

INFECCIÓN POR HELICOBACTER PYLORI. PAUTAS DE TRATAMIENTO ERRADICADOR E INFLUENCIA DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA.

M. Castro-Fernández, E. Lamas-Rojas, M. Maraver-Zamora, M.A. Pérez-Pastor

Unidad de Gastroenterología. Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas. CIBEREHD. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Resumen

La infección por *H. pylori* es muy prevalente afectando aproximadamente al 50% de la población mundial. Es la principal causa conocida de la gastritis crónica, de la enfermedad ulcerosa gastro-duodenal y de las neoplasias gástricas como adenocarcinomas y linfomas MALT. El tratamiento erradicador de *H. pylori* que ha alcanzado mayor difusión es una triple terapia asociando un inhibidor de la bomba de protones (IBP) con dos antibióticos, preferentemente claritromicina y amoxicilina (IBP-CA). En casos de alergia a amoxicilina se recomienda metronidazol (IBP-CM). El tratamiento de segunda línea más consolidado, para los casos en que fracase la triple terapia previamente referida, es una cuádruple terapia con un IBP, sales de bismuto, tetraciclinas y metronidazol. La terapia con un IBP, levofloxacin y amoxicilina (IBP-LA), se muestra efectiva como segunda o tercera línea de tratamiento, siendo mejor tolerada que la cuádruple terapia. La eficacia de la triple terapia con IBP-CA, inicialmente superior al 80%, está disminuyendo en los últimos años. Se admite que la resistencia a la claritromicina es la principal causa del fracaso de este tratamiento. En la III Conferencia de Consenso de Maastricht se recomiendan las triples terapias (IBP-CA/

IBP-CM) únicamente en poblaciones con una prevalencia de resistencia a la claritromicina menor del 15-20%. La pérdida de eficacia de las triples terapias (IBP-CA/IBP-CM) es más evidente en los casos de resistencia a claritromicina que en los casos, habitualmente más frecuentes, de resistencia a metronidazol.

Introducción

Robin Warren y Barry Marsall, galardonados en el año 2005 con el premio nobel de medicina, comunican en 1983-84 los resultados de sus estudios sobre la relación entre la gastritis crónica antral y la úlcera péptica con la presencia de bacterias en la mucosa gástrica, denominadas inicialmente *Campylobacter pyloridis* y posteriormente *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)^{1,3}. *H. pylori* es un bacilo gran negativo, helicoidal y flagelado, que coloniza la mucosa del estómago y se alberga bajo la capa de moco, adhiriéndose a la superficie del epitelio gástrico. Penetra en el organismo por vía oral y el estómago humano es el único reservorio conocido. *H. pylori* es responsable de una de las infecciones bacterianas más frecuentes de la especie humana, afectando aproximadamente al 50% de la población mundial. La prevalencia de esta infección es muy elevada, especialmente en poblaciones con edad avanzada y con menor nivel socio-económico. En España se ha estimado una prevalencia a los 20 años de edad del 40% y a los 50 años del 60%, similar o algo superior a la existente en países con un adecuado nivel de desarrollo (Estados Unidos, Francia,

CORRESPONDENCIA

Manuel Castro Fernández
c/ Concejal Jiménez Becerril nº 5
41940 Tomares (Sevilla)

mcastrof@meditex.es

Inglaterra o Finlandia) e inferior a la observada en países con menor nivel socio-económico (India, Argelia o Nigeria). La prevalencia en la población infantil oscila, en relación al nivel de desarrollo de los países estudiados, entre el 10 y el 70%, mientras que en la población adulta oscila entre el 20 y el 80%. El mecanismo fecal-oral es la principal forma de transmisión de la infección en países en vías de desarrollo, favorecido por un deficiente control sanitario del agua o alimentos. Existen dudas sobre los mecanismos exactos de transmisión de la infección en países desarrollados, con adecuado nivel social y sanitario. La infección, en estos países, suele adquirirse con mayor frecuencia en la edad adulta y es posible que tenga importancia la transmisión directa persona a persona e intrafamiliar. Las personas infectadas especialmente en edad adulta no suelen ser capaces de eliminar la bacteria que persistirá de por vida, con mayor o menor trascendencia, salvo que se erradique mediante tratamiento con antibióticos^{4,7}.

En 1994 la Organización Mundial de la Salud consideró a *H. pylori* un carcinógeno de primer grado, con una relación causal positiva con el adenocarcinoma gástrico, al estar involucrada la infección por esta bacteria en la cadena de acontecimientos que conducen al desarrollo de esta neoplasia. La infección por *H. pylori* es la principal causa conocida de la gastritis crónica, de la enfermedad ulcerosa gastro-duodenal y de las neoplasias gástricas como adenocarcinomas y linfomas MALT. En la mayoría de los pacientes con estas enfermedades se puede detectar infección por *H. pylori*. La influencia de esta infección en la dispepsia funcional, no ulcerosa, no está bien establecida, y es muy posible que sea poco trascendente, aunque se observa que con su curación remiten los síntomas dispépticos en algunos pacientes. La infección por *H. pylori* puede iniciarse por una gastritis aguda sintomática, habitualmente no diagnosticada, pero lo habitual es que origine una infección crónica, silente y sin apenas trascendencia, pudiendo condicionar en algunos casos enfermedades de mayor relevancia ya referidas. Aproximadamente un 20% de la población infectada presentará síntomas dispépticos, un 15% úlcera gástrica o duodenal y un porcentaje mucho más inferior desarrollará una neoplasia gástrica. Mediante la eliminación de la infección por *H. pylori* se modifica la historia natural de la enfermedad ulcerosa gastro-duodenal, evitándose su recidiva y complicaciones, remiten las alteraciones inflamatorias de la gastritis crónica, se puede curar el linfoma MALT gástrico y muy probablemente evitar el desarrollo del adenocarcinoma gástrico, al interferirse en la secuencia gastritis crónica atrófica-metaplasia intestinal-displasia. La infección por *H. pylori* se ha relacionado con enfermedades no digestivas como la rosácea, urticaria, púrpura trombocitopénica idiopática, e incluso con la cardiopatía isquémica y también con la anemia ferropénica y enfermedades hepatobiliares⁸⁻¹⁶.

La infección por *H. pylori* se debe investigar, de forma indiscutible, en pacientes con diagnóstico reciente o antecedentes de úlcera gastro-duodenal, con o sin complicaciones, con linfoma MALT gástrico, con adenocarcinoma gástrico sometidos a resección endoscópica o gastrectomía parcial y en los parientes de los pacientes con estas neoplasias gástricas. Se recomienda también su investigación en pacientes con gastritis crónica o metaplasia

intestinal, con dispepsia funcional o no ulcerosa, con dispepsia no estudiada, mediante la estrategia "test and treat", en pacientes que requieran tratamiento prolongado con aspirina, antiinflamatorios no esteroideos o con antiseoretos gástricos, por el posible mayor riesgo de atrofia de la mucosa gástrica, con anemia ferropénica o púrpura trombocitopénica idiopáticas, con urticaria o rosácea, e incluso en parientes de pacientes con úlcera gastroduodenal o en la población que voluntariamente lo solicite^{16, 17}. El diagnóstico se puede realizar partir de las biopsias gástricas obtenidas durante la gastroscopia mediante el test rápido de la ureasa, la histología o el cultivo, o mediante pruebas no invasivas como el test del aliento con urea-C13, la detección de anticuerpos séricos o de antígenos bacterianos en heces. El test del aliento es el método de elección para el diagnóstico inicial de la infección y para el control de su erradicación, en pacientes que no requieran la práctica de gastroscopia y, en caso de no estar disponible, la mejor alternativa es la detección de antígenos en heces. La positividad de los anticuerpos séricos suele persistir tras la erradicación de *H. pylori* no permitiendo distinguir entre infección resuelta o activa¹⁸⁻²².

Tratamiento de la infección por *H. Pylori*.

1. Recuerdo histórico

Tras el descubrimiento de la gran trascendencia de la infección por *H. pylori*, en la patogenia de la enfermedad péptica gastroduodenal y de las neoplasias gástricas, se han

Tabla 1. Tratamientos erradicadores de *H. Pylori* (a)

- Omeprazol 20 mg/12 h (b) + claritromicina 500 mg/12h + amoxicilina 1g/12 h o metronidazol 500 mg/8-12 h (c)
- Omeprazol 20 mg/12 h (b) + levofloxacino 250-500 mg/12h + amoxicilina 1g /12 h o metronidazol 500 mg/8-12 h (c)
- Omeprazol 20 mg/12 h (b) + sales bismuto 240 mg/12 h + tetraciclinas 500 mg/6 h+ metronidazol 500 mg/8h
- Omeprazol 20 mg/12 h (b) + rifabutina 150 mg/12 h + amoxicilina 1g/12 h o metronidazol 500 mg/8-12 h (c)
- Omeprazol 20 mg/12h (b) + amoxicilina 1g/12 h (1°-5° dia) y omeprazol 20 mg/12h + claritromicina 500 mg/12 h + metronidazol 500 mg/12h (6°-10 dia) (d)
- Omeprazol 20 mg/12h (b) + amoxicilina 1 g/12 h+ claritromicina 500 mg/12h + metronidazol 500 mg/12 h

(a) Duración de los tratamientos comentados en el texto. (b) Omeprazol u otro inhibidor de la bomba de protones a dosis equivalente. (c) Alergia a amoxicilina o resistencia a claritromicina. (d) Tratamiento secuencial.

utilizado para su curación diversas pautas terapéuticas con resultados muy desiguales²³. *H. pylori* es sensible "in vitro" a numerosos fármacos, antibióticos y no antibióticos, pero en la práctica clínica no todos son efectivos en la curación de la infección. Los fármacos que, en distintas pautas terapéuticas, se han mostrado más eficaces en la erradicación de *H. pylori* son los inhibidores de la bomba de protones (IBP), los compuestos de bismuto y antibióticos como la amoxicilina, claritromicina, nitroimidazoles, tetraciclinas, fluoroquinolonas y rifabutin. Los tratamientos erradicadores, recomendables en la práctica clínica, deben tener una eficacia del 80% o del 90%, por intención de tratar o por protocolo respectivamente, ser bien tolerados, de fácil cumplimiento y de coste razonable. Los tratamientos más recomendados, por su elevada eficacia, en distintos documentos de consenso, son las denominadas triples terapias. La triple terapia "clásica" asociando un compuesto de bismuto con metronidazol y tetraciclinas durante 14 días, fue el tratamiento erradicador inicialmente con mayor aceptación hasta la consolidación, tras la 1ª Conferencia de Consenso de Maastricht (1997), de la triple terapia "actual" con un IBP, claritromicina y amoxicilina o metronidazol (IBP-CA/IBP-CM) durante al menos 7 días como el tratamiento de primera elección en la erradicación de *H. pylori*²⁴. Los resultados de los tratamientos asociando compuestos de bismuto con antibióticos, inicialmente amoxicilina y metronidazol, fueron publicados en 1988 por Borody et al²⁵. La triple terapia "clásica" es un tratamiento de elevada eficacia pero con dificultades de cumplimiento, por su prolongada duración y el elevado número de tomas de fármacos diarias. Los resultados de la triple terapia con IBP-CA/IBP-CM fueron publicados en 1993 por Bazzoli et al, en Italia, y por Lamouliatte et al, en Francia²⁶⁻²⁸. Este tratamiento sustituyó a la triple terapia "clásica" por mantener una elevada eficacia, superior al 80% por intención de tratar, tener menos efectos adversos y ser de más fácil cumplimiento. La monoterapia, con solo un antibiótico, o las pautas duales asociando un IBP con amoxicilina tienen una baja eficacia no siendo recomendables. La alternativa a la actual triple terapia "actual", como primera opción de tratamiento, es la denominada cuádruple terapia consistente en la asociación de un IBP con subcitratato de bismuto, tetraciclinas y metronidazol durante al menos 7 días. La eficacia de este tratamiento se mantiene en poblaciones con prevalencia elevada de resistencia a los antibióticos, al contrario de lo que sucede con la triple terapia. La cuádruple terapia es una buena opción de tratamiento tras el fracaso de la triple terapia o como tratamiento erradicador de primera elección en poblaciones donde la triple terapia no es recomendable por pérdida de eficacia, atribuible a una alta prevalencia de resistencia a la claritromicina²⁹.

2. Tratamientos de primera elección

La triple terapia asociando un IBP con dos antibióticos, preferentemente amoxicilina y claritromicina, durante al menos 7 días, es el tratamiento erradicador de *H. pylori* de primera elección que acabó alcanzando mayor difusión en Europa y Estados Unidos. En la II Conferencia Española de Consenso (2005) se recomienda como pauta de primera elección la asociación de omeprazol 20 mg/12 h, u otro IBP a dosis equivalentes, con 1 g de amoxicilina/12 h y 500 mg de claritromicina/12 h. En caso de alergia a la amoxicilina se

debe indicar 500 mg de metronidazol cada 12 h^{22, 30}. En la III Conferencia de Consenso de Maastricht (2007) se sigue recomendado, como en anteriores reuniones, esta triple terapia como el tratamiento erradicador de primera elección y esta recomendación también está presente en otros documentos de consenso elaborados en Italia por el "Cervia II Working Group" (2007) y en Estados Unidos por el "American College of Gastroenterology" (2007)^{19, 29, 31}. La cuádruple terapia con un IBP, compuestos de bismuto, tetraciclinas y metronidazol, durante al menos 7 días, se consolida como tratamiento de segunda elección para los casos en que fracase la triple terapia previamente referida^{29, 30}. La duración más adecuada o más coste-efectiva de los tratamientos erradicadores ha sido motivo continuo de controversia. En documentos de consenso europeos se recomiendan inicialmente tratamientos de 7 días de duración, como más coste-efectivos, mientras que en consensos americanos se recomiendan tratamientos más prolongados de 10-14 días de duración^{16, 19, 32-34}. En la actualidad la tendencia en Europa y, en concreto en España, es incrementar la duración de la triple terapia a 10 días, especialmente en pacientes con dispepsia no investigada o con dispepsia funcional, al detectarse en estos pacientes un incremento apreciable en las tasas de erradicación. En pacientes con dispepsia ulcerosa no es tan evidente el beneficio de prolongar la duración del tratamiento erradicador³⁰. Calvet et al, en ensayo clínico, comunican una eficacia de la triple terapia del 73.8% por intención de tratamiento (ITT) y del 81.8% por protocolo (PP) con tratamiento de 7 días y del 79.6% (ITT) y del 89.3% (PP) con tratamiento de 10 días y observan que las diferencias entre ambos tratamientos eran significativas en casos de dispepsia funcional, con un beneficio del 11% (ITT) y del 8% (PP) y no en casos de dispepsia ulcerosa³⁵. En Estados Unidos se sigue manteniendo la tendencia a tratamientos más prolongados de 10 a 14 días. En la III Conferencia de Consenso de Maastricht se comenta esta problemática y se hace referencia a un meta-análisis, publicado por Ford y Moayyedi en el año 2003, que muestra que con tratamientos de 14 días la tasa de erradicación es un 12% (95% CI 7% a 17%) más elevada que con tratamientos de 7 días de duración, si bien se admite a que en algunas poblaciones pueden ser adecuados, siempre que se muestren eficaces, los tratamientos de menor duración^{29, 36}. En otro meta-análisis, realizado por Calvet et al, incluyéndose 13 estudios publicados en los años 1996-1998, se compara la eficacia de la triple terapia durante 7, 10 y 14 días y observan que los tratamientos de 14 días eran significativamente más eficaces que los tratamientos de 7 días, con un beneficio del 9%, no detectándose diferencias significativas entre 7-10 días ni entre 10-14 días.

Desde la I Conferencia de Consenso de Maastricht (1997) se considera que solo los tratamientos erradicadores con una eficacia mayor del 80%, por intención de tratar, deben ser recomendados en la práctica clínica²⁴, siendo esta opinión ratificada por Graham et al, en una reciente revisión³³. Gisbert et al, en el año 2000, publican un meta-análisis sobre la eficacia de las triples terapias con IBP-CA o con un IBP, claritromicina y metronidazol o tinidazol, revisando 22 estudios publicados en los años 1996-1999, y observan una eficacia similar (ITT y PP) con ambas pautas (81% y 84%), observándose estudios con una eficacia muy próxima o superior al 90%³⁸.

Estos resultados no se obtienen en los estudios publicados en los últimos años que habitualmente muestran una eficacia de la triple terapia, prolongando incluso el tratamiento a 10 días, inferior al 80%^{33, 35, 39,42}. Boixeda et al, comunicaron en el año 2003 esta problemática en una serie de 890 pacientes al detectar una tasa de erradicación del 77%⁴³. Calvet et al, como se ha comentado previamente, comunican también una tasa de erradicación inferior al 80% de la triple terapia (ITT)³⁷. En nuestra área sanitaria, durante los años 2006-2007 la tasa de erradicación con la triple terapia durante 10 días resultó del 75.5% (PP). Esta baja eficacia condiciona que se tenga que considerar otras opciones en el tratamiento de primera elección de la infección por *H. pylori*⁴⁴.

3. Tratamientos de rescate

En la III Conferencia de Consenso de Maastrich se recomienda la cuádruple terapia durante 10-14 días como el tratamiento de segunda elección tras el fracaso de la triple terapia (IBP-CA o IBP-CM)²⁹. En la II Conferencia Española de Consenso también se recomienda la cuádruple terapia, pero con una duración de 7 días, como tratamiento de rescate^{22,30}. La cuádruple terapia tiene una elevada eficacia pero plantea problemas de cumplimiento por su mayor complejidad y además los compuestos de bismuto no están disponibles en muchos países. En un estudio multicéntrico realizado en España se constató una alta eficacia del tratamiento con ranitidina-citrato de bismuto (RCB) asociado a tetraciclina y metronidazol como tratamiento de rescate⁴⁵. Este tratamiento, con una posología más sencilla, podría haber sido alternativa válida a la cuádruple terapia, pero actualmente la RCB no está disponible. En la III Conferencia de Consenso de Maastricht se admite que en caso de fracaso del primer tratamiento con IBP-CA se podría intentar también, como segunda opción, nuevas triples terapias asociando un IBP con amoxicilina y metronidazol o con tetraciclina y metronidazol, que han mostrado en algunos estudios una elevada eficacia^{29, 46-47}. En los últimos años se están publicando estudios que valoran la eficacia de triples terapias, conteniendo levofloxacino, en la erradicación de *H. pylori*. En un reciente meta-análisis se observa que la terapia con un IBP, levofloxacino y amoxicilina (IBP-LA), durante 10 días, es más efectiva y mejor tolerada, como segunda línea de tratamiento, que la cuádruple terapia en la erradicación de *H. pylori*⁴⁸. Gisbert et al, publican dos estudios multicéntricos que constatan una alta eficacia de la triple terapia con IBP-LA durante 10 días, como segunda y tercera línea de tratamiento, tras fracaso de la cuádruple terapia en la erradicación de *H. pylori*⁴⁹⁻⁵⁰. En el caso de fracaso de fracaso de los tres tratamientos erradicadores más consolidados se puede intentar una cuarta pauta de tratamiento asociando un IBP, con amoxicilina y rifabutin⁵¹. Este tratamiento se ha mostrado, mediante ensayo clínico, menos eficaz, que la cuádruple terapia, como segunda opción de tratamiento, tras el fracaso de la triple terapia con IBP-CA⁵².

4. Nuevas opciones en el tratamiento erradicador de primera elección

La evidente pérdida de eficacia de la triple terapia con IBP-CA, durante 7-10 días, motiva que se valoren

nuevas estrategias en el tratamiento de primera elección de la infección por *H. pylori*, siendo una opción la prolongación de este tratamiento de 10 a 14 días. En un meta-análisis realizado por Calvet et al, se observó un escaso beneficio tras prolongar a 14 días la duración de la triple terapia³⁷ y además los tratamientos tan prolongados, en general, no son bien aceptados por los pacientes. En la III Conferencia de Consenso de Maastrich se admite que la cuádruple terapia durante 10-14 es una buena alternativa a la triple terapia²⁹ pero, además de una posología compleja, existe dificultad de obtener fármacos como las tetraciclinas y los compuestos de bismuto. El tratamiento con IBP-LA se ha mostrado eficaz como tratamiento de rescate tras fracaso del tratamiento con IBP-CA o como tercera opción terapéutica tras fracaso también de la cuádruple terapia⁴⁸⁻⁵⁰. Esta triple terapia se ha valorado como tratamiento de primera elección y se han publicado, en este sentido, varios estudios que muestran una eficacia superior al 80% considerándose una alternativa a la triple terapia en áreas donde, por incremento de la resistencia a la claritromicina, se constata una progresiva pérdida de su eficacia⁵³⁻⁵⁸. En nuestra área sanitaria hemos observado que la eficacia de la triple terapia con IBP-LA como tratamiento de primera elección, durante 10 días y con dosis de levofloxacino de 500 mg/12 h, es del 75% (PP), inferior a la comunicada por otros autores y similar a la que obtenemos con la triple terapia con IBP-CA, no siendo por tanto, en nuestra experiencia recomendable como tratamiento de primera elección⁴⁴.

Entre las nuevas estrategias terapéuticas destaca, cada vez con mayor aceptación, el denominado tratamiento "secuencial", con 10 días de duración, que consiste en la administración durante 5 días de omeprazol 20 mg/12 h (u otro IBP a dosis equivalentes) y de amoxicilina 1 g/12 h y en los 5 días siguientes, manteniéndose el tratamiento con IBP, de metronidazol 500 mg/12 h y claritromicina 500 mg/12h. El tratamiento "secuencial" tiene, en estudios procedentes en su mayoría de Italia, una eficacia (ITT) del 80-94% en la erradicación de *H. pylori*⁵⁹⁻⁶¹. En un meta-análisis realizado por Jafri et al, se observa que la tasa de erradicación era del 93.4% con el tratamiento "secuencial" y del 76.9% con la triple terapia⁶². Sanchez-Delgado et al, publican los resultados de un estudio multicéntrico realizado en España que muestra una eficacia del tratamiento "secuencial" del 84.2% (ITT) y del 90.7% (PP)⁶³. Otra opción terapéutica más sencilla es el denominado tratamiento "concomitante". En este tratamiento se utilizan los mismos fármacos que en el tratamiento "secuencial" pero administrados conjuntamente durante 7 días. Se ha comunicado recientemente que la eficacia del tratamiento "secuencial" y "concomitante" es similar⁶⁴.

La triple terapia con IBP-CA/IBP-CM durante 10 días, a pesar de su pérdida de eficacia, debe seguir siendo el tratamiento erradicador de primera elección en la práctica clínica habitual. En casos de fracaso, de esta triple terapia, debemos indicar el tratamiento con IBP-LA, mejor tolerado que la cuádruple terapia con IBP, sales de bismuto, tetraciclinas y metronidazol, que se puede reservar como tercera pauta terapéutica. En un futuro próximo dispondremos de datos convincentes, basados en ensayos clínicos, sobre la eficacia en España de nuevas pautas terapéuticas, como el tratamiento

“concomitante” o “secuencial”, pudiéndose entonces valorarlos como tratamientos de primera elección en la erradicación de *H. pylori*.

Resistencia antibiótica

H. pylori es intrínsecamente resistente a glucopéptidos, cefsulodin, polimixinas, ácido nalidíxico, trimetoprim, sulfonamidas, nistatina, anfotericina B, y cicloheximida, mientras que las cepas salvajes son susceptibles a β -lactámicos (excepto cefsulodin), fosfomicina, macrólidos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, rifampicina, fluoroquinolonas, 5-nitroimidazoles, y nitrofuranos⁶⁵. Se considera que la resistencia adquirida por *H. pylori* a los antibióticos habitualmente utilizados, especialmente a la claritromicina y metronidazol, es la principal causa del fracaso del tratamiento erradicador, debiéndose admitir otras causas como son el incumplimiento terapéutico o la indicación de tratamientos con dosis o duración inadecuadas⁶⁶⁻⁶⁸.

1. Prevalencia de la resistencia antibiótica de *H. pylori*

Durante los años 1999-2003 se publicaron numerosos estudios sobre la prevalencia de la resistencia antibiótica primaria de *H. pylori*, observándose variaciones significativas entre distintos países e incluso entre distintas regiones o grupos étnicos de un mismo país. La prevalencia de la resistencia a la claritromicina en Europa era baja en Holanda, en Alemania y en Suecia (1.7%-2.9%), y más elevada en España, Francia, y Portugal (12%-22%)⁶⁸⁻⁷³, en Estados Unidos era del 10-12% y en Japón del 11-13%⁷⁴⁻⁷⁸. La prevalencia de la resistencia al metronidazol era del 15-40% en Europa y del 20-35% en Estados Unidos, mientras que para la amoxicilina y tetraciclinas era inferior al 1%⁶⁸⁻⁷⁸. En Estados Unidos, mediante un meta-análisis, se observa un incremento de la prevalencia de resistencia a la claritromicina, desde un 4.9% en 1993-95 a un 10.1% en 1995-99⁷⁹. En un estudio multicéntrico realizado en Europa durante 1998, con la participación de 22 países, se observó una prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina del 9.9%, al metronidazol del 33.1%, y a la amoxicilina del 0.8%. La resistencia a la claritromicina era más habitual en países del sur (18%) que en países del centro (9.3%) y del norte de Europa (4.2%)⁸⁰.

En España durante los años 1999-2004 se observó que la prevalencia de la resistencia a claritromicina oscilaba entre el 8.7% y el 13% y a metronidazol entre el 13.8% y el 42%^{72, 81-84}. En Sevilla, en nuestra área sanitaria, durante los años 1996-8, detectamos una prevalencia para la claritromicina del 10% y para el metronidazol del 28.6%, acordes con los datos previamente referidos⁸⁵.

En publicaciones más recientes (2006-09) se muestra que, en la última década, hay en unos casos estabilidad y en otros casos incremento de la resistencia primaria a la claritromicina que justificaría el descenso progresivo de la efectividad de la triple terapia. La prevalencia de resistencia

a la amoxicilina y a las tetraciclinas sigue siendo baja. Zullo et al, en Italia durante 2004-06, detectan una prevalencia de resistencia primaria a claritromicina del 16.9%⁸⁶ y Boyanova et al, en Bulgaria, del 10% durante los años 1996-99 y del 17.9% durante los años 2005-07⁸⁷, observándose este incremento también en otros estudios procedentes de Gran Bretaña, Korea y Japón⁸⁸⁻⁹⁰. Storskurubb et al, en Suecia, observan una baja prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina (1.5%) y al metronidazol (16.2%), que relacionan con un bajo consumo de estos fármacos por una política antibiótica restrictiva⁹¹. Agudo et al, en Madrid (España) durante los años 2002-06, detectan en niños una elevada resistencia primaria y secundaria a la claritromicina (49.2% y 70.6%), superior a la observada para el metronidazol (32.8% y 41.2%) y una doble resistencia a claritromicina y metronidazol, primaria y secundaria, en el 15.4% y 26.5% de los casos respectivamente⁹². Kalach, en Francia durante los años 1999-2005, detectan también en niños una prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina elevada (23.2%), aunque menor que en España, que se mantenía estable respecto a la observada en los años 1994-98 (22.1%)⁹³.

2. Repercusión de la resistencia antibiótica

En la III Conferencia de Consenso de Maastricht se reconoce el incremento de la resistencia a la claritromicina, en relación a su mayor consumo, y se recomienda la triple terapia con IBP-CA/IBP-CM únicamente en poblaciones con una prevalencia de resistencia a la claritromicina menor del 15-20%²⁹. La repercusión sobre la efectividad de la triple terapia es mayor en los casos de resistencia a claritromicina que en los casos de resistencia metronidazol^{67,94}. La eficacia de la triple terapia con IBP-CA disminuye desde un 87.8% a un 18.3%, según exista sensibilidad o resistencia a la claritromicina, con una pérdida de eficacia de prácticamente el 70% y en el mismo estudio se observa que la eficacia de la triple terapia con un IBP, amoxicilina y metronidazol, según exista sensibilidad o resistencia a este último antibiótico, disminuye desde un 89.4% a un 64.4%, con una pérdida de eficacia de un 25%, y que la eficacia de la triple terapia con un IBP-CM disminuye desde un 97%, a un 0%, según exista sensibilidad o resistencia a ambos antibióticos, siendo la eficacia del 72.6% en casos de sensibilidad a claritromicina y resistencia a metronidazol y del 50% en la situación contraria⁶⁷.

3. Mecanismos de resistencia antibiótica de *H. pylori*

Los mecanismos de resistencia antimicrobiana de *H. pylori* son esencialmente debidos a mutaciones cromosómicas^{68, 95}, adquiridas fundamentalmente por transmisión desde un microorganismo a otro en forma vertical. Las mutaciones cromosómicas aparecerán en la descendencia y, como consecuencia, se producirá un progresivo incremento de la prevalencia de la resistencia antimicrobiana. La transferencia horizontal genética de una cepa bacteriana resistente a una susceptible, presentes simultáneamente en el estómago, no puede ser excluida.

4. Métodos estudio de sensibilidad antibiótica de *H. pylori*

Los métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica de *H. pylori* se pueden clasificar en métodos fenotípicos, más utilizados y basados en el cultivo de biopsias gástricas, como son la dilución en agar y el E-test (método del ϵ -límetro), y en métodos genotípicos, que permiten detectar las mutaciones cromosómicas, mediante la hibridación fluorescente "in situ" y mediante la PCR ("polimerasa chain reaction") convencional y con secuenciación, la PCR-RFLP ("restriction fragment length polymorphism") y la PCR en tiempo-real, que permite detectar las mutaciones cromosómicas directamente en las biopsias gástricas y en heces. El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), recomienda el método de dilución en agar como el método de referencia o "gold standard" para el estudio de la sensibilidad de *H. pylori* a los antibióticos y, en concreto, para el cálculo de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)⁹⁶. La British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) recomienda, en cambio, la difusión con E-test que presenta muy buena correlación con el método de dilución en agar. El E-test tiene la ventaja de ser un método cuantitativo con una expresión directa de las CMI, y además, se adapta a las bacterias de crecimiento lento, como *H. pylori*⁹⁷. Otros métodos de estudio disponibles son la dilución en caldo y la difusión en disco^{98, 99}. Los métodos genotípicos son utilizados sobre todo para estudiar la resistencia a la claritromicina, aunque también pueden ser empleados para otros antibióticos. Las mutaciones cromosómicas, responsables de la resistencia antibiótica, pueden ser fácilmente detectadas con pruebas moleculares basadas en la hibridación fluorescente "in situ"¹⁰⁰ o en la amplificación genómica sobre todo con técnicas de PCR⁶⁸.

La investigación de la resistencia antibiótica es especialmente conveniente cuando detectemos una baja efectividad de la triple terapia en la erradicación de *H. pylori* y, en pacientes concretos, tras fracaso del primer y, sobre todo, segundo tratamiento erradicador.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1:1273.
- 2.- Marshall B, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311-1315.
- 3.- Marshall B. *Campylobacter pyloridis* and gastritis. *J Infect Dis* 1986;153:1986.
- 4.- Martín-de-Argila C, Boixeda D, Cantón R, Mir N, de Rafael L, Gisbert J, Arocena C, García Plaza A. *Helicobacter pylori* infection in a healthy population in Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996;8:1165-1168.
- 5.- Magalhaes Queiroz D, Lizza F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006;11 (suppl1):1-5.
- 6.- Lehours P, Yilmaz O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2007; 12 (suppl1):1-3.
- 7.- Bruce MG, Maaroos HI. Epidemiology of *Helicobacter pylori*

- infection. *Helicobacter* 2008; 13 (suppl 1):1-6.
- 8.- Kandulsky A, Selgras M, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* infection: A Clinical Overview. *Dig Liver Dis* 2008;40:619-26.
- 9.- Correa P, Piazuelo MB. Natural history of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis* 2008;40:490-6.
- 10.- Yamada T, Miwa H, Fujino T, Hirai S, Yokoyama T, Sato N. Improvement of gastric atrophy after *Helicobacter pylori* eradication therapy. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:405-410.
- 11.- Shirin H, Leja M, Niv Y. *Helicobacter pylori* and non-malignant diseases. *Helicobacter* 2008; 13 (Suppl 1): 23-27.
- 12.- Moyaert H, Franceschi F, Roccarina D, Ducatelle R, Haesebrouck F, Gasbarrini A. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection: Others *Helicobacters*. *Helicobacter* 2008; 13 (Suppl 1):45-47.
- 13.- Ferreira AC, Isomoto H, Moriyama M, Fujioka T, Machado JC, Yamaoka Y. *Helicobacter* and gastric malignancies. *Helicobacter* 2008; 13 (Suppl 1): 28-34.
- 14.- Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, Matsumura N, Yamaguchi S, Yamakido M et al. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* 2001; 345:784-9.
- 15.- Malfertheiner P, Mossner J, Fischbach W, Layer P, Leodolter A, Stolte M, et al. *Helicobacter pylori* eradication is beneficial in the treatment of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18:615-625.
- 16.- Vilaichone RK, Mahachai V, Graham DY. *Helicobacter pylori* diagnosis and management. *Gastroenterology Clinics of North America* 2006; 35:229-247.
- 17.- Gisbert JP, Badía 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.
- 18.- Gisbert JP, Calvet X, Feu F, Bory F, Cosme A, Almela P et al. Eradication of *Helicobacter pylori* for the prevention of peptic ulcer rebleeding. *Helicobacter* 2007; 12:279-86.
- 19.- Chey W, Wong BCY and the Practice Parameters committee of the American College of Gastroenterology. American College of Gastroenterology Guideline on the Management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2007;102: 1808-1825.
- 20.- Gisbert JP. Revisión crítica de los métodos diagnósticos de infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 2000; 23:135-143.
- 21.- Granstrom M, Lehours P, Bengtsson C, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2008;13 (Suppl 1): 7-12.
- 22.- Monés J, Gisbert JP, Borda F, Domínguez Muñoz, y Grupo Conferencia Española de Consenso sobre *Helicobacter pylori*. Indications, diagnostic test and *Helicobacter pylori* eradication therapy. Recommendations by the II Spanish Consensus Conference. *Rev Esp Enfer Dig* 2005; 97:348-374.
- 23.- Gisbert JP, Pajares R, Pajares JM. Evolution of *Helicobacter pylori* therapy from a meta-analytical perspective. *Helicobacter* 2007; 12 (suppl 2): 50-58.
- 24.- [No authors listed]. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. European *Helicobacter Pylori* Study Group. *Gut* 1997 ; 41:8-13.
- 25.- Borody TJ, Cole P, Noonan S, Morgan A, Lenne J, Hyland L, et al.. Recurrence of duodenal ulcer and *Campylobacter pylori* infection after eradication. *Med J Aust* 1989 16; 151:431-5.
- 26.- Bazzoli F, Zagari RM, Fossi S. Efficacy and tolerability of a short-term low-dose triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection (Abstract). *Gastroenterology* 1993;104:40A.
- 27.- Lamouliatte H, Cayla R, Regland F. Amoxicillin-clarithromycin-

- omeprazole: the best therapy for *Helicobacter pylori* infection (Abstract). *Acta Gastroenterol Belg* 1993; 56:A 139.
- 28.- Lamouliatte H. Effect of lansoprazole on *Helicobacter pylori*. *Clin Ther.* 1993; 15 Suppl B:32-6.
- 29.- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56:77.
- 30.- Gisbert JP, Calvet X, Gomollón F, Monés J, y Grupo Conferencia Española de Consenso sobre *Helicobacter pylori*. Tratamiento erradicador de *Helicobacter pylori*. Recomendaciones de la II Conferencia Española de Consenso. *Med Clin (Barc.)* 2005; 125:301-16.
- 31.- Caselli M, Zullo A, Maconi G, Parente F, Alvisi V, Casetti T, et al. The Working Group of the Cervia II Meeting. "Cervia II Working Group Report 2006": Guidelines on diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection in Italy. *Dig Liver Dis* 2007; 39:782-789.
- 32.- Sainz R, Borda F, Domínguez E, Gisbert JP y Grupo Conferencia Española de Consenso. Conferencia Española de Consenso sobre la infección por *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Dig* 1999;91:777-784.
- 33.- Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. Therapy for *Helicobacter pylori* infection can be improved. *Drugs* 2008;68:725-736.
- 34.- Calvet X, Gené E, López T, Gisbert JP. What is the optimal length of proton pump inhibitor-based triple therapies for *H. pylori*? A cost-effectiveness analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1067-1076.
- 35.- 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;100:1696-701.
- 36.- 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.
- 37.- Calvet X, Garcia N, Lopez T, Gisbert JP, Gene E, Roque M. 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: 603-609.
- 38.-Gisbert JP, González L, Calvet X, García N, López, Roque M, Gabriel R, Pajares JM. Proton pump inhibitor, clarithromycin and either amoxicillin or nitrimidazole. A meta-analysis of eradication of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1319-1328.
- 39.-Cavallaro LG, Egan B, O'Morain C, Di Mario F. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2006;11 (Suppl 1): 36-39.
- 40.-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* 2008;103:1-5.
- 41.-Vakil N, Megraud F. Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2007;133: 985-1001.
- 42.- Egan BJ, Marzio L, O'Connor H, O'Morain C. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2008; 13(Suppl 1):35-40.
- 43.- Boixeda D, Martín de Argila C, Bermejo F, López Sanroman A, Hernández Ranz F, García Plaza A. Seven-day proton pump inhibitor, amoxicillin and clarithromycin triple therapy. Factors that influence *Helicobacter pylori* eradication success. *Rev Esp Enferm Dig* 2003;95:202-5.
- 44.-Castro-Fernández M, Lamas E, Pérez-Pastor A, Pabón M, Aparcero R, Vargas-Romero J et al. 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.
- 45.- Gisbert JP, Fuentes J, Carpio D, Tito L, Guardiola J, Tomas A, et al. 7-day rescue therapy with bismuth citrate after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1249-53.
- 46.- Lamouliatte H, Megraud F, Delchier JC, Bretagne JF, Courillo-Mallet A, De Korwin JD et al. Second-line treatment for failure to eradicate *Helicobacter pylori*: a randomized trial comparing four treatment strategies. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:791-7.
- 47.- Realdi G, Dore MP, Piana A, Atzei A, Carla M, Cugia L, et al. Pretreatment antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* infection: results of three randomized controlled studies. *Helicobacter* 1999;4:106-12.
- 48.- Gisbert JP, De la Morena F. Systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:35-44.
- 49.-Gisbert JP, Bermejo F, Castro-Fernández M, Pérez-Aisa A, Fernández-Bermejo M, Tomas A, et al. 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.
- 50.-Gisbert JP, Castro-Fernández M, Bermejo F, Pérez-Aisa, Ducons J, Fernández-Bermejo M, Bory F, et al. Third-line rescue therapy with levofloxacin after two *H. pylori* treatment failures. *Am J Gastroenterol* 2006;101:243-247.
- 51.- Gisbert JP. "Rescue" regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *World J Gastroenterol* 2008;14:5385-402.
- 52.- Navarro-Jarabo JM, Fernández N, Sousa FL, Cabrera E, Castro M, et al. Efficacy of rifabutin-based triple therapy as second-line treatment to eradicate *Helicobacter pylori* infection. *BMC Gastroenterol (online)* 2007; Jul 25:7:31.
- 53.-Cammarota G, Cianci R, Cannizzaro O, Cuoco L, Pirozzi G, Gasbarrini A, et al. Efficacy of two one-week rabeprazole/levofloxacin-based triple therapies for *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1339-1343.
- 54.-Antos D, Schneider-Brachert W, Bästlein E, Hänel C, Haferland C, Buchner M, Meier E, et al. 7-day triple therapy of *Helicobacter pylori* infection with levofloxacin, amoxicillin, and high-dose esomeprazole in patients with known antimicrobial sensitivity. *Helicobacter* 2006;11:39-45.
- 55.-Marzio L, Coraggio D, Capodicasa S, Grossi L, Cappello G. Role of the preliminary susceptibility testing for initial and after failed therapy of *Helicobacter pylori* infection with levofloxacin, amoxicillin, and esomeprazole. *Helicobacter* 2006;11:237-242.
- 56.-Nista E, Candelli M, Zocco MA, Cremonini F, Ojetti V, Finizio R, Spada C, et al. Levofloxacin-based triple therapy in first-line treatment for *Helicobacter pylori* eradication. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1985-1990.
- 57.-Gisbert JP, Fernández-Bermejo M, Molina-Infante J, Pérez-Gallardo B, Prieto-Bermejo AB, Mateos-Rodríguez JM, Robledo-Andrés P, González-García G. First-line triple therapy with levofloxacin for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:495-500.
- 58.- Gisbert JP, Fernández-Bermejo M, Molina-Infante M, Pérez-Gallardo B, Prieto-Bermejo AB, Mateos-Rodríguez JM, Robledo-Andrés P, González-García G. Levofloxacin, amoxicillin, and omeprazole as first-line triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter* 2008;13:460-1.
- 59.- Scaccianoce G, Hassan C, Panarese A, Piglionica D, Morini S, Zullo A. *Helicobacter pylori* eradication with either 7-day or 10-day triple therapies, and with a 10-day sequential regimen. *Can J Gastroenterol* 2006; 20:113-7.
- 60.- Zullo A, Gatta L, De Francesco V, Hassan C, Ricci C, Bernabucci

- V, 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.
- 61.- De Francesco V, Zullo A, Hassan C et al. The prolongation of triple therapy for *Helicobacter pylori* does not allow reaching therapeutic outcome of sequential scheme: a prospective , randomized study. *Dig Liver Dis* 2004;36:322-6.
- 62.- Jafri NS, Hornung CA, Howden CW. Meta-analysis: sequential therapy appears superior to standard therapy for *Helicobacter pylori* infection in patients naïve to treatment. *Ann Intern Med*. 2008; 148:923-31.
- 63.- Sánchez-Delgado J, Calvet X, Bujanda L, Gisbert JP, Titó L, Castro M. Ten-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice. *Am J Gastroenterol* 2008;103: 2220-3.
- 64.- Wu DC, Hsu PI, Wu JY, Opekun AR, Graham DY. Randomized Controlled Comparison of Sequential and Quadruple (Concomitant) Therapies for *H. pylori* Infection (Abstract). *Gastroenterology* 2008; 134 (suppl. 1): A-24.
- 65.- Lambert, T, Megraud F, Gerbaud G, Courvalin P. Susceptibility of *Campylobacter pyloridis* to 20 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1986 ; 30: 510-1.
- 66.- Pajares García JM, Pajares-Villarroya R, Gisbert JP. *Helicobacter pylori* infection: antibiotic resistance. *Rev Esp Enferm Dig* 2007;99:63-70.
- 67.- Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: Prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-84.
- 68.- Megraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 280-322.
- 69.- Debets-Ossenkopp YJ, Herscheid A, Pot RGJ, Kuipers EJ, Kusters JG, Vandenbroucke-Grauls CM. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazol, clarithromycin, amoxicillin, tetracycline and trovafloxacin in The Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 511-5.
- 70.- Wolle K, Leodolter A, Malfertheimer P, König W. Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* in Germany: stable primary resistance from 1995 to 2000. *J Med Microbiol* 2002; 51: 705-9.
- 71.- Megraud F, Lehn N, Lind T, Bayerdörffer E, O'Morain C, Spiller R, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicentre trial: the MACH 2 study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2747-52.
- 72.- Cuchí Burgos E, Forné Bardera M, Quintana Riera S, Lite Lite J, Garau Alemany J. 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.
- 73.- Cabrita J, Oleastro M, Matos R, Manhente A, Cabral J, Barros R, et al. Features and trends in *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Lisbon area, Portugal (1990-1999). *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 1029-31.
- 74.- Laine L, Fennerty MB, Osato M, Sugg J, Suchower L, Probst P, et al. Esomeprazole-based *Helicobacter pylori* eradication therapy and the effect of antibiotic resistance : results of three US multicentre , doubled-blind trials. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3393-8.
- 75.- Osato MS, Reddy R, Reddy SG, Penland RL, Malaty HM, Graham, DY, et al. Pattern of primary resistance of *Helicobacter pylori* to metronidazol or clarithromycin in the United States. *Arch Intern Med* 2001; 161: 1217-20.
- 76.-Perez Aldana L, Kato M, Nakagawa S, Kawarasaki M, Nagasako T, Mizushima T, et al. The relationship between consumption of antimicrobial agents and the prevalence of primary *Helicobacter pylori* resistance. *Helicobacter* 2002; 7: 306-9.
- 77.- Kato M, Yamaoka Y, Kim JJ, Reddy R, Asaka M, Kashima K, et al. Regional differences in metronidazole resistance and increasing clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* isolates from Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2214-6.
- 78.-Kim JJ, Reddy R, Lee M, Kim JM, Osato MS, Graham DY, et al. Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47: 459-61.
- 79.- Meyer JM, Silliman NP, Wang W, Siepmann NY, Suggs JE, Morris D et al. Risk factors for *Helicobacter pylori* resistance in the United States: The surveillance of *H. pylori* antimicrobial resistance partnership (SHARP) STUDY ,1993-1999. *Ann Intern Med* 2002; 136: 13-24.
- 80.- Glupczynski Y, Megraud F, López-Brea M, Andersen LP. European multicentre survey of in vitro antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 820-3.
- 81.- Rojas Feria M, Suárez Barrenechea AI, Conejo Gonzalo C, Hergueta Delgado P, Romero Castro R, Herrerías Gutiérrez JM. Resistance of *Helicobacter pylori* to antimicrobial treatment in a Seville hospital catchment area. *Rev Esp Enferm Dig* 2000; 92: 793-8.
- 82.- Toro C, García-Samaniego J, Carbó J, Iñiguez A, Alarcón T, López-Brea M, Baquero M. Prevalence of primary *Helicobacter pylori* resistance to eight antimicrobial agents in a hospital in Madrid. *Rev Esp Quimioter* 2001; 14: 172-6.
- 83.- Ferrero M, Ducóns JA, Sicilia B, Santolaria S, Sierra E , Gomollón F. Factors affecting the variation in antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* over a 3-year period. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16: 245-8.
- 84.- Gomollón F, Santolaria S, Sicilia B, Ferrero M, Revillo MJ, Ducóns J et al. Resistencia de *Helicobacter pylori* al metronidazol y a la claritromicina: análisis descriptivo entre 1997 y 2000. *Med Clin (Barc)* 2004; 123: 481-5.
- 85.- García Díaz E, Romero Gómez M, Vargas J, Guil A, Bernal S, Castro M. Prevalence and clinical significance of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Rev Esp Enferm Dig* 2000; 92: 656-60.
- 86.- Zullo A, Perna F, Hassan C, Ricci C, Saracino I, Morini S, Vaira D. Primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated in northern and central Italy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 1429-34.
- 87.- Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, Davidkov L, Kamburov V, Jeleu C, et al. Prevalence and evolution of *Helicobacter pylori* resistance to 6 antibacterial agents over 12 years and correlation between susceptibility testing methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 409-15.
- 88.- Chisholm SA, Teare EL, Davies K, Owen RJ. Surveillance of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* at centres in England and Wales over a six-year period (2000-2005). *Eur Surveill* 2007;12: E3-4.
- 89.- Bang SY, Han DS, Eun CS, Kim JE, Ahn SB, Sohn JH, et al. Changing patterns of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer disease. *Korean J Gastroenterol* 2007; 50: 356-62.
- 90.- Kobayashi I, Murakami K, Kato M, Kato S, Azuma T, Takahashi S et al. Changing antimicrobial susceptibility epidemiology of *Helicobacter pylori* strains in Japan between 2002 and 2005. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 4006-10.
- 91.- Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, Wreiber KK, Nyhlin H, Bolling-Sternevald E et al. Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains in a random adult Swedish population. *Helicobacter* 2006;1 1: 224- 30.

92.- Agudo S, Alarcón T, Cibrelus L, Urruzuno P, Martínez MJ, López-Brea M. High percentage of clarithromycin and metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* isolates obtained from Spanish children. *Rev Esp Quimioter* 2009; 22: 88-92.

93.- Kalach N, Serhal L, Asmar E, Campeotto F, Bergeret M, Dehecq E et al. *Helicobacter pylori* primary resistant strains over 11 years in French children. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59 :217-22.

94.- Fischbach L, Evans EL. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:343-57.

95.- Gerrits MM, Van Vliet AHM, Kuipers EJ, Kusters JG. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Lancet Infect Dis* 2006; 6 :699-709.

96.- Clinical and laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Nineteenth informational supplement M100-S19. Clinical and laboratory Standart Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, January 2009;29:91.

97.- Glupczynski Y, Broutet N, Cantagrel A, Andersen LP, Alarcón T, Lopez Brea M, et al. Comparison of the E test and agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 549-52.

98.- Sisto F, Maddalena M, Russello G, Bonomi A, Dubini F. Antimicrobial Susceptibility Testing of *Helicobacter pylori* determined by Microdilution Method Using a New Medium. *Curr Microbiol* 2009; 58: 559-63.

99.- Grignon, B, Tankovic J, Megraud F, Glupczynski Y, Husson MO, Conroy MC, et al. Validation of diffusion methods for macrolide susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *Microb Drug Resist* 2002; 8: 61-66.

100.-Vega AE, Alarcón T, Domingo D, López-Brea M. Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in frozen gastric biopsies from pediatric patients by a commercially available fluorescent in situ hybridization. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59(4): 421-3.