Puspock, A., Bakos, S., Oberhuber, G. et al. A new non-invasive method for detection of *Helicobacter pylori*: validity in the routine clinical setting. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:1139-42.
172. Chang, M.C., Wu, M.S., Wang, H.H., et al. *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test— a simple, accurate and non-invasive test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Hepatogastroenterology* 1999; 46:229-302.

173. Ohkura, R., Miwa, H., Murai, T., et al. Usefulness of a novel enzyme immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* in feces. *Scan J Gastroenterol* 2000; 35:49-53.
174. Braden, B., Teuber, G., Dietrich, C.F., et al. Comparison of a new faecal antigen test with ¹³C-urea breath test for detecting *Helicobacter pylori* infection and monitoring eradication treatment. prospective clinical evaluation. *BMJ* 2000; 320:148.
175. Vakil, N., Affi, A., Robinson, J., et al. Prospective blinded trial of a fecal antigen test for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1699-71.
176. Trevisani L, Sartori S, Ruina M, et al. *Helicobacter pylori* stool antigen test. Clinical evaluation and cost analysis of a enzyme immunoassay. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 2303-6.
177. Peitz U, Agha-Amiri K, Glasbrenner B., et al. High specificity , but reduced sensitivity of *H. pylori* stool tet in upper gastrointestinal bleeding. *Gut* 2000; 47 (Suppl.1)A121.
178. López-Peñas D, Naranjo-Rodriguez A, Muñoz-Molinero J., et al. Eficacia de la determinación fecal de *Helicobacter pylori* mediante la técnica HpSA en enfermos con hemorragia digestiva alta. *Gastroenterol Hepatol* 2001; 24:5-8.
179. Makrithis A, Barousch W, Pasching E, et al. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *J Clin Microbiol* 2000;38:3710-4.
180. Finck, A., Haindl, E., Benesch, F. et al. A novel enzyme immunoassay for the direct detection of antigens in stool. *Gut* 2000; 47 (Suppl1): A 100.
181. Lakner, M., Truee, S., Dehnert, G. et al. A novel near-patient test for the direct detection of *H. pylori* antigens in stool. *Gut* 2000; 47 (Suppl1): A 113.
182. Leodolter, A., Agha-Amiri, K., Peitz, U., et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detection of *H. pylori* antigen in stool after eradication therapy. *Gut* 2000; 47 (Suppl1): A 114.
183. Cover, T.L., Glupczynski, Y., Lage, A.P. et al. Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Microbiol* 1995;33:1496-00.
184. Fusconi, M., Vaira, D., Menegatti, M. et al. Anti-CagA reactivity in *Helicobacter pylori*-negative subjects. A comparison of three different methods. *Dig Dis Sci* 1999; 44:1691-5.
185. Blaser, M.J. Not *all Helicobacter pylori* strains are created equal: should all be eliminated? *Lancet* 1997 ;349:1020-2.
186. Madan, E., Kemp, J., Westblom, T.U. et al. Evaluation of staining methods for identifying *Campylobacter pylori*. *Am J Clin Pathol* 1988; 90:450-3.

187. De Mascarel, A., Merlio, J.P. Mises en evidence histologiques de *Campylobacter pylori*. *Gastroenterol Clin Biol* 1989; 13:26B-30B.
188. Van Doorn L.J., Figueiredo, C., Rossau, R., Jannes, G. et al. Typing of *Helicobacter pylori* vacA gene detection of cagA gene by PCR and reverse hybridization. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1271-6.
189. Staoh, K., Kimura, K., Taniguchi, Y. et al. Biopsy sites suitable for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the assessment of the extent of atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol* 1998; 11:228-91.
190. Negrini, R., Lisato, L., Cavazzini, L. et al. Monoclonal antibodies for specific immunoperoxidase detection of *Campylobacter pylori*. *Gastroenterology* 1989; 96:414-20.
191. Husson, M.O., Leclercq, H. Detection of *Helicobacter pylori* in stomach tissue by use of a monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 1991; 29:2831-4.
192. Loffeld, R.J.L.F., Stobberingh, E., Flendring, J.M. et al. *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. Comparison of culture, modified giemsa stain, and immunohistochemistry. A retrospective study. *J Pathol* 1991; 165:69-73
193. Gad, A. Rapid diagnosis of *Campylobacter pylori* by brush cytology. *Scand J Gastroenterol* 1989; 167 (Suppl):101-3.
194. Pinto, M.W., Meriano, F.V., Afridi, S. et al. Cytodiagnosis of *Campylobacter pylori* in Papanicolaou stained imprints of gastric biopsy specimens. *Acta Cytol* 1991; 35:20-6.
195. Uribe, R., Fujioka, T.K., Ito, A. et al. Sensitive detection of *Helicobacter pylori* in gastric aspirates by polymerase chain reaction. *Kansenshogaku Zasshi* 1998; 72:114-22.
196. Yoshida, H., Maeda, S., Ogura, K. et al. Prompt detection of relapsed *Helicobacter pylori* infection by PCR-monitoring of gastric juice obtained with the capsuled string. *Gastroenterology*, 1997; 112(Suppl.4):A339 .
197. Westblom, T.U., Phadnis, S., Yang, P. et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by means of a polymerase chain reaction assay for gastric juice aspirates. *Clin Infect Dis* 1993; 16:367-71.
198. Monteiro, L., Cabrita, J., Megraud, F. Evaluation of performances of three DNA-enzyme immunoassays for detection of *Helicobacter pylori* PCR products from biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 1997; 35:2931-6.
199. Monteiro, L., Bonnemaïson, D., Vekris, A. et al. Complex polysaccharides as PCR inhibitors in feces: *Helicobacter pylori* model. *J Clin Microbiol* 1997; 35:995-8.
200. Gramley, W.A., Saunders, N.A., Burke, B. et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in fecal samples from infected individuals. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3746-8.

201. Mravak-Stipetic, M., Gall-Troselj, K. et al. Detection of *Helicobacter pylori* in various oral lesions by nested polymerase chain reaction(PCR). *Pathol Med* 1998; 27:1-3.
202. Lin, T.T., Yeh, C.T., Wu, C.S. et al. Detection an partial sequence analysis of *Helicobacter pylori DNA* in the bile samples. *Dig Sci* 1995; 40:2214-9.
203. Fox, J.G., Shen, Z., Taylor, N.S.. Hepatic *Helicobacter* sp. identified from Chileans with chronic cholecystitis: a risk factor for gall bladder cancer. *Gut* 1997; 41(Suppl I): A3
204. Labigne, A., Lamoulaitte, H., Birac, C. et al. Distribution of the *cagA* gene a mong *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer. *Am J Gastroenterol* 1994; 89(Suppl.8):166.
205. Van Doorn, L.J., Figueiredo, C., Megraud, F. et al. Worldwide heterogeneity of the *Helicobacter pylori vacA* gene. *Gut* 1997; 41(Suppl.1):A34.
206. Henning, E.E., Trzeciak, L., Regula, J. et al. VacA genotyping directly from gastric biopsy specimens and stimulation of mixed *Helicobacter pylori* infections in patients with duodenal ulcer and gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:743-9.
207. Domingo, A., Alarcon, T., Prieto, N. et al. CagA vacA status of Spanish *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2274-9.
208. Pina, M., Occhialini, A., Monteiro, L. et al. Detection of point mutations associated with resistance of *Helicobacter pylori* to clarithromycin by hybridization in liquid phase. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3285-90.
209. Marais, A., Monteiro, L., Occhialini, A. et al. Direct detection of *Helicobacter pylori* resistance to macrolides by a polymerase chain reaction/DNA enzyme immunoassay in gastric biopsy specimens. *Gut* 1999; 44:463-7.
210. Gibson, J.R., Saunders, N.A., Burke, B., et al. Novel method for rapid determination of clarithromycin sensitivity in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3746-8.
211. Stone, G.G., Shortridge, D., Flamm, R.K. et al. PCR-RFLP typing of urea from *Helicobacter pylori* isolated from gastric biopsies during a European multi-country clinical trial. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40:251-6.
212. Mitchell, H.M., Hu, P, Chi, Y. et al. A low rate of reinfection following effective therapy against *Helicobacter pylori* in a developing nation (China). *Gastroenterology* 1998; 114:256-61.
213. Savarino, V., Vigneri, S., Gelle, G. The ¹³C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45(Suppl I):I18-I22.
214. Graham, D.Y., Klein, P.D., Evans, D.J., et al. Campylobacter pylori detected noninvasivevely by ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1987; 1:1174-7.

215. Perri, F., Maes, B., Geypens, B. et al. The influence of isolated doses of drugs, feeding and colonic bacterial ureolysis on urea breath test results. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9:705-9.
216. Moayyedi, P., Braunholtz, D., Heminbrough, E., et al. Do patients need to fast for a ^{13}C -urea breath test. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9:275-7.
217. Epple, H.J., Kirstein, FW., Bojaeski, C. et al. ^{13}C -urea breath test *in Helicobacter pylori* diagnosis and eradication. Correlation to histology, origin of "false" results, and influence of food intake. *Scand J Gastroenterol* 1997; 40:459-62.
218. Leodolter, A., Dominguez-Muñoz, J.E., von Arnim, U. et al. Citric acid or orange juice for the ^{13}C urea breath test: impact on pH and gastric emptying. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:1057-62.
219. Eggers, R.H., Kulp, A., Tegeler, R., et al. A methodological analysis of the ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* infections: high sensitivity and specificity within 30 min using 75 mg of ^{13}C -urea. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1990;2:437-44.
220. Rollán, A., Giancaspero, R., Arrese, M. et al. Accuracy of invasive and non-invasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection after antibiotic treatment. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:1268-74.
221. Van de Wouw, B.A.m., De Boer, W.A., Hersmsen, H.W.E.M., et al. Usefulness of the ^{13}C -urea breath test as semi-quantitative monitoring instrument after therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:112-17.
222. Chey, W.D., Spybrook, M., Carpenter, S. et al. Prolonged effect of omeprazole on the ^{13}C -urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1996;91:89-92.
223. Chey, W.D., Woods, M., Schiman, J.M. et al. Lansoprazole and ranitidine affect the accuracy of the ^{13}C -urea breath test by a pH-dependent mechanism. *Am J Gastroenterol* 1997; 92:446-50.
224. Connor, S.J., Seow, F., Ngu, M.C. et al. The effect of dosing with omeprazole on the accuracy of the C13-urea breath test in *Helicobacter pylori* infected subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13:1287-93.
225. Laine L, Estrada R, Trujillo. M. et al. Effect of proton pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. *Ann Intern Med* 1998; 129:547-50.
226. Savarino, V., Bisso, G., Pivari, M. et al. Effect of omeprazole and ranitidine on the accuracy of the ^{13}C -urea breath test. *Gut* 1998; 43(suppl2):A51.
227. Lotterer, E., Ludtke, F.E., Tegeler, R. et al. The ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with partial gastrectomy. *Z Gastroenterol* 1993; 2:115-9.
228. Logan, R.P.H., Dill, S., Bauer, F.E. et al. The ^{13}C -urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3:915-21.

229. Marsahll, B.J., Plankey, M.W., Hoffman, S.R. et al. A 20 minute breath easy for *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1991; 86:438-45.
230. Graham, D.Y.,Kein, P.D. What you should know about the methods, problems, interpretations and uses of urea breath test?. Am J Gastroenterol 1991;86:1118-21.
231. Koletzko, S., Haisch, M., Seeboth, I., et al. Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with ¹³C-urea breath test. Lancet 1995;345: 961-2.
232. Ohara, S., Kato, M., Asaka, M., et al. The UbiT-¹³CO₂ infrared analyzer: comparison between infrared spectrometric analysis and mass spectrometric analysis. Helicobacter 1998; 3:49-53.
233. Hilderbrand, P., Beglinger, C. Nondispersive infrared spectrometry: a new method for the detection of *Helicobacter pylori* infection with the ¹³C-urea breath test. Clin Infect Dis 1997;25:1003-5.
234. Savarino, V., Mela, G.S., Zentilin, P., et al. Comparison of isotope ratio mass spectrometry and nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy for ¹³C-urea breath test. Am J Gastroenterol 1999;94:1203-8.
235. Sheu, B.S., Lee, S.C., Yang, H.B., et al. Lower-dose ¹³C-urea breath test to detect *Helicobacter pylori* infection-comparison between infrared spectrometer and mass spectrometry analysis. Aliment Pharmacol Ther 2000;14:1359-63.
236. Suto,G., Vincze, A., Pakodi, F., et al. ¹³C-urea breath test is superior in sensitivity to detect *Helicobacter pylori* infection than either antral histology or rapid urease test. J Physiol (Paris) 2000;94(2):153-6.
237. Valle, L., Tirado, M., Valdepèrez, J., et al. Efectividad del test del aliento mediante análisis con infrarrojos en atención primaria:resultados de un estudio prospectivo en dispepsia. Gastroenterol Hepatol 2001; 24:A160.
238. Levi, S., Beardshall, K., Desa, L.A, et al. *Campylobacter pylori*, gastrin, acid secretion and duodenal ulcers. Lancet 1989;2:613-4.
239. Graham, D.Y., Opekum, A., Lew, G.M., et al. Ablation of exaggerated meal-stimulated gastrin release in duodenal ulcer patients after clearance of *Helicobacter (Campylobacter) pylori* infection. Am J Gastroenterol 1990;85:394-8.
240. Oderda, G., Vaira, D., Dell' Olio, D., et al. Serum pepsinogen I and gastrin concentrations in children positive for *Helicobacter pylori*. J Clin Pathol 1990; 85:394-8.
241. Chittajallu, R.s., Dorrian, C.A., Ardill, J.E., et al. Effect of *Helicobacter pylori* on serum pepsinogen I and plasma gastrin in duodenal ulcer patients, Scand J Gastroenterol 1992;27:20-4.

242. Chen, T.S., Tsay, S.H., Chang, F.Y., et al. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on serum pepsinogen I, gastrin, and insulin in duodenal ulcer patients: a 12-month follow-up study. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1511-4.
243. Gisbert, J.P., Boixeda, D., Al-Mostafa, A., et al. Basal and stimulated gastrin and pepsinogen levels after eradication of *Helicobacter pylori*: a 1-year follow-up study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:189-200.
244. Bermejo, F., Boixeda, D., Gisbert, J.P., et al. Concentraciones basales de gastrina y pepsinógeno I y II en la úlcera gástrica: influencia de la infección por *Helicobacter pylori* y utilidad en el control de la erradicación. *Gastroenterol Hepatol* 2001;24:56-62.
245. Forné, M., Quintana, S., Fernández-Bañares, F., et al. Métodos diagnósticos para la infección por *H. pylori*: estudio prospectivo de su eficacia en el diagnóstico de la infección y en el control postratamiento. *Rev Esp Enferm Apar Dig* 1999;91(S1):A281.
246. Morris, A., Nicholson, G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987; 82:192-9.
247. Hesse, S.J., Wyatt, J.I., Axon, A.T.R., et al. The relationship between adhesion sites and disease activity in *C. pylori* associated gastritis. *Gut* 1990; 31:134-8
248. Collins, J.S.A., Sloan, J.M., Hamilton, P.W. et al. Investigation of the relationship between gastric antral inflammation and *Campylobacter pylori* using graphic tablet planimetry. *J Pathol* 1989; 159:281-5.
249. Stolte, M., Eidt, S. Lymphoid follicles of the antral mucosa: immune reaction to *Campylobacter pylori*? *J Clin Pathol* 1989; 42:1269-71.
250. Scott, N., Lansdown, M., Diamant, R. et al. *Helicobacter pylori* gastritis and intestinal metaplasia in a gastric cancer family. *Lancet*, 1990; 335:728.
251. Sancho, F.J., Sainz, S., Mones, J., et al. Morfología de la gastritis crónica asociada a la infección por *Campylobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Apar Dig* 1989; 76:551-4.
252. Craanen, M.E., Dekker, W., Blok, P., et al. Intestinal metaplasia and *Helicobacter pylori*: a endoscopic bioptic study of the gastric antrum. *Gut* 1992; 33:16-20.
253. Siurala, M., Isokoski, M., Kekki, M. Prevalence of gastritis in a rural population. *Scand J Gastroenterol* 1968; 3:211-23.
254. Correa, P., Haenszel, W., Cuello, C. et al. Gastric precancerous process in a high risk population: cohort follow-up. *Cancer Res* 1990; 50:4737-40.
255. Sipponen, P. Long-term evaluation of *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1993; 5 (Supl 1):S93-97.
256. Lechago, J. Role of *H. pylori* in atrophic gastritis and intestinal metaplasia. En: Hunt, R.H., Tytgat, C.N.J., eds. *Helicobacter pylori*. Basic mechanisms to clinical cure. Lancaster: Kluwer Academic Publisher; 1994:490-7.

257. Tytgat, G.N.J., Axon, A.T.R., Dixon, M.F., et al. *Helicobacter pylori*, causal agent in peptic ulcer disease?. En Working report of the World Congresses of Gastroenterology, 26-31 August 1990; Sydney, Australia. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1990;36-47.
258. Sipponen, P., Seppälä, K., Äärinen, M., et al. Chronic gastritis and gastrointestinal ulcer: a case control study on risk of coexisting duodenal or gastric ulcer in patients with gastritis. *Gut* 1989;30:922-9.
259. Offerhaus, G.J.A., Molyvas, E.N., Hoedemaeker, P.J. *H. pylori* infection of gastric mucin cell metaplasia: the duodenum revisited. *J Pathol* 1990; 62:239.
260. Graham, D. Y., Lew, G.M., Klein, P.D. et al. Effect of treatment of *Helicobacter pylori* infection and the long-term recurrence of gastric and duodenal ulcer: a randomized, controlled study. *Ann Intern Med* 1982; 116:705-8.
261. Kuipers, E.J., Uytterlinde, A.M., Peña, A.S. et al. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1995; 345:1525-8.
262. Parsonnet, J., Friedmann, G.D., Ortentreich, N., et al. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection, *Gut* 1997;40:297-301.
263. Shimoyama, T., Fukuda, S., Tanaka, M., et al. High prevalence of the CagA-positive *Helicobacter pylori* strains in Japanese asymptomatic patients and gastric cancer patients. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:465-8.
264. Crabtree, J.E., Wyatt, J.I., Trejdosiewicz, L.K., et al. Interleukin 8 expression *Helicobacter*-infected, normal and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol* 1994;47:61-6.
265. Goldstone, A.R., Quirke, P., Dixon, M.F. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *J Pathol* 1996;179:129-37.
266. Correa, P., Fox, J., Fontham, E., et al. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. Serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risks. *Cancer* 1990; 66: 2569-74.
267. Siman, J.H., Forsgren, A., Berglund, G., et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma in the city of Malmö, Sweden. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:1215-21.
268. Loffeld, E.J., Willems, I., Flendrig, J.A., et al. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. *Histopathology* 1990; 17:537-40.
269. Menegatti, M., Vaira, D., Migliolo, M. et al. *Helicobacter pylori* in patients with gastric cancer and nongastric cancer. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:1278-81.
270. Sipponen, P. Gastric cancer – A long-term consequence of *Helicobacter pylori* infection? *Scand J Gastroenterol* 1994; 29 (Suppl. 201):24-7.

271. Forman, D., Newell, D.G., Fullerton, F., et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ* 1991; 302:1302-5.
272. Parsonnet, J., Friedman, G.D., Vandersteen, D.P. et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-31.
273. Nomura, A., Stemmermann, G. N., Chyou, P.H. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991; 325:1132-5.
274. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Infection with *Helicobacter pylori*. En: Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 61: International Agency for Research on Cancer, Lyon. France: 1994; 177-214.
275. Parsonnet, J., Vandersteen, D., Goates, J. et al. *Helicobacter pylori* infection in intestinal and diffuse-type gastric adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1991; 83:640-3.
276. Sipponen, P., Kosunen, T.U., Valle, J. et al. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in gastric cancer. *J Clin Pathol* 1992; 45:319-23.
277. Parsonnet, J., Hansen, S., Rodriguez, L. et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *N Engl J Med* 1994;330:1267-71.
278. Moutsopoulos, H.M. Sjögren's syndrome: autoimmune epithelitis. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;72:162-5.
279. Zuckerman, E., Zuckerman, T., Levine, A.M., et al. Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Ann Intern Med* 1997;127:423-8.
280. Husell, T., Isaacson, P.G., Crabtree, J.E. et al. The response of cells from low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342:571-4.
281. Thiede, C., Morgner, A., Alpen, B. et al. What role does *Helicobacter pylori* eradication play in gastric lymphoma?. *Gastroenterology* 1997;113 (Suppl 6):S61-4.
282. Delchier, J.C., Ebert, M., Malfertheiner, P. *Helicobacter pylori* in gastric lymphoma and carcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 1998;14(Sup 1):S41-5.
283. Neubauer, A., Thiede, C., Morgner, A., et al. Cure of *Helicobacter pylori* infection and duration of remission of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1350-5.
284. Steinbach, G., Ford, R., Guber, G., et al. Antibiotic treatment of gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. An uncontrolled trial. *Ann Intern Med* 1999;131:88-95.
285. Schwartz, K. Uber penetrierende magen-und jejunal gesch wure. *Beitr Klin Chir* 1981; 67:96.

286. Mignon, M., Penston, J.G., Deltenre, M., et al. Natural history of duodenal ulcer disease: are we at a turning point? *Gastroenterol Int* 1994; 7:95-113.
287. Festen, H.P.M. Prevention of duodenal ulcer relapse by long-term treatment with omeprazole. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29(Supl 201): 39-41.
288. Gisbert, J.P., Boixeda, D., Miguel D., et al. Infección por *Helicobacter pylori* y úlcera péptica. En: Boixeda, D., Miguel D., Gisbert, J.P., Martín de Argila, C (eds.) *Infección por Helicobacter pylori ¿Dónde está el límite?*. Madrid: Prous Science. 1996:135-57.
289. Hill, AB. The environment and disease: association or causation. *Proc R Soc Med* 1965; 58:295-9
290. Que, F.G., Gores, G.J. Cell death by apoptosis: basic concepts and disease relevance for the gastroenterologist. *Gastroenterology* 1996; 110:1238-43.
291. Moss, S.F., Clam, J., Agarwal, B., et al. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. *Gut* 1996; 34:498-501.
292. Zhu, G.H., Yang, X.L., Lai, K.C., et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs could reverse *Helicobacter pylori*-induced apoptosis and proliferation in gastric epithelial cells. *Dig Dis Sci* 1998; 43:1957-63.
293. Panella, C., Lerardi, E., Polimeno, L., et al. Proliferative activity of gastric epithelium in progressive stages of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* 1996; 41:1132-8.
294. Mannick, E.E., Bravo, L.E., Zarama, G., et al. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Res* 1996; 56:3238-43.
295. Bretagne, J.F., Quina, M.G. *Helicobacter pylori* and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Curr Opin Gastroenterol* 1999; 15(Supl 1): S61-5.
296. Huang, J.Q., Lad, R.J., Sridhar, S., et al. *H. pylori* infection increases the risk of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastroduodenal ulceration. *Gastroenterology* 1999; 116: A192.
297. Kuipers, E.J., Thijs, J.C., Festen, H.P.M. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9 (Supl 2): 59-61.
298. Jyoteeswaran, S., Shah, A., Jin, H., et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer patients in greater Rochester, NY: is empirical triple therapy justified? *Am J Gastroenterol* 1998; 93:574-8.
299. Ciociola, A.A., McSorley, D.J., Turner, K., et al. *Helicobacter pylori* infection rates in duodenal ulcer patients in the United States may be lower than previously estimated. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:1834-40.
300. Borody, T.J., George, L.L, Brand, S. et al. *Helicobacter pylori*-negative duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1992; 87:1403-6.

301. Kurata, J.H., Nogawa, A.N. Meta-analysis of risk factors for peptic ulcer. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Helicobacter pylori*, and smoking. J Clin Gastroenterol 1997; 24:2-17.
302. Peura, D.A. The problem of *Helicobacter pylori*-negative idiopathic ulcer disease. Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol 2000; 14:109-17
303. Gisbert, J.P., Blanco, M., Mateos, J.M., et al. *H. pylori*-negative duodenal ulcer prevalence and causes in 774 patients. Dig Dis Sci 1999; 44:2295-302.
304. Veldhuyzen van Zanten, S.J., Sherman, P.M. *Helicobacter pylori* infection as a cause of gastritis, duodenal ulcer, gastric cancer and nonulcer dyspepsia: a systematic overview. Can Med Assoc J 1994; 150:177-85.
305. Noach, L.A., Rolf, T.M., Bosna, N.B., et al. Gastric metaplasia and *Helicobacter pylori* infection. Gut 1993; 34:1510-4.
306. Garrick, J., Lee, A., Hazell, S., et al. *Campylobacter pylori*, duodenal ulcer and gastric metaplasia: possible role of functional heterotopic tissue in ulcerogenesis. Gut 1989; 30:790-7.
307. Wyatt, J.J., Rathbone, B.J., Sobala, G.M., et al. Gastric epithelium in the duodenum: its association with *Helicobacter pylori* and inflammation. J Clin Pathol 1990; 43:981-6.
308. Futami H., Takashima M., Fruyay M., et al. Relationship between *H. pylori* infection and gastric metaplasia in the duodenal bulb in the pathogenesis of duodenal ulcer. Gastroenterol Hepatol 1999; 14:114-9
309. Mathai, E., Arora, A., Cafferkey, M., et al. The effect of bile acids on the growth and adherence of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther 1991;5:653-8.
310. Hanninen, M. L. Sensitivity of *Helicobacter pylori* to different bile salts. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991;10:515-8.
311. Graham, D.Y., Osato M.S. *H. pylori* in the pathogenesis of duodenal ulcer: interaction between duodenal acid load, bile and *H. pylori*. Am J Gastroenterol 2000;95:81-90
312. Suerbaum, S., Hur, C., Josenhans, C., et al. Pathogenesis and virulence factors of *Helicobacter pylori*. Curr Opin Gastroenterol 1999;15(Sup1): S11-16
313. Censini, S., Lange, C., Xiang, Z. Et al. CagA pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type 1-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:1448-53
314. Tombola, F., Carlesso, C., Szabo, I., et al. *Helicobacter pylori* vacuolating toxin forms anion-selective channels in planar lipid bilayers: possible implications for the mechanism of cellular vacuolation. Biophys J 1999; 76:1401-09.
315. Atherton, J.C., Cao, P., Peek, R.M. et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem 1995; 270:1771-7.

316. Xiang, Z., Censini, B., Bayeli, P.F., et al. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into the vacuolating cytotoxin. *Infect Immun* 1995;63:94-8.
317. Yang, J.C., Kuo, C.H., Wang, T.C., et al. Vacuolating toxin gene polymorphism among *Helicobacter pylori* clinical isolates an association with m1, m2, or chimeric vacA middle types. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:1152-7.
318. Rudi, J., Kolb, C., Maiwald, M., et al. University of *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes and relationship to VacA and CagA protein expression, cytotoxin production, and associated diseases. *J Clin Microbiol* 1998; 36:944-8.
319. Martín, J.M., Hergueta, P., Carretero, E., et al. Relevancia clínica de las cepas de *Helicobacter pylori* CagApositivo: marcador de lesiones pépticas gastroduodenales. *Rev Esp Enferm Apar Dig* 2000; 92:160-6.
320. Oleastro, M., Matos, R., Cabral, J., et al. CagA status and vacA genotypes of *Helicobacter pylori* strains isolated from a portuguese population. *Gut* 1999; 45: (Supl 3): A32.
321. Nogueira, C., Figueiredo, F., Carneiro, F., et al. CagA and vacA genotypes of *Helicobacter pylori* are strongly associated with atrophic gastritis in portuguese and colombian patients. *Gut* 1999; 45:(Supl 3): A29.
322. Gómez, J., Elizalde, I., Marco, F., et al. Tipificación de cepas de *Helicobacter pylori* mediante la detección del gen cagA y subtipos del vacA. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17:171-5.
323. Van Doorn, L.J., Figueiredo, C., Sanna, R., et al. Clinical relevance of the cagA, vacA and iceA status of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998; 115:58-66.
324. Loeb, M., Jayaratne, P., Jones, N., et al. Lack of correlation between vacuolating cytotoxin activity, cagA gene in *Helicobacter pylori*, and peptic ulcer disease in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17:653-6.
325. Park, S.M., Park, J., Kinn, J.G., et al. Infection with *Helicobacter pylori* expressing the cagA gene is not associated with and increased risk of developing peptic ulcer disease in Korean patients. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33:923-7.
326. Pan, Z.J., Van del Huis, M., Feller, M., et al. Equally high prevalence of infection with cagA-positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1344-7.
327. Ito, Y., Azuma, T., Ito, S., et al. Analysis and typing of the vacA gene from cagA-positive strains of *Helicobacter pylori* isolated in Japan. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1710-4.
328. Wirth, H., Beins, M.H., Yang, M., et al. Experimental infection of Mongolian gerbils with wild-type and mutant *Helicobacter pylori* strains. *Infect Immun* 1998; 66:4856-66

329. Peek, R.M., Miller, G.G., Tham, K.T., et al. *Helicobacter pylori* strains. Lab Invest 1995; 73:760-70.
330. Hida, N., Shimoyama, T., Neville, P., et al. Increased expression of IL-10 and IL-12 (p40) mRNA in *Helicobacter pylori* infected mucosa: relation to bacterial cag status and peptic ulceration. J Clin Pathol 1999; 52:658-64.
331. Gunn, M.C., Stephens, J.C., Stewart, J.A., et al. The significance of cagA and vacA subtypes of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. J Clin Pathol 1998; 51:761-4.
332. Peek, R.M., Thompson, S.A., Donahue, J.P., et al. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a *Helicobacter pylori* gene iceA, that is associated with clinical outcome. Proc Assoc Am Physicians 1998; 110:531-44.
333. Donahue, J.P., Peek, R.M., Van Doorn, L.J., et al. Analysis of iceA transcription in *Helicobacter pylori*. Helicobacter 2000, 5:1-12.
334. Yamaoka, Y., Kodama, T., Gutierrez, O et al. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: in four different countries. J Clin Microbiol 1999; 37:2274-9.
335. Josenhans, C., Ferrero, RL, Labigne, A, et al. Cloning and allelic exchange mutagenesis of two flagellin genes from Helicobacter felis. Mol Microbiol 1999; 33:350-62.
336. Olfat, F., Odenbreit, S., Hass, R., et al. The influence of bacterial adherence for development of disease. Gut 1999; 45:(Supl 3): A30.
337. Clarke, C.A., Edwards, J.W., Haddock, D.R., et al. Blood groups and secretor character in duodenal ulcer. B M J 1956; 2:725-31.
338. Mentis, A., Blackwell, C.C., Weir, D.M., et al. ABO blood group, secretor status and detection of *Helicobacter pylori* among patients with gastric or duodenal ulcers. Epidemiol Infect 1991; 106:221-9.
339. Langman, M.S.J. Blood groups and alimentary disorders. Clin Gastroenterol 1973; 2:497-506.
340. Gerhard, M., Lehn, N., Neumayer, N, et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 12778-83.
341. Weeks, D.L., Scott, D.R., Sachs, G. AH+ gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization. Science 2000;287: 482-5.
342. Rudnicka, W., Andersen, L. Inflammation and host response. Curr Opin Gastroenterol 1999; 15(Supl1): S17-21.
343. Lee, A., O'Rourke, J., Corazón de Ungría, M., et al. A standardized mouse model of *Helicobacter pylori* infection: introducing The Sydney Strain. Gastroenterology 1997; 112:1386-97.

344. Malaty, H.M., Engstrand, M., Pedersen, N.L., et al. *Helicobacter pylori* infection: genetic and environmental influences. *Ann Inter Med* 1994; 120:982-6.
345. Borén, T., Falk, P., Roth, K.A., et al. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993; 262:1892-5.
346. Hericksson, K., Uribe, A., Sandstedt, B., et al. *Helicobacter pylori* infection, ABO blood group, and effect of misoprostol on gastroduodenal mucosa in NSAID-treated patients with rheumatoid arthritis. *Dig Dis Sci* 1993; 38:1688-96.
347. Ruíz, S., Correa, P., Torrado, J., et al. Lewis antigens and the prevalence of *Helicobacter pylori* infection, peptic ulcer and gastric carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:A1331.
348. Martín de Argila, C., Boixeda, D., Valdezate, S., et al. *Helicobacter pylori*, los grupos sanguíneos ABO y el factor Rhesus. *Rev Esp Enferm Dig* 1998; 90:263-5.
349. Chimiela, M., Wadström, T., Folkesson, H., et al. Anti-Lewis antibody and Lewis X-anti-Lewis X immune complexes in *Helicobacter pylori* infection. *Immunol Lett* 1998; 61:119-25.
350. Kamiya, K., Arisawa, T., Goto, H., et al. Are autoantibodies against Lewis antigens involved in the pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced peptic ulcers?. *Microbiol Immunol* 1999; 43:403-8.
351. Calvert, R., Randerson, J., Evans, P., et al. Genetic abnormalities during transition from *Helicobacter pylori*-associated gastritis to low-grade MALToma. *Lancet* 1995; 345:26-7.
352. Graham, D.Y. *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer: a model. *Gastroenterology* 1997; 113:1983-91.
353. Sumii, M., Sumii, K., Tari, A., et al. Expression of antral gastrin and somatostatin mRNA in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Am J Gastroenterol*. 1994; 89:1515-19.
354. Odum, L., Petersen, H.D.J., Andersen, I.B., et al. Gastrin and somatostatin in *Helicobacter pylori*-infected antral mucosa. *Gut* 1994; 35: 615-8.
355. Queiroz, D.M., Moura, S.B., Mendes, E.N., et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on G-cell and D-cell density in children. *Lancet* 1994; 343:1191-3.
356. Gibbons, A.H., Legon, S., Walker, M., et al. The effect of gastrin-releasing peptide on gastrin and somatostatin messenger RNAs in humans infected with *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1997; 112:1940-7.
357. Kaneko, H., Nakada, K., Mitsuma, T., et al. *Helicobacter pylori* infection induces a decrease in immunoreactive-somatostatin concentrations of human stomach. *Dig Dis Sci* 1992; 37:409-16.
358. Graham, D.Y., Go, M.F., Lew, G.M., et al. *Helicobacter pylori* infection and exaggerated gastrin release. Effects of inflammation and progastrin processing. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28:690-4.

359. Courillon-Mallet, A., Launay, J.M., Roucayrol, A.M. *Helicobacter pylori* infection: physio-pathologic implication of N-alpha-methyl-histamine. *Gastroenterology* 1995; 108:959-66.
360. Kelly, S.M., Crampton, J.R., Hunter, J.O. *Helicobacter pylori* increases gastric antral juxtamucosal pH. *Dig Dis Sci* 1993; 38:129-31.
361. Tarnawsky, P.R., Kovacs, T.O.G., Sytnik, B. et al. Asymptomatic *Helicobacter pylori* infection impairs pH inhibition of gastrin and acid secretion during second hour of peptone meal stimulation. *Dig Dis Sci* 1993; 38:1381-7.
362. Konturek, J.W., Konturek, S.J., Dormschke, W. Cholecystokinin in the control of gastric acid secretion and gastrin release in response to a meal at low and high pH in healthy subjects and duodenal ulcer patients. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30:738-44.
363. Hamlet, A., Olbe, I. The influence of *Helicobacter pylori* infection on postprandial duodenal acid load and duodenal bulb pH in humans. *Gastroenterology* 1996; 111:391-400.
364. Mulholland, G., Ardill, J.E.S., Fillmore, D., et al. *Helicobacter pylori* related hypergastrinemia is the result of a selective increase in gastrin 17. *Gut* 1993; 34:757-61.
365. Haruma, K., Kawaguchi, H., Yoshihara, H., et al. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and gastric acid secretion in young healthy subjects. *J Clin Gastroenterol* 1994; 19:20-2.
366. El-Omar, E.N., Penman, I.A., Ardill, J.E.S., et al. *Helicobacter pylori* infection and abnormalities of acid secretion in patients with duodenal ulcer disease. *Gastroenterology* 1995; 109:681-91.
367. Katelaris, P.H., Seow, F., Lin, B.P.C., et al. Effect of age, *Helicobacter pylori* infection and gastritis with atrophy on serum gastrin and gastric acid secretion in healthy men. *Gut* 1993; 34: 1032-37.
368. Card, W.I., Marks, I.N. The relationship between the acid output of the stomach following "maximal" histamine stimulation and the parietal cell mass. *Clin Sci* 1960; 19:147-53.
369. Moss, S.F., Calam, J. Acid secretion and sensitivity to gastrin in patients with duodenal ulcer: effect of eradication of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1993; 34:888-92.
370. Guidelines for clinical trials in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 41:S1-23.
371. Graham, D.Y., de Boer, W.A., Tytgat, G, et al. Choosing the best anti-*Helicobacter pylori* therapy: effect of antimicrobial resistance. *Am J gastroenterol* 1996; 91:1072-6.
372. Peterson, W.L. The role of antisecretory drugs in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11(Suppl 1):21-5.

373. Marshall, B.J.. Treatment strategies of *Helicobacter pylori* infection . Gastroenterol Clin North Am 1993;22:183-9.
374. Hall, D.W.R. Pharmacology of bismuth containing medicines used to treat *Helicobacter pylori* infections . Ital J Gastroenterol 1991; 23(Suppl 2):34.
375. Van Zzet, A.A., Vandenbrouke-Grauls, C.M.J.E., Thijs, J.C. et al. Stable amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori*. Lancet 1998; 352:1595.
376. Erah, P.O., Goddard, A.F., Barrett, D.A., et al. The stability of amoxycillin, clarithromycin and metronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection. J Antimicrob Chemother 1997; 39:5-12.
377. Endo, H., Yoshida, H., Ohmi, N., et al. Effects of lansoprazol, clarithromycin and pH gradient on uptake of. J Antimicrob Chemother 2001; 47:405-10.
378. Tankovic, J., Lamarque, D, Lascols, C et al. Impact of *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin on the efficacy of the omeprazole-amoxicillin-clarithromycin therapy. Aliment Pharmacol Ther 2001;15:707-13.
379. Walsh, J.H., Peterson, W.L. The treatment of *Helicobacter pylori* infection in the mangemnet of the peptic ulcer disease. N Engl J Med 1995; 333:984-91.
380. Michetti, P. Future developments in therapy: editorial. Curr Opin Gastroenterol 2000; 16(Suppl1):S1-S4.
381. Janssen, M.J.R., Van Oijen, A.H.A.M., Verbeek, A.L.M., et al. A systematic comparison of triple therapies for treatment of *Helicobacter pylori* infection with proton pump inhibitor/ranitidine bismuth citrate plus clarithromycin and either amoxicilin or a nitroimidazole. Aliment Pharmacol Ther 2001;15:613-24.
382. O'Morain, C., Montague, S. Challengues to therapy in the future. Helicobacter 2000; 5(Suppl 1):23-6.
383. Laine, L.L., Hunt, R., Spenard, J. Bismuth-based *Helicobacter pylori* therapy by a single capsule (Bismuth subcitrat+metronidazole+tetracycline+omeprazole): an interim analysis. Gut 2000;47 (Suppl 1):A100.
384. Yamada, T., Ahnen, D., Alpers, D.H., et al. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Conference Helicobacter pylori in peptic ulcer disease. JAMA 1994; 272:65-9.
385. The European *Helicobacter pylori* Study Group (EHPSG). Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastrich Consensus Report. Gut 1997; 41:8-13.
386. De Boer, W.A. y Titgat, N.J. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. BMJ 2000; 320:31-4.
387. Bodger, K., Daly, M.J., Heatley, R.V. Clinical economics review: *Helicobacter pylori* associated peptic ulcer disease. Aliment Pharmacol Ther 1997; 11:273-82.

388. Badia, X., Segu, J.L., Olle, A., et al. Cost-effectiveness analysis of different strategies for treating duodenal ulcer. *Pharmacoeconomics* 1997; 11:367-76.
389. Greenberg, P.D., Koch, J., Cello, J.P. Clinical utility and cost effectiveness of *H. pylori* testing for patients with duodenal and gastric ulcers. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:228-32.
390. Massuda, H.K., Boyd, E.J.S. Who should undergo testing for *Helicobacter pylori* infection? A review of Consensus Conferences and Guidelines. *Gastroenterology* 1996; 91:1070-1.
391. Jovell, A., Aymerich, M., García-Altes, A., et al. Guia de pràctica clínica per al tractament eradicador de la infecció per *Helicobacter pylori*. *Ann Med (Barc)* 1999; 82:145-7.
392. Bianchi, J., Porro G., Parente, F., et al. Short and long term outcome of *H. pylori*-positive resistant duodenal ulcer treated with colloidal-bismuth subcitrate plus antibiotic or sucralfate alone. *Gut* 1993; 34:466-9.
393. Guslandi, M. More about refractory duodenal ulcer. *Gut* 1984; 25:1433-4.
394. Treiber, G. y Lambert, J.R. The impact of *Helicobacter pylori* eradication on peptic ulcer healing. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:1080-3.
395. Lind, T., Megraud, F., Unge, P., et al. The MACH2 study: role of omeprazole in eradication of *Helicobacter pylori* with 1-week triple therapies. *Gastroenterology* 1999; 116:248-53.
396. Hosking, S.W., Ling, T.K.W., Chung, S.C.S., et al. Duodenal ulcer healing by eradication of *Helicobacter pylori* without anti-acid treatment: randomized controlled trial. *Lancet* 1994; 343: 508-10.
397. Graham, D.Y. Therapy of *Helicobacter pylori*: Current status and Issues. *Gastroenterology* 2000; 118:S2-8.
398. Forné, M., Viver, J.M., Espinós, J.C., et al. Impact of colloidal bismuth subcitrate in the eradication rates of *Helicobacter pylori* infection-associated duodenal ulcer using a short treatment regimen with omeprazole and clarithromycin: a randomized study. *Am J Gastroenterol* 1995; 90:718-21.
399. Forné, M., Viver, J.M., Esteve, M., et al. Randomized clinical trial comparing two one-week triple therapy regimens for the eradication of *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer healing. *Am J Gastroenterol* 1998; 93:35-37.
400. De Woer, W., Driessen, W., Jansz, A., et al. Effect of acid suppression on efficacy of treatment for *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1995; 345:817-20.
401. Lam, S.K., Ching, C.K., Lai, K.C., et al. Does treatment of *Helicobacter pylori* with antibiotics alone heal duodenal ulcer? A randomized double-blind placebo-controlled study. *Gut* 1997; 41:43-8.
402. Treiber, G. The influence of drug dosage on *Helicobacter pylori* eradication: A cost-effectiveness analysis. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:246-57.

403. Gisbert, J.P., Boixeda, D., Martín de Argila, C., Álvarez Baleriola, I., Abraira, V., García Plaza, A. Unhealed duodenal ulcers despite *Helicobacter pylori* eradication. Scand J Gastroenterol 1998; 33: 1144-51.
404. Borody, T., Andrews, P., Mancuso, N., et al. *Helicobacter pylori* reinfection 4 years post eradication. Lancet 1992; 339:1295.
405. Parsonnet, J., Blaser, M.J., Perez-Perez, G.I., et al. Symptoms and risk factors of *Helicobacter Pylori* infection in a cohort of epidemiologists. Gastroenterology 1992; 12:41-6.
406. Forbes, G.M., Glaser, M.E., Cullen, D.J.E., et al. Duodenal ulcer treated with *Helicobacter pylori* eradication: seven-year follow-up. Lancet 1994; 343:258-60.
407. Van der Hulst R.W., Rauws E.A., Koyucus B., et al. Prevention of ulcer recurrence after eradication of *Helicobacter pylori*. A prospective long-term follow-up study. Gastroenterology 1997; 113:1082-6.
408. Gisbert, J.P., Pajares, J.M., Garcia-Valriberas, R., et al. Recurrence of *Helicobacter pylori* infection after eradication: incidence and variables influencing it. Scand J Gastroenterol 1998; 33:1144-51.
409. Martino, G., Paoletti, M., Marcheggiano, A., et al. Duodenal ulcer relapse is not always associated with recurrence of *H. pylori* infection: a prospective three-year follow-up study. Helicobacter 1999; 4:213-7.
410. Rollan, A., Giancaspero, R., Fuster, F., et al. The long-term reinfection rate and the course of duodenal ulcer disease after eradication of *Helicobacter pylori* in a developing country. Am J Gastroenterol 2000; 95:50-6.
411. Borody, T.J., George, L.L., Brandl, S., et al. Smoking does not contribute to duodenal ulcer relapse after *Helicobacter pylori* eradication. Am J Gastroenterol 1992; 87:1390-3.
412. Chan, F.K.L., Sung, J.J.Y., Lee, Y.T., et al. Does smoking predispose to peptic ulcer relapse after eradication of *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1997; 92:442-5.
413. Neil, G.A., Suchower, L.J., Johson, E., et al. *Helicobacter pylori* eradication as a surrogate marker for the reduction of duodenal ulcer recurrence. Aliment Pharmacol Ther 1998; 12:619-33.
414. Tytgat, G.N.J. Treatments that impact favourably upon the eradication of *Helicobacter pylori* and ulcer recurrence: review article. Aliment Pharmacol Ther 1994; 8:359-68.
415. Wong, B.C., Lam, S.K., Lai, K.C., et al. Triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication is more effective than long-term maintenance antisecretory treatment in the prevention of recurrence of duodenal ulcer: a prospective long-term follow-up study. Aliment Pharmacol Ther 1999;13:303-9.
416. Bell, G.D., Powell, K.U. *Helicobacter pylori* reinfection after apparent eradication-The Ipswich experience. Scand J Gastroenterol 1996; 31 (Supl 215): 96-104.

417. Xia, H.X., Gilvarry, J., Beattie, S., et al. Recrudescence of *Helicobacter pylori* infection inpatients with healed duodenal ulcer after infection in patients with healed duodenal ulcer after treatment with different regimens. Am J Gastroenterol 1995; 90:1221-5.
418. Laine, L., Hopkins, R.J., Girardi, L.S. Has the impact of *Helicobacter pylori* therapy on ulcer recurrence in the United States been overstated? A meta-analysis of rigorously designed trials. Am J Gastroenterol 1998; 93:1409-15.
419. Freston, J.W. *Helicobacter pylori*-negative peptic ulcers: frequency and implications for management. J Gastroenterol 2000; 35(Suppl 12): 29-32.
420. Tepes, B., Kavcic, B., Gubina, M., et al. A four-year follow-up of duodenal ulcer patients after *Helicobacter pylori* eradication. Hepatogastroenterology 1999; 46:1746-50.
421. Lanas, A. NSAID use and abuse in gastroenterology: refractory peptic ulcers. Acta Gastroenterol Belg 1999;62:418-20.
422. Lanas, A., Remacha, B., Sáinz, R., et al. Study of outcome after targeted intervention for peptic ulcer resistant to acid suppression therapy. Am J Gastroenterol 2000; 95:513-9.
423. Thirlby, R.C. Postoperative recurrent ulcer. Gastroenterol Clin North Am 1994; 23:295-311.
424. Koo, J., Lam, S.K., Ong, G.B. Cimetidine versus surgery for recurrent ulcer after gastric surgery. Ann Surg 1982;195:406-12.
425. Peetsalu, M., Maaros, H.I., Peetsalu, A. Completeness of vagotomy, *Helicobacter pylori* colonization and recurrent ulcer 9 and 14 years after operation in duodenal ulcer patients. Eur J Gastroenterol Hepatol 1998; 10:305-11.
426. Goligher, J.C., Feather, D.B., Hall, R., et al. Several standard elective operation for duodenal ulcer: ten to 16 year clinical results. Ann Surg 1979; 189:18-24.
427. Mulholland, M., Morrow, C., Dunn, D.H. et al. Surgical treatment of duodenal ulcer. Arch Surg 1982; 117:393-7.
428. Lee, Y.T., Sung, J.J., Choi, C.L., et al. Ulcer recurrence after gastric surgery: is *Helicobacter pylori* the culprit? Am J Gastroenterol 1998; 93:928-31.
429. Martin, I.G., Diament, R.H., Dixon, M.F., et al. *Helicobacter pylori* and recurrent ulceration after highly selective vagotomy. Eur J Gastroenterol Hepatol 1995; 7:207-9.
430. Mignon, M., Penston, J.G., Deltenre, M., et al. Natural history of duodenal ulcer disease: are we at turning point? Gastroenterol Int 1994; 7:95-113,
431. Laine, L. y Peterson, W.L. Bleeding peptic ulcer. N Engl J Med 1994; 331:717-27.
432. Gisbert, J.P., Boixeda, D., Aller, R., et al. *Helicobacter pylori* y hemorragia digestiva por úlcera duodenal: prevalencia de la infección, eficacia de tres terapias

- triples y papel de la erradicación en la prevención de la recidiva hemorrágica. *Med Clin* 1999; 112:161-5.
433. Rokkas, T., Karamaris, A., Mavrogeorgis, A., Rallis, E., et al. Eradication of *Helicobacter pylori* reduces the possibility of rebleeding in peptic ulcer disease. *Gastrointest Endosc* 1995; 41:1-4.
434. Al-Assi, M.T.T, Genta, R.M., Karttunen, T.J., et al. Ulcer site and complications relation to *Helicobacter pylori* infection and NSAIDs use. *Endoscopy* 1996; 28:229-33.
435. Ng, T.M., Fock, K.M., Khor, J.L., et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Helicobacter pylori* and NSAIDs an bleeding gastric ulcer. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:203-9.
436. Colin, R., Czernichow, P., Baty, V., et al. Low sensitivity of invasive test for the detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with bleeding ulcer. *Gastroenterol Clin Biol* 2000;23:31-5.
437. Archimandritis, A., Tzivras, M., Souyioulzis, S., Papaparaskevas, P., Apostolopoulos, P., Delladetsima, I., et al. High rates of false negative rapid urease test(CLO) in patients with upper gastric-intestinal bleeding(UGB). *Gut* 1997; 41(Supl 1): 76.
438. Petersen, H., Kristensen, P., Johannessen, K., et al. The natural history of duodenal ulcer disease and its predictors. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30:17-24.
439. Graham, D.Y., Hepps, K.S., Ramirez, F.C., et al. Treatment of *Helicobacter pylori* reduces the rate of rebleeding in peptic ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 1993; 28:939-42.
440. Santander, C., Grávalos, R.G., Gómez-Cedenilla, et al. Antimicrobial therapy for *Helicobacter pylori* infection versus long-term maintenance antisecretion treatment in the prevention of recurrent hemorrhage from peptic ulcer:prospective nonrandomized trial on 125 patients. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:1449-52.
441. Sung, J.J., Leung, W.K., Suen, R., et al. One-week antibiotics versus maintenance acid supression therapy for *Helicobacter pylori*-associated peptic ulcer bleeding. *Dig Dis Sci* 1997; 42:2524-8.
442. Riemann, J.F., Schilling, D., Schauwecker, P., et al. Cure with omeprazole plus amoxicillin versus long-term ranitidine therapy in *Helicobacter pylori*-associated ulcer bleeding. *Gastrointes Endosc* 1997; 46:299-304.
443. Sonnenberg, A., Olson, C.A., y Zhang, J. The effect of antibiotic therapy on bleeding from duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:950-4.
444. Macri, G., Milani, S., Surrenti, E., et al. Eradication of *Helicobacter pylori* reduces the rate of duodenal ulcer rebleeding: a long-term follow-up study. *Am J Gastroenterol* 1998; 3:925-7
445. Panes, J., Viver, J., Forné, M., et al. Controlled trial of endoscopic sclerosis in bleeding peptic ulcers. *Lancet* 1987; 5:1292-4.

446. Mihmanli, M., Isgor, A., Kabukcuoglu, F., et al. The effect of *H. pylori* in perforation of duodenal ulcer. *Hepatogastroenterology* 1998; 45:1610-2.
447. Chu, K.M., Kwok, K.F., Tuen, H.H., et al. *Helicobacter pylori* status and endoscopy follow-up of patients having a history of perforated duodenal ulcer. *Gastrointest Endosc* 1999; 50:58-62.
448. Ng, E.K., Chung, S.C., Sung, J.J., et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection in duodenal ulcer perforations not caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Br J Surg* 1996; 83:1779-81.
449. Bornman, P.C., Theodorou, N.A., Jeffery, P.C., et al. Simple closure of perforated duodenal ulcer: a prospective evaluation of a conservative management policy. *Br J Surg* 1990; 77:73-5.
450. Ng, E.K.W., Lam, Y.H., Sung, J.J.Y., et al. Eradication of *Helicobacter pylori* prevents recurrence of ulcer after simple closure of duodenal ulcer perforation. Randomized controlled trial. *Ann Surg* 2000; 231:153-8.
451. Khoursheed, M., Fuad, M., Safar, H., et al. Laparoscopic closure of perforated duodenal ulcer. *Surg Endosc* 2000;14:56-8.
452. Johnson, A.G. Proximal gastric vagotomy: does it have a place in the future management of peptic ulcer?. *World J Surg* 2000; 24:359-63.
453. Korazek, R.A. Dilation therapy for gastric outlet obstruction. *J Clin Gastroenterol* 1993; 17:2-4.
454. Millat, B., Fingerhut, A., Borie, F. Surgical treatment of complicated duodenal ulcers: controlled trials. *World J Surg* 2000; 24:299-306.
455. Brandimarte G., Tursi A., Di Cesare L., et al. Antimicrobial treatment for peptic stenosis: a prospective study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11:731-4.
456. Rinaldi, V., Zullo, A. Duodenal stenosis and *Helicobacter pylori*. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28:83-4.
457. Tursi, A., Cammarota, G., Papa, A., et al. *Helicobacter pylori* eradication helps resolve ulcer and duodenal stenosis. *J Clin Gastroenterol* 1996; 23:157-8.
458. Hentschel, E., Brandstätter, G., Dragosics, B., et al. Effect of ranitidine and amoxicillin plus metronidazole on the eradication of *Helicobacter pylori* and the recurrence of duodenal ulcer. *N Engl J Med* 1993;328:308-12.
459. Graham, D.Y., Lew, G.M., Evans, D.G., et al. Effect of triple therapy (Antibiotics plus Bismuth) on duodenal ulcer healing. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 1991;115:266-69.
460. Shiann, P., Chen-Hsuing, L., Gi-Shih, L. and Sheng-Hsuan C. Histological maturity of healed duodenal ulcer recurrence after treatment with colloidal bismuth subcitrate or cimetidine. *Gastroenterology* 1991;101:1187-91.

461. Marshall, B.J., Goodwin, C.S., Warren, J.R., et al. Prospective double-blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1988;ii:1437-42.
462. Coghlan, J.G., Humphries, H., Dooley, C., et al. *Campylobacter pylori* and recurrence of duodenal ulcers—a 12 month follow-up study. *Lancet* 1987;ii:1109-11.
463. Graham, D.Y., Lew, G.M., Klein, P.D., et al. Effect of treatment of *Helicobacter pylori* infection on the long-term recurrence of gastric or duodenal ulcer. A randomized, controlled study. *Ann Intern Med* 1992;116:705-08
464. Rauws, E.A.J., Tytgat, G.N.J. Cure of duodenal ulcer with eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1990;335:1233-35.
465. Borody, T., Noonan, S., Cole, P., et al. Duodenal ulcer recurrence in patients remaining *C.pylori*(CP)-negative long-term post-eradication. *Gastroenterology* 1989;96:A 52.
466. Labenz, J., Gyenes, E., Rühl, G.H. and Börsch, C. Amoxicillin plus omeprazole versus triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer disease: a prospective, randomized and controlled study. *Gut* 1993;34:1167-70.
467. Chiba, N., Rao, B.V., Rademaker, J.W., et al. Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1992;87:1716-27.
468. Labenz, J., Gyenes, E., Rühl, G.H., and Börsch, G. Omeprazole plus amoxicillin: efficacy of various treatment regimens to eradicate *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1993;88,4:491-95.
469. Logan, R.P.H., Gummett, P.A., Misiewicz, J.J., et al. One week eradication regimen for *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1991;338:1249-52.
470. Coelho, L.G.V., Passos, M.C.F, Chausson, Y., et al. One week \$12.00 therapy heals duodenal ulcer and eradicates *H.pylori*. *Gastroenterology* 1992;102(4),ii A51.
471. Unge, P., Gad, A., Gnärpe, H., and Olsson J. Does omeprazole improve antimicrobial therapy directed towards gastric *Campylobacter pylori* in patients with antral gastritis?. *Scan J Gastroenterol* 1989;24:49-54.
472. Hosking, S.W., Ling, T.K., Yung, M.Y., et al. Randomised controlled trial of short term treatment to eradicate *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer. *BMJ* 1992;305:502-04.
473. Bayerdörffer, E., Mannes, G.A., Sommer, A., et al. High dose omeprazole treatment combined with amoxicillin eradicates *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol*.1992;4:697-702.
474. Unge, P., Eriksson, K., Bergman, B., et al. Omeprazole and amoxicillin in patients with duodenal ulcer: *Helicobacter pylori* eradication and remission of ulcers and symptoms during a 6-month follow-up. *Gastroenterology* 1992;102: A183.

475. Misiewicz, J.J., Tytgat, G., Goodwin, C.S., et al. The Sydney system: A new classification of gastritis. Working party report of the 19th World Congresses of Gastroenterology. Sydney, 1990; 1-10.
476. Dominguez-Muñoz, J.E., Leodolter, A., Sauerbruch, T., et al. A citric acid solution an optimal test drink in the 13-C urea breath test for the diagnosis of *H. pylori* infection. Gut 1997;40:459-62.
477. Vigneri S, Termini R, Scialabba AB, and Pisciotta G. Omeprazole therapy modifies the gastric localization of *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1991;86:1276.
478. Cutler AF and Schubert TT. Patient factors affecting *Helicobacter pylori* eradication with triple therapy. Am J Gastroenterol 1993;88:505-09.
479. Forné M, Viver JM, Espinós JC et al. Tratamiento corto con claritromicina, subcitrate de bismuto coloidal y omeprazol en la úlcera duodenal con *Helicobacter pylori*. Gastroenterol y Hepatol, 1993;16,9:581-83.
480. Goodwin C, Marshall BJ, Blincow ED et al. Prevention of nitroimidazole resistance in *Campylobacter pylori* bi co- administration of colloidal bismuth subcitrate: clinical and in vitro studies. J Clin Pathol 1987;41:207-10.
481. Sherwood L Gorbach. Bismuth therapy in gastrointestinal diseases. Gastroenterology 1990;99:863-75.
482. Glupczynski Y and Burette A. Drug therapy for *Helicobacter pylori* infection: problems and pitfalls. Am J Gastroenterol 1990;85:1545-51.
483. Malanoski GJ, Eliopoulos GM, Ferraro MJ, and Moellering RC. Effect of pH variation on the susceptibility of *Helicobacter pylori* to three macrolide antimicrobial agents and temafloxacin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993;12(2):131-33.
484. Logan RPH, Gummatt PA, Hegarty BT, et al. Clarithromycin and omeprazole for *Helicobacter pylori*. Lancet 1992;340:239.
485. Logan RPH, Gummatt PA, Misiewicz JJ, et al. One week's anti-*Helicobacter pylori* treatment for duodenal ulcer. Gut 1994;35:15-18.
486. Maton PN. Omeprazole. N Engl J Med 1991; 324:965-75
487. Neri M, Susi D, Seccia G, et al. Bismuth is a necessary addition to omeprazole and Clarithromycin for the treatment of *Helicobacter pylori* (*Hp*)-related gastritis. Gastroenterology 1993;104:A157.
488. Tytgat, G.N.J. Long-term consequences of *Helicobacter pylori* eradication. Scand J Gastroenterol 1994;29 (Suppl 205):38-44.
489. Labenz, J., Börsch, G. Evidence for the essential role of *Helicobacter pylori* in gastric ulcer disease. Gut 1994;35:19-22..
490. Jaup, B.H., Norrby, A. Low dose, short-term triple therapy for cure of *Helicobacter pylori* infection and healing of peptic ulcers. Am J Gastroenterol 1995; 90:943-45.

491. Schütze, K., Hentschel, E. Duodenal ulcer healing after 7-day treatment: a pilot study with lansoprazole, amoxicillin and clarithromycin. *Z Gastroenterol* 1995;33:651-53.
492. Labenz, J., Tillenburg, B., Peitz, U., et al. Healing of peptic ulcers by curing *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1995; 37: Suppl 1: A43.
493. Forné, M., Viver, J.M., Espinós, J.C., et al. Alta tasa de cicatrización de la úlcera duodenal con pautas de tratamiento corto en la erradicación del *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Dig* 1995;87: Supl 1: SP5
494. Bazzoli, F., Zagari, R.M., Fossi, S., et al. Short-term low-dose triple therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. *Eurp J Gastroenterol Hepatol* 1994;6:773-77.
495. Chiba, N., Wilkinson, J.M., Hunt, R.H. Clarithromycin or amoxicillin dual and triple therapies in *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Gut* 1995;37:(Suppl 2), A31.
496. Lamouliatte, H., Cayla, R., Zerbib, F., et al. Triple therapy using proton pump inhibitor amoxicillin and clarithromycin for *Helicobacter pylori* eradication.. *Gut* 1995; 37 (Suppl 1):A91.
497. Forné, M., Viver, J.M., Espinós, J.C., et al. Response to Gisbert et al. *Am J Gastroenterol* 1996;91:177.
498. Gisbert, J.P., Boixeda, D. De Rafael, L., et al. ¿ De qué factores depende la cicatrización ulcerosa duodenal cuando empleamos un tratamiento erradicador de *Helicobacter pylori*? *Rev Esp Enferm Dig* 1996;88:179-84.
499. Axon, A.T.R. The role of the acid inhibition in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1994;29: (Suppl 201):16-23.
500. Bayerdörffer, E., Miehke, S., Mannes G.A., et al. Double-blind trial of 120 mg omeprazole plus amoxicillin for *Helicobacter pylori* eradication in duodenal ulcer patients. *Gastroenterology* 1994;106: A48
501. McGowan, C.C., Cover, T.L., Blaser, M.J. The proton pump inhibitor omeprazole inhibits acid survival of *Helicobacter pylori* by a urease-independent mechanism. *Gastroenterology* 1994; 107:1573-8.
502. Nagata, K., Satoh, H., Iwahi, T., et al. Potent inhibitory action of the gastric proton pump inhibitor lansoprazole against urease activity of *Helicobacter pylori*. unique action selective for *H. pylori* cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:769-74.
503. Mauch, F., Bode, G., Malfertheiner, P. Identification and characterization of and ATPase system of *Helicobacter pylori* and the effect of proton pump inhibitors. *Am J Gastroenterol*.1993;88:1801-2.
504. Hardy, D.J., Hanson, C.W., Hensley, D.M., et al. Susceptibility of *Campylobacter pylori* to macrolides and fluoroquinolones. *J Antimicrob Chemother* 1988;22:631-6

505. McNulty, C.A.M., Dent, J.C., Ford, G.A., et al. Inhibitory antimicrobial concentrations against *Campylobacter pylori* in gastric mucosa. J Antimicrob Chemother 1988;22:729-38.
506. Terada, S., Negayama, K., Kawanishi, K. Neutrophil migration into the mucous layer in the *Helicobacter pylori* associated gastritis. Eur J Gastroenterol Hepatol 1993;5:S454-S459
507. Lind, T., Veldhuyzen van Zanten, S., Unge, P., et al.. Eradication of *Helicobacter pylori* using one-week triple therapies combining omeprazole with two antimicrobials: The MACH I study. Helicobacter 1996;1:138-44
508. Goddard, A.F., Jessa, M.J., Barrett, D.A., et al. Effect of omeprazole on the distribution of metronidazole, amoxicillin, and clarithromycin in human gastric juice. Gastroenterology 1996;111: 358-67.
509. Forné, M., Viver, J.M., Espinós, J.C., et al. Tratamiento corto con claritromicina, subcitrate de bismuto coloidal y omeprazol en la úlcera duodenal con *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Hepatol 1993;16:581-3.
510. Treiber, G., Walker, S., Klotz, U. Omeprazole-induced increase in the absorption of bismuth from tripotassium dicitrate bismuthate. Clin Pharmacol Ther 1994;55:486-91.
511. Logan, R.P.H. Urea breath test in the management of *Helicobacter pylori* infection. Gut 1998;43(suppl 1):S47-S50.
512. Van't Hoff, B.W.M., van der Ende, A., van der Hulst, R.W.M, et al. *Helicobacter pylori* antigen in stool specimen as a possible monitoring tool for eradication therapy. Gut 1998;43(S2):A49.
513. Buscaglia, S., Minetti, F., Fanciulli, E., et al. Follow-up of patients after eradication of infection by a non-invasive immunoassay for *Helicobacter* infection. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998;30(suppl 2):A39.
514. Boero, M., Pluchino, D., Pizzo, L, et al. Evaluation of a new test detecting *H. pylori* antigens in stool: results in monitoring of eradication. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998;30 (suppl 2):A16.
515. Andersen LP, Boye K, Blom J, et al. Characterization of a culturable "Gastrospirillum Hominis" (*Helicobacter heilmannii*) strain isolated from human gastric mucosa. J Clin Microbiol 1999;37(4):1069-76.

9. PUBLICACIONES
