

NUEVAS ESTRATEGIAS
TERAPÉUTICAS EN LA INFECCIÓN POR
Helicobacter pylori

Autor

Jordi Sánchez-Delgado

Dirección

Dr. Xavier Calvet Calvo

Dr. Emili Gené Tous

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

2013



El Dr. Xavier Calvet Calvo y el Dr. Emili Gené Tous, como directores de la tesis

Certifican

Que Jordi Sánchez Delgado ha realizado el trabajo de investigación correspondiente a la tesis doctoral titulada “**Nuevas estrategias terapéuticas en la infección por *Helicobacter pylori***” la cual se ha desarrollado en el Departamento de Medicina de la Universidad Autònoma de Barcelona.

Y para que así conste y a los efectos oportunos, firman el certificado en Barcelona a

23 de Septiembre de 2013.

Firmado:

Doctorando; Jordi Sánchez Delgado

Dr. Xavier Calvet Calvo

Dr. Emili Gené Tous

Esta tesis ha sido realizada en parte gracias a las ayudas recibidas de:

- Beca del Instituto de Salud Carlos III (PI 05/1157)
- Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca de la Generalitat de Catalunya (2005ACOM 00003)
- Beca d'iniciació a la Recerca de la Societat Catalana de Digestologia (Junio'05)
- Beca del Comité Institucional de Recerca de la Corporació Sanitària Parc Taulí.
(7^a convocatòria de beques CIR)

Dedicatoria

A mis padres, principales responsables de todo lo que soy y de todo lo que he conseguido. Gracias por inculcarme, ya desde pequeño, la filosofía de la perseverancia y el esfuerzo para perseguir uno a uno todos los objetivos personales y académicos. Gracias por orientar mis pasos hasta esta profesión que tantas satisfacciones personales me ha reportado. Gracias por ser mi referencia y transmitirme todos los buenos valores que tan necesarios son en esta vida. Gracias por vuestro amor incondicional.

A mi hermano, que con sus sabios consejos han ayudado a dirigir mis pasos en estos últimos años.

A Laia, porque nuestra relación “nosocomial” ha tenido el mejor de los finales; Gracias por todo el amor que me has dado durante todos estos años. No me imagino este camino recorrido sin todo lo que he recibido de tí; amor, compañía, complicidad, comprensión y apoyo pero, sobre todo, he recibido la felicidad necesaria para intentar, día a día, que los que nos rodean también sean más felices. Que nunca se acabe este camino.

A mis dos princesas, Paula y Lucía. Porque habéis cambiado definitivamente las prioridades en mi vida.

Agradecimientos

A Xavier Calvet, amigo, compañero y director de tesis, por este orden. Gracias por acogerme como becario ya hace unos años y enseñarme el fascinante mundo de la investigación; por ser el culpable de noches en vela revisando artículos, fines de semana sin salir y vacaciones “ocupadas”. Me has hecho crecer como investigador con las premisas de la dedicación, compromiso y esfuerzo.

A Emili Gene por la dirección, orientación e incansable colaboración en la elaboración de mi tesis. Gracias por tu rigurosidad, consejo, paciencia y estímulo constante para finalizar este trabajo.

A Rafel Campo por ofrecerme la posibilidad de formar parte de esta “gran familia” en el Parc Taulí. A todos los componentes de esta “familia”, Enric Brullet, Félix Junquera, Eva Martínez, Valentí Puig-Diví, Pilar García y Albert Villoria; de todos vosotros he aprendido grandes y pequeñas lecciones, científicas y personales. Especialmente a todos mis compañeros de la Unidad de Hepatología, Blai Dalmau, Montserrat Gil, Merche Vergara, Mireia Miquel y Meritxell Casas, por haber sido mi segunda familia y haber compartido, no sólo como compañeros sino como amigos, todas mi vivencias durante estos últimos 9 años.

No olvido a todos los residentes con los que he tenido el placer de compartir temas científicos y personales. He aprendido muchísimo de cada uno de vosotros.

A todos los médicos que han participado en la realización de los artículos que forman esta tesis; J.P. Gisbert, Luís Bujanda, Pilar García, Manuel Castro, Felipe Bory, Sandra Torra, Jacobo Lizasoain, M^a del Mar Calvo; Mercè Barenys y Llúcia Titó. Agradecerles su colaboración tanto en la recogida de los datos como en la revisión final de los documentos.

A mi familia, a todos ellos, porque para vosotros es este trabajo símbolo de lo que he conseguido gracias a vuestra dedicación, esfuerzo, paciencia y amor.

Finalmente agradezco a todos los pacientes, principales protagonistas de esta tesis, su colaboración desinteresada; espero que con este trabajo pueda devolveros algo de lo que me habéis dado.

NUEVAS ESTRATEGIAS
TERAPÉUTICAS EN LA
INFECCIÓN POR
Helicobacter pylori

Tesis presentada para optar al título de doctor en medicina por

Jordi Sánchez-Delgado

ÍNDICE

Índice.....	1
Resumen.....	5
A) Introducción.....	9
1. <i>Helicobacter pylori</i>	11
2. Microbiología	12
3. Patogenia	13
3.1 Factores de virulencia bacterianos	13
3.1.1 Lipopolisacárido	13
3.1.2 Catalasa	13
3.1.3 Fosfolipasa	14
3.1.4 Ureasa	14
3.1.5 Citotoxina vacuolizante Vac A	14
3.1.6 Prot. Cag A. EPIYA	15
4. Epidemiología	16
4.1 Generalidades	16
4.2 Reservorio <i>H. pylori</i>	19
4.2.1 Reservorio animal	19
4.2.2 Reservorio ambiental	19
4.3 Vía de transmisión de la infección	20
5. Clínica	22
5.1 Generalidades	22

5.2	Dispepsia	23
5.2.1	Clasificación de la dispepsia	23
5.2.2	Dispepsia funcional.....	26
5.2.3	<i>H. pylori</i> y dispepsia no investigada.....	27
5.3	Úlcera péptica.....	32
5.3.1	Úlcera péptica asociada a Antiinflamatorios no esteroideos (AINE)	33
5.4	Cáncer gástrico y <i>H. pylori</i>	35
5.4.1	<i>H. pylori</i> y linfoma MALT.....	35
5.4.2	<i>H. pylori</i> y carcinoma gástrico.....	35
5.5	Reflujo gastroesofágico y <i>H. pylori</i>	38
5.6	Enfermedades extradigestivas.....	39
5.6.1	Anemia ferropénica.....	39
5.6.2	Púrpura trombocitopénica idiopática.....	40
6.	Métodos diagnósticos	41
6.1	Métodos directos o invasivos	42
6.1.1	Histología.....	42
6.1.2	Test rápido de la ureasa.....	43
6.1.3	Cultivo.....	45
6.2	Métodos indirectos o no invasivos	45
6.2.1	Serologías.....	46
6.2.2	Test del aliento	47

6.2.3	Antígenos en heces.....	49
6.2.4	Métodos moleculares.....	50
7.	Tratamiento.....	52
7.1	Indicaciones de tratamiento	54
7.2	Papel de las resistencias bacterianas	56
7.2.1	Resistencia a claritromicina	56
7.2.2	Resistencia a metronidazol	57
7.2.3	Resistencia a amoxicilina	57
7.2.4	Resistencia a levofloxacino	58
7.3	Tratamiento de primera línea	59
7.4	Tratamiento de segunda línea	63
7.4.1	Tratamiento cuádruple	63
7.4.2	Tratamiento triple con levofloxacino	65
7.5	Tratamiento de tercera y cuarta línea	66
7.5.1	Regímenes con rifabutina	67
7.5.2	Regímenes con furazolidona	67
7.6	Nuevas estrategias terapéuticas	69
7.6.1	El tratamiento secuencial	69
7.6.2	El tratamiento concomitante	71
7.6.3	Terapia triple con dosis altas de inhibidores de la bomba de protones (IBP), amoxicilina y metronidazol	72

7.7	Efectos secundarios	76
7.8	Los probióticos y la lactoferrina en los tratamientos de erradicación.....	77
7.9	Adherencia al tratamiento	77
7.10	Salud pública	78
7.11	La reinfección tras el tratamiento	79
B) Objetivos.....		81
	Objetivos de la tesis	83
C) Artículos.....		85
	1) “Ten-day sequential treatment for <i>Helicobacter pylori</i> eradication in clinical practice	87
	2) “High-dose, ten-day esomeprazole, amoxicillin and metronidazole triple therapy achieves high <i>Helicobacter pylori</i> eradication rates”	93
D)		
Discusión.....		103
E) Conclusiones.....		111
F) Bibliografía.....		115

Resumen

Los artículos presentados como cuerpo de esta tesis doctoral son parte del trabajo realizado por el doctorando Jordi Sánchez Delgado en relación a la infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

Con el título “**Nuevas estrategias terapéuticas en la infección por *H. pylori***” se muestra la aportación en el campo del tratamiento proponiendo nuevas alternativas terapéuticas a las comúnmente utilizadas.

En la introducción se ha realizado una extensa revisión sobre la epidemiología, el diagnóstico y el tratamiento de la infección por *H. pylori*; está documentada sobre la evidencia científica reportada en los últimos estudios publicados sobre el tema. La evidencia en el manejo de la infección por *H. pylori* crece exponencialmente con el paso de los años. En el campo del tratamiento y ante la disminución de la eficacia de la pauta de tratamiento habitual, se han ampliado las posibilidades terapéuticas con la utilización de nuevos antibióticos. Asimismo, se ha demostrado también el beneficio de aumentar la duración del tratamiento y de aumentar la potencia de la inhibición ácida.

El objetivo de esta tesis fue valorar nuevas alternativas terapéuticas para mejorar las bajas tasas de erradicación de la pauta triple tradicional (eficacia) con los mínimos efectos secundarios para el paciente (seguridad).

En el primer artículo “**Ten-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice**” se valora la eficacia de un nuevo esquema terapéutico. El tratamiento “secuencial” consiste en una fase de “inducción” de 5 días con una terapia doble (un IBP dos veces al día y amoxicilina 1 gr. /12 horas), seguido inmediatamente por una terapia triple durante 5 días con IBP /12 horas; metronidazol 500 mg /12 horas y claritromicina 500 mg/12 horas. Las tasas de curación fueron del 88,2% por protocolo y del 82,4 % por intención de tratar. Estas tasas de curación son superiores a las actualmente descritas para la pauta triple.

En el segundo artículo “**High-dose, ten day esomeprazole, amoxicillin and metronidazole triple therapy achieves high *H. pylori* eradication rates**” se valora la administración de antibióticos utilizados habitualmente en el tratamiento de *H. pylori* pero con unas dosis y posología totalmente diferentes y utilizando inhibición ácida potente. Se administra amoxicilina y metronidazol cada 8 horas en vez de cada 12 horas apoyándonos en las vidas medias de los antibióticos y la correcta tolerancia demostrada en otros procesos infecciosos. Con esta pauta se consigue también una tasa de erradicación mayor que con la pauta triple.

La importancia y la aplicabilidad de estos conocimientos son notables ya que ambos estudios evalúan pautas terapéuticas con una alta eficacia y seguridad para tratar una infección que ha demostrado claramente su papel etiopatogénico en enfermedades como la úlcera péptica, el linfoma gástrico tipo MALT y el cáncer gástrico entre otras enfermedades. Estas pautas pueden ser consideradas como una alternativa válida al tratamiento triple actual.

A) Introducción

1. *Helicobacter pylori*

El primer cultivo de *H. pylori* en 1982 por Barry Marshall y Robin Warren abrió un nuevo capítulo en medicina. Cuando todo el mundo creía que las bacterias no podían sobrevivir en el estómago y que las úlceras y las gastritis eran producidas por la ingesta de picantes y el estrés, se realizó un descubrimiento trascendental. Estudios posteriores mostrando la relación de la bacteria con la úlcera péptica cambiaron la práctica clínica habitual. Marshall y Warren recibieron el premio Nobel de medicina en el año 2005 por su descubrimiento.

La infección aguda por *H. pylori* produce un cuadro de gastritis aguda caracterizada, desde el punto de vista histológico, por un intenso infiltrado por leucocitos polimorfonucleares. Un pequeño número de pacientes se cura, pero en la mayoría de casos la infección evoluciona hacia la cronicidad, añadiéndose un infiltrado constituido por linfocitos y células plasmáticas, patrón histológico que se conoce como gastritis crónica activa (1). Posteriormente, este patrón histológico persiste durante años sin una traducción clínica o evoluciona hacia la atrofia glandular y la metaplasia intestinal. Entre el 15 y el 20% de los pacientes infectados desarrollarán alguna de las enfermedades causadas por la infección. La infección por *H. pylori* se asocia con aparición de la úlcera péptica, el linfoma gástrico tipo MALT de bajo grado y el carcinoma gástrico (2).

2. Microbiología

En 1983 *B.J. Marshall* y *J.R. Warren* cultivaron a partir de biopsias gástricas humanas un microorganismo gram negativo, microaerófilico y de forma espiral y estudiaron su asociación con la inflamación de la mucosa gástrica (3,4). El microorganismo fue inicialmente incluido en el género *Campylobacter*, con el nombre de *Campylobacter pylori*, pero más tarde, en 1989, se clasificó dentro de un nuevo género "*Helicobacter*", donde además de *H. pylori*, se encuentran al menos otras 24 especies que han sido aisladas de la mucosa gástrica e intestinal de otros mamíferos (5).

H. pylori presenta las características estructurales de los bacilos gram negativos, con una membrana externa y una interna. Tiene de 4 a 8 flagelos polares, que son fundamentales para su movilidad, y que están recubiertos por una vaina de estructura lipídica, igual que la membrana externa, que parece tener la misión de proteger a los flagelos de su degradación por el medio ácido (6). Una característica importante es la potente actividad ureasa, que es capaz de hidrolizar urea generando iones amonio y en consecuencia un microambiente alcalino a su alrededor; esto le permite sobrevivir en entornos extremadamente ácidos. La actividad ureasa puede detectarse en el laboratorio utilizando un medio con urea y un indicador de pH. Si se coloca la bacteria en este medio, la ureasa, hidrolizará la urea produciendo amonio; el cambio de pH del medio hará que el indicador cambie de color. *H. pylori* tiene, además, otras 2 enzimas útiles para su identificación cuando crece en medios de cultivo: la oxidasa y la catalasa.

Para cultivarlo en medios artificiales se utilizan medios enriquecidos, suplementados con sangre o derivados. Necesita también una incubación en atmósfera microaeróbica durante un mínimo de 4 días para el cultivo primario y de 2 días para el cultivo secundario. La bacteria puede identificarse por su forma en la tinción de Gram, la forma de la colonia (colonias pequeñas, brillantes e incoloras) y por las pruebas de la ureasa, catalasa y oxidasa, que son positivas.

3 .Patogenia

3.1 Factores de Virulencia bacterianos

H. pylori está adaptado para colonizar de forma indefinida el estómago humano, en el que la mayoría de las bacterias no pueden sobrevivir. En general, los factores que impiden la colonización bacteriana del estómago son: el pH ácido, el peristaltismo, la disponibilidad de nutrientes, la inmunidad innata y adquirida y los microbios competitivos.

H. pylori presenta diferentes factores que favorecen: a) la colonización de la mucosa gástrica (la movilidad, las adhesinas, el requerimiento microaerófilico, la ureasa, etc.), b) la persistencia en ella (el lipopolisacárido o los sistemas de evasión inmune) y c) el daño en la mucosa (la toxina VacA, la proteína CagA, las fosfolipasas, la secreción y estimulación del pepsinógeno, la ureasa, etc.). Además, produce péptidos antibacterianos que le permitirían reducir la competencia de otros microbios (7).

3.1.1 Lipopolisacárido

El lipopolisacárido de *H. pylori* tiene la función de una molécula de unión. Le permite, además, evadir la respuesta inmune y permanecer de forma crónica en el estómago sin ser eliminado por la respuesta inflamatoria (8).

3.1.2 Catalasa

Protege al microorganismo del efecto tóxico de los radicales libres de oxígeno. *H. pylori* favorece la síntesis de estos radicales a través de la modificación del metabolismo celular, de la producción de citoquinas o de factores de crecimiento y

actuando sobre los neutrófilos y macrófagos, siendo éste otro factor importante en la patogénesis de la enfermedad.

3.1.3 Fosfolipasa

H. pylori tiene actividad fosfolipasa A2 que genera lisolecitinas. Estos agentes mucolíticos reducen la viscosidad del mucus y su poder de retrasar la difusión de H⁺. Por ello, la fosfolipasa facilita el movimiento de *H. pylori* a través de la mucosa. También contribuye a aumentar el grado de lesión mucosa por efecto del ácido.

3.1.4 Ureasa

H. pylori presenta una potente actividad ureasa que favorece la resistencia al ácido al generar amonio a partir de la urea. La bacteria regula la expresión del gen de la ureasa en respuesta a los cambios de pH (9). Además de proteger a la bacteria, el amonio puede provocar daño en la mucosa al formar hidróxido de amonio y otros productos oxidativos (10). Weeks et al. en mayo del 2000 describieron una proteína denominada Urel, miembro de las amidoporinas que regula la transferencia de urea del medio externo del estómago hacia el citoplasma de *H. pylori* mediante canales que atraviesan la membrana celular (11). Cuando el medio externo es excesivamente ácido, los canales incrementan 300 veces la cantidad de urea que entra al citoplasma del *H. pylori*. Ello resulta en una producción de amonio suficiente para neutralizar el pH del periplasma (área entre las membranas externas e interna). Si Urel no se encuentra presente, la cantidad de urea que entra por esos canales es menor y *H. pylori* se hace vulnerable al ácido gástrico.

3.1.5 Citotoxina vacuolizante VacA

Aproximadamente la mitad de las cepas de *H. pylori* producen una toxina que forma grandes vacuolas en las células eucarióticas de cultivos celulares (12). La toxina está codificada por el gen *VacA*, que se encuentra en todas las cepas, produzcan o no toxina, pero presentan un mosaicismos en 2 regiones del gen: la región secuencia señal (s1a, s1b y s2) y la región media (m1 y m2). Las cepas s1m1 producen grandes

cantidades de toxina, mientras que las s2m2 no producen toxina. El resto de los patrones producen cantidades variables de toxina.

3.1.6 Proteína CagA – EPIYA

Algunos de los factores de virulencia están en todas las cepas de *H. pylori*, mientras que otros sólo están presentes en algunas de ellas. El riesgo de úlcera péptica y de adenocarcinoma gástrico está determinado en buena parte por las características de la cepa de *H. pylori* por la que un individuo está colonizado. Numerosos estudios han mostrado que las cepas Cag A positivas se asocian con un mayor riesgo de úlcera péptica, lesiones gástricas premalignas y cáncer gástrico que las cepas que no contienen CagA (13,14).

El gen *cagA* codifica para una proteína que es inyectada dentro de la célula epitelial gástrica, originando procesos de fosforilación proteica que llevan a la reorganización del citoesqueleto celular (15). CagA es de uno de los 31 genes localizados en la isla de patogenicidad llamado cagPAI (Cag A pathogenicity island) que codifica también para el sistema de microinyección que introduce la proteína Cag A en el citoplasma de la célula epitelial gástrica. Cag A estimula la producción de grandes cantidades de citocinas proinflamatorias, como Interleucina 1 y 8, al generar la amplificación de genes controladores de citocinas (IL-1, 6 y 8, TNF alfa) (16,17).

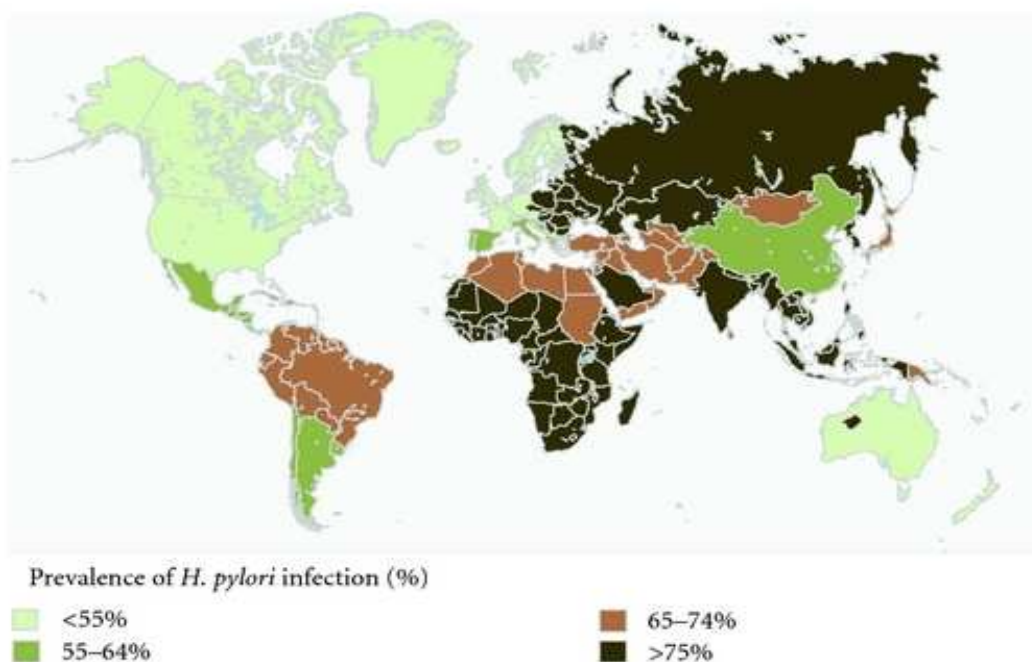
Recientemente se ha demostrado la existencia de repeticiones de una secuencia de cinco aminoácidos en el extremo C-terminal de la proteína CagA denominados motivos EPIYA. La infección con cepas de *H. pylori* con múltiples repeticiones de EPIYA aumenta la actividad biológica de la proteína y parece ser uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de cáncer gástrico. (18)

4. Epidemiología

4.1 Generalidades

En la actualidad se considera que la infección por *H. pylori* es, probablemente, la infección humana más prevalente en el mundo. Su distribución es global y se calcula que aproximadamente el 50% de la población mundial está infectada por este microorganismo (19). La prevalencia varía enormemente según el área investigada con más del 80% de adultos infectados en Japón y Sudamérica comparado con el 40 % en Reino unido y el 20% en Escandinavia (20). La prevalencia es más elevada en países con un bajo desarrollo socioeconómico; en cambio, los países más desarrollados presentan cifras de prevalencia más bajas. A pesar de todo, puede comprobarse que en la mayor parte de las regiones del mundo la prevalencia es muy elevadas y supera, en general, el 50%. En la **figura 1** se muestra la estimación global de la prevalencia en los diferentes países y áreas geográficas del mundo. En las últimas décadas se está observando un descenso en la incidencia de la infección en los países industrializados (21).

Figura 1. Estimación de prevalencia de *H. pylori*

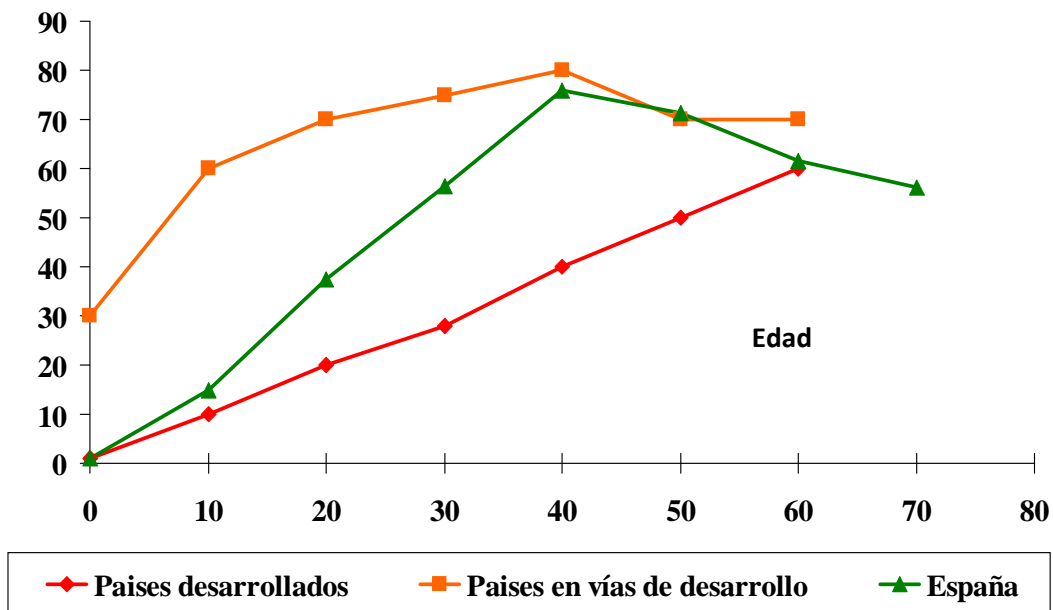


La infección se produce básicamente durante los 5 primeros años de vida (22). La tasa anual de seroconversión en los países desarrollados es del 0,3-2,7% (23) siendo más alta (3,8-4%) en los países en vías de desarrollo (24). Los niños son especialmente vulnerables a la infección por *H. pylori*. Ésta se adquiere fácilmente desde otros niños o de adultos infectados (especialmente la madre) y se relaciona con un estrecho contacto físico. Por otro lado, en países con un elevado desarrollo socioeconómico la adquisición de la infección es extremadamente infrecuente en edades adultas; se estima que las tasas de seroconversión anual en adultos es de tan sólo el 0,3-0,5% (25-27).

Las variaciones de la prevalencia entre los distintos países e incluso dentro de distintas zonas geográficas de un mismo país vienen determinadas por 2 factores relacionados: la edad media de la población estudiada y su grado de desarrollo higiénico-sanitario. Por lo general, los países se dividen en 2 grupos en relación con la infección por *H. pylori*:

- a) Los países o áreas geográficas en donde la mayoría de los niños se infectan por *H. pylori* durante la infancia. En éstos, dado que la infección persiste durante toda la vida, la mayoría de las personas están infectadas cuando llegan a la edad adulta.
- b) Los países donde sólo una pequeña proporción de los niños están infectados y la prevalencia de la infección aumenta muy lentamente en relación con la edad, generalmente a partir de los 35-40 años.

El primer grupo corresponde al modelo de infección observado en los países en vías de desarrollo o no industrializados, mientras que el segundo refleja el modelo de infección de los países industrializados o desarrollados (28,29). España presenta unos valores intermedios con una prevalencia global del 55-60% (**figuras 1 y 2**).

Figura 2. Prevalencia de *H. pylori* según edad y grado de desarrollo (%)

Una vez alcanzado el máximo pico de prevalencia, ésta tiende a presentar una curva discretamente descendente (30). Esto quizás pueda explicarse por la historia natural de la gastritis asociada a *H. pylori* que, con los años, progresa hacia la atrofia, lo que conlleva un cambio del ecosistema gástrico, que se vuelve mucho menos propicio para la persistencia del germen.

Por otra parte, no se han observado diferencias en la prevalencia de la infección en función del sexo, la etnia y la raza, la actividad laboral o el grupo sanguíneo (30-34). Tampoco se ha observado que el consumo de tabaco, café y otros alimentos se asocie con una mayor o menor prevalencia de la infección por *H. pylori* (30,32,35,36). Se ha sugerido una cierta capacidad protectora del alcohol y que, por el contrario, el consumo de café tendría el efecto opuesto pero los datos son muy poco consistentes (37).

4.2 Reservorio de *H. pylori*

4.2.1 Reservorio animal de *Helicobacter pylori*

El hábitat específico de *H. pylori* es la mucosa gástrica del hombre, aunque se ha descrito ocasionalmente en otros reservorios animales. Así, se ha detectado la bacteria en primates, en cerdos, en ovejas y en gatos domésticos (38-41). Sin embargo, no se tiene evidencia de que estos animales sean fuente de contagio para el hombre, por lo que no parece probable que se trate de una zoonosis.

Se considera que el hombre es el huésped natural para *H. pylori* y el reservorio principal de la infección. Esta especial predilección por la cavidad gástrica humana parece estar relacionada con la existencia de receptores específicos de naturaleza glucoproteínica en las células antrales, a los que la bacteria es capaz de adherirse con firmeza.

Cuando está presente, *H. pylori* es habitualmente el microorganismo dominante en el estómago. Diferentes estudios de la flora gástrica basados en la amplificación en cadena de la polimerasa de secuencias de RNA muestran que *H. pylori* representa una gran proporción (70%–95%) de los clones identificados (42,43).

4.2.2 Reservorio ambiental.

Se ha investigado el agua como posible reservorio y vector de la infección. Los estudios epidemiológicos en países en vías de desarrollo señalan la posibilidad de una transmisión de la infección a través del agua de bebida (44). Sin embargo, nunca ha sido posible cultivar la bacteria a partir de reservorios ambientales. Se ha demostrado, sin embargo que *H. pylori* permanece viable, aunque no cultivable, en agua a

temperaturas de entre 4 y 15 °C. También se ha investigado la presencia de *H. pylori* en distintos alimentos (leche de ganado vacuno y ovino, carne de cerdo y de ganado vacuno, etc.) (45,46) pero parece poco probable que éstas sean vías de transmisión relevantes.

4.3 Vías de transmisión de la infección

La vía de transmisión más frecuente de la infección por *H. pylori* en los países desarrollados es la directa persona a persona (47). La transmisión persona a persona puede ocurrir por vía fecal-oral, oral-oral o gástrica-oral. Por otro lado, como se ha comentado, en los países en desarrollo parece que la infección además de transmitirse de persona a persona puede adquirirse también a partir del agua de bebida.

Vía de transmisión fecal-oral

Se ha aislado e identificado *H. pylori* en heces de personas infectadas, especialmente durante los episodios de gastroenteritis aguda o tras estimulación con catárticos. Diversos estudios han indicado que el agua, contaminada previamente con productos fecales humanos, es probablemente el vector de la infección por *H. pylori* en los países con malas condiciones sanitarias y con un tratamiento inadecuado del agua de consumo humano (48,49).

Vía de transmisión oral-oral

Se ha descrito la adquisición de *H. pylori* en humanos tras la ingesta, por vía oral, de inóculos del microorganismo con fines experimentales; accidentalmente en el laboratorio, tras aspirar jugo gástrico infectado, y en casos aislados de resucitación cardiopulmonar mediante la técnica del boca a boca (50). Se ha sugerido que la saliva podría ser el vector de infección y la placa dental podría actuar como reservorio de la infección (51), aunque esta vía no se ha podido confirmar y parece poco probable (52).

Otras posibles formas de transmisión

Se ha descrito la transmisión iatrogénica de la infección a través de sondas, endoscopios u otros instrumentos que no han sido desinfectados adecuadamente (53).

5. Clínica

5.1 Generalidades

La infección crónica por *H. pylori* es asintomática en la gran mayoría de los casos. Como hemos comentado anteriormente la colonización por *H. pylori* está presente en un 30%-50% de los individuos en el norte de Europa y en aproximadamente el 80% de los individuos en países en desarrollo. Los pacientes sintomáticos suponen solamente un pequeño porcentaje de los pacientes infectados.

Infección aguda

Los datos sobre las manifestaciones de la infección aguda proceden de voluntarios autoinfectados o de infecciones accidentales en el laboratorio y sugieren que la infección aguda en adultos es a menudo sintomática, aunque los síntomas son inespecíficos. En estudios experimentales en adultos, la infección inicial por *H. pylori* se puede manifestar como una dispepsia significativa, con dolor abdominal, náuseas y vómitos ocasionales (54).

Infección crónica

Una vez pasada la fase aguda, se produce la infección crónica de la mucosa gástrica que puede ser asintomática o dar lugar a diferentes síntomas o enfermedades que producirán manifestaciones clínicas. Las más frecuentes son la dispepsia, la úlcera péptica y la neoplasia gástrica. La aparición de síntomas o complicaciones dependerán de distintas variables, incluyendo la edad, el genotipo de *H. pylori*, la respuesta inmune del huésped, factores ambientales y de la predisposición genética del individuo (55).

5.2 Dispepsia

Según los criterios establecidos en el consenso de Roma III que son los más utilizados actualmente, se define como dispepsia aquel síntoma o conjunto de síntomas que tienen su origen en la región gastroduodenal, siendo estos síntomas la pesadez postprandial, saciedad precoz, dolor y ardor epigástrico (56).

Los síntomas pueden ser continuos o intermitentes y estar o no relacionados con la ingesta de alimentos. Los criterios de Roma III consideran suficiente que los síntomas hayan aparecido al menos 6 meses antes del diagnóstico y estén activos durante al menos 3 meses.

En estudios que utilizan como definición “dolor en el abdomen superior” la prevalencia de dispepsia varía entre el 7% y el 34% (57). Cuando la definición es más amplia, -síntomas gastrointestinales en abdomen superior-, se observa una prevalencia de entre el 23% y el 45% (57). En un estudio realizado en España con esta última definición, se estimó que el 39% de la población ha presentado síntomas dispépticos alguna vez en su vida y el 24%, en los últimos 6 meses (58).

5.2.1 Clasificación de la dispepsia

La dispepsia se ha clasificado tradicionalmente en orgánica y funcional. Cuando se identifica una causa detectable por las diferentes pruebas diagnósticas que pueda justificar los síntomas hablamos de **dispepsia orgánica (tabla 1)**. Respecto a las causas orgánicas de dispepsia, una revisión sistemática reciente que evaluó específicamente la prevalencia de los hallazgos de la endoscopia (9 estudios; 5.389 pacientes) estimó que la esofagitis era la lesión más prevalente (13,4%), seguido de la úlcera péptica (8%) (59). De la misma manera, estudios realizados en

nuestro medio muestran que un 45% de los pacientes remitidos desde atención primaria por dispepsia presentan lesiones macroscópicas en la endoscopia (úlceras pépticas 24%, esofagitis 24%, cáncer 2% y a menudo los pacientes presentan más de una lesión) (60).

Cuando, tras realizar un estudio adecuado, que incluye endoscopia, no se logra identificar una causa que justifique los síntomas del paciente se establece el diagnóstico de **dispepsia funcional**. La prevalencia de dispepsia funcional es difícil de determinar. Diversas revisiones no sistemáticas sitúan a la dispepsia funcional como la causa más común de dispepsia (60%)(61).

Finalmente, en el caso del paciente que presenta síntomas dispépticos en el que todavía no se ha realizado el estudio diagnóstico para valorar su posible etiología hablamos de **dispepsia no investigada**.

Tabla 1. Clasificación de la dispepsia

<p>➤ Dispepsia funcional (> 60%)</p> <p>➤ Dispepsia orgánica</p> <p><u>Causas frecuentes:</u></p> <ul style="list-style-type: none">• Úlcera péptica• Enfermedad por reflujo gastroesofágico• Medicamentos: AINE, hierro, digoxina, teofilina, eritromicina, potasio, etc. <p><u>Causas poco frecuentes</u></p> <ul style="list-style-type: none">• Cáncer de estómago o de esófago• Diabetes Mellitus con gastroparesia y/o dismotilidad gástrica• Isquemia mesentérica crónica• Pancreatitis crónica• Cáncer de páncreas• Cirugía gástrica• Enfermedad infiltrativa de estómago o intestino grueso (Enfermedad de Crohn, gastritis eosinofílica, sarcoidosis)• Enteropatía sensible al gluten, incluyendo enfermedad celiaca• Cáncer de hígado• Trastornos metabólicos (uremia, hipocalcemia, hipotiroidismo)• Síndromes de la pared abdominal• Parasitosis intestinales• Enfermedades sistémicas (Diabetes Mellitus, enfermedades del tiroides y paratiroides, enfermedades del tejido conectivo)

- Adaptado de Kellow JE, et al. 2001 (62)

5.2.2 Dispepsia funcional

El diagnóstico de dispepsia funcional se realiza por exclusión y se define por la presencia de síntomas atribuibles al tracto digestivo superior (dolor epigástrico o discomfort) sin identificarse causas orgánicas, sistémicas o metabólicas subyacentes que pudieran explicar la clínica del paciente (56). El Consenso de Roma III no aclara qué exploraciones son necesarias, pero se considera que el estudio analítico y la endoscopia deben ser normales.

Los mecanismos fisiopatológicos implicados en la dispepsia funcional son todavía desconocidos. En diferentes estudios clínicos se han observado alteraciones de la motilidad y acomodación gástrica, enlentecimiento y/o aceleración del vaciamiento gástrico, e hipersensibilidad visceral gastroduodenal. También se ha implicado en su patogenia la disregulación autonómica, ciertos polimorfismos genéticos, infecciones digestivas previas y factores psicológicos como la respuesta general al estrés (63-69).

La relación entre la dispepsia funcional y la infección por *H. pylori* ha sido muy debatida en los últimos años. Sin embargo, diversos estudios han evidenciado una mayor prevalencia de la infección en pacientes con dispepsia funcional. En las primeras dos décadas tras el descubrimiento de la infección la mayoría de los autores no fueron capaces de demostrar una correlación entre la infección y el patrón de síntomas o diferencias en el vaciamiento y distensión gástrica en pacientes con infección por *H. pylori*. Actualmente se tiende a considerar que *H. pylori* no es causa de dispepsia funcional, sino de dispepsia orgánica y como tal, debe descartarse o tratarse la infección antes de establecer el diagnóstico de dispepsia funcional (70).

El tratamiento de la infección por *H. pylori* en pacientes con síntomas dispépticos, infectados por *H. pylori* y con endoscopia normal induce una mejoría sintomática a largo plazo en un porcentaje que oscila entre el 5% y el 15% de los pacientes (71); por lo tanto, la erradicación de la infección por *H. pylori* en el manejo de la dispepsia

funcional no debiera considerarse un tratamiento, sino parte de la estrategia previa necesaria para establecer el diagnóstico de dispepsia funcional.

5.2.3 *H. pylori* y dispepsia no investigada

En pacientes con síntomas dispépticos y sin signos o síntomas de alarma se han recomendado de forma habitual tres estrategias de manejo diferentes:

- a) tratamiento sintomático empírico con antisecretores.
- b) La realización de una endoscopia inicial y
- c) La estrategia “test and treat”, que se basa en la evaluación de la presencia de *H. pylori* mediante métodos no invasivos en el paciente con dispepsia. Posteriormente se realizará tratamiento sintomático en pacientes sin infección por *H. pylori* y tratamiento erradicador en los pacientes infectados (72).

a) Tratamiento sintomático empírico con antisecretores

El tratamiento antisecretor empírico es eficaz en la dispepsia no investigada, sin embargo en el seguimiento no es superior al placebo, ya que los síntomas recidivan en la práctica totalidad de los pacientes en el plazo de un año (73). En cuanto al tratamiento antisecretor un metaanálisis de la Colaboración Cochrane (6 estudios) demostró que los inhibidores de la bomba de protones (IBP) son más eficaces que los antiácidos o que los antagonistas de los receptores H₂ de la histamina en pacientes con dispepsia no investigada (74).

b) Estrategia basada en la realización de endoscopia inicial

La realización de una endoscopia precoz resulta muy eficaz pero la técnica puede ser molesta para los pacientes y, al tratarse de una prueba invasiva, no está exenta de morbilidad. Las condiciones óptimas para su realización son cuando el paciente presenta síntomas, lo más precozmente posible y, a ser posible, sin tratamiento previo con antisecretores que pueden disminuir la fiabilidad de la detección de la infección por *H. pylori* y cicatrizar una úlcera péptica. Esta situación óptima para la realización de una endoscopia no es la que se da en la práctica clínica habitual, en la que la mayoría de pacientes recibe IBP antes de la realización de la endoscopia. En un

estudio realizado por nuestro grupo a médicos de familia sobre la accesibilidad para la realización de endoscopia se observó que menos del 65% de ellos tenían acceso directo a la endoscopia y, además, únicamente en el 34% de los casos se realizaba antes de un mes (75). Este retraso en la realización de la prueba dificulta su aplicabilidad y reduce su eficacia diagnóstica ya que, cuando se realiza la endoscopia, la mayoría de los pacientes ha recibido tratamiento. Un meta-análisis con 1924 pacientes (5 ensayos clínicos aleatorizados) observó que el porcentaje de pacientes sintomáticos al año de la gastroscopia fue discreta pero significativamente inferior en el grupo asignado a endoscopia que en el asignado a la estrategia “*test and treat*” (76). En los cinco estudios se realizó sistemáticamente biopsia para *H. pylori* durante la endoscopia y en dos de ellos, los dos favorables a la endoscopia inicial, los pacientes infectados recibieron tratamiento erradicador.

Por lo tanto, si se decide iniciar el estudio de la dispepsia no investigada con endoscopia, esta debe realizarse de forma precoz, con el paciente sintomático y sin tratamiento antisecretor previo. En todos estos pacientes debe realizarse biopsia gástrica para evaluar infección por *H. pylori*.

c) Estrategia “test and treat”

La estrategia de buscar *H. pylori* y tratarlo si el resultado muestra infección -estrategia “test and treat”- (**Figura 3**) ha sido evaluada en los últimos años en numerosos estudios. Delaney et al publicaron en el 2008 un estudio controlado randomizado donde se mostraba que tras un año de seguimiento, la proporción de pacientes con persistencia de clínica de dispepsia era mayor al 80% independientemente de haber recibido tratamiento antisecretor o erradicador (77).

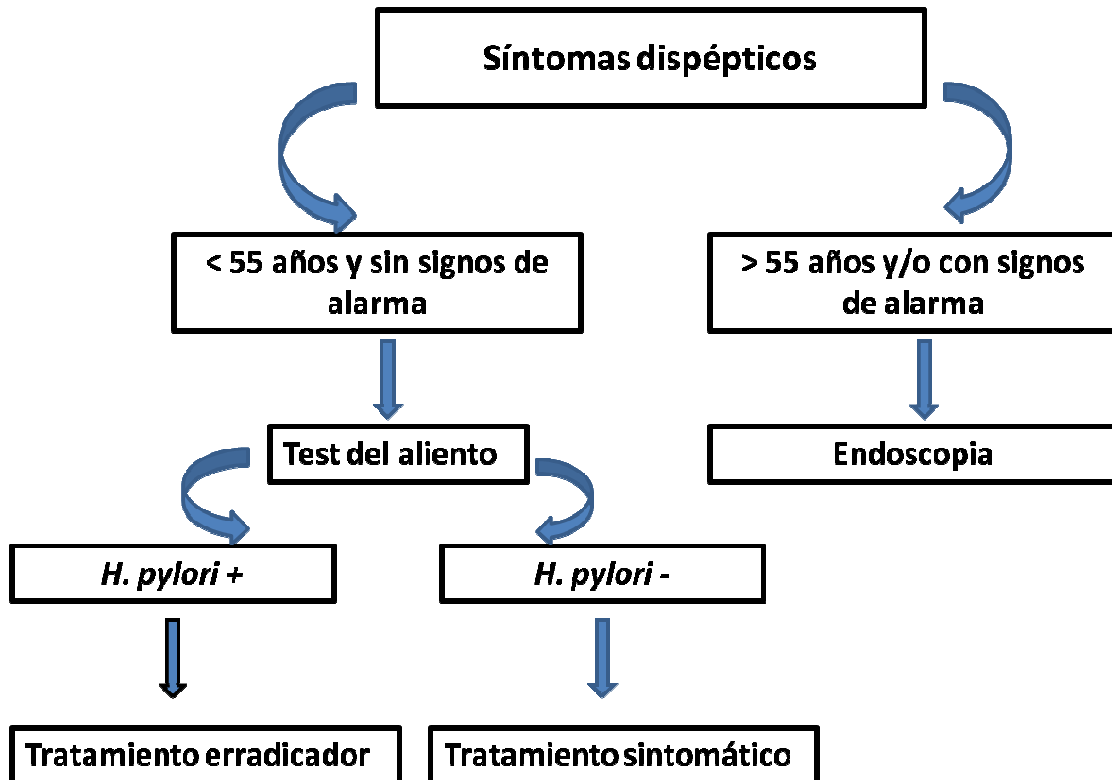
Por otro lado, un estudio poblacional mostró que la erradicación de *H. pylori* en una comunidad reducía las consultas al especialista por dispepsia en un 25% entre 2 y 7 años de seguimiento en comparación con el tratamiento con placebo (78). Esta importante reducción de las consultas probablemente traduciría una reducción de la patología péptica a largo plazo.

Selgrad et al demostraron en una revisión de estudios poblacionales que *H. pylori* se detectaba con mayor frecuencia en pacientes dispépticos que en controles y que la terapia erradicadora de *H. pylori* ofrecía un modesto pero significativo beneficio en la dispepsia no ulcerosa y conduce a una mejoría de los síntomas a largo plazo (79).

En un estudio canadiense en atención primaria, 294 pacientes con dispepsia no investigada, fueron randomizados para recibir tratamiento erradicador durante 7 días o tratamiento con IBP y placebo. El estudio mostró claramente un beneficio significativo para la estrategia del tratamiento erradicador (80). No se objetivaron efectos secundarios relevantes en ninguno de los grupos.

En resumen, múltiples ensayos clínicos demuestran que, tanto en pacientes con dispepsia no investigada como en individuos asintomáticos infectados, la erradicación de *H. pylori* reduce tanto la incidencia de síntomas dispépticos a largo plazo como el número de consultas y los costes de tratamiento secundarios a dichos síntomas (81). Con esta evidencia científica en las últimas conferencias de consenso Maastricht IV y la III Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *H. pylori* (82,83) se aconseja la estrategia de “test and treat” en pacientes de menos de 55 años con dispepsia. La estrategia de “test and treat” resulta coste-efectiva cuando la prevalencia de la infección por *H. pylori* sea mayor al 20%. Esta estrategia debe ser utilizada con cautela en aquellas poblaciones con baja prevalencia dado que es menos precisa en este contexto (84).

Figura 3. Estrategia “test and Treat”. Maastricht IV y III Conferencia Española de consenso sobre la infección por *H. pylori* (82,83)



La gran preocupación cuando se emplean aproximaciones no invasivas como la estrategia “*test and treat*” o el tratamiento empírico con IBP es que, al no realizar una endoscopia inicial, se pueda retrasar el diagnóstico de una posible neoplasia y empeorar su pronóstico. Por esta razón la mayoría de las guías de práctica clínica y documentos de consenso recomiendan la utilización de los síntomas y signos de alarma como un elemento clave para discernir qué pacientes son tributarios de una endoscopia precoz. **(Tabla 2)**

Tabla 2. Signos y síntomas de alarma en un paciente con dispepsia

- Pérdida de peso significativa no intencionada
- Vómitos intensos y recurrentes
- Disfagia
- Odinofagia
- Signos de sangrado digestivo (anemia, hematemesis o melena)
- Masa abdominal palpable
- Ictericia
- Linfadenopatías

Además, dado que el riesgo de neoplasia aumenta con la edad de comienzo de los síntomas, la mayoría de las guías de práctica clínica y documentos de consenso recomiendan realizar una gastroscopia a todos los pacientes que presentan dispepsia por encima de una determinada edad, estableciéndose el punto de corte de acuerdo con los datos epidemiológicos de incidencia del cáncer esófago-gástrico en la población diana. Los primeros estudios situaron el punto de corte en los 40 años (85,86) o los 45 años (87). Sin embargo, los estudios más recientes (88) aunque no todos recomiendan realizar endoscopia en pacientes de más de 55 años, especialmente en caso de síntomas de nueva aparición. En nuestro medio parece razonable aceptar este punto de corte en los 55 años.

5.3 Úlcera péptica

La relación causa-efecto entre la colonización de *H. pylori* y la úlcera péptica está fuera de toda duda. En los pacientes con infección por *H. pylori* el riesgo de desarrollar una úlcera péptica en algún momento de su vida oscila entre el 3 y el 25% (89). En ausencia de uso de AINE, el tratamiento de la infección induce la cicatrización de las úlceras tanto gástricas como duodenales. Además, la erradicación de *H. pylori* en pacientes con antecedentes de úlcera péptica disminuye de forma drástica la tasa de recurrencia (90). El tratamiento de la infección por *H. pylori* en pacientes con úlcera se ha demostrado altamente coste-efectiva. Tras curar la infección, la úlcera cicatriza de manera permanente y no es necesario instaurar tratamiento antisecretores.

Se ha sugerido que los patrones de colonización y la distribución de la gastritis se podrían correlacionar con el tipo de úlcera y condicionan el riesgo de cáncer gástrico; de este modo, en pacientes con gastritis de predominio antral se produce una úlcera duodenal mientras que los pacientes con gastritis predominante del cuerpo tienen mayor riesgo de presentar úlcera gástrica y, a largo plazo, gastritis atrófica, metaplasia intestinal y finalmente adenocarcinoma gástrico (91,92).

El descenso en la prevalencia de *H. pylori* en los países occidentales en la última década – junto probablemente al amplio uso de IBP- ha conducido a un descenso en la incidencia y prevalencia de la úlcera péptica (93). Desafortunadamente este descenso se ha visto compensado por el aumento en la incidencia de úlceras secundarias al uso de AINEs y ácido acetil salicílico (AAS). Estos fármacos se utilizan habitualmente en pacientes de edad avanzada para el tratamiento de dolores osteomusculares y en la prevención de complicaciones cardiovasculares, respectivamente. El uso inadecuado del tratamiento gastroprotector se asocia a un aumento de los casos de úlcera péptica *H. pylori*-negativos. Desafortunadamente, el cumplimiento de las recomendaciones del uso de gastroprotección en pacientes que toman AINEs o AAS es insuficiente. Actualmente, sólo se prescribe correctamente tratamiento gastroprotector en el 40 % de los pacientes con alto riesgo de complicaciones gastrointestinales (94,95).

En contraste con el claro descenso de las úlceras pépticas los datos en relación a las complicaciones ulcerosas son controvertidos. Mientras que algunos estudios muestran una tasa estable de hospitalizaciones por estas complicaciones (96-98) otros muestran un cierto descenso en la incidencia de las complicaciones, probablemente en relación al mayor uso de los IBP (99,100).

La complicación más frecuente de la úlcera péptica es la hemorragia. Ésta ocurre en un 10-20% de los pacientes con úlcera péptica asociada a *H. pylori*. La hemorragia por úlcera péptica es una complicación grave, que se asocia a una alta morbimortalidad.

Los consensos internacionales recomiendan investigar la presencia de infección por *H. pylori* en todos los pacientes con hemorragia digestiva alta por úlcera péptica (101). Los pacientes en los que el test para *H. pylori* realizado durante la fase aguda de la hemorragia resulta negativo deben ser reevaluados mediante una segunda prueba diagnóstica realizada semanas después del episodio agudo. Esto es debido a la baja sensibilidad de las pruebas para *H. pylori* durante la fase aguda de la hemorragia (102-105). Los pacientes infectados requieren tratamiento erradicador. Finalmente, debe realizarse siempre un test posterior al tratamiento para confirmar la curación de la infección.

5.3.1 Úlceras pépticas asociadas a AINE

Tanto *H. pylori* como los AINEs son factores de riesgo independientes para el desarrollo de la úlcera péptica. Un meta-análisis con más de 25 estudios mostró que la infección por *H. pylori* y los AINEs aumentaban el riesgo de úlcera sangrante 1,79 y 4,85 veces respectivamente. Si ambos factores estaban presentes el riesgo aumentaba hasta 6,13 veces (106).

Sería razonable pensar que si los efectos son sumativos, la erradicación de *H. pylori* en los pacientes que presentan ambas situaciones sería beneficiosa; sin embargo, los resultados de los diferentes estudios son discrepantes. En los pacientes con úlcera péptica y uso crónico de AINEs, la erradicación de *H. pylori* no fue mejor que el placebo para mantener la remisión de la úlcera péptica cuando se realiza tratamiento gastroprotector adecuado con un IBP y se evalúa mediante endoscopia a los 6 meses (107). El tratamiento de mantenimiento con IBP en pacientes con uso crónico de AINEs se ha demostrado mejor que la erradicación de *H. pylori* sola para prevenir la úlcera péptica y el sangrado gastrointestinal (108). En cambio, en los pacientes con infección con *H. pylori* que todavía no han iniciado AINES, la erradicación reduce el riesgo de úlcera péptica por endoscopia cuando se compara con placebo (109) .

Por tanto, el tratamiento erradicador previo al tratamiento con AINE reduce la incidencia de úlcera péptica. Sin embargo, como tratamiento aislado es insuficiente y no sustituye al tratamiento gastroprotector con un IBP en pacientes que presentan factores de riesgo, tal como recomiendan las conferencias de consenso (110-112).

5.4 Cáncer gástrico y *H. pylori*

5.4.1 *H. pylori* y linfoma MALT

H. pylori es el agente causal en el desarrollo del linfoma MALT. Este linfoma es una forma única y distintiva de linfoma no Hodgkin de la zona marginal B. Supone entre el 7 y el 8% de los linfomas no Hodgkin y el tracto gastrointestinal es la localización más frecuente de esta enfermedad. El linfoma MALT se desarrolla como resultado de una estimulación antigénica crónica de las células B. La prueba más clara de la relación causal entre *H. pylori* y el linfoma MALT es que del 62% al 77% de los pacientes con linfoma MALT gástrico de bajo grado presentan una remisión completa tras erradicar *H. pylori* (113-115). Por ello, la erradicación de *H. pylori* es el tratamiento de primera línea de elección para los pacientes con linfoma MALT de bajo grado (110)

5.4.2 *H. pylori* y carcinoma gástrico

El carcinoma gástrico es el cuarto cáncer más frecuente en el mundo, con aproximadamente 930.000 nuevos casos diagnosticados cada año y es la segunda causa de muerte por cáncer con, aproximadamente, 700.000 muertes en el mundo en 2002 (116). Es muy frecuente en Japón, Korea y China; en Japón su incidencia es unas 10 veces mayor que la de los Estados Unidos. Histológicamente existen 2 clases de carcinoma gástrico, el tipo intestinal que se asocia con frecuencia con factores ambientales y el tipo difuso que se relaciona más con factores genéticos del huésped.

El factor de riesgo más importante para cáncer gástrico es la infección por *H. pylori*. Esta asociación entre *H. pylori* y cáncer gástrico se ha confirmado por estudios epidemiológicos a gran escala, meta-análisis, estudios caso-control y experimentales. La inflamación crónica de la mucosa gástrica secundaria a la infección por *H. pylori* será la base para el desarrollo del cáncer. La Organización Mundial de la Salud

clasificó a *H. pylori* como un carcinogénico de clase I ya en el 1994. Pese a que *H. pylori* puede aumentar el riesgo de desarrollar cualquiera de los dos subtipos de adenocarcinoma gástrico, el mecanismo de desarrollo del tipo intestinal está mejor caracterizado.

Correa (117) en 1975 propuso que la secuencia para la aparición del cáncer gástrico sería la siguiente: *H. pylori* produce una gastritis crónica activa que ocurriría en todos los individuos infectados. En algunos pacientes, la gastritis crónica activa progresa a una gastritis atrófica y posteriormente a metaplasia intestinal. Sobre el epitelio metaplásico se producen cambios genómicos y fenotípicos que resultarán en la aparición de displasia y finalmente de un adenocarcinoma. Es en este punto, cuando aparece la metaplasia intestinal, en el que parece alcanzarse el “punto de no retorno” a partir del cual, la eliminación del microorganismo no disminuye el riesgo futuro de cáncer gástrico. Este modelo se ha reproducido de forma clara en un modelo animal (jerbos de Mongolia) infectados por *H. pylori* (118). **Figura 4.**

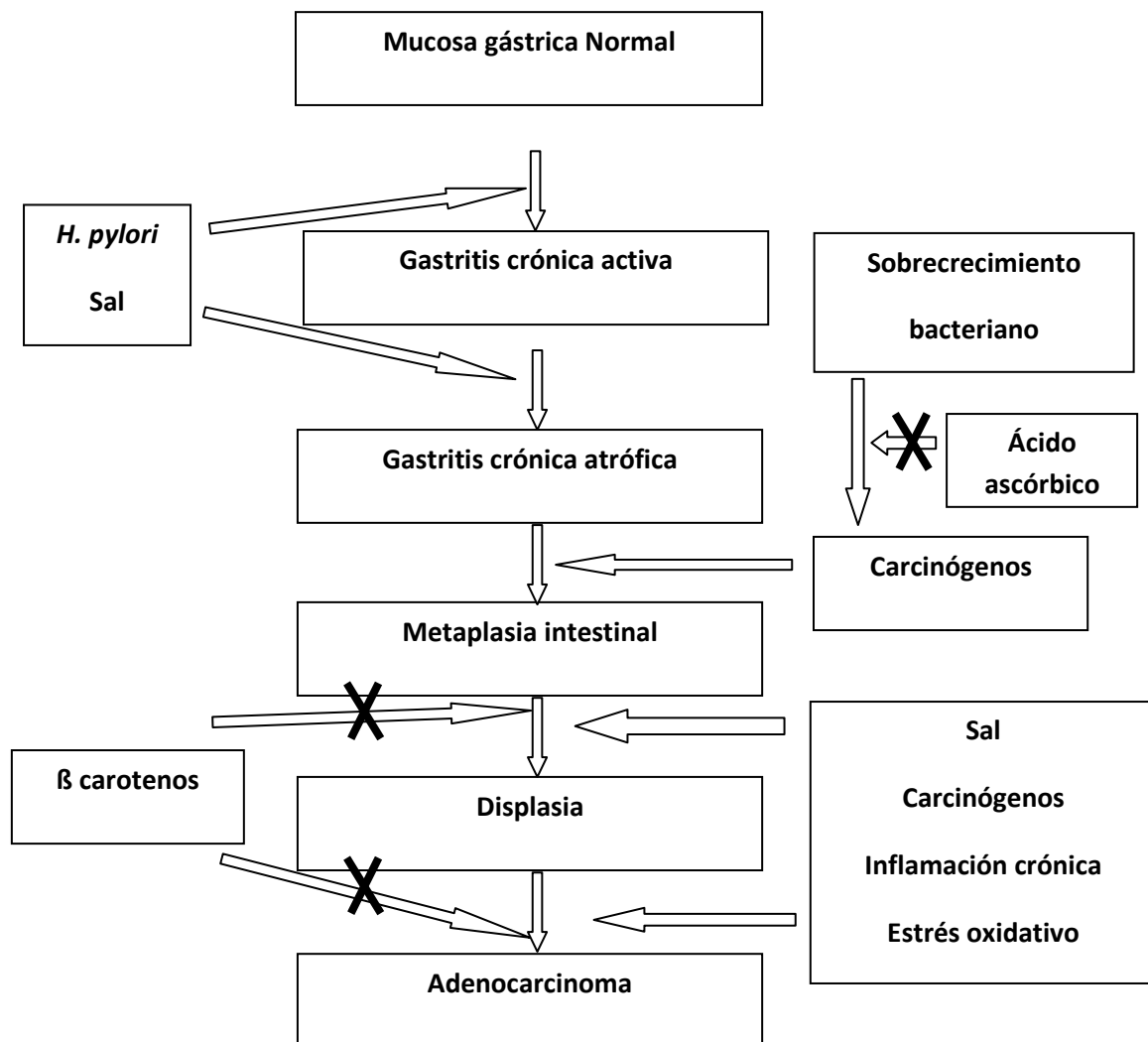
Se ha sugerido que esta secuencia descrita por Correa (117) explicaría la aparición del cáncer gástrico tipo intestinal pero no la de los adenocarcinomas de tipo difuso.

En un meta-análisis publicado en el 2003 se demostró que, entre los pacientes infectados por *H. pylori*, aquellos que presentaban la cepa CagA tenían un mayor riesgo de cáncer gástrico (1,64 veces más, en global) y unas 2,01 veces más para cáncer gástrico no cardial. La actividad de la proteína CagA, depende de la fosforilación de los residuos tirosina que se encuentran en sitios puntuales denominados EPIYA. Los múltiples motivos EPIYA en CagA se asocian con mayor actividad en las células y con un riesgo muy alto de cáncer gástrico (119,120). Algunos autores se han planteado la posibilidad de detectar a aquellos pacientes con la cepa Cag A para definir un subgrupo con mayor riesgo de cáncer gástrico y poder plantear medidas de control (121).

Pero *H. pylori* es un factor necesario pero no suficiente para el desarrollo de un cáncer gástrico. Se considera que son necesarios otros factores adicionales para la aparición de un cáncer. Entre estos se han propuesto: a) factores genéticos del huésped como el perfil de citoquinas pro-inflamatorias y/o una historia familiar positiva; algunos

polimorfismos del gen de la Interleukina 1 se han asociado con un mayor riesgo de hipoclorhidria (Odds Ratio (OR): 9,1) y de cáncer gástrico (OR: 1,9), (122,123). Sin embargo, estudios posteriores no ha podido reproducir estos resultados. También se ha sugerido la existencia de factores ambientales (exposición ocupacional/nitratos/nitritos, compuestos nitrosos), nutricionales (sal, condimentos, carne roja, tabaco) (124) y farmacológicos (inhibición ácida gástrica) (125).

Figura 4. Mecanismo patogénico del cáncer gástrico, (Correa et al.1975)



5.5 Reflujo gastroesofágico y *H. pylori*

Otro tema controvertido en los últimos años ha sido la interacción entre *H. pylori* y la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE). El reflujo gastroesofágico es una entidad clínica multifactorial en la que alteraciones anatómicas y/o motoras del esfínter esofágico inferior permiten un aumento del reflujo del contenido gástrico al esófago produciendo síntomas o lesiones. La gravedad de la enfermedad depende del desequilibrio entre los factores agresivos (volumen y composición del reflujo, principalmente ácido y pepsina) y los factores defensivos (aclaramiento esofágico y resistencia mucosa).

Se ha especulado con la idea de que *H. pylori* puede ser un factor “protector” para la aparición de la enfermedad por reflujo gastroesofágico. Así, que existe una relación inversa entre la presencia de *H. pylori* y la prevalencia de síntomas de reflujo. La prevalencia de *H. pylori* es menor en los pacientes que sufren reflujo (126). Además, la disminución de la prevalencia de la infección en la última década en los países desarrollados se ha acompañado de un aumento de la prevalencia de la enfermedad por reflujo gastroesofágico. El mecanismo fisiopatológico sería que los pacientes infectados por *H. pylori*, podrían desarrollar una pangastritis que condicionaría una disminución de la secreción gástrica (127). La hipoclohidria conduciría a una disminución de la gravedad de los síntomas de reflujo. Al erradicar la infección se puede llegar a inducir la regresión de la atrofia glandular y, secundariamente, aumentar la acidez gástrica y, en consecuencia, la gravedad del reflujo y, potencialmente, a una disminución de las complicaciones asociadas. Así, Chow et al. observaron que la infección por *H. pylori* y especialmente la infección por cepas cagA+, más lesivas para el estómago, se asociaba de forma significativa con un riesgo menor de adenocarcinoma esofágico (128).

Sin embargo, en los últimos años se han publicado otros estudios que no confirman esta relación causal. Un estudio con más de 10.000 individuos no detectó un aumento de la pirosis (OR 0,99; IC 95% 0,88-1,12) o regurgitación (OR 1,04; IC 95% 0,91-1,19) en pacientes que habían recibido tratamiento erradicador; sin embargo, tampoco mejoraron los síntomas preexistentes (129).

En resumen, en las guías actuales la ausencia de infección por *H. pylori* no se considera un factor relevante en la patogénesis del reflujo. Se recomienda investigar y tratar *H. pylori* en aquellos pacientes que reciben tratamiento de forma continuada con IBP (por el riesgo de aumentar el riesgo de gastritis atrófica) pero, no se recomienda evaluar rutinariamente la infección en todos los pacientes con reflujo (110).

5.6 Enfermedades extradigestivas

El papel de *H. pylori* como desencadenante de enfermedades extragástricas ha sido estudiado de manera exhaustiva durante los últimos años. Existen numerosos estudios que han relacionado la infección con la diabetes, enfermedades cardiovasculares o neurológicas, patologías oftalmológicas, enfermedades inmunológicas y alteraciones hematológicas, cutáneas, hepáticas y de las vías biliares, ginecológicas y de las vías respiratorias. De ellas, en la actualidad se considera que existe una relación probada únicamente en el caso de la anemia ferropénica y de la púrpura trombocitopénica idiopática.

5.6.1 Anemia ferropénica

Numerosos estudios han establecido la relación entre la anemia ferropénica y la infección por *H. pylori*. Así, los pacientes con anemia de origen desconocido tienen una mayor prevalencia de infección por *H. pylori*. También se han descrito que, los niveles de hemoglobina se normalizan tras el tratamiento erradicador en un porcentaje de pacientes con anemia ferropénica refractaria al tratamiento con hierro.

No se conoce claramente el mecanismo por el que la infección puede causar anemia ferropénica. Se han propuesto como causas, las alteraciones de la secreción ácida gástrica, la aparición de pérdidas crónicas por erosiones gastroduodenales o la competición del germen por el hierro con el huésped. Se han descrito niveles del receptor soluble de la transferrina elevados en los niños infectados por *H. pylori* con

anemia ferropénica comparado con los niños no infectados, aunque la transferrina y el hierro eran normales. Por esta razón, se ha sugerido que el receptor soluble de la transferrina es un parámetro más sensible para valorar las reservas de hierro en los niños infectados que el hierro sérico o la ferritina (130).

Otro motivo por el que la infección podría conducir a una anemia ferropénica podría ser la gastritis atrófica autoinmune que se ha mostrado responsable de anemia ferropénica refractaria en un 20% de los pacientes sin evidencia de pérdidas gastrointestinales (131). Esta enfermedad puede ser considerada como un efecto tardío de la infección por *H. pylori*. Los sujetos infectados, de hecho, presentan anticuerpos circulantes en contra de la H⁺,K⁺-ATPasa de la célula parietal gástrica (132)

5.6.2 Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI)

El papel patogénico de la infección por *H. pylori* en la PTI ha sido ampliamente estudiado (133,134). El recuento de plaquetas en pacientes con esta patología aumenta tras la erradicación (135,136). Se asume que existe un protagonismo del gen CagA en la patogénesis dado que se evidencia una disminución significativa de anticuerpos antiCagA en pacientes que mejoraron tras la erradicación, comparado con los no respondedores (137,138).

6. Métodos diagnósticos

Para poder tratar la infección por *H. pylori* se precisa, en primer lugar, efectuar un correcto diagnóstico. En los últimos años se han realizado múltiples revisiones críticas y meta-análisis que evalúan las diferentes técnicas diagnósticas disponibles y su fiabilidad dependiendo de la situación clínica (ulcus péptico complicado o no complicado, dispepsia no ulcerosa, uso previo de IBP (103,139-142). También han aparecido también nuevos métodos diagnósticos como el test de detección de *H. pylori* en heces o la PCR de *H. pylori* en tejidos.

Tradicionalmente, los métodos diagnósticos de la infección por *H. pylori* se han dividido en directos e indirectos (140,141,143). Los primeros se basan en la demostración “directa” del microorganismo mediante el estudio de muestras obtenidas por biopsia gástrica. Son, por lo tanto, técnicas que requieren una endoscopia. Los métodos indirectos se basan en el estudio y la detección de ciertas características de la bacteria (por ejemplo, la capacidad de hidrolizar la urea, propiedad en la que se basa la prueba del aliento), de la respuesta del sistema inmunitario (medición de anticuerpos específicos) o en la detección de antígeno de la bacteria en muestras biológicas (test en heces). Su ventaja primordial es su carácter no invasivo al no requerir la realización de una endoscopia.

La elección del test debe, por lo tanto, basarse en primer lugar en la fiabilidad diagnóstica de la prueba. Otros factores a tener en cuenta son: la prevalencia de la infección en la población; la clínica como la presencia de síntomas de alarma (que nos obligará a realizar una endoscopia) y los costes, la disponibilidad de los test en los diferentes centros y la predisposición del paciente.

Para el diagnóstico de la infección en ensayos clínicos las guías Europeas recomiendan utilizar como “gold standard” el resultado positivo de, al menos, dos test (110). En la práctica clínica, sin embargo, se considera suficiente un único método diagnóstico.

Todos los métodos diagnósticos pueden ser caracterizados de acuerdo a su sensibilidad y especificidad y por su valor predictivo positivo o negativo; éstos dos últimos dependen de la prevalencia de la infección en la población estudiada.

6.1 Métodos directos o invasivos

Son métodos altamente fiables. Su mayor inconveniente es que requieren una endoscopia que es una técnica molesta para el paciente y que comporta un mínimo riesgo de hemorragia y perforación. Se ha reportado una mortalidad del 0,008% (8 muertes por cada 100.000 procedimientos) y una morbilidad del 0,432% (4 complicaciones por cada 1.000 endoscopias) (144).

6.1.1 Histología

La presencia del germen puede reconocerse con la tinción habitual de hematoxilina-eosina; sin embargo esta tinción es poco sensible. Para el diagnóstico correcto de la infección por *H. pylori* es necesario utilizar la tinción de Giemsa. La histología no solamente demuestra la presencia del microorganismo, sino que también informa sobre los cambios morfológicos de la mucosa gástrica, lo que representa una ventaja en relación con otros procedimientos ya que puede estadificar los diferentes cambios evolutivos de progresión hacia adenocarcinoma gástrico.

Se recomienda obtener dos biopsias del antro y dos del cuerpo que serán introducidas de forma inmediata en solución de formol o de Bouin para su fijación. En condiciones de práctica clínica se considera suficiente la obtención de biopsias antrales. La toma de biopsias de la mucosa del cuerpo es obligada si el paciente está tomando IBP.

La distribución de *H. pylori* no es uniforme en el estómago. El número, la localización y el tamaño de las muestras pueden afectar a la precisión en el diagnóstico causando

resultados falsamente negativos. *H. pylori* no coloniza las áreas de atrofia gástrica, donde la concentración de ácido es menor, ni las zonas de metaplasia intestinal (MI) (145). Además, el tratamiento previo con antibióticos, IBP o preparados de bismuto negativizan la muestra de mucosa gástrica. Por ello se es necesario realizar la biopsia al menos 4 semanas después de suspender el tratamiento antibiótico y al menos 2 semanas después de finalizar tratamiento con un IBP.

La descripción histológica de la gastritis se realiza utilizando el sistema de Sydney. Éste tiene una escala analógica visual con una puntuación semi cuantitativa que clasifica en leve, moderado y severo el grado de las siguientes características: la densidad de *H. pylori*, la infiltración por granulocitos (gastritis aguda) y células mononucleares (gastritis crónica), la atrofia y la metaplasia intestinal (146).

La sensibilidad de la biopsia para la detección de la infección es variable, del 85% al 90%, dependiendo de la situación clínica, la densidad de la colonización y la experiencia del anatomopatólogo. La especificidad es casi del 100%, por su morfología peculiar y su estrecha relación con la mucosa gástrica (147) por lo que a menudo se utiliza este método como «patrón oro» para evaluar la exactitud de otras pruebas.

6.1.2 Test rápido de la Ureasa

Pese a la aparición de nuevos métodos diagnósticos, este test se sigue considerando el más rápido y coste efectivo de los métodos invasivos. Basa su eficacia en la actividad de la ureasa de *H. pylori* que hidroliza la urea con la formación de amonio. El amonio aumenta el pH y este cambio es detectado por el indicador rojo-fenol.

Existen muchos tests de la ureasa comercializados, incluyendo test basados en gel, en papel y en líquidos. El test da un resultado entre 1 y 24 horas dependiendo en parte del formato del test y del número de *H. pylori* en la biopsia. Todos los test de la ureasa comercializados tienen una especificidad entre el 85-100% y una la sensibilidad discretamente inferior, entre el 85 y el 95% (148,149). En comparación con la

histología, el cultivo y la PCR, el test de la ureasa es más rápido, más barato y tiene una sensibilidad y especificidad solo ligeramente inferiores (excepto el cultivo que posee un 100% de especificidad pero cuya sensibilidad es muy baja).

La sensibilidad se ve afectada sobre todo por el número de bacterias presentes en la biopsia. Se considera que se requieren aproximadamente 10^4 organismos para obtener un resultado positivo. Un porcentaje de pacientes pueden tener densidades menores a ésta. Por este motivo, la sensibilidad y la especificidad también pueden ser inferiores tras tratamiento erradicador o en los casos de hemorragia digestiva alta, por lo que no se recomienda en estas situaciones.

Se pueden dar resultados falsos negativos en pacientes tratados con IBP por el aumento del pH del lumen que puede hacer que *H. pylori* sea destruido por la acción de su propia ureasa (150).

Otra situación en la que se evidencia disminución de la sensibilidad es en el caso de la atrofia y la metaplasia intestinal. Un estudio Sur-Coreano evaluó este aspecto y evidenció que la sensibilidad disminuía más cuando existía atrofia con metaplasia (sensibilidad del 50%) que cuando existía atrofia sola sin metaplasia (80%). (151).

Uno de los últimos test de la ureasa comercializados (HUITAI) puede obtener un resultado positivo en un tiempo medio de un minuto. En un estudio reciente, los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron del 98,2%, 99%, 99% y 97,9 % respectivamente (152).

La frecuencia de falsos positivos del test de la ureasa es muy reducida, debido a que el número de bacterias contaminantes en la cavidad gástrica suele ser bajo y a que ningún otro microorganismo produce ni tanta cantidad de ureasa ni una ureasa tan potente. No obstante, podrían producirse resultados falsos positivos por la presencia de otros gérmenes productores de ureasa en la muestra, como *Proteus* o *Yersinia* u otros gérmenes procedentes de la boca (153).

6.1.3 Cultivo

H. pylori puede ser cultivado a partir de biopsias gástricas. Las colonias se identifican mediante tinción de gram y con tests bioquímicos. Las colonias son Gram negativas y positivas para ureasa, oxidasa y catalasa. *H. pylori* es muy frágil fuera del medio gástrico, motivo por el que debe ser procesado tan pronto como sea posible. Se cultiva en agar generalmente añadiendo antibióticos. Los cultivos son incubados en micro-aerofilia durante al menos 5 días a 37 °C aunque las colonias de *H. pylori* algunas veces aparecen ya a los 3 días. Se trata de un procedimiento relativamente complejo y de elevado coste, con una especificidad del 100% y una sensibilidad inferior a la de otras técnicas diagnósticas. Esto suele ser debido a un número insuficiente de biopsias, a un retraso en el transporte del cultivo al laboratorio, o bien porque el cultivo se ha expuesto a un medio aerobio.

Posee como ventaja adicional que tipifica el organismo y permite determinar su sensibilidad frente a los agentes antibacterianos. Esto tiene importancia tanto desde el punto de vista epidemiológico como para conocer el patrón de resistencia frente a distintos regímenes terapéuticos.

Actualmente no se recomienda utilizar el cultivo de forma habitual debido a su coste, complejidad y a que el tratamiento empírico es muy eficaz. El consenso Maastricht IV aconseja la realización de cultivo y test de sensibilidad antibiótica tras el fracaso de la segunda terapia de erradicación (83). Existen algunos autores, sin embargo, que abogan por realizar cultivos y estudios de sensibilidad tras el diagnóstico inicial en áreas de alta prevalencia de resistencias (154,155)

6.2 Métodos indirectos o no invasivos

Estos métodos utilizan las características del germen (como la capacidad de producir ureasa), la respuesta inmunológica del huésped (detección de anticuerpos específicos) o la detección de antígenos bacterianos (test en heces) para establecer el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Como no es necesaria una endoscopia, reciben también el nombre de métodos «no invasivos».

6.2.1 Serología

Los test serológicos se basan en la detección de anticuerpos específicos IgG anti *H. pylori* en el suero del paciente. Algunos test también pueden detectar la presencia de IgA en la saliva o IgG en la orina.

Los anticuerpos anti-*H. pylori* pueden detectarse mediante distintos procedimientos: fijación del complemento, aglutinación con látex, inmunofluorescencia indirecta, inmunoblot y ELISA. Algunas de ellas cualitativas, rápidas y precisan únicamente de unas gotas de sangre total y puede utilizarse en la consulta del médico. Otras requieren más tiempo, con mayor dificultad de realización, pero son más fiables y cuantitativas.

El método utilizado con mayor frecuencia es el **ELISA** (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas). Es una técnica de inmunoensayo en la cual el anticuerpo en el suero del paciente se detecta mediante un antígeno inmovilizado sobre un soporte plástico y un anticuerpo anti-inmunoglobulina enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable (cambio de color de un reactivo).

El test de aglutinación en látex requiere un mínimo equipamiento y es más rápido que el test de ELISA, pero mucho menos preciso.

Otro tipo de test es el Western-Blot. Los antígenos específicos se separan en un gel de electroforesis, se transfieren a un papel de filtro y reaccionan con las muestras de suero del paciente.

Desde la aparición de los primeros test serológicos para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, éstos se convirtieron en los test más frecuentemente utilizados en la práctica por su bajo precio y accesibilidad. Las ventajas de los test serológicos es que no requieren una técnica muy especializada y pueden realizarse en la mayoría de los hospitales o laboratorios clínicos. Sin embargo, la sensibilidad y especificidad de los

tests dependen del antígeno utilizado. La sensibilidad de los test serológicos oscilan entre el 80 y el 97% y la especificidad entre 50% y el 96%, aunque generalmente ambas oscilan alrededor del 80%, siendo inferiores a las de otras pruebas diagnósticas (152-154). Además, la fiabilidad de los distintos kits comerciales es muy variable y depende también de la población estudiada. Finalmente, una serología positiva indica únicamente la exposición previa al microorganismo, persistiendo positiva durante periodos prolongados tras el tratamiento efectivo de la infección. Esto implica que la técnica no es útil para confirmar la erradicación. Por todo ello, la mayoría de consensos nacionales e internacionales, desaconsejan su uso para el diagnóstico en la práctica clínica. Estas técnicas se utilizan sobre todo en estudios epidemiológicos (110,156,157).

6.2.2 Test del aliento

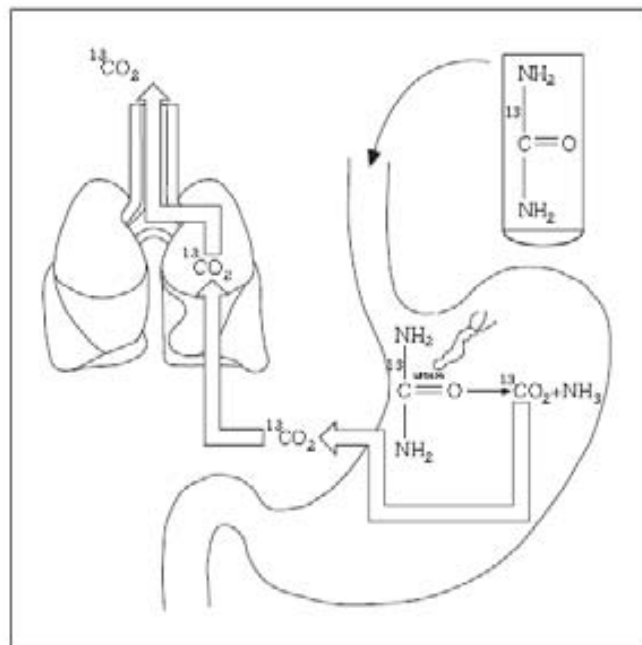
En 1987, Graham et al. (158) describen por vez primera el método en seres humanos. Su fundamento biológico es la reacción de la ureasa sobre urea marcada con un isótopo de carbono, administrada por vía oral. La ureasa de *H. pylori* puede hidrolizar una solución oral de urea marcada con C13/C14 produciendo CO₂ marcado isotópicamente. El ¹³/₁₄ CO₂ difunde a través de la mucosa gástrica a la circulación general, para pasar a través de los alveolos al aire espirado, donde puede recogerse y medirse (**Figura 5**).

Pueden utilizarse dos tipos de isótopos: el carbono 13 (¹³C), que es un elemento estable y el carbono 14 (¹⁴C), que es un isótopo radiactivo. Por tanto, el ¹³C no precisa de protección especial; se puede manejar muy cómodamente y es totalmente inocuo para el paciente. Para su medición se ha utilizado clásicamente un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas (*isotope ratio mass spectrometer* (IRMS). Se ha demostrado que esta técnica goza de una elevada exactitud diagnóstica (159,160). Sin embargo, su coste es elevado, su uso y mantenimiento son relativamente complejos y su tamaño es considerable. Por ello resulta necesario centralizar las muestras lo que conlleva una cierta demora en la obtención de los resultados. Más recientemente se ha desarrollado una nueva técnica para detectar ¹³C en el aire espirado que utiliza un espectrofotómetro de infrarrojos no dispersivo

(*nondispersive isotope-selective infrared spectrometer* (NDIRS). Este método tiene una serie de ventajas, como son el menor coste, la mayor sencillez de uso y mantenimiento. Al ser un dispositivo de menor tamaño y menor coste, permite realizar las determinaciones “in situ” lo que aumenta la rapidez con la que se obtienen los resultados.

Para reducir el coste y la duración de la prueba se utiliza un protocolo “europeo” que utiliza el método simplificado con ^{13}C -urea únicamente con 2 muestras (basal y a los 30 minutos). El protocolo “europeo” establece la administración de ácido cítrico antes de tomar la urea. El ácido cítrico retrasa el vaciamiento gástrico y reduce el pH gástrico incrementando la actividad ureasa de *H. pylori* a la vez que inactiva la ureasa de otros gérmenes. Todo ello contribuye a obtener una óptima sensibilidad y especificidad (161).

Figura 5. Test del aliento o test de la urea espirada



El empleo de antibióticos o inhibidores de la bomba de protones en los días previos a la realización de la prueba causa resultados falsos negativos. Por ello, se recomienda retrasar la prueba al menos un mes desde la finalización del tratamiento antibiótico y al menos 14 días después de que concluya la administración de IBP (162). A diferencia

de las pruebas serológicas, la prueba del aliento se negativiza inmediatamente tras la erradicación de *H. pylori*.

6.2.3 Antígenos en heces

A finales de 1990 apareció una nueva prueba diagnóstica, basada en la detección de antígenos de *H. pylori* en heces mediante pruebas de enzimoanálisis. Esta técnica no requiere instrumentación específica y precisa tan sólo una muestra de heces, por tanto, no causa molestias al paciente ni requiere que éste acuda personalmente al laboratorio. Se trata de una técnica muy fiable para detectar la infección por *H. pylori* (142).

En un metaanálisis realizado por Gisbert et al (142) se recogieron los resultados de 89 estudios incluyendo 10.858 pacientes y se evaluó la precisión y la exactitud del test de detección de antígenos en heces. La sensibilidad media obtenida era del 91%, especificidad del 93%, valor predictivo positivo (VPP) del 92% y el valor predictivo negativo (VPN) del 87%. A la luz de estos datos, el test de detección de antígenos en heces fue recomendado como de elección para diagnóstico inicial de la infección junto con el test del aliento por el European *Helicobacter pylori* Study Group en el 2002 (163), y se confirma en la cuarta conferencia de consenso (Maastricht IV) (83). También se ha valorado la eficacia del test en heces para confirmar la erradicación tras un tratamiento completo (164,165). La determinación de Ag en heces, cuando se realiza un mes después del tratamiento erradicador, tiene una sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del 86%, 92%, 76% y 93%, respectivamente (142).

El primer test de antígenos en heces introducido fue el Premier Platinum *H. pylori*SA (Meridian Diagnosis Inc, Cincinnati, Ohio, USA), que utilizaba anticuerpos (Ac) policlonales contra *H. pylori*. La fiabilidad de este test fue cuestionada en varios estudios (166,167), que utilizaba Ac policlonales que se obtenían de la inyección intraperitoneal de antígenos de *H. pylori* en conejos. Este método producía un perfil de anticuerpos diferentes en cada animal que podría generar diferencias entre los

diferentes lotes de la prueba (168). En los últimos años se han desarrollado nuevos “kits” que utilizan anticuerpos monoclonales que mejoran mucho la fiabilidad. Los “kits” monoclonales tienen una mayor sensibilidad y especificidad tanto para el diagnóstico inicial de la infección (167,169,170) como para la comprobación de la erradicación (164,171). Por otro lado, los estudios comparativos han demostrado que los test rápidos inmunocromatográficos son menos sensibles y específicos que las técnicas de ELISA, por lo que no se recomienda su utilización (172).

Cuando comparamos dos pruebas diagnósticas indirectas como el test del aliento y el test en heces, el primero se muestra claramente superior a la determinación de antígenos en heces en relación a la estabilidad y la vida útil de los reactivos y de las muestras. Las guías Europeas consideran los ELISA monoclonales de detección de antígenos en heces y el test del aliento con urea marcada como las pruebas no invasivas de elección para monitorizar el éxito o el fracaso del tratamiento erradicador (82,83).

6.2.4 Métodos moleculares

Actualmente están disponibles dos tests moleculares para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*, la hibridación in situ y la PCR.

La hibridación in situ se ha utilizado para detectar la presencia de marcadores específicos de virulencia así como para la detección de la resistencia a la claritromicina y a las quinolonas (173-175). La sensibilidad y la especificidad para el diagnóstico de la infección de *H. pylori* con esta técnica en los estudios publicados es de un 95 a un 100% (176).

La PCR también se ha utilizado ampliamente para el diagnóstico de *H. pylori* en biopsias gástricas y saliva, así como para detectar también resistencia a la claritromicina (177,178). La PCR permite determinar la presencia de factores de virulencia de la cepa que comportan un mayor riesgo de enfermedad grave. Se han utilizado diferentes loci como objetivo para la amplificación: 16S rRNA; A-, B- y C-ureasa, flaA; cagA y vacA. La PCR en heces no se utiliza rutinariamente, porque la

presencia de inhibidores de la PCR hace que la técnica en estas muestras sea más difícil y menos fiable. La desventaja de la PCR como test de rutina es su precio y la complejidad técnica en comparación con la histología y el test rápido de la ureasa. Tiene una alta sensibilidad, pero está sujeta al riesgo de resultados falsos positivos producidos por la contaminación de la muestra.

7. Tratamiento

Sería una empresa casi imposible, intentar enumerar todos los tratamientos que se han utilizado para la erradicación de la infección. La cantidad de artículos publicados a este respecto es ingente. Para situarnos, comentar que en el buscador bibliográfico más utilizado (Pub Med) cuando cruzamos ambos términos (*H. pylori* AND treatment) los artículos publicados suman más de 12400. Afortunadamente, las diferentes asociaciones científicas confeccionan recomendaciones terapéuticas basadas en estos documentos y son la fuente de información más utilizada en la práctica clínica habitual.

Existe una evidencia irrefutable que demuestra el papel patogénico de *H. pylori* en la gastritis, la úlcera péptica, y las enfermedades tumorales del estómago, carcinoma y linfoma. Del mismo modo, resulta también indudable que la curación de la infección por *H. pylori* evita la recurrencia de la úlcera duodenal y gástrica (90,179-181), con lo que, evidentemente, la erradicación de la infección en este contexto es altamente coste efectiva (182). También existe evidencia de que el tratamiento de la infección mejora la evolución de determinadas enfermedades extraintestinales (138).

Ya en los primeros estudios de tratamiento se detectó la escasa eficacia terapéutica de cualquiera de los antibacterianos disponibles cuando se utilizaba aislado. Las posibles razones para esta falta de eficacia son varias: en primer lugar, los antimicrobianos utilizados para el tratamiento de *H. pylori* no siempre alcanzan grandes concentraciones en la luz gástrica. Muchos de ellos son rápidamente degradados en el medio extremadamente ácido del estómago. Además, la capacidad de *H. pylori* de colonizar la luz gástrica, la capa de moco, los espacios intercelulares o incluso el interior de las células epiteliales hace posible la presencia de “santuarios” donde la bacteria escapa a la acción del tratamiento. Por lo tanto, se han utilizado diferentes combinaciones de fármacos para conseguir la erradicación. La mayoría de pautas actualmente aceptadas incluyen un IBP y dos o más antibióticos.

Las pautas de tratamiento erradicador han cambiado con el paso del tiempo. Las monoterapias (183) y los tratamientos con dos fármacos no obtuvieron tasas de erradicación razonables (184). Un nuevo y efectivo tratamiento con IBP, tinidazol y

claritromicina fue inicialmente descrito en 1993. Poco después, se propuso un tratamiento similar que utilizaba amoxicilina en vez de nitroimidazol y tenía una eficacia comparable. Desde entonces, la triple terapia con un IBP, claritromicina y amoxicilina o metronidazol ha sido el tratamiento erradicador más recomendado (110,156,157,185).

Existen 3 fármacos clave que se utilizan en los regímenes de tratamiento para *H. pylori*. Estos son la amoxicilina, la claritromicina y el metronidazol (o tinidazol). Los tratamientos más efectivos contienen uno o más de estos agentes. De estos, la amoxicilina es el que se utiliza con mayor frecuencia; la resistencia de *H. pylori* a la amoxicilina es muy rara en la práctica clínica mientras que las resistencias a la claritromicina y al metronidazol son mucho más frecuentes.

7.1 Indicaciones de tratamiento

Las indicaciones para erradicar *H. pylori* se han descrito de manera detallada en el apartado 6 (clínica). En la **tabla 3** se encuentran enumeradas todas las indicaciones descritas en el III Conferencia Española de Consenso sobre la Infección *H. pylori*.

Tabla 3. Recomendaciones sobre las indicaciones de tratamiento de la infección por *H. pylori*.

- **Recomendación A1:** En los pacientes con úlcera péptica e infección por *H. pylori* se recomienda tratamiento erradicador
- **Recomendación A2:** En los pacientes con dispepsia no investigada menores de 55 años y sin síntomas ni signos de alarma se recomienda la estrategia *test and treat* como primera opción, por delante del tratamiento antisecretor empírico o la endoscopia
- **Recomendación A3:** En los pacientes con dispepsia funcional e infección por *H. pylori* se recomienda tratamiento erradicador como estrategia terapéutica
- **Recomendación A4:** En aquellos pacientes que van a requerir tratamiento con AINE o AAS de manera continuada no se recomienda investigar y tratar sistemáticamente la infección por *H. pylori*. En aquellos pacientes con antecedentes de úlcera que van a requerir tratamiento con AINEo AAS de manera continuada se recomienda investigar la infección por *H.pylori* y realizar tratamiento.
- **Recomendación A5:** En pacientes con linfoma MALT gástrico de bajo grado se recomienda investigar la infección por *H. pylori* y realizar tratamiento erradicador como primera opción terapéutica.
- **Recomendación A6:** En pacientes con resección quirúrgica o endoscópica de

un cáncer gástrico se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori* como prevención de la recidiva neoplásica

- **Recomendación A7:** En los familiares de primer grado de los pacientes con cáncer gástrico se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A8:** En pacientes con atrofia mucosa gástrica o metaplasia intestinal asociada a infección por *H. pylori* se recomienda tratamiento erradicador
- **Recomendación A9:** En pacientes que van a requerir tratamiento con IBP de manera continuada no se recomienda investigar sistemáticamente la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A10:** En pacientes con anemia ferropénica de causa no aclarada se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A11:** En pacientes con púrpura trombocitopénica idiopática se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A12:** En pacientes con déficit de vitamina B12 no explicable por otras causas se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A13:** En pacientes con rosácea no se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A14:** En pacientes con urticaria crónica no se recomienda investigar y tratar la infección por *H. pylori*
- **Recomendación A15:** A todo paciente diagnosticado de infección por *H. pylori*
- se recomienda ofrecer tratamiento erradicador

De: III Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *H. pylori*.
Gastroenterol Hepatol 2013. (82)

7.2 Papel de las resistencias bacterianas

La resistencia a antimicrobianos es la causa principal del fracaso del tratamiento. El aumento de las resistencias primarias ha originado un descenso de las tasas de curación de la infección con el tratamiento triple estándar (186). Tras el fracaso de un tratamiento que contiene claritromicina o metronidazol, prácticamente siempre existe una resistencia antibiótica secundaria. Esto reduce de manera muy marcada las probabilidades de curación con un segundo tratamiento repitiendo los mismos fármacos (187).

Se considera que *H. pylori* presenta una resistencia natural a diferentes antibióticos como la vancomicina, trimetoprim y sulfonamidas (188).

7.2.1. Resistencia a claritromicina

Un metaanálisis de estudios comparativos y una revisión sistemática demostraron que el principal factor que predispone al fracaso del tratamiento triple (IBP + claritromicina + amoxicilina o metronidazol) era la resistencia a los antibióticos. La resistencia a la claritromicina fue el factor predictivo más importante de la falta de respuesta al tratamiento (189,190).

Cuando la prevalencia de la resistencia a la claritromicina en la población alcanza el 15-20% las tasas de erradicación con los regímenes que contienen este antibiótico caen por debajo del 80%. Por lo tanto, en áreas con alta prevalencia no se debería utilizar esta pauta. En España, la prevalencia de resistencia a la claritromicina se estima en un 14,7 % (191).

Existen tres mutaciones asociadas a la resistencia a la claritromicina (A2143G, A2142G y A2142C). De ellas, la mutación A2143G parece asociarse con una menor tasa de erradicación (192).

En una revisión sistemática en 1999 las tasas de erradicación fueron del 56% cuando se utilizó una pauta con claritromicina en pacientes portadores de cepas resistentes al fármaco (193). En el mismo sentido, un metaanálisis de 93 estudios con 10178 participantes objetivó que para los tratamientos triples, la resistencia a la claritromicina

tiene un efecto mucho mayor sobre la eficacia que la resistencia al metronidazol (189) (ver más adelante).

En Europa, en un estudio multicéntrico reciente, Megraud et al. (194) mostraron un aumento de las resistencias a la claritromicina respecto de un estudio similar realizado en 1997. Las resistencias en el Norte de Europa, tradicionalmente menores, también han aumentado en los últimos años. Como ejemplo, en Irlanda, la resistencia primaria a la claritromicina pasó del 3,9 % en 1997 al 9,3% en el 2008 (195). Por otro lado, un grupo francés detectó resistencia a claritromicina en un 19,2% de la población naive y un 26% de resistencias secundarias (196).

7.2.2. Resistencia a metronidazol

La resistencia al metronidazol aunque podría causar una reducción en la eficacia del tratamiento triple y del cuádruple de hasta un 50%, se considera menos relevante que la resistencia a la claritromicina.

Muchos de los estudios publicados sugieren que la resistencia a este antibiótico se mantiene estática en la mayoría de las comunidades, entre el 30 y el 40 % (195,197). Por otro lado, la resistencia a metronidazol “in vitro” puede no reflejar de manera exacta la resistencia “in vivo” (198). Por este motivo, esta resistencia no tiene un papel tan determinante en la tasa de erradicación y los tests de resistencia a este antibiótico no se recomiendan en la práctica clínica rutinaria.

Diferentes estudios han demostrado que utilizar metronidazol a dosis altas y/o durante más días mejoran claramente las tasas de curación y puede ser una estrategia útil para la erradicación de la infección (199,200).

7.2.3. Resistencia a amoxicilina

La resistencia a la amoxicilina es excepcional, por lo que se le considera un pilar fundamental en el tratamiento de los pacientes naive y en aquellos que ya han fracasado en un intento de erradicación previo (197). Las resistencias a amoxicilina, tanto primarias como adquiridas, son excepcionales ya que requiere más de una

mutación en el genoma de la bacteria (201). Actualmente en España, la prevalencia de resistencia a la amoxicilina es de 1,4% (191).

7.2.4. Resistencia a levofloxacino

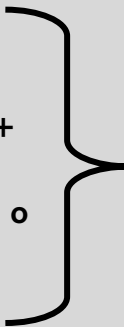
La resistencia a las fluoroquinolonas es una situación emergente debido al mayor uso de estos antibióticos en la población general. Levofloxacino es la fluoroquinolona que se utiliza con mayor frecuencia en la erradicación de *H. pylori* y, según un reciente estudio en nuestro país, presenta una prevalencia de resistencia primaria del 14,5 % (191). En un estudio Taiwanes, se observó un aumento en la resistencia primaria a levofloxacino en microorganismos estudiados después del 2004 (16,3% de resistencia) respecto los estudiados antes del 2004 (3,2% de resistencia) (197). Esta alta tasa de resistencia tras un tratamiento previo desaconseja su uso como terapia de rescate tras una pauta previa con levofloxacino.

7.3 Tratamiento de primera línea

En la actualidad no existe ningún tratamiento de la infección por *H. pylori* que asegure una tasa de curación del 100%. Por este motivo, el tratamiento se debería plantear como una “estrategia terapéutica” en la que esté previsto qué pauta de rescate se va a utilizar en caso de fracaso de un primer tratamiento erradicador. La combinación de un IBP con 2 antibióticos se ha aceptado durante muchos años como el tratamiento estándar de elección para la erradicación de *H. pylori* desde la realización de un estudio controlado en 1996 (202). Las guías de consenso Europeas y americanas aconsejan el tratamiento con un IBP junto con amoxicilina y claritromicina (82,83) (**Tabla 4**). Esta pauta es cómoda, bien tolerada y ha ganado amplia aceptación, tanto en atención especializada como en atención primaria. Aunque su eficacia se ve muy afectada por el grado de resistencia a la claritromicina, sigue siendo una pauta eficaz en España. En un estudio multicéntrico, las tasas de curación fueron del 91% con 10 días de tratamiento y del 81% con 7 días (203).

En el caso de pacientes alérgicos a la penicilina se recomienda sustituir la amoxicilina por el metronidazol. Sin embargo, no se recomienda utilizar la pauta que combina claritromicina y metronidazol de manera sistemática, dado que no es más efectiva que el tratamiento que combina claritromicina y amoxicilina y además, si fracasa, la pauta cuádruple de rescate resulta menos efectiva (204) y no se dispone de un tratamiento de rescate de eficacia claramente demostrada.

Tabla 4. Tratamiento triple clásico o tratamiento triple estándar

<ul style="list-style-type: none"> • IBP (dosis estandar) / 12 h + • Claritromicina 500 mg / 12 h + • Amoxicilina 1000 mg / 12 h ○ • Metronidazol 500 mg / 12 h 		Durante 10 o 14 días
---	---	----------------------

Desafortunadamente, meta-análisis recientes muestran que actualmente la tasa de erradicación tras un tratamiento estándar triple es a menudo inferior al mínimo aceptable del 80% recomendado por las guías de Maastricht. Estudios europeos han constatado tasas de erradicación más bajas, con fracaso del tratamiento de 25-40% (205-208). En algunas áreas las tasas de erradicación son incluso inferiores al 50 % (209,210).

Se han propuesto varios factores de riesgo responsables de esta disminución de la eficacia del tratamiento triple estándar. De entre ellos, el mejor conocido y uno de los más importantes es la resistencia a la claritromicina ya comentado anteriormente (211-213). Dicha resistencia es altamente prevalente en nuestra área en adultos (214-216) y en mayor medida en niños (217,218). Esto es debido a que los macrólidos son ampliamente utilizados en infecciones de vías respiratorias, situación que ha colaborado en la selección de bacterias resistentes (187,219,220).

La patología de base podría ser otro factor de riesgo. Se ha observado que cuando la indicación de erradicación es una dispepsia funcional la tasa de curación es menor que cuando se trata de una úlcera péptica (203,221-223). La presencia del gen Cag A es también un potente factor predictivo de respuesta al tratamiento. Otros potenciales factores de riesgo para el fracaso de la erradicación son el grado de cumplimiento, la carga bacteriana alta, el hábito tabáquico y el uso de dosis bajas de fármacos antisecretores (223).

El fracaso terapéutico conlleva la indicación de un nuevo tratamiento erradicador y otra prueba diagnóstica para confirmar la erradicación. Además, un porcentaje de los pacientes no vuelve para realizar un segundo tratamiento. Todo ello conlleva una disminución de la eficacia y un aumento del coste del manejo global de esta patología (224).

Para optimizar el tratamiento triple "clásico" y conseguir mayores tasas de erradicación se han probado diferentes estrategias; Prolongar el tratamiento triple ha sido un tema habitual de debate (7, 10 o 14 días). Las recomendaciones iniciales recomendaban generalmente una semana. No obstante, un primer meta-análisis ya mostraba una mayor eficacia del tratamiento de 10 días respecto a 7 días (203). Respecto a la duración del tratamiento según la patología a tratar la evidencia científica es favorable a extender el tratamiento hasta, como mínimo, 10 días en aquellos pacientes con dispepsia no ulcerosa (203). El tratamiento con 7 días de triple terapia podría

mostrarse suficiente en pacientes con úlcera péptica en relación al mayor grado de inflamación de la mucosa producido por algunas cepas más agresivas de *H. pylori*. Esta duración sería insuficiente si el grado de inflamación fuese inferior como en la dispepsia no ulcerosa (225).

Un segundo meta-análisis de estudios randomizados y controlados que comparaban las diferentes duraciones del tratamiento triple mostró que extender el tratamiento más allá de 7 días aumentaba muy discretamente la tasa de erradicación; extenderlo a 10 días producía un aumento del 4% mientras que extenderlo a 14 días aumentaba un 5%. Este estudio se realizó con regímenes basados en la amoxicilina (226). La tendencia más reciente en respuesta a la reducida eficacia de las pautas de 7 días es prolongar el tratamiento. En este sentido, las guías Europeas y americanas más actuales sugieren que la duración óptima para erradicar *H. pylori* es de 14 días (110,185).

Los fármacos antisecretores constituyen, junto con los antibióticos, las piezas fundamentales en el tratamiento erradicador de *H. pylori*. En este sentido, otra opción para optimizar el tratamiento triple sería actuar sobre las dosis o el tipo de tratamiento antisecretor.

Se han publicados numerosos estudios comparando los distintos tipos de IBP (Omeprazol, pantoprazol, lansoprazol, rabeprazol o Esomeprazol). En un primer metaanálisis publicado por Vergara et al. en el 2003 se mostró que las tasas de erradicación de *H. pylori* con los diferentes IBP eran similares cuando se utilizaban en el tratamiento triple clásico (227).

Sin embargo, más recientemente se ha planteado la posibilidad de que el uso de dosis muy elevadas de IBP pueda aumentar las tasas de curación con el tratamiento triple. Así, Murakami et al (228) demostraron que la tasa de erradicación de *H. pylori* se incrementaba progresivamente al combinar el tratamiento antibiótico con placebo (33%), con anti-H2 (en una dosis estándar o en dosis altas, el 59 frente al 79%) o con IBP (83%). Posteriormente, un metaanálisis confirmó la superior eficacia de la terapia combinada con un IBP frente a anti-H2, demostrando la importancia de una mayor potencia antisecretora (229). Recientemente, Padol et al (230) han descrito que en pacientes metabolizadores lentos – en los que los IBP alcanzan concentraciones mucho más elevadas en sangre- las tasas de erradicación con terapia triple son muy

superiores a las de los metabolizadores rápidos de los IBP. También Sugimoto et al. (231) compararon las tasas de erradicación de *H. pylori* con el grado de inhibición ácida medido mediante pH-metría de 24 horas. Observaron que la erradicación se correlacionaba con el grado de inhibición ácida y que todos los pacientes que presentaron un pH superior a 4 durante más del 90% del tiempo de estudio se curaron.

Posteriormente Villoria et al. publicaron un metaanálisis con 6 ensayos clínicos aleatorizados con un total de 1.703 pacientes, que compararon la eficacia de la terapia triple durante al menos una semana, utilizando claritromicina y amoxicilina o metronidazol junto con dosis estándares (omeprazol 20 mg, lansoprazol 30 mg, pantoprazol 40 mg, rabeprazol 20 mg o esomeprazol 20 mg) o dosis altas de IBP (omeprazol 40 mg, lansoprazol 60 mg, pantoprazol 80 mg, rabeprazol 40 mg o esomeprazol 40 mg) dos veces al día (232). La tasa de erradicación de *H. pylori* por intención de tratar fue superior en los pacientes que recibieron una pauta con dosis altas de IBP (81,9%) respecto a los que recibieron una dosis estándar (73,9%) con un riesgo relativo (RR) de 1,09 (IC del 95%, 1,01-1,17). Al realizar un subanálisis de los estudios incluidos y comparar la utilización de dosis estándares de IBP de primera generación (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol) con dosis doble de IBP de segunda generación (rabeprazol y esomeprazol), las diferencias en las tasas de erradicación fueron mayores (del 72% al 84% con un RR de 1,12; IC del 95%, 1,04-1,20), lo que confirma la importancia que representa la inhibición ácida potente en el éxito de la erradicación.

7.4 Tratamiento de segunda línea

Como se ha comentado anteriormente, el tratamiento inicial fracasa en más de un 20% de los casos y se requiere de una segunda estrategia de tratamiento. Las dos opciones más ampliamente utilizadas como rescate son las que utilizan el bismuto y las que utilizan levofloxacino.

7.4.1. Tratamiento cuádruple

El tratamiento cuádruple con bismuto consiste en la combinación de IBP, bismuto, tetraciclinas y metronidazol administrado normalmente durante 10 días, aunque existen estudios que han conseguido una eficacia del 95% con 14 días de tratamiento. (233). Presenta una eficacia del 76% en pacientes en los que se ha fracasado con un primer tratamiento (234) **(Tabla 5)**.

Una importante ventaja de esta pauta es que la eficacia del tratamiento cuádruple se mantiene superior al 80% independientemente de las tasas de resistencia primaria o secundaria a la claritromicina (198).

El tratamiento cuádruple ha demostrado ser razonablemente seguro. En 2 metaanálisis publicados en 2004 y 2008 se observó que los efectos secundarios del tratamiento cuádruple y de los esquemas terapéuticos que contenían sales de bismuto eran leves y sin diferencias significativas respecto a los descritos en las pautas triples estándar (198,235). Los estudios de coste-efectividad muestran que el precio de un tratamiento cuádruple de 10 días es similar al de un tratamiento triple estándar (236).

La principal desventaja de este régimen es su gran complejidad ya que requiere un número alto de pastillas al día, con diferentes posologías y durante 10 o 14 días, lo que dificulta el cumplimiento terapéutico. Sorprendentemente, un meta-análisis evidenció que no existían diferencias en cuanto a la adherencia al tratamiento cuando se utilizaba un tratamiento triple o cuádruple (198).

Otra limitación del tratamiento cuádruple es que los preparados de bismuto no están disponibles en muchos países.

Tabla 5. Tratamiento cuádruple

<ul style="list-style-type: none">• IBP (dosis estandar) / 12 h +• Metronidazol 500 mg / 8 h +• Tetraciclina 500 mg / 6 h +• Subcitrato de bismuto 120 mg / 6h	} Durante 10 o 14 días
---	------------------------

Para intentar favorecer la adherencia al tratamiento cuádruple se ha comercializado una cápsula que contiene tres de los fármacos utilizados. Pylera® presenta la combinación de 140 mg de subcitrato de bismuto, 125 mg de metronidazol y 125 mg de clorhidrato de tetraciclina en una sola cápsula. Se toman 3 capsulas cada 6 horas junto al IBP cada 12 horas. Laine y colaboradores realizaron un estudio comparativo entre el tratamiento cuádruple utilizando Pylera® junto con IBP cada 12 horas durante 10 días y el tratamiento triple clásico durante 10 días. Ciento treinta y ocho pacientes recibieron tratamiento cuádruple y 137 tratamiento triple clásico. No hubieron diferencias significativas en las tasas de erradicación por intención de tratar (87,7% vs 83,2% con cuádruple y triple respectivamente). Aparecieron efectos secundarios en el 58,5% de los pacientes con Pylera® y en el 59% de los pacientes tratados con la terapia triple clásica (237). En el 2011 se publicaron los datos de un estudio multicentrico comparativo entre Pylera® con Omeprazol durante 10 días vs tratamiento triple clásico durante 7 días (238). Por intención de tratar, las tasas de erradicación con el tratamiento cuádruple fueron del 80% (174 de 218 pacientes) vs 55% (123 de 222) con el tratamiento triple clásico ($p < 0,0001$). El perfil de seguridad y los efectos adversos fueron similares. Pylera® se ha comercializado en Estados Unidos y está pendiente de su aprobación en Europa.

7.4.2. Tratamiento triple con levofloxacino

El tratamiento triple con un IBP, amoxicilina y levofloxacino presenta tasas de erradicación de entre el 74 y el 90 % según las series (239,240) (**Tabla 6**). Es eficaz en pacientes con resistencia a la claritromicina y al metronidazol (241,242). En un reciente metaanálisis que incluyó un total de 300 pacientes en los que fracasó el tratamiento inicial triple clásico, la tasa de erradicación utilizando una pauta triple con levofloxacino durante 10 días fue del 81% por protocolo y del 77% por intención de tratar. La tolerancia fue buena y las tasas de efectos secundarios bajas (22%) (243).

La eficacia de este tratamiento cae dramáticamente cuando *H. pylori* es resistente a levofloxacino. Dado que las resistencias primarias a levofloxacino parecen estar aumentando rápidamente en nuestro medio, este esquema no se utiliza como tratamiento de primera línea, sino que se reserva como tratamiento de segunda o tercera elección donde presenta una eficacia, similar al tratamiento cuádruple, aunque con mejor tolerancia y menos efectos adversos (244,245).

Se ha reportado un aumento muy importante de la resistencia a las quinolonas en varios países: 15 % en el 2004 en Japón; 16,8% en 2006 en Bélgica, del 11,2 % en 2003 a un 22,1% en 2005 en Alemania, de un 3 % en 1999 a un 15 % en 2004 en Francia y de un 2,8 % a un 11,8% entre 1998 y 2003 en Taiwan (194,246-251). Este gran aumento de las resistencias al levofloxacino, puede limitar la eficacia del fármaco. Los efectos secundarios graves son raros. Sin embargo, se ha descrito la aparición de tendinitis en 704 de 46.000 pacientes (252), así como la aparición de casos de hepatotoxicidad (253).

Tabla 6. Tratamiento triple con levofloxacino

<ul style="list-style-type: none">• IBP (dosis estándar) / 12 h +• Amoxicilina 1g /12 h +• Levofloxacino 500 mg /12 h	Durante 10 días
---	-----------------

7.5 Tratamiento de tercera y cuarta línea

Después de 2 líneas de tratamiento con pautas recomendadas del 2 al 5% de los pacientes siguen infectados (254). En este caso, las dos posibles alternativas son realizar un tercer tratamiento empírico o una pauta antibiótica guiada según la determinación de resistencias antibióticas.

Si se realiza un pauta empírica deben utilizarse fármacos sin problemas de resistencias secundarias y, por tanto, no volver a utilizar ni claritromicina ni levofloxacino. Es importante recordar que existen resistencias cruzadas dentro de las diferentes familias de antibióticos por presentar los mismos mecanismos de resistencia: la resistencia a la claritromicina indica resistencia a todos los macrólidos; la resistencia a levofloxacino indica una alta probabilidad de resistencia a todas las fluoroquinolonas incluyendo moxifloxacino. Una opción recomendable para un tratamiento de tercera línea, si no disponemos de cultivo, sería realizar un tratamiento triple con levofloxacino (IBP dosis estándar/ 12 h + levofloxacino 500 mg/12 h + Amoxicilina 1 g/ 12 h) si ha fracasado el tratamiento de segunda línea con terapia cuádruple con bismuto. De la misma forma, cuando ha fracasado un tratamiento de segunda línea basado en levofloxacino se puede utilizar con tratamiento de tercera línea la pauta cuádruple con bismuto. Otra opción, tal como se comentará posteriormente, sería utilizar rifabutina (255,256).

La segunda alternativa es realizar un tratamiento basado en la susceptibilidad antibiótica. Esta actitud es la que se recomienda en la última Conferencia internacional de consenso (83). Sin embargo, el cultivo no está disponible en la mayoría de centros y, no hay estudios bien diseñados que comparen una pauta de rescate adecuadamente diseñada con los tratamientos guiados por cultivo. En este sentido, los estudios que analizan estrategias empíricas combinando tres tratamientos complementarios consiguen tasas de curación cercanas al 100% (257,258).

7.5.1. Regímenes con rifabutina

Los regímenes basados en rifabutina (**Tabla 7**) se han propuesto como tratamiento de rescate. El uso de regímenes que contienen rifabutina debe estar limitado, dado que este fármaco puede seleccionar cepas resistentes a *Mycobacterium tuberculosis*. Además, las tasas de erradicación con estos regímenes son menores que las que se consiguen con los regímenes de levofloxacino. Este hecho, junto con el riesgo de mielotoxicidad y su alto precio, desaconseja su utilización sistemática para el tratamiento de la infección por *H. pylori*. Sin embargo, puede ser una terapia útil en pacientes con infecciones multiresistentes y una clara indicación de tratamiento. Las tasas de curación descritas con las pautas con rifabutina son de aproximadamente un 73 % (67%-79%) según un reciente meta-análisis con un total de 1008 pacientes; la tasa de efectos adversos fue del 22 % (19-25%) (259).

Tabla 7. Esquema del tratamiento con rifabutina

<ul style="list-style-type: none"> • IBP (dosis estandar) / 12 h + • Amoxicilina 1000 mg / 12 h + • Rifabutina 150 mg / 12 h 	Durante 14 días
---	-----------------

7.5.2. Regímenes con Furazolidona

Las terapias triples basadas en Furazolidona también se han utilizado ampliamente para erradicar *H. pylori* (**Tabla 8**) (260-266). Las mayores ventajas de este fármaco son su bajo precio y la ausencia de resistencias. No obstante, furazolidona, que no está disponible en toda Europa ni en algunos países occidentales, debe ser usada a relativas dosis altas, que conducen a una alta tasa de efectos secundarios como la

diarrea. Finalmente, la evidencia actual con respecto a la eficacia no es consistente y no permiten obtener ninguna conclusión definitiva.

Tabla 8. Esquema del tratamiento con furazolidona

<ul style="list-style-type: none">• IBP (dosis estandar) / 12 h +• Subcitrato de bismuto 240 mg / 12 h +• Amoxicilina 1000 mg / 12 h +• Furazolidona 200 mg /12 h	} Durante 7 días
--	------------------

7.6 Nuevas estrategias terapéuticas

7.6.1 El tratamiento secuencial

Una de las últimas innovaciones terapéuticas en el campo de la erradicación de la infección es el tratamiento secuencial, introducido en Italia por Zullo et al (267) No puede considerarse un tratamiento nuevo en el sentido de que utiliza fármacos ampliamente conocidos y con indicación aprobada para la erradicación de *H. pylori*. Sin embargo, la estrategia de administración de los fármacos es innovadora. Consiste en una fase de “inducción” de 5 días con una terapia doble (un IBP dos veces al día y amoxicilina 1 g/12 horas), seguido inmediatamente por una terapia triple durante 5 días con IBP /12 horas; tinidazol o metronidazol 500 mg /12 horas y claritromicina 500 mg/12 horas **(Tabla 9)**. Después de varios estudios piloto (268) se realizó un estudio multicéntrico, controlado y randomizado que incluyó alrededor de 1.000 pacientes, comparando el nuevo tratamiento secuencial con el tratamiento estándar triple con IBP (267) . El nuevo tratamiento fue claramente superior a la triple terapia, alcanzando una eficacia del 92% frente al 74% de la terapia triple ($p < 0,0001$). En otro estudio se comparó el tratamiento secuencial de 10 días con el tratamiento triple con IBP administrado durante también 10 días para comprobar si la mayor eficacia del tratamiento secuencial dependía de la mayor duración del tratamiento (269). El tratamiento secuencial y la triple terapia durante 10 días fueron igualmente efectivos en pacientes ulcerosos (36/36 (100%) versus 32/34 (94,1%)), pero el tratamiento secuencial fue más efectivo en pacientes con dispepsia no ulcerosa (DNU) (74/79 (93,6% versus 61/79 (77,2%)). Por lo tanto parece que el tratamiento secuencial puede mantener la tasa de curación $> 90\%$, incluso en los pacientes con DNU que presentan una peor respuesta al tratamiento. En un estudio posterior se demostró que el tratamiento secuencial no estaba afectado por características de la bacteria (Cag A positivo o negativo), resistencia a la claritromicina o por los factores previamente conocidos como factores “predictivos” de fracaso del tratamiento (tabaquismo y toma de dosis bajas de antiseoretos) (270). Del mismo grupo de investigadores surge un último estudio que intenta mejorar el coste terapéutico del tratamiento secuencial, disminuyendo la dosis de claritromicina de 500 mg/ 12 horas a 250 mg/12 horas, sin

encontrar diferencias significativas en cuanto a la tasa de erradicación ni a la curación endoscópica de las úlceras, manteniendo la tasa de curación en un 93% (271).

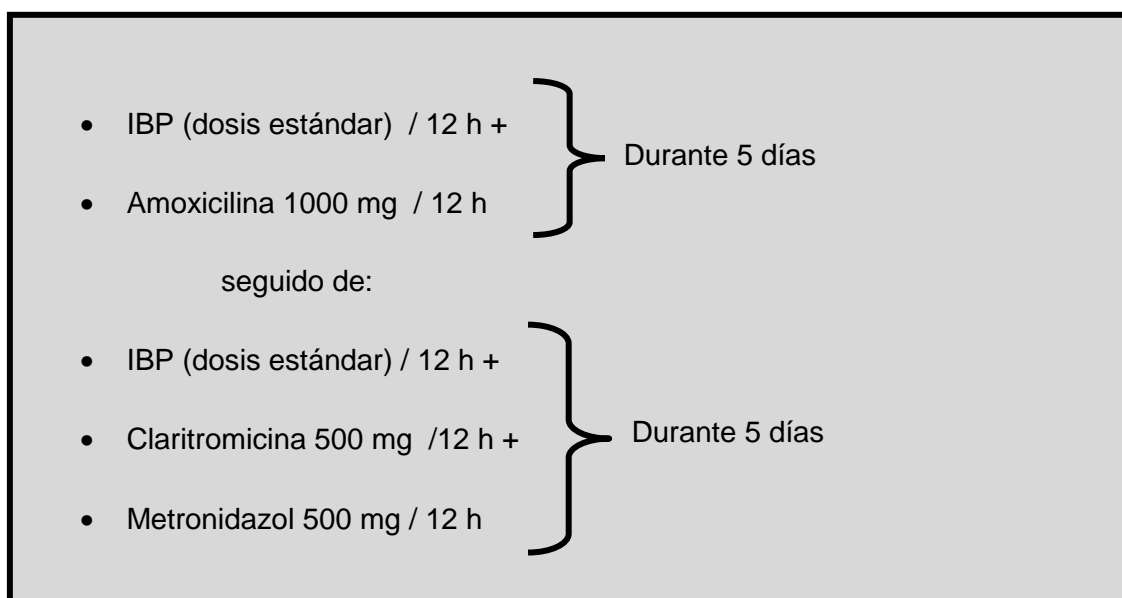
Se desconoce la razón por la que el tratamiento secuencial es tan efectivo. Una posibilidad es que el tratamiento doble con un IBP y amoxicilina erradique el *H. pylori* en un pequeño porcentaje de los pacientes infectados y, sobre todo, reduzca la carga bacteriana en los casos restantes. La amoxicilina fue elegida como tratamiento inicial porque la resistencia a este antibiótico es extremadamente rara, y se ha demostrado que los regímenes que contienen amoxicilina pueden prevenir la selección de resistencias a la claritromicina (272). Dicha reducción de la carga bacteriana puede mejorar la respuesta a la siguiente pauta corta de triple terapia disminuyendo la probabilidad de que persistan bacterias resistentes a claritromicina y metronidazol. De hecho, muchos estudios muestran que una carga bacteriana baja se asocia con una mayor tasa de erradicación (273,274). Este potencial mecanismo de acción sugiere que dicha pauta también podría ser útil para el tratamiento de los fracasos de la triple terapia. Una segunda posibilidad es que las tasas de curación sean superiores simplemente porque se utilizan tres antibióticos en lugar de dos.

Jafri et al realizaron un meta-análisis con todos los estudios controlados y randomizados que comparaban los dos esquemas terapéuticos como tratamiento de primera línea (275). Se recogieron 10 estudios con un total de 2.747 pacientes. La tasa de erradicación con el tratamiento secuencial fue del 93,4% (IC 95%, 91,3% -95,5%) y del 76,9% (IC 95% 71%-82,8%) para el tratamiento triple "clásico". No existieron diferencias en cuanto a la adherencia al tratamiento ni en cuanto a la aparición de efectos secundarios. A destacar que todos los estudios habían sido en Italia por el mismo grupo de investigadores.

Otro estudio realizado en un área con resistencia a la claritromicina mayor al 15% comparó la eficacia de 3 esquemas de tratamiento secuencial que contenían o claritromicina o una o dos dosis de levofloxacino (276). Los pacientes fueron asignados a uno de estos 3 regímenes: 1) Tratamiento secuencial con claritromicina 500 mg/12 h, omeprazol 20 mg/12 h y amoxicilina 1g/12 durante 5 días seguido de omeprazol 20 mg/12 h, claritromicina 500 mg/12 h y tinidazol 500 mg/12 h) durante 5 días más. 2) Tratamiento secuencial con levofloxacino 250 mg. (Omeprazol 20 mg/12 h y amoxicilina 1 g/12 h) durante 5 días seguido de (Omeprazol 20 mg/12 h, levofloxacino 250 mg/12 h y tinidazol 500 mg/12 h) durante 5 días más o 3) Tratamiento secuencial con 500 mg de levofloxacino: (Omeprazol 20 mg /12 h y amoxicilina 1 g/12 h) durante 5 días seguido de (Omeprazol 20 mg/12 h, levofloxacino

500 mg/12 h y tinidazol 500 mg/12 h durante 5 o más días). Las tasas de erradicación por intención de tratar fueron del 81 % con el tratamiento secuencial con claritromicina, 96% con el tratamiento secuencial con levofloxacino de 250 mg y del 97% con el tratamiento secuencial con levofloxacino 500 mg. No se encontraron diferencias en la prevalencia de resistencias microbianas ni en los efectos secundarios entre los grupos. El tratamiento secuencial con levofloxacino resultó coste-eficaz comparado con el tratamiento secuencial con claritromicina. Los autores concluyeron que el tratamiento secuencial con levofloxacino era más efectivo, igual de seguro y con menor coste en áreas con resistencia a la claritromicina mayor al 15 %.

Tabla 9. Esquema del tratamiento secuencial



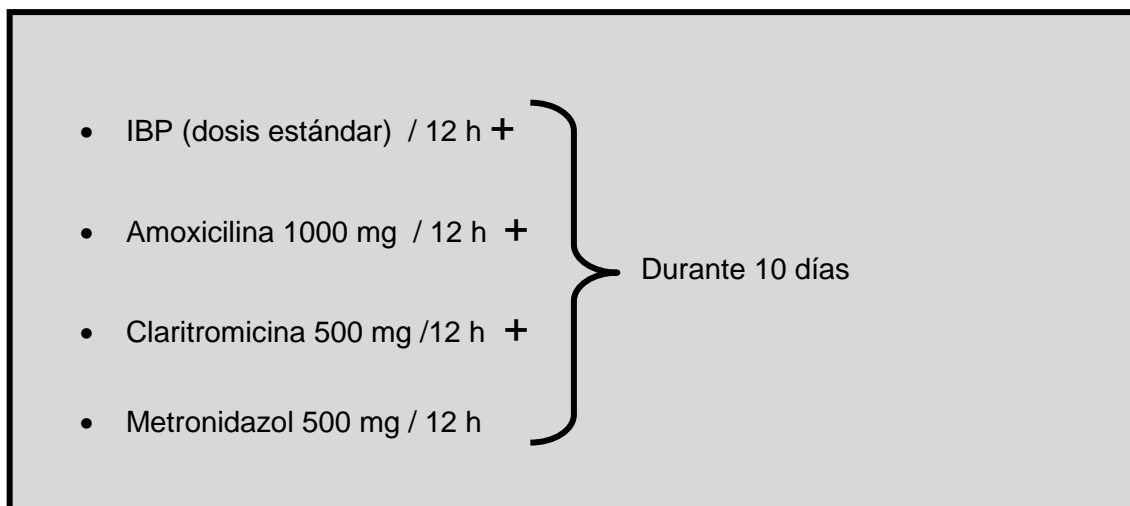
7.6.2 El tratamiento concomitante

El tratamiento concomitante nace de la idea de reducir la complejidad del tratamiento secuencial: Así, los pacientes tomarán los tres antibióticos durante los 10 días que dura el tratamiento (**Tabla 10**). En un metaanálisis se ha observado que el tratamiento concomitante presenta una tasa de erradicación por intención de tratar del 89,7%. La eficacia fue superior a la del tratamiento triple con una OR de 2,86 (277). Sin embargo, aunque pueden superar la resistencia a la claritromicina, ésta parece afectar la eficacia del tratamiento secuencial y de manera menos importante al tratamiento concomitante. También se ha sugerido que claritromicina y metronidazol no deberían

ser prescritos conjuntamente para erradicar *H. pylori* ya que, aquellos que fracasan tendrán resistencias simples o dobles (278).

Wu y col publicaron un estudio comparativo entre el tratamiento secuencial y el concomitante (279); El análisis por intención de tratar mostró unas tasas de erradicación similares para el tratamiento secuencial (92,3%; IC 95% 87,5%-97,1%) y tratamiento concomitante (93%; IC 95 % 88,3%-97%) ($p= 0,83$). Por protocolo las tasas de erradicación fueron del 93,1% vs 93,0% respectivamente ($p= 0,99$). El análisis univariante mostró que el cumplimiento y la resistencia a la claritromicina eran factores predictivos independientes para la erradicación. La resistencia doble no influyó en la tasa de erradicación en el grupo concomitante pero afectó de forma significativa al tratamiento secuencial.

Tabla 10. Esquema del tratamiento concomitante



7.6.3 Terapia triple con dosis altas de IBP, amoxicilina y metronidazol.

Una de las pautas triples utilizadas para erradicar *H. pylori* es aquella que utiliza el IBP con amoxicilina y metronidazol. Modificar esta pauta ya conocida y aumentar las dosis

de los antibióticos a una posología mayor y recomendada para el resto de infecciones se antoja como una medida potencialmente favorable para erradicar *H. pylori*.

La elección de amoxicilina y metronidazol para una nueva pauta está estratégicamente meditada.

La resistencia de *H. pylori* a la amoxicilina es excepcional (280,281). La amoxicilina, un antibiótico bactericida, inhibe la última fase de la síntesis de la pared bacteriana uniéndose a unas proteínas conocidas como PBPs ("penicillin-binding proteins"). La vida media de la amoxicilina es de una hora y el efecto bactericida es tiempo-dependiente. Por este motivo, amoxicilina administrada tres veces al día para maximizar el tiempo sobre la concentración mínima inhibitoria. Metronidazol actúa induciendo la ruptura de la doble cadena de ADN que finaliza en la muerte celular (282). La dosis recomendada en la mayoría de las enfermedades infecciosas es 7,5 mg/kg tres veces al día con una vida media en plasma de la molécula entre 7 y 10 horas. A diferencia de lo que ocurre con la amoxicilina, la resistencia de *H. pylori* a metronidazol está ampliamente extendida: las resistencias "in vivo" oscilan del 25% al 50% dependiendo del área (190,195,283). A pesar de esta alta tasa de resistencia "in vitro" metronidazol se prefiere para esta pauta erradicadora porque es el único entre los antibióticos más utilizados para *H. pylori* en el que la resistencia al antibiótico puede ser fácilmente superada aumentando la dosis y la duración del tratamiento e inhibiendo el ácido gástrico (198). Varios estudios muestran altas tasas de erradicación utilizando altas dosis y esquemas con tres administraciones al día con ambos, amoxicilina y metronidazol. En un estudio, la combinación de sucralfato 2 g dos veces/día, amoxicilina 750 mg tres veces/día y metronidazol 500 mg tres veces/día fue administrado a 77 pacientes con úlcera duodenal durante 12 días obteniendo un 82% de erradicación por protocolo (284). En otro estudio, 82 pacientes con úlcera péptica por *H. pylori* fueron tratados con una pauta de 14 días con IBP dos veces/día, amoxicilina 750 mg tres veces/día y metronidazol 400 mg tres veces/día. La tasa de erradicación fue del 84% por protocolo (285)

Bell y col. publicaron un estudio con 436 pacientes con úlcera péptica que fueron tratados con IBP dos veces/día, amoxicilina 500 mg tres veces/día y metronidazol 500 mg tres veces/día durante diferentes períodos: 308 pacientes recibieron este esquema durante 14 días, 80 pacientes durante 7 días y 48 recibieron IBP con amoxicilina durante 7 días pero metronidazol sólo durante 5 días. Pese a las relativas bajas dosis

de amoxicilina, las tasas de erradicación por protocolo fueron del 89,5%, 91,1% y 87,5% respectivamente (286).

En un estudio por nuestro grupo, 39 pacientes con úlcera péptica fueron tratados con omeprazol 20 mg dos veces/día junto con amoxicilina 1g y metronidazol 500 mg, ambos tres veces al día durante 14 días (287). Las tasas de erradicación por protocolo fueron del 95 % (IC95%: 81–99%).

Por otro lado, aumentando el pH intragástrico por encima de 6 o más, permite a la bacteria entrar en la fase de crecimiento siendo entonces más sensible a los antibióticos que únicamente son efectivos cuando las bacterias se están replicando (como la amoxicilina) (288,289). Además, suprimiendo la secreción ácida también se aumenta la concentración de antibiótico en el estómago y su efecto anti *H. pylori*. La importancia de alcanzar una adecuada inhibición ácida ha sido demostrada en recientes estudios. Sugimoto y col. analizaron el pH gástrico por 24 horas durante el tratamiento erradicador con lansoprazol, claritromicina y amoxicilina dos veces al día con dosis estándar (231). Las tasas de curación se relacionaron de forma directa al grado de inhibición ácida. De especial importancia resaltar que la infección fue curada en todos aquellos pacientes que alcanzaron un pH por debajo de 4 por más del 90% del tiempo, incluso en presencia de cepas resistentes a claritromicina. También se ha visto que la respuesta a los IBP está fuertemente determinada por la capacidad de los individuos de metabolizar este fármaco. Las personas con metabolización rápida requieren dosis mayores de IBP para controlar el pH gástrico de forma adecuada (290,291). En un meta-análisis publicado por Padol y col se demostró que se conseguían menores tasas de curación en metabolizadores rápidos de los IBP que en aquellos con metabolización lenta (230). La mayor eficacia del tratamiento erradicador cuando se utilizaban dosis altas de IBP quedó demostrada en un reciente meta-análisis de Villoria y col. Se recogieron estudios randomizados que comparaban dosis estándar de IBP con altas dosis de IBP, ambos dos veces al día en triple terapia (232). Todos los estudios combinaban un IBP, claritromicina y tanto amoxicilina como metronidazol. Los resultados mostraron que altas dosis de IBP eran más efectivas que dosis estándar para curar la infección por *H. pylori* en una terapia de 7 días. Los análisis de subgrupos mostraron que el mayor aumento de erradicación se observó

cuando el IBP comparado fue esomeprazol 40 mg vs omeprazol 20 mg o pantoprazol 40 mg. Esto puede ser debido a que el grado de inhibición ácida con la nueva generación de IBP como esomeprazol y rabeprazol es mucho más intensa que la que se consigue con los otros IBP (292).

7.7 Efectos secundarios

Durante el tratamiento erradicador son muy frecuentes los efectos secundarios leves: afortunadamente, pocas veces son suficientemente importantes como para que sea necesario interrumpir el tratamiento (189). Un metaanálisis de estudios controlados randomizados mostró que aproximadamente el 5% de los pacientes presentan efectos adversos significativos y éstos raramente causan la discontinuación del tratamiento (226).

Los efectos secundarios del bismuto, antagonistas de H₂ e IBP son raros.

Los efectos secundarios graves en los tratamientos erradicadores de *H. pylori* son excepcionales. En los regímenes que contienen claritromicina, es habitual la aparición de mal sabor de boca y la sensación de “boca urente”. También son frecuentes los síntomas dispépticos inespecíficos (náuseas, distensión abdominal, etc.). El síndrome diarreico es raro, generalmente leve y habitualmente cede cuando termina el tratamiento, aunque se ha descrito al menos un caso de colitis pseudomembranosa grave. Ocasionalmente puede producirse una candidiasis mucosa (oral, faringoesofágica o vaginal), que requerirá tratamiento antifúngico si no mejora cuando se suspenda el tratamiento. Las alergias a los fármacos son excepcionales si se excluye adecuadamente a los pacientes con alergias ya conocidas, especialmente a la penicilina. Metronidazol puede causar neuropatía periférica, epilepsia y una reacción tipo disulfiram cuando se mezcla con alcohol. Las tetraciclinas pueden provocar fotosensibilidad en algunos casos. No se puede administrar a niños o a embarazadas. La amoxicilina puede ocasionar diarreas o una reacción alérgica con rash cutáneo. Levofloxacino puede predisponer a convulsiones y en ocasiones tendinitis o ruptura de tendones en ancianos y en pacientes en tratamiento con corticosteroides.

Finalmente, y aunque no es propiamente un efecto secundario, es importante que los pacientes que reciban un régimen que contenga bismuto estén informados de que es muy frecuente la aparición de heces oscuras, incluso con coloración negruzca. Esto puede evitar alarmas injustificadas y consultas innecesarias a los servicios de urgencias, en especial en el caso de pacientes que han presentado previamente una hemorragia digestiva.

7.8 Los probióticos y la lactoferrina en los tratamientos de erradicación

Los probióticos son bacterias no patógenas que benefician al huésped alterando la composición de la microflora intestinal y evitando entre otros, uno de sus efectos secundarios más frecuentes; la diarrea. Como resultado puede ser de ayuda para mejorar la tolerancia y el cumplimiento del tratamiento erradicador (293-295). Dado que algunos probióticos tienen efecto antimicrobiano se han propuesto como tratamiento adyuvante para la erradicación de *H. pylori* pero no se deberían considerar como sustitutos del tratamiento estándar.

Saccharomyces boulardii es un probiótico que ha sido estudiado en el tratamiento de *H. pylori*. En un metaanálisis de 5 estudios controlados y randomizados con 1.307 pacientes, *Saccharomyces boulardii* administrado con la triple terapia aumentó las tasas de erradicación (RR 1,13) y disminuyó el riesgo de efectos secundarios relacionados (RR 0,46) (293).

La lactoferrina también se ha utilizado para mejorar el tratamiento de erradicación. Dos metaanálisis han obtenido similares resultados; lactoferrina aumenta la eficacia del tratamiento triple basado en claritromicina. No obstante, la poca calidad de algunos de los estudios y el pequeño número de centros implicados impiden que se aconsejen un uso generalizado (296,297).

7.9 Adherencia al tratamiento

Uno de los problemas más importantes en el tratamiento de la infección por *H. pylori* es la adherencia al mismo. Esta adherencia disminuye claramente con la complejidad del régimen. La terapia cuádruple requiere la toma de medicamentos cuatro veces al día y puede ocasionar confusiones dado que se combinan con los IBP que se han de tomar dos veces al día. Pese a esta teórica complejidad de los tratamientos

cuádruples, existen publicaciones que muestran una adherencia similar y alrededor del 81 % (198,298). También son pautas potencialmente difíciles el tratamiento secuencial y el concomitante. Esta complejidad debe de tenerse en cuenta cuando se propone un esquema terapéutico con múltiples comprimidos: los pacientes deben estar totalmente informados que el éxito o el fracaso del tratamiento dependerá en gran medida de la adherencia que tengan a él.

Se ha intentado mejorar el cumplimiento del tratamiento combinando los principios activos en una sola cápsula. Como comentamos anteriormente, en Estados Unidos la FDA (Food and Drug Administration) ha aprobado la combinación en una cápsula de 140 mg de subcitrato de bismuto, 125 mg de metronidazol y 125 de tetraciclina (Pylera™, Axcan ScandiPharm) (238).

7.10 Salud pública

Son indudables las grandes implicaciones sobre la salud pública que tiene la infección por *H. pylori*. Una infección que afecta a aproximadamente el 50 % de la población mundial y es responsable directa de la úlcera gastroduodenal, la dispepsia, el linfoma MALT y el cáncer de estómago debería ser un objetivo prioritario en todas las medidas de prevención. Actualmente, diferentes estudios pretenden valorar el efecto a medio y largo plazo del tratamiento de la infección tanto a nivel poblacional como del tratamiento selectivo en poblaciones de alto riesgo. En este sentido, se desarrolló en Dinamarca uno de los estudios más extensos incluyendo 12.530 pacientes de entre 40 y 64 años (299); Dichos pacientes fueron randomizados entre búsqueda y tratamiento de *H. pylori* o grupo control sin intervención. Se realizó un seguimiento de 5 años. La tasa de infección en el grupo donde se realizó la búsqueda fue muy baja, del 17,5%. Se observó una reducción del 33 % en la incidencia de úlcera péptica en el grupo de intervención respecto al grupo de no intervención. No se observaron diferencias en la calidad de vida.

Otro estudio examinó la relación coste-efectividad del tratamiento de *H. pylori* en pacientes infectados y en tratamiento continuo con un IBP (300). Tras 2 años de seguimiento, los pacientes *H. pylori* + que habían recibido tratamiento erradicador (n=93) había requerido menos prescripciones de IBP, menos consultas médicas, menos endoscopias y pruebas de imagen abdominales y habían presentado menos síntomas dispépticos que el grupo control (n=91). El promedio de ahorro por paciente durante los 2 años fue de 93 £.

Otros estudios evaluaron el coste-efectividad de la búsqueda y tratamiento de *H. pylori* para prevenir el cáncer gástrico en una zona de alto riesgo (301-305). También se ha demostrado en un estudio reciente que la erradicación de *H. pylori* en pacientes con lesiones premalignas podía prevenir su progression (306). En resumen, los análisis muestran que las estrategias utilizadas son coste-eficaces comparadas con la no intervención.

7.11 La reinfección tras el tratamiento

La reinfección por *H. pylori* es infrecuente (307). En las pocas ocasiones que esto ocurre podría deberse a dos situaciones; la persistencia de la infección o la verdadera reinfección.

En el caso de la persistencia la cepa original no desaparece totalmente y recoloniza el estómago a partir de un número muy pequeño de individuos que sobreviven al tratamiento de erradicación. A menudo, la recurrencia no se detecta hasta pasados varios meses. En la reinfección el paciente se infecta por una nueva cepa de *H. pylori*.

Los estudios epidemiológicos muestran que el bajo nivel socioeconómico y la mayor prevalencia de la infección en la población son factores de riesgo para la reinfección. En los países industrializados, el riesgo de reinfección se estima en un 3,4 % por paciente y año que aumenta a un 11,5 % en los países en vías de desarrollo (308).

Los estudios prospectivos muestran que los miembros de la familia no actúan como reservorio para la reinfección por lo que buscar y tratar sistemáticamente a los familiares asintomáticos para evitar la reinfección no está justificado (309-311). Dado que la tasa anual de reinfección es baja, al menos en los países industrializados, no es necesario realizar controles periódicos para detectar la recurrencia de la infección una vez se ha comprobado la erradicación.

B) OBJETIVOS DE LA TESIS

Los objetivos de esta tesis son;

Evaluar en condiciones de práctica clínica habitual, la eficacia y la seguridad de dos nuevas pautas terapéuticas para el tratamiento de *H. pylori* en pacientes no tratados previamente. Las pautas evaluadas han sido:

- **1) Un tratamiento secuencial durante 10 días.**
- **2) Una nueva pauta de tratamiento triple utilizando dosis altas de esomeprazol, amoxicilina y metronidazol durante 10 días.**

C) ARTÍCULOS

Artículo 1

Ten-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice

Jordi Sánchez-Delgado, Xavier Calvet, Luís Bujanda, Javier P. Gisbert, Llúcia Titó and Manuel Castro

American Journal Of Gastroenterology, 2008 Sep; 103(9):2220-3.

ORIGINAL CONTRIBUTIONS

Stomach

Ten-Day Sequential Treatment for *Helicobacter pylori* Eradication in Clinical Practice

Jordi Sánchez-Delgado, M.D.,^{1,2} Xavier Calvet, M.D.,^{1,2} Luis Bujanda, M.D.,^{2,3} Javier P. Gisbert, M.D.,^{2,4} Llúcia Titó, M.D.,⁵ and Manuel Castro, M.D.⁶

¹Hospital de Sabadell, Institut Universitari Parc Taulí, Departament de Medicina, UAB, Barcelona; ²Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD); ³Hospital Nuestra Señora de Aránzazu, San Sebastián; ⁴Hospital de la Princesa, Madrid; ⁵Hospital de l'Esperit Sant, Santa Coloma de Gramanet, Barcelona; and ⁶Hospital Nuestra Señora de Valme, Sevilla, Spain

BACKGROUND: Cure rates of *Helicobacter pylori* infection with standard triple therapy are disappointingly low. A very effective, new sequential treatment schedule has recently been described. However, all studies published to date were performed in Italy; it is mandatory to confirm these results in other settings.

AIM: To assess the cure rate and the acceptability of a new sequential treatment regimen through a pilot study.

METHODS: A hundred and thirty-nine patients (60% men, mean age 49.6 ± 15.7 yr) were recruited from six centers. *H. pylori* status was assessed by histology, urease test or urea breath test. Sequential regime consisted of a 10-day treatment including a proton pump inhibitor (PPI) b.d. plus amoxicillin 1 g b.d. for the first 5 days, followed by a PPI b.d. clarithromycin 500 mg b.d. and metronidazole 500 mg b.d. for the next 5 days. Eradication was determined 8 wk after the end of treatment by urea breath test or histology. Eradication rates were calculated both per protocol and by intention-to-treat.

RESULTS: Eradication was achieved in 117 out of 129 patients who returned for a follow-up test. The intention-to-treat eradication rate was thus 84.2% (95%CI: 77%–90%) and the per-protocol cure rate 90.7% (95%CI: 84%–95%). The treatment was well tolerated. Only 14 patients complained of mild side effects.

CONCLUSIONS: Sequential treatment seems highly effective for eradicating *H. pylori*.

(Am J Gastroenterol 2008;103:2220–2223)

INTRODUCTION

The standard and most recommended treatment for the eradication of *Helicobacter pylori*, in all international guidelines, is triple therapy, using the combination of two antibiotics (clarithromycin plus amoxicillin or metronidazole) and a proton pump inhibitor (PPI) for at least 7 days (1). Unfortunately, a recent meta-analysis including over 53,000 patients showed that the eradication rate after a standard triple treatment is currently below 80%, (2) meaning that eradication is not achieved in at least one out of five patients. Some European studies have reported even lower rates of eradication, with failure rates of 35–40% (3–6). The real benefit of a highly effective first-line therapy is much greater than the raw percentage data suggest. By improving the effectiveness of treatment, we reduce therapeutic failure, the need for new treatments, the use of a diagnostic test to confirm eradication and the loss of patients during follow up. Therefore, new strategies are required in order to improve first-line treatment.

One recent therapeutic innovation is sequential treatment, introduced in Italy around 7 yr ago. Strictly speaking, it is not a new approach, as it uses well-known drugs with approved indication for *H. pylori* eradication. However, the administration strategy is innovative and the sequential regimen has proved more effective than standard triple therapy administered either for 7 (7–10) or 10 days (10–12). The same authors showed that sequential treatment was not affected by the characteristic risk factors for triple therapy failure such as the absence of the gene Cag A or smoking (11). Cure rates were also similar for nonulcer dyspepsia and ulcer patients (13, 14). Clarithromycin resistance reduced sequential therapy efficacy although the decrease in eradication rates was far lower than in triple therapy (7, 12, 15). Furthermore, side effects were mild and infrequent, and not significantly different from those described with triple therapy.

So far, all the studies analyzing sequential therapy have been performed in Italy. Studies validating this strategy in different settings are mandatory before it can be widely recommended in clinical practice. We therefore decided to

evaluate the effectiveness of the sequential treatment in our area in a pilot study under clinical practice conditions, and to assess patients' adherence to this therapeutic regimen and its side effects profile.

MATERIALS AND METHODS

Patients with indication for *H. pylori* eradication at six different Spanish centers were considered for recruitment in the study. Exclusion criteria were: (a) use of antibiotics, bismuth salts or nonsteroidal anti-inflammatory drugs during the previous 4 wk; (b) previous gastric surgery; (c) severe systemic illness such as liver cirrhosis or kidney failure; (d) allergy to any of the antibiotics used in sequential therapy; (e) pregnancy; and (f) age lower than 18 yr. Written informed consent was obtained from all patients and the study protocol was approved by the ethics committees of the participating hospitals. *H. pylori* infection at entry was determined by at least one of the following tests: urea breath test, histology, rapid urease test, or culture (Table 1).

The sequential treatment consisted of a short, initial dual therapy of 5 days (PPI at standard dose and amoxicillin 1 gr., both twice a day), followed by triple therapy for 5 days with PPI; metronidazole 500 mg and clarithromycin 500 mg, all three twice a day. Patients were encouraged not to drink alcohol during treatment in order to avoid the possible side-effects of the interaction with metronidazole. Eradication was mainly evaluated with the urea breath test except for a few patients with gastric ulcer who underwent a second endoscopy to rule out gastric cancer. In this case, eradication was assessed by histology. The diagnostic test was performed at least 8 wk after completion of treatment. Therapy compliance and side-effects were assessed by personal interview after the end of antibiotic treatment.

Statistical Analysis

The overall eradication rates and their 95% confidence intervals were obtained by intention-to-treat and per protocol.

Table 1. Baseline Demographic and Clinical Characteristics of the Patients

	10-day Sequential Treatment (N = 139)
Median age (range)	49.8 ± 16
Sex (M/F)	60%/40%
Smoking habit	28%
Comorbidity	None 71% (HT N = 12;
Comorbidity	DM N = 9;DL N = 6)
PPI used	61.8% Omeprazole
Indication	
Noninvestigated dyspepsia	13 (9.4%)
Functional dyspepsia	34 (24.5%)
Gastric ulcer	27 (19.4%)
Duodenal ulcer	65 (46.7%)
Diagnosis	
Histology	63 (45.3%)
Rapid urease test	52 (37.4%)
Urea breath test	54 (38.8%)
Culture	5 (3.6%)

Quantitative variables were given as means ± SD. A univariate analysis including age (divided into quartiles), sex, smoking habit (active smoker vs nonsmoker), baseline disease (ulcer vs non ulcer), and PPI used in the eradication (omeprazole vs other) was performed. Variables achieving a *P*-value lower than 0.3 were included in a multivariate analysis performed by logistic regression. *P*-values lower than 0.05 were considered significant. Calculations were performed using the SPSS 14 software.

An expected intention-to-treat cure rate of 90% was assumed. A sample of 139 patients was necessary to obtain an estimation of the efficacy of the treatment with a ±5% error margin and a 95% confidence interval.

RESULTS

A hundred thirty-nine patients were included in the study. Demographic and clinical characteristics and the indications for eradication are shown in Table 1. The diagnosis of *H. pylori* infection was confirmed by at least one of the following: histology, rapid urease test, urea breath test, and culture. Many patients had more than one diagnostic test. Sixty per cent of the patients were men and mean age was 50 yr. The PPI most frequently used in sequential therapy was omeprazole (administered in 62% of cases).

Infection was eradicated in 117 of the 129 patients who returned for follow-up testing. The eradication rates achieved with the sequential treatment were 90.7% (95% CI 84%–95%) per protocol and 84.2% (95%CI: 77%–90%) in the intention-to-treat analysis. When factors that influence the efficacy of therapy were analyzed in a univariate analysis, neither the indication for treatment (80% ulcer vs 92% dyspepsia, *P* = 0.09) sex (88% cure in women vs 82% in men, *P* = 0.26), age (*P* = 0.8) nor the PPI used (84% omeprazole vs 84% other, *P* = 1) influenced eradication rates with sequential therapy. By contrast, a significant difference in eradication rates was observed according to the patient's smoking habit: 88% of nonsmokers were free of infection at the follow-up test compared with 74% of smokers (*P* = 0.05). Multivariate analysis was performed by including smoking habit, sex and indication for treatment. None of these variables reached statistical significance, although there was a clear trend towards lower cure rates in smokers (OR: 2.52, *P* = 0.053).

Over 95% of the patients reported 100% adherence to the treatment. No patients discontinued treatment due to adverse events. Only 14 patients (10.8%) presented minor to moderate side effects (five patients reported metallic taste, three patients diarrhea and two patients nausea) which had disappeared by the end of treatment.

DISCUSSION

There is a general consensus that more effective first-line treatment regimens for *H. pylori* are required in order to bring the eradication rate closer to 100%. Standard triple therapy

falls well short of this target, even when it is administered for 14 days (16). Our study confirms the previous studies' results suggesting that sequential therapy has high efficacy and is a suitable alternative to standard triple therapy.

The cure rates found in our study (90% per protocol and 83% by intention-to-treat) are slightly lower than those found in the two initial pilot studies that showed extremely high efficacy for the new treatment (eradication rates of 98% per protocol in both) (13, 14). Our results are, however, quite similar to those reported in more recent articles. In a prospective, randomized controlled trial including over a thousand patients, Zullo *et al.* (7) found eradication rates for the sequential regimen of 92% by intention-to-treat and 95% per protocol. In a double-blind, placebo-controlled trial, Vaira *et al.* (12) found corresponding rates of 89 and 93%. Finally, in a recent systematic review including over 1,800 patients (15), Zullo *et al.* assessed the current evidence on sequential treatment. Pooled data analysis showed an excellent intention-to-treat cure rate of 93.5%. Our slightly lower eradication results probably reflect the fact that our study was performed in clinical practice conditions in a relatively unselected population. In this setting, higher rates of drug noncompliance and dropout during follow-up are to be expected.

Sequential therapy has been shown to achieve better eradication rates than 7-day triple therapy. In Zullo *et al.*'s (7) study, cure rates were 95% versus 77% ($P < 0.0001$) per protocol and 92% versus 74% by intention-to-treat ($P < 0.0001$). Other randomized trials have reported better results with sequential therapy than with longer triple therapy schedules (11, 12), and similar results have been obtained in comparative studies in children and in the elderly (8, 9). Although our results do not allow direct comparison of the two treatments, the cure rates reported here were not clearly superior to those found in our setting in a recent randomized trial with ten days of triple therapy (17). Therefore, although sequential therapy shows promising results, a direct comparison with a randomized trial is mandatory to confirm its superiority over the current standard.

Another possible advantage of sequential treatment is that it is not affected by the risk factors associated with triple therapy failure, such as clarithromycin resistance, the absence of the CagA gene, smoking habit or the presence of nonulcer dyspepsia. Hassan *et al.* found that sequential therapy maintained a cure rate of 93% even after halving the dose of clarithromycin (18). Similarly, in our trial, we did not find differences depending on the indication of eradication (ulcer or dyspepsia). As the study was conducted in clinical practice conditions, we were unable to obtain gastric mucosa samples for culture or PCR determination of clarithromycin or metronidazole resistances. In our area, clarithromycin resistance has been reported to range from 9 to 12%, though recent population studies are lacking (19, 20). Nonetheless, the high eradication rate—nearly 91% per protocol—demonstrates the high efficacy of this scheme in an area of medium to high resistance rates such as Spain. In smokers, there was a

clear (though not significant) trend towards reduced efficacy. Statistical significance was not achieved, probably because of the small number of smokers. This result is in contrast with previously published data; however, as the number of patients was low, the data should be interpreted with caution and the finding should be explored further in future trials.

Sequential treatment seems to have at least the same efficacy as quadruple therapy or a 14-day triple therapy. In addition, sequential treatment shows neither the high rate of side effects and low compliance of quadruple therapy nor the reduced efficacy of triple therapy in clarithromycin-resistant strains. As stated, the real benefit of a highly effective first-line therapy is much greater than the raw percentage data suggest. By improving the effectiveness of treatment, we reduce therapeutic failure, the need for new treatments, and the use of diagnostic tests to confirm eradication and the loss of patients during follow-up. All these effects will probably lead to an increased cost-effectiveness.

In conclusion, sequential treatment may be a valid alternative to current first-line treatment for the eradication of *H. pylori*. It achieves high rates of eradication and is well tolerated. The advantages of this treatment over triple therapy should, however, be confirmed in randomized controlled trials in different settings before a generalized change is recommended in first line *H. pylori* treatment. In the meantime it appears well suited for use in settings where the efficacy of triple therapy is unacceptably low.

ACKNOWLEDGMENTS

We are indebted to Michael Maudsley for his help with the English. CIBEREHD is funded by the Instituto de Salud Carlos III.

STUDY HIGHLIGHTS

What Is Current Knowledge

- First-line *Helicobacter pylori* treatment with sequential therapy shows intention-to-treat cure rates over 90%.
- All studies to date come from the same cooperative group and geographical area.
- Thus, external validation is needed.

What Is New Here

- In this pilot study in clinical practice conditions, sequential therapy shows intention-to-treat cure and per protocol cure rates of 84 and 91%, respectively.
- These results are good but similar to those obtained in our area with 10-day triple therapy.
- This highlights the need of multinational comparative trials before setting sequential therapy as the new standard for first-line treatment of *H. pylori*.

Reprint requests and correspondence: Xavier Calvet, M.D., Ph.D., Unitat de Malalties Digestives, Hospital de Sabadell, Institut Universitari Parc Taulí, Departament de Medicina, UAB, CIBEREHD, Instituto de Salud Carlos III, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell, Barcelona.

Received December 23, 2007; accepted March 4, 2008.

REFERENCES

- Malfertheiner P, Megraud F, O'morain, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection—The Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007;56:772–81.
- Laheij RJ, Rossum LG, Jansen JB, et al. Evaluation of treatment regimens to cure *Helicobacter pylori* infection—A meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:857–64.
- Perri F, Villani MR, Festa V, et al. Predictors of failure of *Helicobacter pylori* eradication with the standard 'Maastricht triple therapy'. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1023–29.
- Bigard MA, Delchier JC, Riachi G, et al. One-week triple therapy using omeprazole, amoxicillin and clarithromycin for the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with non-ulcer dyspepsia: Influence of dosage of omeprazole and clarithromycin. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12:383–88.
- Calvet X, Ducons J, Guardiola J, et al. One-week triple versus quadruple therapy for *Helicobacter pylori* infection—A randomized trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1261–67.
- Deltenre M, Jonas C, van GM, et al. Omeprazole-based antimicrobial therapies: Results in 198 *Helicobacter pylori*-positive patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995;7(Suppl 1):S39-S44.
- Zullo A, Vaira D, Vakil N, et al. High eradication rates of *Helicobacter pylori* with a new sequential treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:719–26.
- Zullo A, Gatta L, De Francesco, et al. High rate of *Helicobacter pylori* eradication with sequential therapy in elderly patients with peptic ulcer: A prospective controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1419–24.
- Francavilla R, Lionetti E, Castellaneta SP, et al. Improved efficacy of 10-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in children: A randomized trial. *Gastroenterology* 2005;129:1414–19.
- Scaccianoce G, Hassan C, Panarese A, et al. *Helicobacter pylori* eradication with either 7-day or 10-day triple therapies, and with a 10-day sequential regimen. *Can J Gastroenterol* 2006;20:113–17.
- De Francesco, V, Zullo A, Margiotta M, et al. Sequential treatment for *Helicobacter pylori* does not share the risk factors of triple therapy failure. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:407–14.
- Vaira D, Zullo A, Vakil N, et al. Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for *Helicobacter pylori* eradication: A randomized trial. *Ann Intern Med* 2007;146:556–63.
- Zullo A, Rinaldi V, Winn S, et al. A new highly effective short-term therapy schedule for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:715–18.
- De Francesco, V, Zullo A, Hassan C, et al. Two new treatment regimens for *Helicobacter pylori* eradication: A randomised study. *Dig Liver Dis* 2001;33:676–79.
- Zullo A, De Francesco V, Hassan C et al. The sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* eradication: A pooled-data analysis. *Gut* 2007;56:1353–57.
- Calvet X, Garcia N, Lopez T, et al. A meta-analysis of short versus long therapy with a proton pump inhibitor, clarithromycin and either metronidazole or amoxicillin for treating *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:603–9.
- Calvet X, Ducons J, Bujanda L, et al. Seven versus ten days of rabeprazole triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: A multicenter randomized trial. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1696–701.
- Hassan C, De Francesco, V, Zullo A, et al. Sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in duodenal ulcer patients: Improving the cost of pharmacotherapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:641–46.
- Gomollón F, Santolaria S, Sicilia B, et al. *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin: Descriptive analysis 1997–2000. *Med Clin (Barc)* 2004;123:481–85.
- Cuchi BE, Forne BM, Quintana RS, et al. Evolution of the sensitivity of 235 strains of *Helicobacter pylori* from 1995 to 1998 and impact of antibiotic treatment. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002;20:157–60.

CONFLICT OF INTEREST

Guarantor of the article: Xavier Calvet

Specific author contributions: Study concept and design, data collection and analysis, writing the manuscript: Jordi Sánchez-Delgado, and Xavier Calvet; Acquisition of data: Jordi Sánchez-Delgado, Xavier Calvet, Luis Bujanda, Javier P. Gisbert, Lluçia Titó, and Manuel Castro; Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Javier P. Gisbert; Luis Bujanda, Lluçia Titó, and Manuel Castro; and Statistical analysis: Xavier Calvet.

Financial support: This study has been supported by grants from the Instituto de Salud Carlos III (PI 05/1157), from the Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca de la Generalitat de Catalunya (2005ACOM 00003), from the Societat Catalana de Digestologia and the Comitè de Recerca de la Corporació Parc Taulí. CIBEREHD is funded by the Instituto de Salud Carlos III.

Potential competing interests: None.

Artículo 2

High-dose, ten-day esomeprazole, amoxicillin and metronidazole triple therapy achieves high *H. pylori* eradication rates

J. Sánchez-Delgado, P. García-Iglesias, M. Castro-Fernández, F. Bory, M. Barenys, L. Bujanda, J. Lisozaín, M. M. Calvo, S. Torra, J. P. Gisbert & X. Calvet

Aliment Pharmacol Ther 2012, Julio 36 (2):190-6

High-dose, ten-day esomeprazole, amoxicillin and metronidazole triple therapy achieves high *Helicobacter pylori* eradication rates

J. Sánchez-Delgado^{*,†}, P. García-Iglesias^{*}, M. Castro-Fernández^{†,‡}, F. Bory[§], M. Barenys[¶], L. Bujanda^{†,**,†}, J. Lisozaín^{**}, M. M. Calvo^{††}, S. Torra^{‡‡}, J. P. Gisbert^{†,§§} & X. Calvet^{*,†}

^{*}Gastroenterology Unit, Hospital Parc Taulí, Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Sabadell, Barcelona, Spain.

[†]Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

[‡]Gastroenterology Unit, Hospital Ntra. Sra. de Valme, Sevilla, Spain.

[§]Gastroenterology Unit, Hospital del Mar, Barcelona, Spain.

[¶]Gastroenterology Unit, Hospital de Viladecans, Barcelona, Spain.

^{**}Gastroenterology Unit, Hospital de Donostia, University of Country Basque, San Sebastián, Guipúzcoa, Spain.

^{††}Gastroenterology Unit, Hospital de Mondragón, Guipúzcoa, Spain.

^{‡‡}Gastroenterology Unit, Parc Sanitari Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain.

^{§§}Hospital de la Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IP), Madrid, Spain.

Correspondence to:

Dr X. Calvet, Unitat de Malalties Digestives, Hospital de Sabadell, Departament de Medicina UAB, CIBERehd, Instituto de Salud Carlos III, Parc Taulí, s/n, 08208 Sabadell (Barcelona), Spain.
E-mail: xcalvet@tauli.cat

Publication data

Submitted 5 March 2012
First decision 15 March 2012
Resubmitted 25 April 2012
Accepted 25 April 2012
EV Pub Online 17 May 2012

SUMMARY

Background

Strong acid inhibition using esomeprazole increases cure rates with triple therapy and 10-day treatments are more effective than 7-day ones. The combination of amoxicillin plus metronidazole at full doses, and using a physiologically-correct schedule three times a day, and has been shown to overcome metronidazole resistance and to achieve good eradication rates.

Aims

To assess the eradication rate of a new first-line treatment regimen associating strong acid inhibition, amoxicillin and metronidazole and to evaluate tolerance.

Methods

Patients from eight hospitals were included. *Helicobacter pylori* status was assessed by at least one of the following: histology, culture, rapid urease test or urea breath test (UBT). Ten-day treatment was prescribed comprising esomeprazole 40 mg twice a day plus amoxicillin 1 g and metronidazole 500 mg both three times a day. *Helicobacter pylori* cure was assessed by UBT.

Results

A hundred and thirty-six patients were enrolled. Mean age was 52.6 ± 16 years and 59.6% of patients were men. Main indications for treatment were: uninvestigated dyspepsia (13.6%); functional dyspepsia (18.2%); gastric ulcer (21.8%); and duodenal ulcer (39.8%). *Helicobacter pylori* eradication was achieved in 112 of the 127 patients who returned for follow-up. Eradication rates were 82.4% (95% CI: 74.7–88.1) by intention-to-treat analysis and 88.2% (95% CI: 81.2–92.8) by per protocol. Treatment was well tolerated and no major side effects were reported. Nine patients complained of mild side effects.

Conclusions

Cure rates of the combination of esomeprazole, amoxicillin and metronidazole are high and the treatment was well tolerated. This pilot study warrants the comparison of this schedule with current standards.

Aliment Pharmacol Ther 2012; **36**: 190–196

INTRODUCTION

The standard, recommended first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection is triple therapy, using the combination of two antibiotics (clarithromycin plus either amoxicillin or metronidazole) and a proton pump inhibitor (PPI) for at least 7 days.¹ Currently, however, eradication rates with triple therapy are at the lowest levels seen in the past decade. As clarithromycin resistance is the strongest predictor of treatment failure, cure rates are likely to fall further as antimicrobial resistance becomes more prevalent worldwide. When the prevalence of clarithromycin resistance in the population reaches 15–20%, eradication rates of clarithromycin-containing triple therapy decrease below the recommended threshold of 80%.^{2, 3}

The current recommendations for first-line therapy in areas where triple therapy fails are either classical, quadruple therapy containing bismuth or quadruple therapies containing clarithromycin. Although superior to triple therapy, these approaches have clear shortcomings. ‘Classical’ bismuth-containing quadruple therapy combines a PPI twice a day, metronidazole three times a day and tetracycline and bismuth four times a day for 10–14 days: a complicated schedule requiring a large number of daily pills. A single-pill compound combining tetracycline, metronidazole and bismuth given every 6 hours has recently been shown to be superior to a 7-day standard triple therapy; however, although this single-pill compound probably facilitates adherence to treatment, the intention-to-treat cure rate was only 80%.⁴

Clarithromycin-containing quadruple therapies combine a PPI plus amoxicillin, metronidazole and clarithromycin: Sequential schedules consist of a PPI for 10 days plus amoxicillin for the first 5 days followed by five additional days of clarithromycin plus metronidazole, whereas ‘concomitant’ treatments give the PPI plus the three antibiotics for 10 days. Whatever the schedule, using clarithromycin in quadruple therapy to counteract increasing clarithromycin resistance does not seem a very reasonable approach. In fact, the usefulness of sequential quadruple therapy is reduced in patients harbouring clarithromycin-resistant strains.^{5, 6} In addition, the efficacy of sequential therapy has been reported to be low in some studies. For example, in a large, recent study in Latin America, 1416 *H. pylori*-infected patients were randomised to receive 14-day ‘classical’ triple therapy, 10-day sequential therapy or 5-day concomitant therapy; cure rates with triple therapy were superior to those of both competing treatments (82% vs. 77% vs. 74% respectively).⁷

In this context of increasing resistance rates and the lack of a defined standard for first-line *H. pylori* treatment, using a triple therapy with high doses of a PPI plus amoxicillin and metronidazole in a pharmacologically adequate schedule may be a useful alternative. The choice of amoxicillin and metronidazole in a setting of increasing antibiotic resistance is strategically sound: resistance to amoxicillin is extremely unusual, due to the need for more than one mutation in the bacteria genome.⁸ Previous studies have also demonstrated that metronidazole resistance can be overcome using high doses of this antibiotic for 10 days or more.^{9, 10}

The combination of a PPI, amoxicillin and metronidazole has not been widely used, possibly because of a feeling that its efficacy may be lower. The initial MACH studies showed it to be less effective than clarithromycin-containing triple therapy.¹¹ Subsequently, the efficacy of the amoxicillin–metronidazole combination in triple therapy was found to be similar or only slightly lower than clarithromycin-containing therapies.^{12, 13} A probable reason for the reduced efficacy of the amoxicillin–metronidazole combination is that the initial MACH studies and most of the later analysis scheduled these antibiotics twice a day, a dosage that is clearly inadequate in view of the short half-life of both drugs. In contrast, the few studies that used these drugs three times a day have shown notably higher cure rates.¹⁴

In addition to using an antibiotic combination that is efficacious in the setting of increasing resistances, a second useful measure for raising cure rates of *H. pylori* treatment is to increase the level of acid suppression. Maximum increase in eradication was observed with very strong acid inhibition: that is, when the PPI used was esomeprazole and this drug was given at a 40 mg dose twice a day.¹⁵

Finally, in addition to antibiotic resistances, poor adherence is the other important predictor of treatment failure.¹⁶ This is especially important in multi-drug *H. pylori* treatment. Although data on *H. pylori* treatment are scarce, reviews of antibiotic treatment show that once-a-day treatments have the best adherence rates, from 80% to nearly 100%. If a single daily dose is not feasible, twice-a-day and three times-a-day schedules achieve similar and reasonably good adherence rates of around 70%, especially when given with meals.¹⁷

To overcome the current low cure rates with triple therapy, we used a four-point strategy: (i) avoidance of

clarithromycin; (ii) use of metronidazole and amoxicillin in pharmacologically correct schedules; (iii) administration of drugs with meals in an attempt to improve adherence; and (iv) use of strong acid inhibition.

The aim of the present study was, thus, to evaluate the efficacy of a triple schedule combining esomeprazole 40 mg twice a day plus amoxicillin 1 g and metronidazole 500 mg three times a day, all given with meals over a 10-day period, as an empirical first-line approach for curing *H. pylori* infection.

METHODS

Patients with indication for *H. pylori* eradication at eight different Spanish centres were considered for recruitment in the study. Exclusion criteria were (i) previous *H. pylori* treatment; (ii) previous gastric surgery; (iii) severe systemic illness such as liver cirrhosis or kidney failure; (iv) allergy to any of the antibiotics used; (v) pregnancy; and (vi) age lower than 18 years.

All patients were included consecutively. The most frequent reason for exclusion was self-reported amoxicillin allergy. Written informed consent was obtained from all patients and the ethics committees of the participating hospitals approved the study protocol. Given the high prevalence of *H. pylori* in Spanish patients with dyspepsia (60%) or ulcer (more than 90%), the positive predictive value of a single test for *Hp* infection before treatment is very high. For this reason, *H. pylori* infection at entry was determined by one or more of the following positive tests: urea breath test (UBT), histology, rapid urease test or culture.

Treatment consisted of a 10-day therapy combining two antibiotics – metronidazole 500 mg t.d.s. and amoxicillin 1 g t.d.s. – plus strong acid inhibition with esomeprazole 40 mg b.d. Patients were encouraged not to drink alcohol during treatment to avoid the possible side effects of the interaction with metronidazole. Eradication was mainly evaluated with a UBT except for a few patients with gastric ulcer, who underwent a second endoscopy to rule out gastric cancer. In this case, eradication was assessed by histology. The diagnostic test was performed at least 8 weeks after completion of treatment. Although patients were allowed to use PPI in case of dyspepsia, they were instructed to avoid PPI for at least 2 weeks before the diagnostic test. Therapy compliance and adverse events were assessed by personal interview after the end of antibiotic treatment. We considered adherence as appropriate when the patient reported taking more than 80% of the tablets.

Statistical analysis

The overall eradication rates and their 95% CIs were obtained by intention-to-treat and per protocol. Quantitative variables were given as mean \pm s.d. A univariate analysis including age (divided into quartiles), gender, smoking habit (active smoker vs. non-smoker), comorbidity and indication for treatment (ulcer vs. non-ulcer) was performed using the χ^2 test or the Mann–Whitney U-test. Calculations were performed using the SPSS 18 software (IBM corporation, Chicago, IL, USA).

An expected intention-to-treat cure rate of 90% was assumed. A sample of 135 patients was necessary to obtain an estimation of the efficacy of the treatment with a \pm 5% error margin and a 95% CI.

RESULTS

A hundred and thirty-six patients were included in the study. Demographic and clinical characteristics and the indications for eradication are shown in Table 1. The diagnosis of *H. pylori* infection previous to treatment was confirmed by at least one of the following: histology, rapid urease test, UBT and culture. Many patients had more than one diagnostic test. Sixty per cent of the patients were men and mean age was 52.6 ± 16 years.

Indications for treatment were non-investigated dyspepsia (13.6%); functional dyspepsia (18.2%); gastric ulcer (21.8%); duodenal ulcer (39.8%); and erosive duodenitis (5.3%).

Table 1 | Baseline demographic and clinical characteristics of the patients (n = 136)

Age (median/range)	53 \pm 16
Female, n (%)	n = 53 (40%)
Smokers, n (%)	n = 39 (28.7%)
Comorbidity	
No	n = 83
Hypertension	n = 23
Diabetes mellitus	n = 10
Dyslipidaemia	n = 14
Ischaemic heart disease	n = 1
Others	n = 5
Indication	
Non-investigated dyspepsia	21 (13.6%)
Functional dyspepsia	25 (18.2%)
Gastric ulcer	29 (21.8%)
Duodenal ulcer	54 (39.8%)
Erosive duodenitis	7 (5.3%)
<i>H. pylori</i> diagnostic test	
Histology	63 (45.5%)
Rapid urease test	18 (13.2%)
Urea breath test	65 (47.8%)
Culture	7 (5.1%)

Helicobacter pylori infection was cured in 112 of the 127 patients who returned for follow-up. Eradication rates were 82.4% (95% CI: 74.7–88.1) by intention-to-treat analysis and 88.2% (95% CI: 81.2–92.8) per protocol (Figure 1). Factors influencing the efficacy of therapy were analysed; there were no statistical differences regarding indication for treatment, ulcer location, gender, age, smoking habit, or comorbidity (Table 2).

More than 95% of the patients reported complete adherence to treatment. The treatment was well tolerated: no major side effects were reported and no patient dropped out due to adverse events. Only nine patients (6.6%) presented minor-to-moderate side effects (six patients reported metallic taste, six mild diarrhoea and five occasional nausea). All side effects disappeared shortly after the end of treatment.

Results were homogeneous for all the participating hospitals; per-protocol cure rates ranged from 80% to 100%, and no significant differences in cure rates were found between the different centres.

DISCUSSION

The present pilot study shows that the triple therapy assessed here may represent a suitable alternative to current strategies for *H. pylori* empirical first-line treatment. The present schedule has shown a promising per-protocol cure rate of 88%, similar to the best figures reported for *H. pylori* treatment in our area. In fact, our cure rates are clearly superior to those reported in the recent study by Molina-Infante *et al.*¹⁸ for classical triple therapy (66% per-protocol cure rate) or for sequential quadruple therapy (81% per-protocol cure rate). Furthermore, cure rates with our triple therapy were similar to those obtained by Molina-Infante *et al.* with concomitant

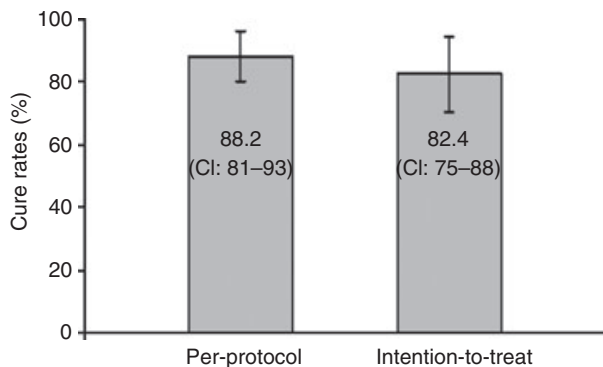


Figure 1 | Per-protocol and intention-to-treat cure rates for potent acid inhibition with amoxicillin and metronidazole.

Table 2 Cure rates		
	Eradication rate	P value
Intention-to-treat	82.4% (95% CI: 74.7–88.1)	
Per protocol	88.2% (95% CI: 81.2–92.8)	
Indication for treatment		
Ulcer	88.5%	
Dyspepsia	87.8%	0.57
Ulcer location		
Stomach	88.5%	
Duodenum	85.7%	0.52
Gender		
Women	84.6%	
Men	90.7%	0.29
Age (cured/not cured)	51.9 ± 16.2/55.1 ± 16.1	0.73
Smoking habit		
Smokers	86.8%	
Nonsmokers	89.5%	0.78
Comorbidity		
Yes	87.0%	
No	88.9%	0.74

quadruple therapy combining a PPI and amoxicillin, metronidazole and clarithromycin for 10 days: 86.4% (95% CI: 76–96) by intention-to-treat analysis and 87.6% (95% CI: 79–97) per protocol,¹⁹ and to the 93% per protocol, 80% intention-to-treat cure rates reported for classical quadruple therapy (PPI plus bismuth subcitrate potassium, metronidazole and tetracycline) recorded in a recent randomised European multicentre trial.⁴ Therefore, the triple therapy assessed here seems as effective as any of the quadruple therapies, but it is far simpler and cheaper, and does not include clarithromycin.

In our trial, we did not find differences depending on the indication of eradication (ulcer or dyspepsia), ulcer location, comorbidity, age or smoking habit. Furthermore, side effects were mild and infrequent: only nine patients (6.6%) presented with minor-to-moderate side effects (metallic taste, diarrhoea or nausea). Most patients completed the treatment despite these mild side effects and the symptoms resolved rapidly after the drugs were stopped. Adherence was very good and 95% of patients reported having completed the prescribed drugs.

The combination and dose of amoxicillin and metronidazole was strategically selected because it was likely to be useful in areas of high antibiotic resistance. *H. pylori* resistance to amoxicillin is exceptional.^{20, 21} Amoxicillin, a bactericidal antibiotic, inhibits the last stage of the synthesis of the bacterial wall joining to proteins known as PBPs (penicillin-binding proteins). Amoxicillin plasma half-life is about an hour and the bactericidal effect is time-dependent. For this reason, amoxicillin was given three times

daily to maximise the time above minimal inhibitory concentration. Metronidazole acts by inducing bactericidal DNA double-strand breakage, resulting in cell death.²² The recommended dosage for the majority of infectious diseases is 7.5 mg/kg three times a day with a plasma half-life of the molecule between seven and ten hours. In contrast to amoxicillin, *H. pylori* resistance to metronidazole is high worldwide: 'in vitro' resistance rates range from 25% to 50% depending on the area.^{3, 23–25} Despite this high rate of 'in vitro' resistance, metronidazole was chosen because it is unique among the commonly used antibiotics for *H. pylori*, in that resistance to this drug can be largely overcome by increasing the dose and duration of therapy and by inhibiting gastric acid.²

Several studies showed good eradication rates using high doses and three times-a-day schedules of both amoxicillin and metronidazole. In one study, the combination of sucralfate 2 g b.d., amoxicillin 750 mg t.d.s. and metronidazole 500 mg t.d.s. was administered to 77 chronic duodenal ulcer patients for 12 days, obtaining a 82% per-protocol eradication rate.²⁶ In another study, 82 patients with severe peptic ulcer disease and concurrent *H. pylori* infection were treated with a 2-week regimen of PPI b.d., amoxicillin 750 mg t.d.s. and metronidazole 400 t.d.s. The eradication rate was 84% per protocol,²⁷ and patients complained only of mild and transient adverse events. Bell *et al.* published a study of 436 patients with peptic ulcer who were treated with PPI b.d., amoxicillin 500 mg t.d.s. and metronidazole 500 mg t.d.s. during different time periods; 308 patients received this scheme for 14 days, 80 for 7 days and 48 received PPI and amoxicillin for 7 days, but metronidazole for only 5 days. Despite the relatively low doses of amoxicillin, per-protocol *H. pylori* infection cure rates were 89.5%, 91.1% and 87.5% respectively.²⁸ In a study by our group, 39 patients with peptic ulcer were treated using omeprazole 20 mg twice a day plus amoxicillin 1 g and metronidazole 500 mg, both three times a day, for 14 days.¹⁴ Per-protocol eradication rate was 95% (95% CI: 81–99%).

In addition, increasing the intragastric pH to 6 or more allows bacteria to enter the growth phase, thus becoming more sensitive to antibiotics, which are effective only against replicating bacteria such as amoxicillin.^{29, 30} Suppressing acid secretion also increases the concentration of antibiotics in the stomach and its anti-*H. pylori* effect.³¹ The importance of achieving adequate acid inhibition has been highlighted by recent studies. Sugimoto *et al.*³² analysed 24-h gastric pH during eradication therapy with lansoprazole, clarithromycin and amoxicillin twice daily at standard doses. Cure rates were closely related to the

degree of acid inhibition. Interestingly, the infection was cured in all patients who attained a pH above 4 for more than 90% of the time, even in the presence of clarithromycin-resistant strains. It has also been shown that response to PPI is strongly determined by the capacity of the individuals to metabolise the drug. Extensive PPI metabolisers require higher PPI doses to control gastric pH adequately.^{33, 34} A meta-analysis by Padol *et al.* showed that *H. pylori* treatment achieves lower cure rates in extensive metabolisers of PPI than in poor PPI metabolisers.³⁵ Finally, as we noted above, recent meta-analysis by Villoria *et al.*¹⁵ of randomised trials compared a standard dose of a PPI with high-dose PPI, both twice a day in triple therapy. All the studies combined a PPI, clarithromycin and either amoxicillin or metronidazole. The results showed that high doses of a PPI were more effective than standard doses for curing *H. pylori* infection in 7-day triple therapy. Subgroup analyses showed that the maximum increase was observed when the PPI compared was esomeprazole 40 mg vs. omeprazole 20 mg or pantoprazole 40 mg. This may be because the degree of acid inhibition with new generation PPIs such as esomeprazole and rabeprazole is far more intense than that in the remaining PPIs.^{36, 37}

This pilot study was designed to test the hypothesis that cure rates with esomeprazole, metronidazole and amoxicillin are above 90%, before engaging in a randomised trial. Although the cure rates were among the highest observed in our area, per-protocol cure rates were slightly below the desired figure of 90%.³⁸ We chose a 10-day therapy because this is currently the recommended duration of triple therapy in our area and because a 10-day schedule seemed enough to overcome metronidazole resistance in most cases. For these reasons, to improve cure rates further, future studies are needed to test longer durations of the present triple therapy. As many meta-analyses^{39–41} have shown, extending triple treatment duration to 14 days increases cure rates. In fact, in our previous study, we obtained a per-protocol cure rate of 96% with a similar 14-day therapy, even though we did not prescribe strong acid inhibition.¹⁴

The study was performed under clinical practice conditions, and antimicrobial resistance evaluation is not generally available, so pre-treatment antimicrobial resistance data were not obtained. Amoxicillin resistance is extremely unusual in western countries and so checking for resistance to this drug was probably unnecessary. As for metronidazole resistance, in Spain, it has been fairly stable in recent years, around 30%. Our results seem to confirm previous data suggesting that high-

dose metronidazole therapies given for more than 10 days could overcome 'in vitro' resistances. Furthermore, the fact that the study was performed at many different centres and under clinical practice conditions could have reduced, at least in part, the risk of overestimation of the efficacy of interventions that occurs in uncontrolled pilot studies.

Finally, the efficacy of the present triple therapy in the presence of high rates of clarithromycin or levo oxacin resistances is likely to be high. For this reason, we believe that the current schedule – ideally extended to 14 days – also merits evaluation as rescue therapy in cases where therapies containing clarithromycin and levo oxacin have already failed. As is well known, the rates of secondary resistances to these antibiotics after therapy failure may be as high as 80%.⁴²

In conclusion, this 10-day triple therapy combining esomeprazole with high-dose amoxicillin and metronidazole three times a day is well tolerated and seems highly effective in eradicating *H. pylori*. The present pilot study warrants the evaluation of 14-day treatments with this new schedule.

ACKNOWLEDGEMENTS

Declaration of personal interests: We thank Michael Maudsley for help with the English language and Albert Villoria for his critical review of the manuscript. Xavier Calvet has served as a speaker for AstraZeneca and Almirall-Prodesfarma, has participated in advisory boards for AstraZeneca and has received research funding support from AstraZeneca and Janssen-Cilag. *Declaration of funding interests:* None.

REFERENCES

- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, *et al.* Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; **56**: 772–81.
- Fischbach LA, van ZS, Dickason J. Meta-analysis: the efficacy, adverse events, and adherence related to first-line anti-*Helicobacter pylori* quadruple therapies. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; **20**: 1071–82.
- Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; **53**: 1374–84.
- Malfertheiner P, Bazzoli F, Delchier JC, *et al.* *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet* 2011; **377**: 905–13.
- Gisbert JP, Calvet X, O'Connor JP, *et al.* The sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* eradication. *Expert Opin Pharmacother* 2010; **11**: 905–18.
- Gisbert JP, Calvet X, O'Connor A, *et al.* Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a critical review. *J Clin Gastroenterol* 2010; **44**: 313–25.
- Greenberg ER, Anderson GL, Morgan DR, *et al.* 14-day triple, 5-day concomitant, and 10-day sequential therapies for *Helicobacter pylori* infection in seven Latin American sites: a randomised trial. *Lancet* 2011; **378**: 507–14.
- Megraud F, Trimoulet P, Lamouliatte H, *et al.* Bactericidal effect of amoxicillin on *Helicobacter pylori* in an *in vitro* model using epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; **35**: 869–72.
- van der Hulst RW, van der Ende A, Homan A, Roorda P, Dankert J, Tytgat GN. Influence of metronidazole resistance on efficacy of quadruple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 1998; **42**: 166–9.
- Graham DY, Osato MS, Hoffman J, *et al.* Metronidazole containing quadruple therapy for infection with metronidazole resistant *Helicobacter pylori*: a prospective study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; **14**: 745–50.
- Lind T, Van Veldhuizen ZS, 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.
- Sun WH, Ou XL, Cao DZ, *et al.* Efficacy of omeprazole and amoxicillin with either clarithromycin or metronidazole on eradication of *Helicobacter pylori* in Chinese peptic ulcer patients. *World J Gastroenterol* 2005; **11**: 2477–81.
- Schmid CH, Whiting G, Cory D, *et al.* Omeprazole plus antibiotics in the eradication of *Helicobacter pylori* infection: a meta-regression analysis of randomized, controlled trials. *Am J Ther* 1999; **6**: 25–36.
- Calvet X, Garcia N, Campo R, *et al.* Two-day quadruple therapy for cure of *Helicobacter pylori* infection: a comparative, randomized trial. *Am J Gastroenterol* 1998; **93**: 932–4.
- Villoria A, Garcia P, Calvet X, *et al.* Meta-analysis: high-dose proton pump inhibitors vs. standard dose in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; **28**: 868–77.
- Graham DY, Lew GM, Malaty HM, *et al.* Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. *Gastroenterology* 1992; **102**: 493–6.
- Kardas P. Patient compliance with antibiotic treatment for respiratory tract infections. *J Antimicrob Chemother* 2002; **49**: 897–903.
- Molina-Infante J, Perez-Gallardo B, Fernandez-Bermejo M, *et al.* Clinical trial: clarithromycin vs. levo oxacin in first-line triple and sequential regimens for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; **31**: 1077–84.
- Molina Infante J, Pazos PC, Pérez GB, *et al.* Eficacia del tratamiento empírico cuádruple "concomitante" para la infección por *H.pylori* en un área con una tasa elevada de resistencia a claritromicina. *Gastroenterología y Hepatología* 2011; **34**: 179.
- Megraud F, Lehn N, Lind T, *et al.* Antimicrobial susceptibility testing of

- Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; **43**: 2747–52.
21. De FV, Giorgio F, Hassan C, *et al.* Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. *J Gastrointest Liver Dis* 2010; **19**: 409–14.
22. Jenks PJ, Edwards DI. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents* 2002; **19**: 1–7.
23. Chisholm SA, Teare EL, Davies K, *et al.* Surveillance of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* at centres in England and Wales over a six-year period (2000–2005). *Euro Surveill* 2007; **12**: E3–4.
24. O'Connor A, Taneike I, Nami A, *et al.* *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in Ireland. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; **22**: 1123–7.
25. Hooton C, Dempsey C, Keohane J, *et al.* *Helicobacter pylori*: prevalence of antimicrobial resistance in clinical isolates. *Br J Biomed Sci* 2006; **63**: 113–6.
26. Stupnicki T, Taufer M, Denk H, *et al.* Triple therapy with sucralfate, amoxicillin and metronidazole for healing duodenal ulcer and eradicating *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; **10**: 193–7.
27. Strom M, Sorberg M, Jonsson KA. Immediate repeat course of amoxicillin, metronidazole and omeprazole to eradicate *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; **11**: 311–6.
28. Bell GD, Powell KU, Burridge SM, *et al.* Rapid eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; **9**: 41–6.
29. Scott DR, Weeks D, Hong C, *et al.* The role of internal urease in acid resistance of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998; **114**: 58–70.
30. Scott D, Weeks D, Melchers K, *et al.* The life and death of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1998; **43**(Suppl. 1): S56–60.
31. Furuta T, Futami H, Arai H, *et al.* Effects of lansoprazole with or without amoxicillin on ulcer healing: relation to eradication of *Helicobacter pylori*. *J Clin Gastroenterol* 1995; **20**(Suppl. 2): S107–11.
32. Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, *et al.* Evidence that the degree and duration of acid suppression are related to *Helicobacter pylori* eradication by triple therapy. *Helicobacter* 2007; **12**: 317–23.
33. Horai Y, Kimura M, Furuie H, *et al.* Pharmacodynamic effects and kinetic disposition of rabeprazole in relation to CYP2C19 genotypes. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; **15**: 793–803.
34. Hunfeld NG, Mathot RA, Touw DJ, *et al.* Effect of CYP2C19*2 and *17 mutations on pharmacodynamics and kinetics of proton pump inhibitors in Caucasians. *Br J Clin Pharmacol* 2008; **65**: 752–60.
35. Padol S, Yuan Y, Thabane M, *et al.* The effect of CYP2C19 polymorphisms on *H. pylori* eradication rate in dual and triple first-line PPI therapies: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2006; **101**: 1467–75.
36. Calvet X, Gomollon F. What is potent acid inhibition, and how can it be achieved? *Drugs* 2005; **65**(Suppl. 1): 13–23.
37. Kirchheiner J, Glatt S, Fuhr U, *et al.* Relative potency of proton-pump inhibitors-comparison of effects on intragastric pH. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; **65**: 19–31.
38. Graham DY, Fischbach L. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2010; **363**: 595–6.
39. Ford A, Moayyedi P. How can the current strategies for *Helicobacter pylori* eradication therapy be improved? *Can J Gastroenterol* 2003; **17**(Suppl. B): 36B–40B.
40. Calvet X, Garcia N, Lopez T, *et al.* A meta-analysis of short versus long therapy with a proton pump inhibitor, clarithromycin and either metronidazole or amoxicillin for treating *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; **14**: 603–9.
41. Fuccio L, Minardi ME, Zagari RM, *et al.* Meta-analysis: duration of first-line proton-pump inhibitor based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Ann Intern Med* 2007; **147**: 553–62.
42. Heep M, Kist M, Strobel S, *et al.* Secondary resistance among 554 isolates of *Helicobacter pylori* after failure of therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; **19**: 538–41.

D) DISCUSIÓN

Nuevas estrategias terapéuticas en la infección por *Helicobacter pylori*

Pocos descubrimientos médicos han supuesto una disminución tan importante en la morbimortalidad relacionada con una patología determinada. El descubrimiento de *H. pylori* ha supuesto cambios radicales en cuanto a la aproximación terapéutica en la úlcera péptica y otras patologías relacionadas; del tratamiento de los síntomas al tratamiento de la causa, de paliar el dolor a solucionar el motivo del mismo, de tratar las complicaciones derivadas de las úlceras y neoplasias gástricas a prevenir la aparición de éstas. Definitivamente el descubrimiento de *H. pylori* ha sido uno de los hallazgos más importantes del Siglo XX.

La evidencia científica acumulada en los últimos años ha sido mucha, en especial referente al tratamiento de la infección. Se ha pasado de pautas con antiácidos asociados a un antibiótico utilizados inicialmente a sofisticados esquemas terapéuticos con la combinación de potentes IBP y dos o tres antibióticos. El objetivo es claro, conseguir la mayor tasa de erradicación y, a ser posible, en el primer tratamiento indicado.

En esta búsqueda de nuevas opciones de tratamiento se sitúan los artículos presentados en esta tesis doctoral. Estos artículos reflejan nuestra inquietud y motivación para optimizar el manejo de la infección por *H. pylori*.

En el primer artículo “**Ten-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice**” se evalúa en la población española un nuevo esquema terapéutico descrito en Italia hace pocos años.

El tratamiento secuencial utiliza antibióticos con indicación aprobada para tratar *H. pylori* con un esquema de administración diferente. Consiste en una fase de “inducción” de 5 días con una terapia doble (un IBP dos veces al día y amoxicilina 1 g/12 horas), seguido inmediatamente por una terapia triple durante 5 días con IBP cada 12 horas; metronidazol 500 mg/12 horas y claritromicina 500 mg/12 horas. El objetivo principal del estudio fue evaluar, por primera vez en nuestro medio, la eficacia del tratamiento secuencial. Como objetivo secundario se valoró la tolerancia al mismo.

Se incluyeron ciento treinta y nueve pacientes y la infección fue erradicada en 117 de los 129 pacientes que regresaron para realizar el test de control. Las tasas de

erradicación conseguidas con el tratamiento secuencial fueron del 90,7 % (IC 95%: 84%–95%) por protocolo y del 84,2% (IC 95%: 77%–90%) en el análisis por intención de tratar. El 95 % de los pacientes refirió un 100% de adherencia al tratamiento. Ningún paciente abandonó el tratamiento por efectos adversos. Sólo 14 pacientes (10,8%) presentaron efectos secundarios leves que desaparecieron al finalizar el tratamiento.

El estudio confirma en nuestro medio los resultados de los estudios previos que muestran que el tratamiento secuencial es eficaz y puede ser una alternativa para la triple terapia clásica. Las tasas de erradicación (90% por protocolo y 83% por intención de tratar) son ligeramente inferiores a las reportadas en los estudios iniciales (268,312). Sin embargo, nuestros resultados son muy similares a otros artículos publicados más recientemente. En un estudio prospectivo, randomizado y controlado incluyendo más de mil pacientes, Zullo et al. (267) describieron tasas de erradicación con tratamiento secuencial del 92% por intención de tratar y del 95% por protocolo. En un estudio doble ciego y controlado con placebo, Vaira et al. (313) encontraron un 89% por intención de tratar y un 93 % por protocolo. En una revisión sistemática con más de 1.800 pacientes, Zullo et al. (314) confirmaron una alta eficacia del tratamiento secuencial con una tasa de erradicación del 93,5%. La tasa de curación observada en el presente estudio fue menor, probablemente debido al hecho de que el estudio se realizó en condiciones de práctica clínica en una población no seleccionada. En este contexto se pueden esperar mayores tasas de mal cumplimiento y abandonos durante el seguimiento, especialmente en pautas complejas como el tratamiento secuencial.

Una de las ventajas potenciales del tratamiento secuencial es que su eficacia se ve menos afectada por la resistencia bacteriana a la claritromicina (la más determinante para el éxito o fracaso del tratamiento) que las pautas triples. Tampoco se altera con otros factores que se han relacionado con el fallo de la triple terapia clásica, la ausencia del gen Cag A, el hábito tabáquico o la presencia de dispepsia no ulcerosa. En un estudio realizado por Hassan y col se demostró que, con la mitad de dosis de claritromicina, se mantenía una tasas de erradicación del 93% (271).

Dado que nuestro estudio se realizó en situación de práctica clínica habitual no se obtuvieron muestras de mucosa gástrica para cultivo o determinación de PCR para evaluar las resistencias a claritromicina o metronidazol. A pesar de que las

resistencias a la claritromicina en nuestra área son elevadas (entre el 9 y el 12 %) en nuestro estudio la tasa de erradicación por protocolo fue superior al 90%.

El tratamiento secuencial parece tener, al menos, la misma eficacia que la cuádruple terapia clásica o el tratamiento triple durante 14 días. Además, el tratamiento secuencial no presenta la alta tasa de efectos secundarios o mal cumplimiento que presenta el tratamiento cuádruple o la reducida eficacia del tratamiento triple en pacientes con cepas resistentes a claritromicina.

En el segundo artículo **“High-dose, ten-day esomeprazole, amoxicillin and metronidazol triple therapy achieves high Helicobacter pylori eradication rates”** evaluamos una nueva alternativa de tratamiento. Como se ha comentado, cuando la prevalencia de la resistencia a la claritromicina en una población alcanza el 15-20 % las tasas de erradicación con un tratamiento triple clásico disminuyen por debajo del 80 % (190). En áreas con baja eficacia local de la triple terapia, las recomendaciones actuales para el tratamiento de primera línea, son las clásicas pautas “cuádruples” que contienen bismuto o las que contienen claritromicina, amoxicilina y metronidazol. Se trata de unas pautas complicadas que requieren un gran número de comprimidos (315).

En este contexto de aumento progresivo de las resistencias y la consiguiente disminución de la eficacia del tratamiento estándar de primera línea, se planteó una nueva alternativa: utilizar una triple terapia con altas dosis de IBP con amoxicilina y metronidazol en un esquema de administración adecuado (con una posología recomendada en el resto de infecciones).

La elección de la amoxicilina y el metronidazol en un escenario de crecientes resistencias antibióticas está estratégicamente diseñada. La resistencia a la amoxicilina es extremadamente inusual debido a la necesidad de más de una mutación en el genoma bacteriano. Estudios realizados con anterioridad demuestran que la resistencia al metronidazol puede ser salvada utilizando altas dosis de antibióticos durante 10 o más días (199,200).

La combinación de un IBP, amoxicilina y metronidazol no ha sido utilizada de forma generalizada probablemente porque se percibía una eficacia menor a la triple terapia clásica. El estudio MACH mostró que las tasas de erradicación eran menores que los

tratamientos triples que contenían claritromicina (202). Una causa probable para esta menor efectividad era que las combinaciones con amoxicilina y metronidazol del estudio MACH y de muchos estudios posteriores (228,316-319) utilizaban estos antibióticos cada 12 horas, una dosificación que es claramente inadecuada en vista de la corta vida media de ambos antibióticos. En cambio, los pocos estudios que han evaluado estos fármacos tres veces al día han descrito una alta tasa de curación (287).

Otro método utilizado para aumentar las tasas de erradicación de *H. pylori* es aumentar el nivel de supresión ácida. El mayor aumento en la erradicación se ha observado con la inhibición ácida potente, esto es, cuando el IBP utilizado era esomeprazol y este IBP se administraba a dosis de 40 mg dos veces al día (232).

Finalmente, otro de los predictores de fracaso al tratamiento es la falta de adherencia al mismo. Esto es especialmente importante en los tratamientos de erradicación con múltiples fármacos. Aunque no disponemos de muchos estudios al respecto en el caso de *H. pylori*, las diferentes revisiones sobre los tratamientos antibióticos muestran que una posología de una vez al día tiene la mayor tasa de adherencia (del 80 al 100%). Si no es posible una dosis al día, la administración dos o tres veces al día consiguen una razonable buena adherencia con porcentajes del 70%, especialmente cuando se administra con las comidas (320).

Con todo lo comentado, para intentar aumentar las tasas de erradicación de *H. pylori* se utilizó una estrategia que se basó en 4 puntos: a) Evitar claritromicina; b) utilizar metronidazol y amoxicilina con una posología adecuada; c) administrar los fármacos con las comidas para aumentar la adherencia y d) utilizar inhibición ácida potente.

Por lo tanto, el objetivo de este segundo estudio fue evaluar en nuestro medio y en situación de práctica clínica habitual, la eficacia de una triple terapia combinando esomeprazol 40 mg dos veces al día con amoxicilina 1 g y metronidazol 500 mg ambos administrados tres veces al día junto a las comidas durante un período de 10 días.

Para ello, se realizó un estudio multicéntrico en ocho centros distintos. Se incluyeron 136 pacientes y la infección se curó en 112 de los 127 pacientes que regresaron para control del tratamiento. Las tasas de erradicación fueron del 82,4 % (IC 95%: 74,7–88,1) por intención de tratar y del 88,2% IC 95%: 81,2–92,8) por protocolo. No

encontramos diferencias estadísticamente significativas en relación a la indicación del tratamiento, la localización de la úlcera, el sexo, la edad, el hábito tabáquico o la comorbilidad.

El presente estudio muestra que la triple terapia utilizada en este estudio puede ser una buena alternativa para las estrategias actuales de erradicación de primera línea. Este estudio muestra una tasa de erradicación del 88%, similar a los mejores resultados reportados en el tratamiento de *H. pylori* en nuestra área. De hecho, nuestras tasas de erradicación son claramente superiores a aquellas descritas en el estudio reciente de Molina-Infante y col (321) para la triple terapia clásica (81% por protocolo). Además, las tasas de erradicación fueron similares a aquellas obtenidas por el mismo autor con tratamiento cuádruple concomitante combinando IBP con amoxicilina, metronidazol y claritromicina durante 10 días: 86,4% (IC 95%: 76–96) por intención de tratar y del 87,6% (IC 95% :79–97) por protocolo (322) y al obtenido por el cuádruple tratamiento clásico (IBP más subcitrato de bismuto, metronidazol y tetraciclina) reportado en un reciente estudio multicéntrico Europeo (93% por protocolo, 80% por intención de tratar) (238). Por lo tanto, la triple terapia con esomeprazol, amoxicilina y metronidazol durante 10 días presenta una serie de ventajas:

- 1) Es tan eficaz como cualquiera de las terapias cuádruples pero además es más simple, más barata y no incluye la claritromicina.
- 2) En nuestro estudio no hallamos diferencias de eficacia en relación a la indicación de la erradicación (úlcera vs dispepsia), localización de la úlcera, comorbilidad, edad o hábito tabáquico a diferencia de lo que sucede con la pauta triple de primera línea con un IBP, claritromicina y amoxicilina (203).
- 3) Los efectos secundarios fueron leves e infrecuentes: sólo 9 pacientes (6,6 %) presentaron efectos secundarios leves.
- 4) La adherencia al tratamiento fue muy alta y el 95% de los pacientes refirieron completar los fármacos prescritos.

Una vez más, este estudio fue realizado en condiciones de práctica clínica habitual donde las resistencias antibióticas no están normalmente disponibles por lo que no se obtuvieron resistencias antimicrobianas previas al tratamiento. Sin embargo, sí que se dispone de datos respecto a las tasas globales de resistencia. La resistencia a amoxicilina, como ya hemos comentado, es extremadamente inhabitual en los países occidentales y la búsqueda de resistencias a este antibiótico era, probablemente,

innecesaria. En cuanto a la resistencia a metronidazol en España, se ha mantenido estable en un 30% desde hace años. Nuestros resultados parecen confirmar, por tanto, los datos previos que sugieren que dosis altas de metronidazol administradas durante 10 o más días permiten superar las resistencias “in vitro”. Además, el hecho de que el estudio estuviera realizado en varios centros de la geografía española puede haber reducido, al menos en parte, el riesgo de sobreestimación de la eficacia de la intervención que normalmente ocurre en los estudios pilotos no controlados.

En definitiva, estas dos pautas de tratamiento se muestran como claras alternativas al tratamiento convencional cumpliendo con las directrices básicas antes comentadas: alta tasa de erradicación con mínimos efectos secundarios y con una correcta adherencia al tratamiento por parte del paciente.

E) CONCLUSIONES

**Las conclusiones de los artículos incluidos en esta tesis
doctoral son:**

-El tratamiento secuencial durante 10 días es eficaz para erradicar *H. pylori* en nuestro medio con unas tasas de curación por protocolo del 91%.

-A diferencia de los resultados publicados con el tratamiento triple estándar, el tratamiento secuencial muestra una eficacia similar en pacientes con úlcera péptica y con dispepsia funcional.

-El tratamiento secuencial presenta un buen perfil de tolerancia.

-El tratamiento triple con inhibición ácida potente junto con amoxicilina y metronidazol administrados tres veces al día es altamente eficaz para erradicar *H. pylori* en nuestro medio con unas tasas de curación por protocolo del 88,2%.

- Pese al aumento del número de comprimidos en relación al tratamiento triple estándar, los pacientes que reciben la terapia con amoxicilina y metronidazol a dosis altas presentan una buena adherencia al tratamiento.

- La incidencia de efectos secundarios presentados con esta nueva pauta es baja, posiblemente inferior a la del tratamiento triple estándar.

F) BIBLIOGRAFÍA

1. Warren JR. Gastric pathology associated with *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol.Clin.North Am.* 2000; 29: 705-751.
2. Figura N, Franceschi F, Santucci A, Bernardini G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2010; 15 Suppl 1: 60-68.
3. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-1275.
4. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315.
5. Solnick JV, Schauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin.Microbiol.Rev.* 2001; 14: 59-97.
6. Geis G, Suerbaum S, Forsthoff B, Leyer H, Opferkuch W. Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of *Helicobacter pylori*. *J.Med.Microbiol.* 1993; 38: 371-377.
7. Putsep K, Branden CI, Boman HG, Normark S. Antibacterial peptide from *H. pylori*. *Nature* 1999; 398: 671-672.
8. Aspinall GO, Monteiro MA. Lipopolysaccharides of *Helicobacter pylori* strains P466 and MO19: structures of the O antigen and core oligosaccharide regions. *Biochemistry* 1996; 35: 2498-2504.
9. Marshall BJ, Barrett LJ, Prakash C, McCallum RW, Guerrant RL. Urea protects *Helicobacter (Campylobacter) pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology* 1990; 99: 697-702.
10. Murakami M, Yoo JK, Teramura S, Yamamoto K, Saita H, Matuo K, Asada T, Kita T. Generation of ammonia and mucosal lesion formation following hydrolysis of urea by urease in the rat stomach. *J.Clin.Gastroenterol.* 1990; 12 Suppl 1: S104-S109.
11. Weeks DL, Eskandari S, Scott DR, Sachs G. A H⁺-gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization. *Science* 2000; 287: 482-485.
12. Leunk RD, Johnson PT, David BC, Kraft WG, Morgan DR. Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J.Med.Microbiol.* 1988; 26: 93-99.
13. Van Doorn LJ, Figueiredo C, Megraud F, Pena S, Midolo P, Queiroz DM, Carneiro F, Vanderborgh B, Pegado MD, Sanna R, De BW, Schneeberger PM, Correa P, Ng EK, Atherton J, Blaser MJ, Quint WG. Geographic distribution of *vacA* allelic types of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1999; 116: 823-830.
14. Argent RH, Thomas RJ, Letley DP, Rittig MG, Hardie KR, Atherton JC. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *CagA*. *J.Med.Microbiol.* 2008; 57: 145-150.

15. Odenbreit S, Puls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 2000; 287: 1497-1500.
16. Hu Z, Ajani JA, Wei Q. Molecular epidemiology of gastric cancer: current status and future prospects. *Gastrointest. Cancer Res.* 2007; 1: 12-19.
17. Ando T, Goto Y, Maeda O, Watanabe O, Ishiguro K, Goto H. Causal role of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12: 181-186.
18. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, Schiavon S, Guariso G, Ceroti M, Nitti D, Rugge M, Plebani M, Atherton JC. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology* 2008; 135: 91-99.
19. Megraud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbouri A, Hoa DQ. Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J. Clin. Microbiol.* 1989; 27: 1870-1873.
20. Malaty HM. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2007; 21: 205-214.
21. Banatvala N, Mayo K, Megraud F, Jennings R, Deeks JJ, Feldman RA. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *J. Infect. Dis.* 1993; 168: 219-221.
22. Malaty HM, El-Kasabany A, Graham DY, Miller CC, Reddy SG, Srinivasan SR, Yamaoka Y, Berenson GS. Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: a follow-up study from infancy to adulthood. *Lancet* 2002; 359: 931-935.
23. Sahay P, Axon AT. Reservoirs of *Helicobacter pylori* and modes of transmission. *Helicobacter.* 1996; 1: 175-182.
24. Xia HH, Talley NJ. Natural acquisition and spontaneous elimination of *Helicobacter pylori* infection: clinical implications. *Am. J. Gastroenterol.* 1997; 92: 1780-1787.
25. Parsonnet J, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Hargrett-Bean N, Tauxe RV. Symptoms and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of epidemiologists. *Gastroenterology* 1992; 102: 41-46.
26. Kuipers EJ, Pena AS, van KG, Uytterlinde AM, Pals G, Pels NF, Kurz-Pohlmann E, Meuwissen SG. Seroconversion for *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993; 342: 328-331.
27. Feldman RA, Eccersley AJ, Hardie JM. Epidemiology of *Helicobacter pylori*: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio. *Br. Med. Bull.* 1998; 54: 39-53.
28. Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1995; 9 Suppl 2: 33-39.
29. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiol. Rev.* 1991; 13: 42-59.

30. Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. The EUROGAST Study Group. *Gut* 1993; 34: 1672-1676.
31. Berkowicz J, Lee A. Person-to-person transmission of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1987; 2: 680-681.
32. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Jr., Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991; 100: 1495-1501.
33. Mones J, Martin-de-Argila C, Samitier RS, Gisbert JP, Sainz S, Boixeda D. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in medical professionals in Spain. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 1999; 11: 239-242.
34. Martin-de-Argila C, Boixeda D, Canton R, Mir N, de RL, Gisbert J, Arocena C, Garcia PA. *Helicobacter pylori* infection in a healthy population in Spain. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 1996; 8: 1165-1168.
35. Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, Bauer M, Appleman MD, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. *N.Engl.J.Med.* 1989; 321: 1562-1566.
36. Hook-Nikanne J. Effect of alcohol consumption on the risk of *Helicobacter pylori* infection. *Digestion* 1991; 50: 92-98.
37. Brenner H, Rothenbacher D, Bode G, Adler G. Relation of smoking and alcohol and coffee consumption to active *Helicobacter pylori* infection: cross sectional study. *BMJ* 1997; 315: 1489-1492.
38. Handt LK, Fox JG, Dewhirst FE, Fraser GJ, Paster BJ, Yan LL, Rozmiarek H, Rufo R, Stalis IH. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infect.Immun.* 1994; 62: 2367-2374.
39. Dubois A, Fiala N, Heman-Ackah LM, Drazek ES, Tarnawski A, Fishbein WN, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Natural gastric infection with *Helicobacter pylori* in monkeys: a model for spiral bacteria infection in humans. *Gastroenterology* 1994; 106: 1405-1417.
40. Hazell SL, Eichberg JW, Lee DR, Alpert L, Evans DG, Evans DJ, Jr., Graham DY. Selection of the chimpanzee over the baboon as a model for *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1992; 103: 848-854.
41. Dore MP, Sepulveda AR, Osato MS, Realdi G, Graham DY. *Helicobacter pylori* in sheep milk. *Lancet* 1999; 354: 132.
42. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2006; 103: 732-737.
43. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Backhed F, Nyren P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS.One.* 2008; 3: e2836.

44. Lu Y, Redlinger TE, Avitia R, Galindo A, Goodman K. Isolation and genotyping of *Helicobacter pylori* from untreated municipal wastewater. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68: 1436-1439.
45. Papiez D, Konturek PC, Bielanski W, Plonka M, Dobrzanska M, Kaminska A, Szczyrk U, Bochenek A, Wierzchos E. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Polish shepherds and their families. *Dig. Liver Dis.* 2003; 35: 10-15.
46. Fujimura S, Kawamura T, Kato S, Tateno H, Watanabe A. Detection of *Helicobacter pylori* in cow's milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 2002; 35: 504-507.
47. Oderda G, Vaira D, Holton J, Ainley C, Altare F, Boero M, Smith A, Ansaldi N. *Helicobacter pylori* in children with peptic ulcer and their families. *Dig. Dis. Sci.* 1991; 36: 572-576.
48. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. Gastrointestinal Physiology Working Group. *Lancet* 1991; 337: 1503-1506.
49. Hulten K, Han SW, Enroth H, Klein PD, Opekun AR, Gilman RH, Evans DG, Engstrand L, Graham DY, El-Zaatari FA. *Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru. *Gastroenterology* 1996; 110: 1031-1035.
50. Figura N. Mouth-to-mouth resuscitation and *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1996; 347: 1342.
51. Ferguson DA, Jr., Li C, Patel NR, Mayberry WR, Chi DS, Thomas E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31: 2802-2804.
52. Savoldi E, Marinone MG, Negrini R, Facchinetti D, Lanzini A, Sapelli PL. Absence of *Helicobacter pylori* in dental plaque determined by immunoperoxidase. *Helicobacter.* 1998; 3: 283-287.
53. Tytgat GN. Endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1995; 9 Suppl 2: 105-110.
54. Sobala GM, Crabtree JE, Dixon MF, Schorah CJ, Taylor JD, Rathbone BJ, Heatley RV, Axon AT. Acute *Helicobacter pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut* 1991; 32: 1415-1418.
55. Megraud F. *Helicobacter pylori*, l'inflammation gastrique et ses conséquences. *Ann. Pharm. Fr.* 2003; 61: 282-287.
56. Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479.
57. Mahadeva S, Goh KL. Epidemiology of functional dyspepsia: a global perspective. *World J. Gastroenterol.* 2006; 12: 2661-2666.
58. Caballero Plasencia AM, Sofos KS, Martin Ruiz JL, Valenzuela BM. La prevalencia de dyspepsia en Madrid. *Med. Clin. (Barc.)* 1994; 103: 717.

59. Ford AC, Marwaha A, Lim A, Moayyedi P. What is the prevalence of clinically significant endoscopic findings in subjects with dyspepsia? Systematic review and meta-analysis. *Clin.Gastroenterol.Hepatol.* 2010; 8: 830-7, 837.
60. Barenys M, Rota R, Moreno V, Villafafila R, Garcia-Bayo I, Abad A, Pons JM, Pique JM. Estudio prospectivo de un modelo clínico predictivo de dispepsia orgánica. *Med.Clin.(Barc.)* 2003; 121: 766-771.
61. Talley NJ, Silverstein MD, Agreus L, Nyren O, Sonnenberg A, Holtmann G. AGA technical review: evaluation of dyspepsia. American Gastroenterological Association. *Gastroenterology* 1998; 114: 582-595.
62. Kellow JE. Organic causes of dyspepsia, and discriminating functional from organic dyspepsia. *Baillieres Clin.Gastroenterol.* 1998; 12: 477-487.
63. Halder SL, Talley NJ. Functional Dyspepsia: A New Rome III Paradigm. *Curr.Treat.Options.Gastroenterol.* 2007; 10: 259-272.
64. Keohane J, Quigley EM. Functional dyspepsia: the role of visceral hypersensitivity in its pathogenesis. *World J.Gastroenterol.* 2006; 12: 2672-2676.
65. Lee KJ, Kindt S, Tack J. Pathophysiology of functional dyspepsia. *Best.Pract.Res.Clin.Gastroenterol.* 2004; 18: 707-716.
66. Mearin F, Perez-Oliveras M, Perello A, Vinyet J, Ibanez A, Coderch J, Perona M. Dyspepsia and irritable bowel syndrome after a Salmonella gastroenteritis outbreak: one-year follow-up cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 98-104.
67. Mizuta Y, Shikuwa S, Isomoto H, Mishima R, Akazawa Y, Masuda J, Omagari K, Takeshima F, Kohno S. Recent insights into digestive motility in functional dyspepsia. *J.Gastroenterol.* 2006; 41: 1025-1040.
68. Sarnelli G, Cuomo R, Janssens J, Tack J. Symptom patterns and pathophysiological mechanisms in dyspeptic patients with and without Helicobacter pylori. *Dig.Dis.Sci.* 2003; 48: 2229-2236.
69. Stanghellini V, Tosetti C, Paternico A, Barbara G, Morselli-Labate AM, Monetti N, Marengo M, Corinaldesi R. Risk indicators of delayed gastric emptying of solids in patients with functional dyspepsia. *Gastroenterology* 1996; 110: 1036-1042.
70. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390.
71. Moayyedi P, Soo S, Deeks J, Delaney B, Harris A, Innes M, Oakes R, Wilson S, Roalfe A, Bennett C, Forman D. Eradication of Helicobacter pylori for non-ulcer dyspepsia. *Cochrane.Database.Syst.Rev.* 2005; CD002096.
72. Gisbert JP, Pajares JM. Helicobacter pylori test-and-treat' strategy for dyspeptic patients. *Scand.J.Gastroenterol.* 1999; 34: 644-652.
73. Rabeneck L, Soucek J, Wristers K, Menke T, Ambriz E, Huang I, Wray N. A double blind, randomized, placebo-controlled trial of proton pump inhibitor therapy in patients with uninvestigated dyspepsia. *Am.J.Gastroenterol.* 2002;

- 97: 3045-3051.
74. Delaney B, Ford AC, Forman D, Moayyedi P, Qume M. Initial management strategies for dyspepsia. *Cochrane.Database.Syst.Rev.* 2005; CD001961.
 75. Gene E, Sanchez-Delgado J, Calvet X, Azagra R. Manejo de la infección por *Helicobacter pylori* en atención primaria en España. *Gastroenterol.Hepatol.* 2008; 31: 327-334.
 76. Ford AC, Qume M, Moayyedi P, Arents NL, Lassen AT, Logan RF, McColl KE, Myres P, Delaney BC. Helicobacter pylori "test and treat" or endoscopy for managing dyspepsia: an individual patient data meta-analysis. *Gastroenterology* 2005; 128: 1838-1844.
 77. Delaney BC, Qume M, Moayyedi P, Logan RF, Ford AC, Elliott C, McNulty C, Wilson S, Hobbs FD. Helicobacter pylori test and treat versus proton pump inhibitor in initial management of dyspepsia in primary care: multicentre randomised controlled trial (MRC-CUBE trial). *BMJ* 2008; 336: 651-654.
 78. Harvey RF, Lane JA, Nair P, Egger M, Harvey I, Donovan J, Murray L. Clinical trial: prolonged beneficial effect of Helicobacter pylori eradication on dyspepsia consultations - the Bristol Helicobacter Project. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2010; 32: 394-400.
 79. Selgrad M, Kandulski A, Malfertheiner P. Dyspepsia and Helicobacter pylori. *Dig.Dis.* 2008; 26: 210-214.
 80. Chiba N, van Zanten SJ, Sinclair P, Ferguson RA, Escobedo S, Grace E. Treating Helicobacter pylori infection in primary care patients with uninvestigated dyspepsia: the Canadian adult dyspepsia empiric treatment-Helicobacter pylori positive (CADET-Hp) randomised controlled trial. *BMJ* 2002; 324: 1012-1016.
 81. Gisbert JP, Badia X, Roset M, Pajares JM. The TETRA study: a prospective evaluation of Helicobacter pylori 'test-and-treat' strategy on 736 patients in clinical practice. *Helicobacter.* 2004; 9: 28-38.
 82. Gisbert JP, Calvet X, Bermejo F, Boixeda D, Bory F, Bujanda L, Castro-Fernandez M, Dominguez-Munoz E, Elizalde JI, Forne M, Gene E, Gomollon F, Lanas A, Martin dA, McNicholl AG, Mearin F, Molina-Infante J, Montoro M, Pajares JM, Perez-Aisa A, Perez-Trallero E, Sanchez-Delgado J. III Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol.Hepatol.* 2013; 36: 340-374.
 83. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El Omar EM, Kuipers EJ. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 2012; 61: 646-664.
 84. Moayyedi P, Axon AT. The usefulness of the likelihood ratio in the diagnosis of dyspepsia and gastroesophageal reflux disease. *Am.J.Gastroenterol.* 1999; 94: 3122-3125.
 85. Breslin NP, Thomson AB, Bailey RJ, Blustein PK, Meddings J, Lalor E, VanRosendaal GM, Verhoef MJ, Sutherland LR. Gastric cancer and other

- endoscopic diagnoses in patients with benign dyspepsia. *Gut* 2000; 46: 93-97.
86. Martin IG, Young S, Sue-Ling H, Johnston D. Delays in the diagnosis of oesophagogastric cancer: a consecutive case series. *BMJ* 1997; 314: 467-470.
 87. Heaney A, Collins JS, Tham TC, Watson PR, McFarland JR, Bamford KB. A prospective study of the management of the young *Helicobacter pylori* negative dyspeptic patient--can gastroscopies be saved in clinical practice? *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 1998; 10: 953-956.
 88. Canga C, III, Vakil N. Upper GI malignancy, uncomplicated dyspepsia, and the age threshold for early endoscopy. *Am.J.Gastroenterol.* 2002; 97: 600-603.
 89. Schlemper RJ, van der Werf SD, Biemond I, Lamers CB. Seroepidemiology of gastritis in Japanese and Dutch male employees with and without ulcer disease. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 1996; 8: 33-39.
 90. Marshall BJ, Goodwin CS, Warren JR, Murray R, Blincow ED, Blackbourn SJ, Phillips M, Waters TE, Sanderson CR. Prospective double-blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1988; 2: 1437-1442.
 91. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res.* 1988; 48: 3554-3560.
 92. Dixon MF. Prospects for intervention in gastric carcinogenesis: reversibility of gastric atrophy and intestinal metaplasia. *Gut* 2001; 49: 2-4.
 93. Sung JJ, Kuipers EJ, El-Serag HB. Systematic review: the global incidence and prevalence of peptic ulcer disease. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2009; 29: 938-946.
 94. Valkhoff VE, Van Soest EM, Sturkenboom MC, Kuipers EJ. Time-trends in gastroprotection with nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2010; 31: 1218-1228.
 95. Van Soest EM, Siersema PD, Dieleman JP, Sturkenboom MC, Kuipers EJ. Persistence and adherence to proton pump inhibitors in daily clinical practice. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2006; 24: 377-385.
 96. Lassen A, Hallas J, Schaffalitzky de Muckadell OB. Complicated and uncomplicated peptic ulcers in a Danish county 1993-2002: a population-based cohort study. *Am.J.Gastroenterol.* 2006; 101: 945-953.
 97. Kang JY, Elders A, Majeed A, Maxwell JD, Bardhan KD. Recent trends in hospital admissions and mortality rates for peptic ulcer in Scotland 1982-2002. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2006; 24: 65-79.
 98. Post PN, Kuipers EJ, Meijer GA. Declining incidence of peptic ulcer but not of its complications: a nation-wide study in The Netherlands. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2006; 23: 1587-1593.
 99. Hermansson M, Ekedahl A, Ranstam J, Zilling T. Decreasing incidence of peptic ulcer complications after the introduction of the proton pump inhibitors, a study of the Swedish population from 1974-2002. *BMC.Gastroenterol.* 2009; 9:

- 25.
100. Thomopoulos KC, Vagenas KA, Vagianos CE, Margaritis VG, Blikas AP, Katsakoulis EC, Nikolopoulou VN. Changes in aetiology and clinical outcome of acute upper gastrointestinal bleeding during the last 15 years. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 2004; 16: 177-182.
101. Barkun AN, Bardou M, Kuipers EJ, Sung J, Hunt RH, Martel M, Sinclair P. International consensus recommendations on the management of patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Ann.Intern.Med.* 2010; 152: 101-113.
102. Gisbert JP, Pajares JM. Helicobacter pylori and bleeding peptic ulcer: what is the prevalence of the infection in patients with this complication? *Scand.J.Gastroenterol.* 2003; 38: 2-9.
103. Gisbert JP, Abaira V. Accuracy of Helicobacter pylori diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis. *Am.J.Gastroenterol.* 2006; 101: 848-863.
104. Gisbert JP, Esteban C, Jimenez I, Moreno-Otero R, Pajares JM. C-13-urea breath test during hospitalization for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in peptic ulcer bleeding. *Helicobacter* 2006; 11: 382.
105. Sanchez-Delgado J, Gene E, Suarez D, Garcia-Iglesias P, Brullet E, Gallach M, Feu F, Gisbert JP, Calvet X. Has H. pylori prevalence in bleeding peptic ulcer been underestimated? A meta-regression. *Am.J.Gastroenterol.* 2011; 106: 398-405.
106. Huang JQ, Sridhar S, Hunt RH. Role of Helicobacter pylori infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis. *Lancet* 2002; 359: 14-22.
107. Hawkey CJ, Tulassay Z, Szczepanski L, van Rensburg CJ, Filipowicz-Sosnowska A, Lanas A, Wason CM, Peacock RA, Gillon KR. Randomised controlled trial of Helicobacter pylori eradication in patients on non-steroidal anti-inflammatory drugs: HELP NSAIDs study. Helicobacter Eradication for Lesion Prevention. *Lancet* 1998; 352: 1016-1021.
108. Chan FK, Chung SC, Suen BY, Lee YT, Leung WK, Leung VK, Wu JC, Lau JY, Hui Y, Lai MS, Chan HL, Sung JJ. Preventing recurrent upper gastrointestinal bleeding in patients with Helicobacter pylori infection who are taking low-dose aspirin or naproxen. *N.Engl.J.Med.* 2001; 344: 967-973.
109. Vergara M, Catalan M, Gisbert JP, Calvet X. Meta-analysis: role of Helicobacter pylori eradication in the prevention of peptic ulcer in NSAID users. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2005; 21: 1411-1418.
110. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, Hunt R, Rokkas T, Vakil N, Kuipers EJ. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-781.
111. Fletcher EH, Johnston DE, Fisher CR, Koerner RJ, Newton JL, Gray CS. Systematic review: Helicobacter pylori and the risk of upper gastrointestinal

- bleeding risk in patients taking aspirin. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2010; 32: 831-839.
112. Sung JJ, Chan FK, Chen M, Ching JY, Ho KY, Kachintorn U, Kim N, Lau JY, Menon J, Rani AA, Reddy N, Sollano J, Sugano K, Tsoi KK, Wu CY, Yeomans N, Vakil N, Goh KL. Asia-Pacific Working Group consensus on non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Gut* 2011; 60: 1170-1177.
 113. Stolte M, Eidt S. Healing gastric MALT lymphomas by eradicating H pylori? *Lancet* 1993; 342: 568.
 114. Fischbach W, Dragosics B, Kolve-Goebeler ME, Ohmann C, Greiner A, Yang Q, Bohm S, Verreet P, Horstmann O, Busch M, Duhmke E, Muller-Hermelink HK, Wilms K, Allinger S, Bauer P, Bauer S, Bender A, Brandstatter G, Chott A, Dittrich C, Erhart K, Eysselt D, Ellersdorfer H, Ferlitsch A, Fridrik MA, Gartner A, Hausmaninger M, Hinterberger W, Hugel K, Ilsinger P, Jonaus K, Judmaier G, Karner J, Kerstan E, Knoflach P, Lenz K, Kandutsch A, Lobmeyer M, Michlmeier H, Mach H, Marosi C, Ohlinger W, Oprean H, Pointer H, Pont J, Salabon H, Samec HJ, Ulsperger A, Wimmer A, Wewalka F. Primary gastric B-cell lymphoma: results of a prospective multicenter study. The German-Austrian Gastrointestinal Lymphoma Study Group. *Gastroenterology* 2000; 119: 1191-1202.
 115. Zullo A, Hassan C, Andriani A, Cristofari F, De F, V, Ierardi E, Tomao S, Morini S, Vaira D. Eradication therapy for Helicobacter pylori in patients with gastric MALT lymphoma: a pooled data analysis. *Am.J.Gastroenterol.* 2009; 104: 1932-1937.
 116. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J.Clin.* 2005; 55: 74-108.
 117. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2: 58-60.
 118. Watanabe T, Tada M, Nagai H, Sasaki S, Nakao M. Helicobacter pylori infection induces gastric cancer in mongolian gerbils. *Gastroenterology* 1998; 115: 642-648.
 119. Malfertheiner P, Sipponen P, Naumann M, Moayyedi P, Megraud F, Xiao SD, Sugano K, Nyren O. Helicobacter pylori eradication has the potential to prevent gastric cancer: a state-of-the-art critique. *Am.J.Gastroenterol.* 2005; 100: 2100-2115.
 120. Peek RM, Jr., Blaser MJ. Helicobacter pylori and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat.Rev.Cancer* 2002; 2: 28-37.
 121. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 2003; 125: 1636-1644.
 122. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, Herrera J, Lissowska J, Yuan CC, Rothman N, Lanyon G, Martin M, Fraumeni JF, Jr., Rabkin CS. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000; 404: 398-402.

123. Imsland AK, Eldon BJ, Arinbjarnarson S, Egilsson V, Tulinius H, Tryggvadottir L, Arngrimsson R, Magnusson J. Genetic epidemiologic aspects of gastric cancer in Iceland. *J.Am.Coll.Surg.* 2002; 195: 181-186.
124. Aragones N, Pollan M, Gustavsson P. Stomach cancer and occupation in Sweden: 1971-89. *Occup. Environ. Med.* 2002; 59: 329-337.
125. Moller H, Nissen A, Mosbech J. Use of cimetidine and other peptic ulcer drugs in Denmark 1977-1990 with analysis of the risk of gastric cancer among cimetidine users. *Gut* 1992; 33: 1166-1169.
126. Metz DC, Kroser JA. Helicobacter pylori and gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterol.Clin.North Am.* 1999; 28: 971-85, viii.
127. Schenk BE, Kuipers EJ, Nelis GF, Bloemena E, Thijs JC, Snel P, Luckers AE, Klinkenberg-Knol EC, Festen HP, Viergever PP, Lindeman J, Meuwissen SG. Effect of Helicobacter pylori eradication on chronic gastritis during omeprazole therapy. *Gut* 2000; 46: 615-621.
128. Chow WH, Blaser MJ, Blot WJ, Gammon MD, Vaughan TL, Risch HA, Perez-Perez GI, Schoenberg JB, Stanford JL, Rotterdam H, West AB, Fraumeni JF, Jr. An inverse relation between cagA+ strains of Helicobacter pylori infection and risk of esophageal and gastric cardia adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1998; 58: 588-590.
129. Harvey RF, Lane JA, Murray LJ, Harvey IM, Donovan JL, Nair P. Randomised controlled trial of effects of Helicobacter pylori infection and its eradication on heartburn and gastro-oesophageal reflux: Bristol helicobacter project. *BMJ* 2004; 328: 1417.
130. Choi JW. Sensitivity, specificity, and predictive value of serum soluble transferrin receptor at different stages of iron deficiency. *Ann.Clin.Lab Sci.* 2005; 35: 435-439.
131. Hershko C, Ronson A. Iron deficiency, Helicobacter infection and gastritis. *Acta Haematol.* 2009; 122: 97-102.
132. Treepongkaruna S, Sirachainan N, Kanjanapongkul S, Winaichatsak A, Sirithorn S, Sumritsopak R, Chuansumrit A. Absence of platelet recovery following Helicobacter pylori eradication in childhood chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a multi-center randomized controlled trial. *Pediatr.Blood Cancer* 2009; 53: 72-77.
133. Grimaz S, Damiani D, Brosolo P, Skert C, Geromin A, de PG. Resolution of thrombocytopenia after treatment for Helicobacter pylori: a case report. *Haematologica* 1999; 84: 283-284.
134. Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R, Landolfi R, Pola P, Gasbarrini G. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of Helicobacter pylori. *Lancet* 1998; 352: 878.
135. Emilia G, Longo G, Luppi M, Gandini G, Morselli M, Ferrara L, Amarri S, Cagossi K, Torelli G. Helicobacter pylori eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001; 97: 812-814.

136. Kodama M, Kitadai Y, Ito M, Kai H, Masuda H, Tanaka S, Yoshihara M, Fujimura K, Chayama K. Immune response to CagA protein is associated with improved platelet count after *Helicobacter pylori* eradication in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Helicobacter*. 2007; 12: 36-42.
137. Arnold DM, Bernotas A, Nazi I, Stasi R, Kuwana M, Liu Y, Kelton JG, Crowther MA. Platelet count response to *H. pylori* treatment in patients with immune thrombocytopenic purpura with and without *H. pylori* infection: a systematic review. *Haematologica* 2009; 94: 850-856.
138. Pellicano R, Franceschi F, Saracco G, Fagoonee S, Roccarina D, Gasbarrini A. Helicobacters and extragastric diseases. *Helicobacter*. 2009; 14 Suppl 1: 58-68.
139. Granstrom M, Lehours P, Bengtsson C, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2008; 13 Suppl 1: 7-12.
140. Breslin NP, O'Morain CA. Noninvasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a review. *Helicobacter*. 1997; 2: 111-117.
141. Gisbert JP. Revisión crítica de los métodos diagnósticos de infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol.Hepatol*. 2000; 23: 135-143.
142. Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter*. 2004; 9: 347-368.
143. Cohen H, Laine L. Endoscopic methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Aliment.Pharmacol.Ther*. 1997; 11 Suppl 1: 3-9.
144. Quine MA, Bell GD, McCloy RF, Charlton JE, Devlin HB, Hopkins A. Prospective audit of upper gastrointestinal endoscopy in two regions of England: safety, staffing, and sedation methods. *Gut* 1995; 36: 462-467.
145. Karnes WE, Jr., Samloff IM, Siurala M, Kekki M, Sipponen P, Kim SW, Walsh JH. Positive serum antibody and negative tissue staining for *Helicobacter pylori* in subjects with atrophic body gastritis. *Gastroenterology* 1991; 101: 167-174.
146. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am.J.Surg.Pathol*. 1996; 20: 1161-1181.
147. Rugge M, Genta RM. Staging and grading of chronic gastritis. *Hum.Pathol*. 2005; 36: 228-233.
148. Monteiro L, de MA, Sarrasqueta AM, Bergey B, Barberis C, Talby P, Roux D, Shouler L, Goldfain D, Lamouliatte H, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: noninvasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *Am.J.Gastroenterol*. 2001; 96: 353-358.
149. Tseng CA, Wang WM, Wu DC. Comparison of the clinical feasibility of three rapid urease tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig.Dis.Sci*. 2005; 50: 449-452.
150. Basset C, Holton J, Gatta L, Ricci C, Bernabucci V, Liuzzi G, Vaira D. *Helicobacter pylori* infection: anything new should we know?

- Aliment.Pharmacol.Ther.* 2004; 20 Suppl 2: 31-41.
151. Yoo JY, Kim N, Park YS, Hwang JH, Kim JW, Jeong SH, Lee HS, Choe C, Lee DH, Jung HC, Song IS. Detection rate of *Helicobacter pylori* against a background of atrophic gastritis and/or intestinal metaplasia. *J.Clin.Gastroenterol.* 2007; 41: 751-755.
 152. Goh KL, Cheah PL, Navaratnam P, Chin SC, Xiao SD. HUITAI rapid urease test: a new ultra-rapid biopsy urease test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J.Dig.Dis.* 2007; 8: 139-142.
 153. Goldie J, Veldhuyzen van Zanten SJ, Jalali S, Hollingsworth J, Riddell RH, Richardson H, Hunt RH. Optimization of a medium for the rapid urease test for detection of *Campylobacter pylori* in gastric antral biopsies. *J.Clin.Microbiol.* 1989; 27: 2080-2082.
 154. Dore MP, Leandro G, Realdi G, Sepulveda AR, Graham DY. Effect of pretreatment antibiotic resistance to metronidazole and clarithromycin on outcome of *Helicobacter pylori* therapy: a meta-analytical approach. *Dig.Dis.Sci.* 2000; 45: 68-76.
 155. Romano M, Marmo R, Cuomo A, De ST, Mucherino C, Iovene MR, Montella F, Tufano MA, Del Vecchio BC, Nardone G. Pretreatment antimicrobial susceptibility testing is cost saving in the eradication of *Helicobacter pylori*. *Clin.Gastroenterol.Hepatol.* 2003; 1: 273-278.
 156. Gisbert JP, Calvet X, Gomollon F, Mones J. Tratamiento erradicador de *Helicobacter pylori*. Recomendaciones de la II Conferencia Española de Consenso. *Med.Clin.(Barc.)* 2005; 125: 301-316.
 157. Fock KM, Katelaris P, Sugano K, Ang TL, Hunt R, Talley NJ, Lam SK, Xiao SD, Tan HJ, Wu CY, Jung HC, Hoang BH, Kachintorn U, Goh KL, Chiba T, Rani AA. Second Asia-Pacific Consensus Guidelines for *Helicobacter pylori* infection. *J.Gastroenterol.Hepatol.* 2009; 24: 1587-1600.
 158. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, Boutton TW. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. *Lancet* 1987; 1: 1174-1177.
 159. Logan RP. Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998; 43 Suppl 1: S47-S50.
 160. Savarino V, Vigneri S, Celle G. The 13C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45 Suppl 1: I18-I22.
 161. Dominguez-Munoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the 13C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 459-462.
 162. Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, Fennerty MB. Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. *Ann.Intern.Med.* 1998; 129: 547-550.
 163. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori*

- infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2002; 16: 167-180.
164. Leodolter A, Peitz U, Ebert MP, gha-Amiri K, Malfertheiner P. Comparison of two enzyme immunoassays for the assessment of *Helicobacter pylori* status in stool specimens after eradication therapy. *Am.J.Gastroenterol.* 2002; 97: 1682-1686.
 165. Parente F, Maconi G, Bianchi PG, Caselli M. Stool test with polyclonal antibodies for monitoring *Helicobacter pylori* eradication in adults: a critical reappraisal. *Scand.J.Gastroenterol.* 2002; 37: 747-749.
 166. Forne M, Dominguez J, Fernandez-Banares F, Lite J, Esteve M, Gali N, Espinos JC, Quintana S, Viver JM. 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: 2200-2205.
 167. Calvet X, Salceda F, Sanfeliu I, Montserrat A, Brullet E, Real J, Campo R, Navarro A. Evaluación de un Nuevo test rápido para la detección de *Helicobacter pylori* en heces. *Med.Clin.(Barc.)* 2002; 118: 126-129.
 168. Makristathis A, Barousch W, Pasching E, Binder C, Kuderna C, Apfalter P, Rotter ML, Hirschl AM. 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: 3710-3714.
 169. gha-Amiri K, Mainz D, Peitz U, Kahl S, Leodolter A, Malfertheiner P. Evaluation of an enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* antigens in human stool samples. *Z.Gastroenterol.* 1999; 37: 1145-1149.
 170. Chisholm SA, Watson CL, Teare EL, Saverymuttu S, Owen RJ. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? *J.Med.Microbiol.* 2004; 53: 623-627.
 171. Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, Gasbarrini G, O'Morain C, Garcia JM, Quina M, Tytgat GN. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. *Lancet* 1999; 354: 30-33.
 172. Calvet X, Lario S, Ramirez-Lazaro MJ, Montserrat A, Quesada M, Reeves L, Masters H, Suarez-Lamas D, Gallach M, Sanchez-Delgado J, Martinez-Bauer E, Miquel M, Junquera F, Sanfeliu I, Segura F. Comparative accuracy of 3 monoclonal stool tests for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection among patients with dyspepsia. *Clin.Infect.Dis.* 2010; 50: 323-328.
 173. Ruzsovcics A, Molnar B, Tulassay Z. Review article: Deoxyribonucleic acid-based diagnostic techniques to detect *Helicobacter pylori*. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2004; 19: 1137-1146.
 174. Camorlinga-Ponce M, Romo C, Gonzalez-Valencia G, Munoz O, Torres J. Topographical localisation of *cagA* positive and *cagA* negative *Helicobacter pylori* strains in the gastric mucosa; an in situ hybridisation study. *J.Clin.Pathol.*

- 2004; 57: 822-828.
175. Barrett DM, Faigel DO, Metz DC, Montone K, Furth EE. In situ hybridization for *Helicobacter pylori* in gastric mucosal biopsy specimens: quantitative evaluation of test performance in comparison with the CLOtest and thiazine stain. *J.Clin.Lab Anal.* 1997; 11: 374-379.
 176. Kobayashi D, Eishi Y, Ohkusa T, Ishige, Suzuki T, Minami J, Yamada T, Takizawa T, Koike M. Gastric mucosal density of *Helicobacter pylori* estimated by real-time PCR compared with results of urea breath test and histological grading. *J.Med.Microbiol.* 2002; 51: 305-311.
 177. Ueda H, Ito M, Eguchi H, Tanaka S, Yoshihara M, Haruma K, Hatakeyama M, Chayama K. Development of a novel method to detect *Helicobacter pylori* cagA genotype from paraffin-embedded materials: comparison between patients with duodenal ulcer and gastric cancer in young Japanese. *Digestion* 2006; 73: 47-53.
 178. Cellini L, Grande R, Di CE, Di BS, Capodicasa S, Marzio L. Analysis of genetic variability, antimicrobial susceptibility and virulence markers in *Helicobacter pylori* identified in Central Italy. *Scand.J.Gastroenterol.* 2006; 41: 280-287.
 179. van der Hulst RW, Rauws EA, Koycu B, Keller JJ, Bruno MJ, Tijssen JG, Tytgat GN. Prevention of ulcer recurrence after eradication of *Helicobacter pylori*: a prospective long-term follow-up study. *Gastroenterology* 1997; 113: 1082-1086.
 180. Graham DY, Lew GM, Klein PD, Evans DG, Evans DJ, Jr., Saeed ZA, Malaty HM. 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: 705-708.
 181. Forbes GM, Glaser ME, Cullen DJ, Warren JR, Christiansen KJ, Marshall BJ, Collins BJ. Duodenal ulcer treated with *Helicobacter pylori* eradication: seven-year follow-up. *Lancet* 1994; 343: 258-260.
 182. Sonnenberg A, Schwartz JS, Cutler AF, Vakil N, Bloom BS. Cost savings in duodenal ulcer therapy through *Helicobacter pylori* eradication compared with conventional therapies: results of a randomized, double-blind, multicenter trial. Gastrointestinal Utilization Trial Study Group. *Arch.Intern.Med.* 1998; 158: 852-860.
 183. Chiba N, Rao BV, Rademaker JW, Hunt RH. Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am.J.Gastroenterol.* 1992; 87: 1716-1727.
 184. Gisbert JP, Boixeda D, Martin de AC. Omeprazol y amoxicilina en el tratamiento erradicador de *Helicobacter pylori*. *Rev.Clin.Esp.* 1995; 195: 787-791.
 185. Chey WD, Wong BC. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am.J.Gastroenterol.* 2007; 102: 1808-1825.
 186. Laheij RJ, Rossum LG, Jansen JB, Straatman H, Verbeek AL. Evaluation of treatment regimens to cure *Helicobacter pylori* infection--a meta-analysis.

- Aliment.Pharmacol.Ther.* 1999; 13: 857-864.
187. McMahon BJ, Hennessy TW, Bensler JM, Bruden DL, Parkinson AJ, Morris JM, Reasonover AL, Hurlburt DA, Bruce MG, Sacco F, Butler JC. The relationship among previous antimicrobial use, antimicrobial resistance, and treatment outcomes for *Helicobacter pylori* infections. *Ann.Intern.Med.* 2003; 139: 463-469.
 188. van der Hulst RW, Keller JJ, Rauws EA, Tytgat GN. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: a review of the world literature. *Helicobacter.* 1996; 1: 6-19.
 189. Fischbach L, Evans EL. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2007; 26: 343-357.
 190. Megraud F. H pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-1384.
 191. Cuadrado-Lavin A, Salcines-Caviedes JR, Carrascosa MF, Mellado P, Monteagudo I, Llorca J, Cobo M, Campos MR, Ayestaran B, Fernandez-Pousa A, Gonzalez-Colominas E. Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* to six antibiotics currently used in Spain. *J.Antimicrob.Chemother.* 2012; 67: 170-173.
 192. De F, V, Margiotta M, Zullo A, Hassan C, Troiani L, Burattini O, Stella F, Di LA, Russo F, Marangi S, Monno R, Stoppino V, Morini S, Panella C, Ierardi E. Clarithromycin-resistant genotypes and eradication of *Helicobacter pylori*. *Ann.Intern.Med.* 2006; 144: 94-100.
 193. Houben MH, van de BD, Hensen EF, de Craen AJ, Rauws EA, Tytgat GN. A systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy--the impact of antimicrobial resistance on eradication rates. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1999; 13: 1047-1055.
 194. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, Lopez-Brea M, Hirschl AM, Andersen LP, Goossens H, Glupczynski Y. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut* 2013; 62: 34-42.
 195. O'connor A, Taneike I, Nami A, Fitzgerald N, Murphy P, Ryan B, O'connor H, Qasim A, Breslin N, O'Morain C. *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole and clarithromycin in Ireland. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 2010; 22: 1123-1127.
 196. Raymond J, Lamarque D, Kalach N, Chaussade S, Burucoa C. High level of antimicrobial resistance in French *Helicobacter pylori* isolates. *Helicobacter.* 2010; 15: 21-27.
 197. Chang WL, Sheu BS, Cheng HC, Yang YJ, Yang HB, Wu JJ. Resistance to metronidazole, clarithromycin and levofloxacin of *Helicobacter pylori* before and after clarithromycin-based therapy in Taiwan. *J.Gastroenterol.Hepatol.* 2009; 24: 1230-1235.
 198. Fischbach LA, van ZS, Dickason J. Meta-analysis: the efficacy, adverse events, and adherence related to first-line anti-*Helicobacter pylori* quadruple therapies.

- Aliment.Pharmacol.Ther.* 2004; 20: 1071-1082.
199. Graham DY, Osato MS, Hoffman J, Opekun AR, Anderson SY, Kwon DH, El-Zimaity HM. Metronidazole containing quadruple therapy for infection with metronidazole resistant *Helicobacter pylori*: a prospective study. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2000; 14: 745-750.
 200. van der Hulst RW, van Der EA, Homan A, Roorda P, Dankert J, Tytgat GN. Influence of metronidazole resistance on efficacy of quadruple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 1998; 42: 166-169.
 201. Megraud F, Trimoulet p, Lamouliatte H, Boyanova L. Bactericidal effect of amoxicillin on *Helicobacter pylori* in an in vitro model using epithelial cells. *Antimicrob.Agents Chemother.* 1991; 35: 869-872.
 202. Lind T, Veldhuyzen Van ZS, Unge P, Spiller R, Bayerdorffer E, O'Morain C, Bardhan KD, Bradette M, Chiba N, Wrangstadh M, Cederberg C, Idstrom JP. Eradication of *Helicobacter pylori* using one-week triple therapies combining omeprazole with two antimicrobials: the MACH I Study. *Helicobacter.* 1996; 1: 138-144.
 203. Calvet X, Ducons J, Bujanda L, Bory F, Montserrat A, Gisbert JP. Seven versus ten days of rabeprazole triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a multicenter randomized trial. *Am.J.Gastroenterol.* 2005; 100: 1696-1701.
 204. Treiber G, Ammon S, Malfertheiner P, Klotz U. Impact of furazolidone-based quadruple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* after previous treatment failures. *Helicobacter.* 2002; 7: 225-231.
 205. Perri F, Villani MR, Festa V, Quitadamo M, Andriulli A. Predictors of failure of *Helicobacter pylori* eradication with the standard 'Maastricht triple therapy'. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2001; 15: 1023-1029.
 206. Bigard MA, Delchier JC, Riachi G, Thibault P, Barthelemy P. One-week triple therapy using omeprazole, amoxycillin and clarithromycin for the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with non-ulcer dyspepsia: influence of dosage of omeprazole and clarithromycin. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1998; 12: 383-388.
 207. Lee JM, Breslin NP, Hyde DK, Buckley MJ, O'Morain CA. Treatment options for *Helicobacter pylori* infection when proton pump inhibitor-based triple therapy fails in clinical practice. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1999; 13: 489-496.
 208. Calvet X, Ducons J, Guardiola J, Tito L, Andreu V, Bory F, Guirao R. One-week triple vs. quadruple therapy for *Helicobacter pylori* infection - a randomized trial. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2002; 16: 1261-1267.
 209. Altintas E, Sezgin O, Ulu O, Aydin O, Camdeviren H. Maastricht II treatment scheme and efficacy of different proton pump inhibitors in eradicating *Helicobacter pylori*. *World J.Gastroenterol.* 2004; 10: 1656-1658.
 210. Gumurdulu Y, Serin E, Ozer B, Kayaselcuk F, Ozsahin K, Cosar AM, Gursoy M, Gur G, Yilmaz U, Boyacioglu S. Low eradication rate of *Helicobacter pylori* with triple 7-14 days and quadruple therapy in Turkey. *World J.Gastroenterol.* 2004; 10: 668-671.

211. Ducons JA, Santolaria S, Guirao R, Ferrero M, Montoro M, Gomollon F. Impact of clarithromycin resistance on the effectiveness of a regimen for *Helicobacter pylori*: a prospective study of 1-week lansoprazole, amoxicillin and clarithromycin in active peptic ulcer. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1999; 13: 775-780.
212. Pilotto A, Leandro G, Franceschi M, Rasso M, Bozzola L, Furlan F, Di MF, Valerio G. The effect of antibiotic resistance on the outcome of three 1-week triple therapies against *Helicobacter pylori*. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1999; 13: 667-673.
213. Megraud F, Lamouliatte H. Review article: the treatment of refractory *Helicobacter pylori* infection. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2003; 17: 1333-1343.
214. Cuchi BE, Forne BM, Quintana RS, Lite LJ, Garau AJ. Evolución de la sensibilidad de 235 cepas de *Helicobacter pylori* entre 1995 y 1998 e impacto del tratamiento antibiótico. *Enferm.Infecc.Microbiol.Clin.* 2002; 20: 157-160.
215. Rojas FM, Suarez Barrenechea AI, Conejo GC, Hergueta DP, Romero CR, Herrerias Gutierrez JM. Resistance of *Helicobacter pylori* to antimicrobial treatment in a Seville hospital catchment area. *Rev.Esp.Enferm.Dig.* 2000; 92: 793-798.
216. Diaz-Reganon J, Alarcon T, Domingo D, Lopez-Brea M. Sensibilidad de 36 aislamientos de *Helicobacter pylori* a cuatro antibióticos de primera línea y características de virulencia. *Rev.Esp.Quimioter.* 2006; 19: 34-38.
217. Agudo S, Alarcon T, Cibrelus L, Urruzuno P, Martinez MJ, Lopez-Brea M. Alto porcentaje de Resistencia a claritromicina y metronidazol en aislamientos clínicos de *Helicobacter pylori* procedentes de pacientes pediátricos. *Rev.Esp.Quimioter.* 2009; 22: 88-92.
218. Alarcon T, Vega AE, Domingo D, Martinez MJ, Lopez-Brea M. Clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* strains isolated from children: prevalence and study of mechanism of resistance by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis. *J.Clin.Microbiol.* 2003; 41: 486-499.
219. Megraud F. Epidemiology and mechanism of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998; 115: 1278-1282.
220. Cars O, Molstad S, Melander A. Variation in antibiotic use in the European Union. *Lancet* 2001; 357: 1851-1853.
221. Huang JQ, Zheng GF, Hunt RH, Wong WM, Lam SK, Karlberg J, Wong BC. Do patients with non-ulcer dyspepsia respond differently to *Helicobacter pylori* eradication treatments from those with peptic ulcer disease? A systematic review. *World J.Gastroenterol.* 2005; 11: 2726-2732.
222. Chung SJ, Lee DH, Kim N, Jung SH, Kim JW, Hwang JH, Park YS, Lee KH, Jung HC, Song IS. Eradication rates of *Helicobacter pylori* infection with second-line treatment: non-ulcer dyspepsia compared to peptic ulcer disease. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1293-1296.
223. Broutet N, Tchamgoue S, Pereira E, Lamouliatte H, Salamon R, Megraud F. Risk factors for failure of *Helicobacter pylori* therapy--results of an individual

- data analysis of 2751 patients. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2003; 17: 99-109.
224. Vakil N, Fennerty MB. Cost-effectiveness of treatment regimens for the eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer. *Am.J.Gastroenterol.* 1996; 91: 239-245.
225. Rudi J, Reuther S, Sieg A, Hoerner M, Stremmel W. Relevance of underlying disease and bacterial *vacA* and *cagA* status on the efficacy of *Helicobacter pylori* eradication. *Digestion* 2002; 65: 11-15.
226. Fuccio L, Minardi ME, Zagari RM, Grilli D, Magrini N, Bazzoli F. Meta-analysis: duration of first-line proton-pump inhibitor based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Ann.Intern.Med.* 2007; 147: 553-562.
227. Vergara M, Vallve M, Gisbert JP, Calvet X. Meta-analysis: comparative efficacy of different proton-pump inhibitors in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2003; 18: 647-654.
228. Murakami K, Okimoto T, Kodama M, Sato R, Miyajima H, Ono M, Inoue K, Watanabe K, Otsu S, Fujioka T. Comparison of amoxicillin-metronidazole plus famotidine or lansoprazole for amoxicillin-clarithromycin-proton pump inhibitor treatment failures for *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2006; 11: 436-440.
229. Gisbert JP, Khorrami S, Calvet X, Gabriel R, Carballo F, Pajares JM. Meta-analysis: proton pump inhibitors vs. H2-receptor antagonists--their efficacy with antibiotics in *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2003; 18: 757-766.
230. Padol S, Yuan Y, Thabane M, Padol IT, Hunt RH. The effect of CYP2C19 polymorphisms on *H. pylori* eradication rate in dual and triple first-line PPI therapies: a meta-analysis. *Am.J.Gastroenterol.* 2006; 101: 1467-1475.
231. Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, Kodaira C, Nishino M, Ikuma M, Ishizaki T, Hishida A. Evidence that the degree and duration of acid suppression are related to *Helicobacter pylori* eradication by triple therapy. *Helicobacter.* 2007; 12: 317-323.
232. Villoria A, Garcia P, Calvet X, Gisbert JP, Vergara M. Meta-analysis: high-dose proton pump inhibitors vs. standard dose in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2008; 28: 868-877.
233. Dore MP, Graham DY, Mele R, Marras L, Nieddu S, Manca A, Realdi G. Colloidal bismuth subcitrate-based twice-a-day quadruple therapy as primary or salvage therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Am.J.Gastroenterol.* 2002; 97: 857-860.
234. Hojo M, Miwa H, Nagahara A, Sato N. Pooled analysis on the efficacy of the second-line treatment regimens for *Helicobacter pylori* infection. *Scand.J.Gastroenterol.* 2001; 36: 690-700.
235. Ford AC, Malfertheiner P, Giguere M, Santana J, Khan M, Moayyedi P. Adverse events with bismuth salts for *Helicobacter pylori* eradication: systematic review and meta-analysis. *World J.Gastroenterol.* 2008; 14: 7361-7370.

236. Taylor JL, Zagari M, Murphy K, Freston JW. Pharmacoeconomic comparison of treatments for the eradication of *Helicobacter pylori*. *Arch.Intern.Med.* 1997; 157: 87-97.
237. Laine L, Hunt R, El-Zimaity H, Nguyen B, Osato M, Spenard J. Bismuth-based quadruple therapy using a single capsule of bismuth biskalcitrate, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus omeprazole, amoxicillin, and clarithromycin for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer patients: a prospective, randomized, multicenter, North American trial. *Am.J.Gastroenterol.* 2003; 98: 562-567.
238. Malfertheiner P, Bazzoli F, Delchier JC, Celinski K, Giguere M, Riviere M, Megraud F. *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet* 2011; 377: 905-913.
239. Gisbert JP, Fernandez-Bermejo M, Molina-Infante J, Perez-Gallardo B, Prieto-Bermejo AB, Mateos-Rodriguez JM, Robledo-Andres P, Gonzalez-Garcia G. First-line triple therapy with levofloxacin for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2007; 26: 495-500.
240. Castro-Fernandez M, Lamas E, Perez-Pastor A, Pabon M, Aparcero R, Vargas-Romero J, Larraona JL, Romero-Gomez M. Efficacy of triple therapy with a proton pump inhibitor, levofloxacin, and amoxicillin as first-line treatment to eradicate *Helicobacter pylori*. *Rev.Esp.Enferm.Dig.* 2009; 101: 395-402.
241. Bilardi C, Dulbecco P, Zentilin P, Reglioni S, Iiritano E, Parodi A, Accornero L, Savarino E, Mansi C, Mamone M, Vigneri S, Savarino V. A 10-day levofloxacin-based therapy in patients with resistant *Helicobacter pylori* infection: a controlled trial. *Clin.Gastroenterol.Hepatol.* 2004; 2: 997-1002.
242. Gatta L, Zullo A, Perna F, Ricci C, De F, V, Tampieri A, Bernabucci V, Cavina M, Hassan C, Ierardi E, Morini S, Vaira D. A 10-day levofloxacin-based triple therapy in patients who have failed two eradication courses. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2005; 22: 45-49.
243. Gisbert JP, Bermejo F, Castro-Fernandez M, Perez-Aisa A, Fernandez-Bermejo M, Tomas A, Barrio J, Bory F, Almela P, Sanchez-Pobre P, Cosme A, Ortiz V, Nino P, Khorrami S, Benito LM, Carneros JA, Lamas E, Modolell I, Franco A, Ortuno J, Rodrigo L, Garcia-Duran F, O'Callaghan E, Ponce J, Valer MP, Calvet X. Second-line rescue therapy with levofloxacin after *H. pylori* treatment failure: a Spanish multicenter study of 300 patients. *Am.J.Gastroenterol.* 2008; 103: 71-76.
244. Saad RJ, Schoenfeld P, Kim HM, Chey WD. Levofloxacin-based triple therapy versus bismuth-based quadruple therapy for persistent *Helicobacter pylori* infection: a meta-analysis. *Am.J.Gastroenterol.* 2006; 101: 488-496.
245. Gisbert JP, Morena F. Systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2006; 23: 35-44.
246. Miyachi H, Miki I, Aoyama N, Shirasaka D, Matsumoto Y, Toyoda M, Mitani T, Morita Y, Tamura T, Kinoshita S, Okano Y, Kumagai S, Kasuga M. Primary

- levofloxacin resistance and gyrA/B mutations among *Helicobacter pylori* in Japan. *Helicobacter*. 2006; 11: 243-249.
247. Bogaerts P, Berhin C, Nizet H, Glupczynski Y. Prevalence and mechanisms of resistance to fluoroquinolones in *Helicobacter pylori* strains from patients living in Belgium. *Helicobacter*. 2006; 11: 441-445.
248. Glocker E, Stueger HP, Kist M. Quinolone resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Germany. *Antimicrob.Agents Chemother*. 2007; 51: 346-349.
249. Tankovic J, Lascols C, Sculo Q, Petit JC, Soussy CJ. Single and double mutations in gyrA but not in gyrB are associated with low- and high-level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob.Agents Chemother*. 2003; 47: 3942-3944.
250. Cattoir V, Nectoux J, Lascols C, Deforges L, Delchier JC, Megraud F, Soussy CJ, Cambau E. Update on fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: new mutations leading to resistance and first description of a gyrA polymorphism associated with hypersusceptibility. *Int.J.Antimicrob.Agents* 2007; 29: 389-396.
251. Hung KH, Sheu BS, Chang WL, Wu HM, Liu CC, Wu JJ. Prevalence of primary fluoroquinolone resistance among clinical isolates of *Helicobacter pylori* at a University Hospital in Southern Taiwan. *Helicobacter*. 2009; 14: 61-65.
252. van der Linden PD, Sturkenboom MC, Herings RM, Leufkens HG, Stricker BH. Fluoroquinolones and risk of Achilles tendon disorders: case-control study. *BMJ* 2002; 324: 1306-1307.
253. Spahr L, Rubbia-Brandt L, Marinescu O, Armenian B, Hadengue A. Acute fatal hepatitis related to levofloxacin. *J.Hepatol*. 2001; 35: 308-309.
254. Gisbert JP, Gisbert JL, Marcos S, Gravalos RG, Carpio D, Pajares JM. Seven-day 'rescue' therapy after *Helicobacter pylori* treatment failure: omeprazole, bismuth, tetracycline and metronidazole vs. ranitidine bismuth citrate, tetracycline and metronidazole. *Aliment.Pharmacol.Ther*. 1999; 13: 1311-1316.
255. Suzuki S, Suzuki H, Nishizawa T, Kaneko F, Ootani S, Muraoka H, Saito Y, Kobayashi I, Hibi T. Past rifampicin dosing determines rifabutin resistance of *Helicobacter pylori*. *Digestion* 2009; 79: 1-4.
256. De F, V, Ierardi E, Hassan C, Zullo A. Furazolidone therapy for *Helicobacter pylori*: is it effective and safe? *World J.Gastroenterol*. 2009; 15: 1914-1915.
257. Rokkas T, Sechopoulos P, Robotis I, Margantinis G, Pistiolas D. Cumulative *H. pylori* eradication rates in clinical practice by adopting first and second-line regimens proposed by the Maastricht III consensus and a third-line empirical regimen. *Am.J.Gastroenterol*. 2009; 104: 21-25.
258. Sereni G, Azzolini F, Camellini L, Formisano D, Decembrino F, Iori V, Tioli C, Cavina M, Di Mario F, Bedogni G, Sassatelli R. Efficacy of a therapeutic strategy for eradication of *Helicobacter pylori* infection. *World J.Gastroenterol*. 2012; 18: 4542-4548.

259. Gisbert JP, Calvet X. Review article: rifabutin in the treatment of refractory *Helicobacter pylori* infection. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2012; 35: 209-221.
260. Abbas Z, Yakoob J, Abid S, Jafri W, Islam M, Azam Z, Hilal I. Furazolidone, co-amoxiclav, colloidal bismuth subcitrate, and esomeprazole for patients who failed to eradicate *Helicobacter pylori* with triple therapy. *Dig.Dis.Sci.* 2009; 54: 1953-1957.
261. Cheng H, Hu FL. Furazolidone, amoxicillin, bismuth and rabeprazole quadruple rescue therapy for the eradication of *Helicobacter pylori*. *World J.Gastroenterol.* 2009; 15: 860-864.
262. Eisig JN, Silva FM, Barbuti RC, Rodriguez TN, Malferttheiner P, Moraes Filho JP, Zaterka S. Efficacy of a 7-day course of furazolidone, levofloxacin, and lansoprazole after failed *Helicobacter pylori* eradication. *BMC.Gastroenterol.* 2009; 9: 38.
263. Fakheri H, Merat S, Hosseini V, Malekzadeh R. Low-dose furazolidone in triple and quadruple regimens for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2004; 19: 89-93.
264. Felga GE, Silva FM, Barbuti RC, Navarro-Rodriguez T, Zaterka S, Eisig JN. Quadruple therapy with furazolidone for retreatment in patients with peptic ulcer disease. *World J.Gastroenterol.* 2008; 14: 6224-6227.
265. Kawakami E, Machado RS, Ogata SK, Langner M, Fukushima E, Carelli AP, Bonucci VC, Patricio FR. Furazolidone-based triple therapy for *H pylori* gastritis in children. *World J.Gastroenterol.* 2006; 12: 5544-5549.
266. Qasim A, Sebastian S, Thornton O, Dobson M, McLoughlin R, Buckley M, O'connor H, O'Morain C. Rifabutin- and furazolidone-based *Helicobacter pylori* eradication therapies after failure of standard first- and second-line eradication attempts in dyspepsia patients. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2005; 21: 91-96.
267. Zullo A, Vaira D, Vakil N, Hassan C, Gatta L, Ricci C, De F, V, Menegatti M, Tampieri A, Perna F, Rinaldi V, Perri F, Papadia C, Fornari F, Pilati S, Mete LS, Merla A, Poti R, Marinone G, Savioli A, Campo SM, Faleo D, Ierardi E, Miglioli M, Morini S. High eradication rates of *Helicobacter pylori* with a new sequential treatment. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2003; 17: 719-726.
268. Zullo A, Rinaldi V, Winn S, Meddi P, Lionetti R, Hassan C, Ripani C, Tomaselli G, Attili AF. A new highly effective short-term therapy schedule for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2000; 14: 715-718.
269. De F, V, Zullo A, Hassan C, Della VN, Pietrini L, Minenna MF, Winn S, Monno R, Stoppino V, Morini S, Panella C, Ierardi E. The prolongation of triple therapy for *Helicobacter pylori* does not allow reaching therapeutic outcome of sequential scheme: a prospective, randomised study. *Dig.Liver Dis.* 2004; 36: 322-326.
270. De F, V, Zullo A, Margiotta M, Marangi S, Burattini O, Berloco P, Russo F, Barone M, Di LA, Minenna MF, Stoppino V, Morini S, Panella C, Francavilla A, Ierardi E. Sequential treatment for *Helicobacter pylori* does not share the risk factors of triple therapy failure. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2004; 19: 407-414.

271. Hassan C, De F, V, Zullo A, Scaccianoce G, Piglionica D, Ierardi E, Panella C, Morini S. Sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in duodenal ulcer patients: improving the cost of pharmacotherapy. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2003; 18: 641-646.
272. Murakami K, Fujioka T, Okimoto T, Sato R, Kodama M, Nasu M. Drug combinations with amoxicillin reduce selection of clarithromycin resistance during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Int.J.Antimicrob.Agents* 2002; 19: 67-70.
273. Moshkowitz M, Konikoff FM, Peled Y, Santo M, Hallak A, Bujanover Y, Tiomny E, Gilat T. High *Helicobacter pylori* numbers are associated with low eradication rate after triple therapy. *Gut* 1995; 36: 845-847.
274. Perri F, Clemente R, Festa V, Quitadamo M, Conoscitore P, Niro G, Ghos Y, Rutgeerts P, Andriulli A. Relationship between the results of pre-treatment urea breath test and efficacy of eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Ital.J.Gastroenterol.Hepatol.* 1998; 30: 146-150.
275. Jafri NS, Hornung CA, Howden CW. Meta-analysis: sequential therapy appears superior to standard therapy for *Helicobacter pylori* infection in patients naive to treatment. *Ann.Intern.Med.* 2008; 148: 923-931.
276. Romano M, Cuomo A, Gravina AG, Miranda A, Iovene MR, Tiso A, Sica M, Rocco A, Salerno R, Marmo R, Federico A, Nardone G. Empirical levofloxacin-containing versus clarithromycin-containing sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomised trial. *Gut* 2010; 59: 1465-1470.
277. Essa AS, Kramer JR, Graham DY, Treiber G. Meta-analysis: four-drug, three-antibiotic, non-bismuth-containing "concomitant therapy" versus triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter.* 2009; 14: 109-118.
278. Axon AT. Treatment of *Helicobacter pylori*: an overview. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2000; 14 Suppl 3: 1-6.
279. Wu DC, Hsu PI, Wu JY, Opekun AR, Kuo CH, Wu IC, Wang SS, Chen A, Hung WC, Graham DY. Sequential and concomitant therapy with four drugs is equally effective for eradication of *H pylori* infection. *Clin.Gastroenterol.Hepatol.* 2010; 8: 36-41.
280. Megraud F, Lehn N, Lind T, Bayerdorffer E, O'Morain C, Spiller R, Unge P, van Zanten SV, Wrangstadh M, Burman CF. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study. *Antimicrob.Agents Chemother.* 1999; 43: 2747-2752.
281. De F, V, Giorgio F, Hassan C, Manes G, Vannella L, Panella C, Ierardi E, Zullo A. Worldwide *H. pylori* antibiotic resistance: a systematic review. *J.Gastrointestin.Liver Dis.* 2010; 19: 409-414.
282. Jenks PJ, Edwards DI. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Int.J.Antimicrob.Agents* 2002; 19: 1-7.
283. Hooton C, Dempsey C, Keohane J, O'Mahony S, Crosbie O, Lucey B. *Helicobacter pylori*: prevalence of antimicrobial resistance in clinical isolates.

- Br.J.Biomed.Sci.* 2006; 63: 113-116.
284. Stupnicki T, Taufer M, Denk H, Ratschek M, Spath P, Graf K. Triple therapy with sucralfate, amoxicillin and metronidazole for healing duodenal ulcer and eradicating *Helicobacter pylori* infection. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1996; 10: 193-197.
285. Strom M, Sorberg M, Jonsson KA. Immediate repeat course of amoxicillin, metronidazole and omeprazole to eradicate *Helicobacter pylori*. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1997; 11: 311-316.
286. Bell GD, Powell KU, Burrige SM, Bowden AF, Atoyebi W, Bolton GH, Jones PH, Brown C. Rapid eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 1995; 9: 41-46.
287. Calvet X, Garcia N, Campo R, Brullet E, Comet R, Navarro M. Two-day quadruple therapy for cure of *Helicobacter pylori* infection: a comparative, randomized trial. *Am.J.Gastroenterol.* 1998; 93: 932-934.
288. Scott DR, Weeks D, Hong C, Postius S, Melchers K, Sachs G. The role of internal urease in acid resistance of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 1998; 114: 58-70.
289. Scott D, Weeks D, Melchers K, Sachs G. The life and death of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1998; 43 Suppl 1: S56-S60.
290. Horai Y, Kimura M, Furuie H, Matsuguma K, Irie S, Koga Y, Nagahama T, Murakami M, Matsui T, Yao T, Urae A, Ishizaki T. Pharmacodynamic effects and kinetic disposition of rabeprazole in relation to CYP2C19 genotypes. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2001; 15: 793-803.
291. Hunfeld NG, Mathot RA, Touw DJ, van Schaik RH, Mulder PG, Franck PF, Kuipers EJ, Geus WP. Effect of CYP2C19*2 and *17 mutations on pharmacodynamics and kinetics of proton pump inhibitors in Caucasians. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 2008; 65: 752-760.
292. Kirchheiner J, Glatt S, Fuhr U, Klotz U, Meineke I, Seufferlein T, Brockmoller J. Relative potency of proton-pump inhibitors-comparison of effects on intragastric pH. *Eur.J.Clin.Pharmacol.* 2009; 65: 19-31.
293. Cindoruk M, Erkan G, Karakan T, Dursun A, Unal S. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in the 14-day triple anti-*Helicobacter pylori* therapy: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. *Helicobacter.* 2007; 12: 309-316.
294. Song MJ, Park DI, Park JH, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI-based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 2010; 15: 206-213.
295. Franceschi F, Cazzato A, Nista EC, Scarpellini E, Roccarina D, Gigante G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Role of probiotics in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2007; 12 Suppl 2: 59-63.
296. Zou J, Dong J, Yu XF. Meta-analysis: the effect of supplementation with lactoferrin on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori*

- eradication therapy. *Helicobacter*. 2009; 14: 119-127.
297. Sachdeva A, Nagpal J. Meta-analysis: efficacy of bovine lactoferrin in *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther*. 2009; 29: 720-730.
 298. Abbasinazari M, Sahraee Z, Mirahmadi M. The Patients' Adherence and Adverse Drug Reactions (ADRs) which are Caused by *Helicobacter pylori* Eradication Regimens. *J.Clin Diagn.Res*. 2013; 7: 462-466.
 299. Hansen JM, Wildner-Christensen M, Hallas J, Schaffalitzky de Muckadell OB. Effect of a community screening for *Helicobacter pylori*: a 5-Yr follow-up study. *Am.J.Gastroenterol*. 2008; 103: 1106-1113.
 300. Mason JM, Raghunath AS, Hungin AP, Jackson W. *Helicobacter pylori* eradication in long-term proton pump inhibitor users is highly cost-effective: economic analysis of the HELPUP trial. *Aliment.Pharmacol.Ther*. 2008; 28: 1297-1303.
 301. Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 187-194.
 302. Yeh JM, Kuntz KM, Ezzati M, Goldie SJ. Exploring the cost-effectiveness of *Helicobacter pylori* screening to prevent gastric cancer in China in anticipation of clinical trial results. *Int.J.Cancer* 2009; 124: 157-166.
 303. Xie F, Luo N, Lee HP. Cost effectiveness analysis of population-based serology screening and (13)C-Urea breath test for *Helicobacter pylori* to prevent gastric cancer: a markov model. *World J.Gastroenterol*. 2008; 14: 3021-3027.
 304. Talley NJ, Fock KM, Moayyedi P. Gastric Cancer Consensus conference recommends *Helicobacter pylori* screening and treatment in asymptomatic persons from high-risk populations to prevent gastric cancer. *Am.J.Gastroenterol*. 2008; 103: 510-514.
 305. Lee YC, Chen TH, Chiu HM, Shun CT, Chiang H, Liu TY, Wu MS, Lin JT. The benefit of mass eradication of *Helicobacter pylori* infection: a community-based study of gastric cancer prevention. *Gut* 2013; 62: 676-682.
 306. Correa P, Fontham ET, Bravo JC, Bravo LE, Ruiz B, Zarama G, Realpe JL, Malcom GT, Li D, Johnson WD, Mera R. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-*helicobacter pylori* therapy. *J.Natl.Cancer Inst*. 2000; 92: 1881-1888.
 307. Gisbert JP. The recurrence of *Helicobacter pylori* infection: incidence and variables influencing it. A critical review. *Am.J.Gastroenterol*. 2005; 100: 2083-2099.
 308. Morgan DR, Torres J, Sexton R, Herrero R, Salazar-Martinez E, Greenberg ER, Bravo LE, Dominguez RL, Ferreccio C, Lazcano-Ponce EC, Meza-Montenegro MM, Pena EM, Pena R, Correa P, Martinez ME, Chey WD, Valdivieso M, Anderson GL, Goodman GE, Crowley JJ, Baker LH. Risk of recurrent *Helicobacter pylori* infection 1 year after initial eradication therapy in 7 Latin

- American communities. *JAMA* 2013; 309: 578-586.
309. Gisbert JP, Arata IG, Boixeda D, Barba M, Canton R, Plaza AG, Pajares JM. Role of partner's infection in reinfection after *Helicobacter pylori* eradication. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 2002; 14: 865-871.
310. Knippig C, Arand F, Leodolter A, Nilius M, Bayerdorffer E, Klein U, Malfertheiner P. Prevalence of *H. pylori*-infection in family members of *H. pylori* positive and its influence on the reinfection rate after successful eradication therapy: a two-year follow-up. *Z.Gastroenterol.* 2002; 40: 383-387.
311. Feydt-Schmidt A, Kindermann A, Konstantopoulos N, Demmelmair H, Ballauff A, Findeisen A, Koletzko S. Reinfection rate in children after successful *Helicobacter pylori* eradication. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 2002; 14: 1119-1123.
312. De F, V, Zullo A, Hassan C, Faleo D, Ierardi E, Panella C, Morini S. Two new treatment regimens for *Helicobacter pylori* eradication: a randomised study. *Dig.Liver Dis.* 2001; 33: 676-679.
313. Vaira D, Zullo A, Vakil N, Gatta L, Ricci C, Perna F, Hassan C, Bernabucci V, Tampieri A, Morini S. Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomized trial. *Ann.Intern.Med.* 2007; 146: 556-563.
314. Zullo A, De F, V, Hassan C, Morini S, Vaira D. The sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* eradication: a pooled-data analysis. *Gut* 2007; 56: 1353-1357.
315. Greenberg ER, Anderson GL, Morgan DR, Torres J, Chey WD, Bravo LE, Dominguez RL, Ferreccio C, Herrero R, Lazcano-Ponce EC, Meza-Montenegro MM, Pena R, Pena EM, Salazar-Martinez E, Correa P, Martinez ME, Valdivieso M, Goodman GE, Crowley JJ, Baker LH. 14-day triple, 5-day concomitant, and 10-day sequential therapies for *Helicobacter pylori* infection in seven Latin American sites: a randomised trial. *Lancet* 2011; 378: 507-514.
316. Murakami K, Okimoto T, Kodama M, Sato R, Watanabe K, Fujioka T. Evaluation of three different proton pump inhibitors with amoxicillin and metronidazole in retreatment for *Helicobacter pylori* infection. *J.Clin Gastroenterol.* 2008; 42: 139-142.
317. Nishizawa T, Suzuki H, Suzuki M, Takahashi M, Hibi T. Proton pump inhibitor-amoxicillin-clarithromycin versus proton pump inhibitor-amoxicillin-metronidazole as first-line *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J.Clin Biochem.Nutr.* 2012; 51: 114-116.
318. Schmid CH, Whiting G, Cory D, Ross SD, Chalmers TC. Omeprazole plus antibiotics in the eradication of *Helicobacter pylori* infection: a meta-regression analysis of randomized, controlled trials. *Am.J.Ther.* 1999; 6: 25-36.
319. Sun WH, Ou XL, Cao DZ, Yu Q, Yu T, Hu JM, Zhu F, Sun YL, Fu XL, Su H. Efficacy of omeprazole and amoxicillin with either clarithromycin or metronidazole on eradication of *Helicobacter pylori* in Chinese peptic ulcer patients. *World J.Gastroenterol.* 2005; 11: 2477-2481.

320. Kardas P. Patient compliance with antibiotic treatment for respiratory tract infections. *J.Antimicrob.Chemother.* 2002; 49: 897-903.
321. Molina-Infante J, Perez-Gallardo B, Fernandez-Bermejo M, Hernandez-Alonso M, Vinagre G, Duenas C, Mateos-Rodriguez JM, Gonzalez-Garcia G, Abadia EG, Gisbert JP. Clinical trial: clarithromycin vs. levofloxacin in first-line triple and sequential regimens for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment.Pharmacol.Ther.* 2010; 31: 1077-1084.
322. Molina IJ, Pazos PC, Pérez GB, Vinagre RG, Hernández AM, Dueñas SC, González GG, Mateos RJM, Fernández BM, Pérez GJ. Eficacia del tratamiento empírico cuádruple "concomitante" para la infección por *Hpylori* en un área con una tasa elevada de resistencia a claritromicina. *Gastroenterología y Hepatología* 34 [3], 179. 2011.