

**PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA DE *Helicobacter pylori* A TETRACICLINA EN
AISLAMIENTOS COLOMBIANOS**

ELIANA ROCIO RODRÍGUEZ GÓMEZ



PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL

BOGOTÁ D.C

2012

**PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA DE *Helicobacter pylori* A TETRACICLINA EN
AISLAMIENTOS COLOMBIANOS**

ELIANA ROCIO RODRÍGUEZ GÓMEZ

APROBADO

**Ingrid Schuler Ph.D
Decana Académica
Facultad de Ciencias**

**Janeth Arias Palacios M. Sc
Directora Carrera Microbiología
Facultad de Ciencias**

**PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA DE *Helicobacter pylori* A TETRACICLINA EN
AISLAMIENTOS COLOMBIANOS**

ELIANA ROCÍO RODRÍGUEZ GÓMEZ

APROBADO

**Dra. Alba Alicia Trespacios Ph.D
Directora**

**Dra. Marcela Mercado. MSc
Co- directora**

**Dr. Hugo Diez Ph.D
Jurado**

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la resolución No. 13 de julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y la moral católica y porque la tesis no contenga ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo por buscar verdad y justicia”

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecerle a mi Dios por haberme permitido culminar uno de mis mayores logros iluminándome, guiándome y llenándome de bendiciones al igual que de fortaleza, seguridad y paciencia para hacer este sueño realidad.

A mis padres y hermano por apoyarme en todo momento incondicionalmente, por enseñarme a luchar por mis verdaderos sueños y por ser hoy la persona quien soy gracias a sus principios y valores inculcados. Al igual por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación y por brindarme siempre su fiel amor.

A la Doctora Alba Alicia Trespalacios por su apoyo y conocimiento incondicional y por brindarme la gran oportunidad de aprender y fortalecer mis conocimientos.

A la Doctora Marcela Mercado por su apoyo constante en el análisis estadístico de este trabajo.

A Jenny Ávila y Liliana Rosero por su gran colaboración, apoyo, conocimiento y valiosa amistad, y al igual a todas aquellas personas que hicieron parte del grupo *de H. pylori* y de enfermedades infecciosas en el laboratorio de Bacteriología especial por hacer parte de este bello recorrido.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	1
Introducción	2
Justificación y planteamiento del problema	3
Marco teórico	4
Objetivos	6
Metodología	7
Resultados y discusión	10
Conclusiones	13
Recomendaciones	13
Referencias	14
Anexo A	18

RESUMEN

Los tratamientos de erradicación para *H. pylori* se hacen cada día menos eficientes dado a la creciente resistencia frente a las diversas terapias de erradicación. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en aislamientos colombianos.

Para ello se evaluaron 98 aislamientos clínicos por medio del método Gold estándar “dilución en agar”; del total de los aislamientos evaluados (54 de ellos correspondieron a la región gástrica cuerpo y 44 a la región gástrica antro), de los cuales 97 fueron sensibles (98,97%) y 1 fue resistente (0,98%) presentando una CMI de 8µg/ml perteneciente a la región gástrica “Cuerpo”.

Se llevó a cabo un proceso de reactivación, identificación y confirmación de los aislamientos por medio de coloración de gram y pruebas bioquímicas como ureasa, catalasa y oxidasa, finalizando con la obtención de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), con la finalidad de conocer cuál fue la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina.

Finalmente, la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en aislamientos colombianos se encuentra en un porcentaje menor al 1%, siendo este un resultado favorable para la erradicación de *H. pylori* por medio de este antimicrobiano.

Palabras claves: *H. pylori*, tetraciclina, método dilución en agar

INTRODUCCIÓN

H. pylori es un bacteria Gram negativa de forma espiral, microaerófila (5% de oxígeno, 10% dióxido de carbono), patógena, capaz de colonizar el epitelio gastrointestinal y subsistir el ambiente ácido gástrico del estómago; causando así enfermedades gastroduodenales como gastritis crónica, úlceras pépticas, duodenales y asociarse a linfomas tipo MALT y cáncer gástrico (1). Sus posibles vías de transmisión son oral-oral, fecal-oral aunque también se ha encontrado que ingerir agua contaminada es una fuente potencial de transmisión (2).

La infección por *H. pylori* está ampliamente diseminada, en donde su prevalencia a nivel mundial está entre el 50% y el 90% la cual varía entre países desarrollados y países en vía de desarrollo, siendo los países en desarrollo quienes tienen una mayor prevalencia de la infección (70-90%) como es el caso de Colombia que presenta una prevalencia de infección alta (80% al 90%) de la población adulta (3).

El uso indiscriminado de los antibióticos que se emplean para el tratamiento de la infección por *H. pylori*, sumado a los mecanismos de resistencia del microorganismo ha disminuido la efectividad de los antimicrobianos que se emplean para su erradicación (4), razón por la cual se hace necesario la búsqueda de otras alternativas de tratamiento como la tetraciclina, un antibiótico que desde el año 1950 ha sido ampliamente empleado en la práctica médica, aunque debido a su uso extensivo muchos patógenos bacterianos han desarrollado resistencia a este fármaco (5).

Sin embargo este antimicrobiano se utiliza frecuentemente en la terapia erradicadora de *H. pylori* sobre todo en las terapias de rescate o en la terapia cuádruple que consiste en adicionar un IBP a la terapia clásica de bismuto, tetraciclina y metronidazol durante 7 a 14 días con muy buenos resultados del 83% (6). Por lo tanto en este trabajo se evaluó la susceptibilidad de *H. pylori* a la tetraciclina en aislamientos colombianos, por medio del método Gold estándar dilución en agar, con el fin de determinar la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en nuestro medio.

JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como anteriormente se ha mencionado *H. pylori* es un patógeno que se ha visto asociado a cáncer gástrico y por este motivo es necesario erradicarlo; una buena opción es el tratamiento con tetraciclina ya que se han encontrado estudios que reportan en promedio un porcentaje bajo de resistencia <1% (7); razón por la cual es necesario ampliar la investigación con tetraciclina como una buena opción para el tratamiento de erradicación de esta bacteria patógena; planteando así la importancia de conocer primero la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en los aislamientos clínicos colombianos.

En Colombia son pocos los estudios que se han realizado para evaluar la susceptibilidad de *H. pylori* a tetraciclina, uno de los estudios fue desarrollado en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá reportando una resistencia a tetraciclina del 86% y el otro estudio reporta un porcentaje de resistencia de tetraciclina del 0% siendo este una revisión sistemática del tema (8-22). De acuerdo a esto se hace necesario ampliar este tipo de estudios con la finalidad de conocer claramente la situación y la magnitud de esta problemática a nivel de salud pública en nuestro país causada por esta bacteria ya que se han encontrado altas tasas de resistencia a *H. pylori* debido a causas como el incumplimiento de los tratamientos por parte del paciente, la alta acidez gástrica, la resistencia bacteriana frente a los antibióticos y la presencia de mutaciones; entre otros (9)

Según *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) el método de referencia para determinar la susceptibilidad de los antibióticos en este caso a tetraciclina, es la dilución en agar (10), la cual se basa en determinar el crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano diluido en el medio de cultivo; es por esta razón que se utilizó este método para conocer la concentración mínima inhibitoria (CMI) con el fin de evaluar la susceptibilidad de *H. pylori* a tetraciclina (11).

MARCO TEÓRICO

A partir del descubrimiento de la infección por *H. pylori* en 1983 por los médicos australianos Barry Marshall y Robín Warren a partir de un cultivo de mucosa gástrica, se ha fomentado un gran interés acerca de estudios relacionados con este microorganismo patógeno (12), debido a que se estima que los pacientes con *H. pylori* positivo tienen un riesgo del 100% de desarrollar gastritis crónica, del 10 al 20% de poseer ulcera péptica y un riesgo de 1 a 2% de desarrollar cáncer gástrico (3) convirtiéndose de esta manera en uno de los acontecimientos científicos de mayor relevancia a nivel mundial encontrando una prevalencia entre el 50% y el 90% (13).

El riesgo de infección de las personas que viven en países en vía de desarrollo como Colombia es aproximadamente de 80-90%, en los cuales más del 50% de la población se encuentra infectada a los 10 años de edad, mientras que en los países desarrollados solo 5% a 10% de los niños están infectados a los 10 años (13).

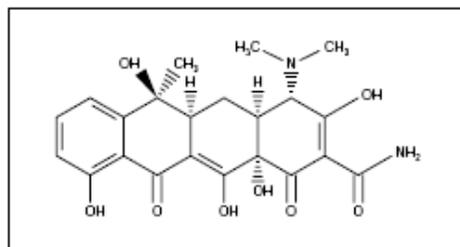
H. pylori, es un bacilo gram negativo espiral que mide 1.5-10:0 micras de largo y 0.2-1.2 micras de diámetro, posee de 4-8 flagelos polares confiriéndole así movilidad para penetrar la mucosa gástrica. Crece de 3-5 días bajo una temperatura de 37°C observándose en el cultivo colonias pequeñas, brillantes y translúcidas que son catalasa, oxidasa y ureasa positiva (80%) (14).

Actualmente los antibióticos más utilizados para la erradicación de *H. pylori* son metronidazol, claritromicina, amoxicilina y Tetraciclina (15) sin embargo la resistencia a metronidazol, claritromicina y amoxicilina ha ido aumentando paulatinamente, proporcionado así una disminución en la efectividad de las terapias convencionales, a diferencia de la resistencia a tetraciclina la cual es poco frecuente haciéndose necesario buscar nuevas alternativas de tratamiento con este antibiótico (16)

La tetraciclina es un antibiótico bacteriostático derivado de la naftacenocarboxamida policíclica, por su estructura química se ubica en el grupo de las tetraciclinas y es sintetizada de forma natural por 3 microorganismos *S. aureofaciens*, *S. rimosus* y *S. viridofaciens* (5-7). Este antimicrobiano es usado generalmente para tratar infecciones producidas por bacterias y es frecuentemente utilizada como modelo de terapia actual para erradicar *H. pylori* (17).

Figura 1

Figura 1. Tetraciclina



Tomado de Pérez E, Iglesias L. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. 2003

El mecanismo de acción de este antibiótico consiste en atravesar la membrana externa de las bacterias mediante difusión pasiva y así llegar al citoplasma gracias a un mecanismo dependiente de energía. Dentro del citoplasma se une al ribosoma y bloquea la síntesis de proteínas en las bacterias uniéndose a la subunidad 30S del ribosoma, impidiendo la unión del ARN de transferencia aminoacil (ARNt-aa) a su sitio de unión, bloqueando el paso de elongación e impidiendo así que los microorganismos puedan multiplicarse. Figura 2. (19).

Figura 2. Esquema del mecanismo de acción de la Tetraciclina



Tomado de Pérez E, Iglesias L. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. 2003

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en aislamientos colombianos.

Objetivo específico

Determinar la susceptibilidad de *H. pylori* a tetraciclina en los aislamientos.

METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO

Estudio descriptivo observacional de corte transversal.

POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: El marco muestral correspondió a aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori*, provenientes de biopsias gástricas pertenecientes al estudio "Erradicación de *H. pylori*: Triple terapia con Levofloxacin".

Muestra: 98 aislamientos.

- Nivel de confianza 95% con un intervalo correspondiente (0% - 3%)
- Error = 5%

DEFINICION DE VARIABLES

Tabla 1. Definición de variables

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	UNIDADES DE MEDICIÓN	ESCALA OPERACIONAL
Resistencia a tetraciclina	Dependiente	µg/ml	Sensible / Resistente
Origen del aislamiento	Independiente	No aplica	Antro o Cuerpo

PROCEDIMIENTO

Obtención de muestras

Los aislamientos clínicos de *H. pylori*, provenían de endoscopias digestivas de las regiones gástricas antro y cuerpo provenientes de pacientes mayores de 18 años de la Clínica Fundadores de Bogotá. Dichos aislamientos fueron almacenados en caldo brucella+20% glicerol a una temperatura de -80°C.

Recuperación del microorganismo

A partir de los aislamientos almacenados los cuales fueron sometidos a un proceso de descongelación, se realizó la reactivación correspondiente en agar Brucella con adición de sangre de Caballo al 7%, suplemento antibiótico DENT (oxid) y suplemento nutricional ISOVITALEX, con el fin de proporcionar al medio los requerimientos necesarios para el

crecimiento óptimo de *H. pylori*. Se incubaron a 37°C durante 3-4 días en condiciones de microaerofilia. Luego de este periodo de incubación se observaron colonias pequeñas, puntiformes, traslucidas y brillantes en agar brucella; de acuerdo a esto se realizaron pruebas de identificación del microorganismo como ureasa, catalasa, oxidasa y se realizó una coloración de gram con el fin de observar la morfología de *H. pylori*. Figura 3.

Figura 3. Identificación de *H.pylori*



Prueba de susceptibilidad por el método de dilución en agar

Para lograr determinar la susceptibilidad de *H. pylori* a tetraciclina en los 98 aislamientos colombianos, se realizó el método dilución en agar, en donde dicho procedimiento fue basado en los parámetros establecidos por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

A partir de la viabilidad de los cultivos se prepararon suspensiones equivalentes al patrón 3 de Mc Farland ($9,0 \times 10^9$ ufc/ml), luego se sembró 5 μ l de dichas suspensiones en el agar Mueller Hinton enriquecido con sangre de caballo, el cual contenía 13 diluciones del antibiótico con concentraciones desde 0,016 μ g/ml hasta 64 μ g/ml al igual que 2 aislamientos de control de viabilidad (NCTC 11637 y NCTC 11638) y una caja control para calidad del medio. Posteriormente se incubaron a 37°C durante 3 días bajo condiciones de microaerofilia.

Finalmente se realizó la lectura de la dilución, observando presencia o ausencia de crecimiento de *H. pylori* y analizando así los puntos de corte de cada aislamiento; para esto se tuvo en cuenta estudios anteriores y las recomendaciones por la *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) del año 2004, definiendo así la concentración mínima inhibitoria (CMI) como la menor concentración del antibiótico que inhibió el crecimiento bacteriano; considerando valores de MIC mas reportados para tetraciclina entre 0,25-2 μ g/ml y cepas resistentes con MIC desde 2 hasta 256 mg/l (27-28)

DILUCIÓN EN AGAR PARA DETERMINACIÓN DE MIC (μ g/ml)



Análisis Estadístico

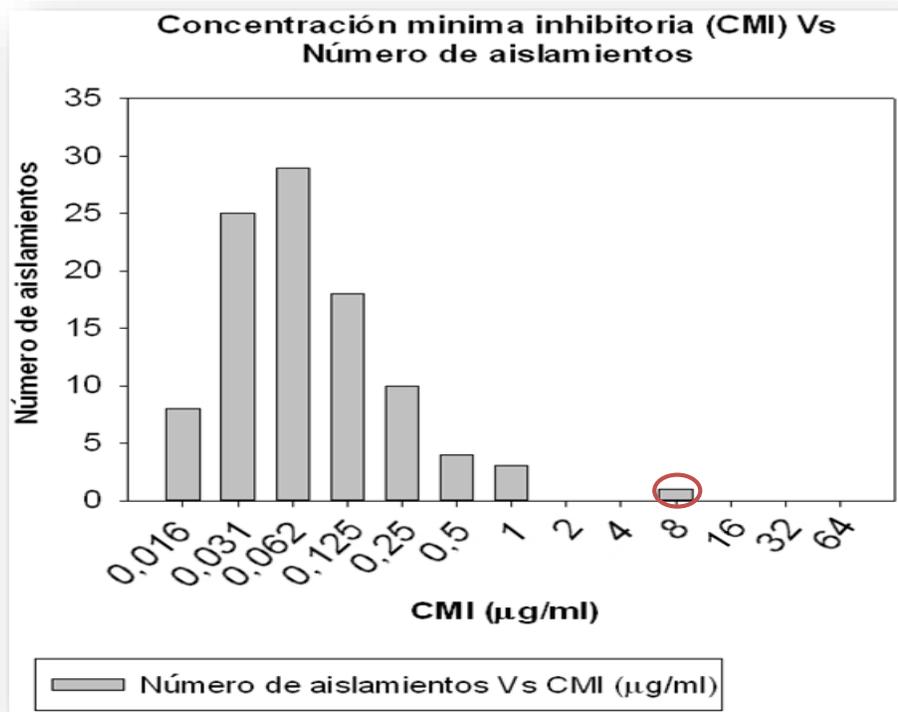
Con la finalidad de evaluar la relación entre los diferentes aislamientos analizados y las CMI resultantes, se realizó una base de datos por medio de tablas para llevar un registro ordenado de los resultados obtenidos y posteriormente se calculó la frecuencia de dichos aislamientos en relación con la resistencia. Así mismo se procedió a hallar los intervalos de confianza correspondientes a este estudio con el fin de observar la confiabilidad de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 98 aislamientos clínicos de *H. pylori* analizados mediante el método dilución en agar, se obtuvieron 97 aislamientos sensibles a tetraciclina correspondiente al 98,97% y tan solo 1 aislamiento fue resistente con un 0,98% presentando una CMI igual a 8 $\mu\text{g/ml}$ perteneciente a la región gástrica "Cuerpo". Por otra parte 54 de los aislamientos pertenecían a la región gástrica cuerpo representando un 55% de la población total del estudio, así mismo se analizaron 44 cepas pertenecientes a la región antro del estómago con un 45% de representación, para un total de 100% de las cepas estudiadas.

En la figura 3, se muestra la distribución de la concentración mínima inhibitoria a tetraciclina de acuerdo con los aislamientos clínicos de *H. pylori*; el mayor número de aislamientos se obtuvo en una CMI de 0,062 $\mu\text{g/ml}$ con 29 aislamientos equivalente a un 29,59% y la mayor cantidad de aislamientos se encontraron entre CMI (0,031 $\mu\text{g/ml}$ - 0,125 $\mu\text{g/ml}$) equivalentes al 72,95% del total de los aislamientos. Adicionalmente solo se evidencio una cepa resistente con un CMI de 8 $\mu\text{g/ml}$, encontrándose por encima del punto de corte establecido para considerar a este antimicrobiano como resistente ($\geq 2\mu\text{g/ml}$).

Figura 3. Distribución de los aislamientos clínicos por la dilución en agar



Para evaluar la precisión del estudio realizado se calcularon los intervalos de confianza de 95%, permitiendo afirmar que la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en aislamientos Colombianos, se encuentra en el intervalo (0% – 3%).

Aunque la diferencia entre la cantidad de aislamientos seleccionado de los regiones gástricas no fue muy amplia, se observó que los aislamientos pertenecientes a “cuerpo” presentaron unos puntos de corte más cercanos a la resistencia, encontrando su mayor punto en 1 µg/ml con 3 aislamientos, a diferencia de lo encontrado en la región gástrica perteneciente a “antro”, en donde el último punto de corte correspondió a 0,5 µg/ml con 1 aislamiento, dichos resultados son bastante llamativos debido a que no concuerdan con el estudio realizado en Cuba, donde evaluaron el comportamiento de la gastritis crónica y adenocarcinoma gástrico de acuerdo a las regiones gástricas, reportando así que la infección por *H. pylori* según las frecuencias analizadas se encuentran principalmente en la mayoría de los casos en la región “antro” (37,5%) y a pesar de no tener una diferencia estadísticamente significativa entre distintas regiones, afirman que dicha infección se encuentra igualmente presente en “cuerpo” pero con una posibilidad menor (16,7%) (21).

De las 98 aislamientos Colombianos analizados se encontró que la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina fue del 0,98%, siendo un valor de vital importancia para el país (Colombia), debido a que son pocos los estudios que se han realizado en el tema y no se encuentran datos cercanos a lo obtenido en este estudio. En el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá reportaron valores de resistencia a tetraciclina del 86% a partir de 84 cepas analizadas, utilizando la técnica de difusión en disco (22), dicho resultado no concuerda con lo obtenido en el estudio debido a que no utilizaron el método Gold estándar (dilución en agar), demostrando así la gran diferencia entre los valores reportados por el autor y los encontrados en este estudio.

En el caso de Latinoamérica y específicamente en Chile, se han realizado estudios que muestran una resistencia a tetraciclina del 26.8%, utilizando como técnica de estudio la dilución en agar a partir de 56 muestras, con un punto de corte correspondiente a 2 µg/ml (23). Esta técnica concuerda con la utilizada en nuestro estudio debido a que es la recomendada por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) siendo así la técnica Gold estándar establecida para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana. Igualmente este fue el punto de corte utilizado en nuestro estudio con el fin de conocer la sensibilidad de los aislamientos; aunque se observa la diferencia del porcentaje de resistencia encontrado, marcando un contraste significativo dado que el hallado en este estudio correspondió al 0,98%.

Según investigaciones desarrolladas a nivel Europeo, específicamente en España se han encontrado estudios sobre la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a diferentes antimicrobianos, en donde reportan que la prevalencia de la resistencia a tetraciclina oscila

entre el 0 y el 1%, utilizando el método analítico E-test. (24), así mismo estas afirmaciones se complementan con las encontradas en un segundo estudio realizado en Madrid (España), el cual reporta una resistencia del 0%, en donde las 101 cepas analizadas fueron todas sensibles al antimicrobiano con un rango ($<0,016 \mu\text{g/l}$ - $1 \mu\text{g/l}$), observando de esta manera que la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina es mínima (25), así como también lo han reportado diversos países a nivel mundial (*ver anexo A*). Dichos resultados concuerdan con lo encontrado en este estudio, logrando deducir que definitivamente la tasa de resistencia de tetraciclina es bastante baja, aun siendo Colombia un país en vía de desarrollo en comparación con los países europeos, ya que como se mencionó anteriormente *H. pylori* presenta una prevalencia de infección alta en países como el nuestro, por lo tanto se plantea la posibilidad del uso de este antimicrobiano como una alternativa de tratamiento para la erradicación de *H. pylori*.

CONCLUSIONES

- Se determinó que la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina en aislamientos colombianos es del 0,98%, siendo este un resultado favorable para ser utilizado como un tratamiento de erradicación para *H. pylori*.
- La concentración mínima inhibitoria 0.062 µg/ml presentó la mayor frecuencia de los aislamientos estudiados en comparación con las otras concentraciones analizadas.

RECOMENDACIONES

- En cuanto a la única cepa resistente se recomienda realizar posteriormente en otros estudios un análisis molecular con el fin de confirmar la presencia de mutaciones que posiblemente estén alterando la susceptibilidad de *H. pylori* a tetraciclina.
- Se recomienda en posteriores estudios evaluar la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a tetraciclina analizando una misma cantidad de aislamientos “antro” y “cuerpo” con el fin de observar cuál de las dos regiones gástricas presenta una mayor resistencia frente a este antimicrobiano.
- Como se logró observar la tasa de resistencia de los antimicrobianos está relacionada según los niveles de desarrollo de cada país, siendo de gran importancia tener en cuenta para posteriores estudios, variables como nivel socioeconómico, educación, condiciones sanitarias entre otras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Blumberg R, Burakoff R, Greenberger N. *Diagnóstico y Tratamiento en gastroenterología, hepatología y endoscopia. Infección por Helicobacter pylori*. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill interamericana. México D.F., México. 2011, 624 p.
2. Posse R, Toledo R., Cabral M.: *Helicobacter pylori: clínica, diagnóstico y tratamiento. Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina* 2006; **158**: 9-12.
3. Otero W, Trespalacios A, Otero E. *Helicobacter pylori: Tratamiento actual. Un importante reto en gastroenterología. Revista Colombiana de Gastroenterología* 2009; **24** (3): 279-292.
4. Jason Collins, Amira Ali-Ibrahim, Duane T. Smoot. Tratamiento antibiótico para *Helicobacter pylori*. *Med Clin N Am* 2005; **90**: 1-16.
5. Hernández M, Reyes O, Rodríguez B. La resistencia a antibióticos en *Helicobacter pylori*. *Revista Cubana de Medicina* 2008; **47** (4): 1-13
6. Gene E, Calvet X. *Erradicar Helicobacter pylori. ¿Terapia triple o cuádruple? ¿Corta o larga? Revista de Gastroenterología y Hepatología* 2003; **26** (5): 325-328.
7. Mendoza S. Diversidad genotípica de *Helicobacter pylori* en pacientes pediátricos. **Tesis de Maestría**. Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México, 2010, 92 p.
8. Ramírez P. Prevalencia y mecanismos de resistencia de *Helicobacter pylori* a tetraciclina: Revisión sistemática de la literatura. **Tesis Pregrado**. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 2011, 25 p
9. Garza G, Giasi E, Martínez M Pérez G, González G, Maldonado H, Bosques F. Erradicación de *H. pylori* y su relación con la resistencia a los antibióticos y el estatus de CYP2C19. *Rev. Esp. Enferm. Dig* 2007; **99** (2): 71-75.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility Testing; twentieth informational supplement. *Quality in Health Care* 2010; **30** (1): 1-160.
11. Prats G. *Microbiología Clínica*. Primera edición. Editorial medica panamericana. Buenos Aires, Argentina. 2005, 400 p.
12. Kusters J, Van Vliet A, Kuipers J. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical Microbiology Reviews* 2006; **19** (3): 449- 490.

13. Harris P, Serrani c, González C. Utilidad del diagnóstico serológico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños. *Rev. Chil. Pediatr* 2005; **76** (3): 241-251.
14. Rosero L. Asociación de las mutaciones en el gen *rdxa* y el perfil de susceptibilidad de *helicobacter pylori* a metronidazol en aislamientos clínicos colombianos de pacientes con enfermedad ácido péptica. **Tesis de Maestría**. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, 2011, 60 p.
15. Eisig J, Marcuz F, Correa R, Navarro T, Prado J, Pedrazzoli J. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Brazil: clarithromycin is still a good option. *Arq. Gastroenterol* 2011; **48** (4): 261-264.
16. Kenneth L, McColl. *Helicobacter pylori* Infection. *The new England Journal of Medicine* 2010; **362** (17): 1597-1604.
17. Brookas G, Butel J, Morse S. *Microbiología medica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Tetraciclina*. 17a edición. Editorial el manual moderno. México D.F., México. 2002, 773 p.
18. Peres E, Iglesias L. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2003; **21** (9): 520-529.
19. Furuta T, Graham D. Pharmacologic aspects of eradication therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology Clini N Am* 2010; **39** (3): 465-480.
20. Diaz J, Alarcon T, Domingo D, López M. Sensibilidad de 36 aislamientos de *Helicobacter pylori* a cuatro antibióticos de primera línea y características de virulencia. *Revista Esp quimioterap* 2006; **19**(1): 34- 38.
21. Pinol F, Salvador J, Paniagua M, Borbolla E. Características de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con adenocarcinoma gástrico. *Revista Cubana de Medicina* 2005; **44** (5): 1-15.
22. Yepes C, Varón A, Morales A, Ariza B. Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá. *Acta Medica Colombiana* 2008, **33**(1):11-14.
23. Vallejos C, Garrido L, Cáceres D, Madrid A, Defilippi C, Defilippi C, Toledo H. Prevalencia de la resistencia a metronidazol, claritromicina y tetraciclina en *Helicobacter pylori* aislado de pacientes de la Región Metropolitana. *Revista médica de chile* 2007; **135**(3): 287-293
24. García J, Villarroya R, Gisbert J. *Helicobacter pylori*: antibiotic resistance. *Revista española de enfermedades digestivas* 2007; **99**(2): 63-70

25. Agudo S, Alarcón T, Cibrelus L, Urruzuno P, Martínez M, López-Brea M. High percentage of clarithromycin and metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* clinical isolates obtained from Spanish children. *Rev Esp Quimioter* 2009; **22**(2):88-92.
26. Anoushiravani M, Falsafi T, Niknam V. Proton motive force-dependent efflux of tetracycline in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of medical Microbiology* 2009; **58**(10): 1309- 1313.
27. De Francesco V, Zullo A, Hassan C, Giorgio F, Rosania R, Ierardi E. Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: An updated appraisal. *World journal of gastrointestinal pathophysiology* 2011; **2**(3): 35-41
28. Trieber C, Taylor D. Mutations in the 16S rRNA genes of *Helicobacter pylori* mediate resistance to tetracycline. *Journal of Bacteriology* 2002; **184**(8): 2131–2140.
29. Yih Wu J, Kim J, Reddy R, Wang W, Graham D, Kwon D. Tetracycline-Resistant Clinical *Helicobacter pylori* Isolates with and without Mutations in 16S rRNA-Encoding Genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; **49** (2): 578-583.
30. Bruce M, Bruden D, McMahon B, Hennessy T, Reasonover A, Morris J, Hurlburt D, Peters H, Sacco F, Martinez P, Swenson M, Berg D, Parks D y Parkinson A. Alaska Sentinel Surveillance for Antimicrobial Resistance in *Helicobacter pylori* Isolates from Alaska Native Persons, 1999–2003. *Helicobacter* 2006; **11** (6): 581-588.
31. Toledo H, López R. Tetracycline resistance in Chilean clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2010; **65** (3): 470-473.
32. Torres L, Rodríguez E, Hernández M, Moreno A, Roblejo Y, Samada M, Cansino J, Melián K, Alonso J, Martínez M, Fando R, Bermúdez L, Rodríguez B. Eventos moleculares que tributan a la resistencia a tetraciclina en *Helicobacter pylori*, su detección en aislados clínicos cubanos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 2008; **39** (2): 121-127.
33. Godoy A, Lima M, Borges Y, Vitiello L, Bueno M, Mendonça S, y Pedrazzoli Jr J. Analysis of antimicrobial susceptibility and virulence factors in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *BMC Gastroenterology* 2003; **3**: 1-6.
34. Kim J, Reddy R, Lee M, Kim J, El-Zaatari F, Osato M, Graham D, Kwon D. Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001; **47** (4): 459-461.
35. Cuchí E, Forné M, Quintana S, Lite J y Garau J. Evolución de la sensibilidad de 235 cepas de *Helicobacter pylori* entre 1995 y 1998 e impacto del tratamiento antibiótico. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2002; **20** (4): 157-60.

36. Urrestarazu M, Serrano N, Pinero R, Cavazza M. Susceptibilidad de *Helicobacter pylori* a los antimicrobianos. *Rev. Soc. Ven. Microbiol* 2003; **23** (1): 14-15.
37. Pato W, Sobel J, Pruckler J, canción Q, Swerdlow D, Friedman C, Sulka A, Swaminathan B, Taylor T, Hoekstra M, Griffin P, Smoot D, Peek R, Metz D, Bloom P, Goldschmid S, Parsonnet J, George T, Pérez G, Nimish P, Czinn S, Dunne D, Gold B. Resistencia a los antimicrobianos de incidencia y factores de riesgo entre las personas infectadas por *Helicobacter pylori*. *Emerging Infectious Diseases* 2004; **10** (6): 1088-1094.
38. Wueppenhorst N, Stueger H, Kist M, Glocker E. Identification and molecular characterization of triple- and quadruple-resistant *Helicobacter pylori* clinical isolates in Germany. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009; **63** (4): 648-653.
39. Raymond J, Lamarque D, Kalach N, Chaussade S, Burucoa C. High Level of Antimicrobial Resistance in French *Helicobacter pylori* Isolates. *Helicobacter* 2010; **15** (1): 21-27.
40. Andrzejewska E, Szkaradkiewicz A, Karpinski T. Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* clinical Strains in the last 10 Years. *Polish Journal of Microbiology* 2009; **58** (4): 301-305.

ANEXO A

Prevalencia de la resistencia mundial de *H. pylori* frente a tetraciclina.

