

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN



EFICACIA DE UN ESQUEMA SECUENCIAL VERSUS EL ESQUEMA
TRADICIONAL PARA LA ERRADICACIÓN DE *Helicobacter pylori*
EN NIÑOS Y ADUTOS EN MÉXICO.

TESIS:

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD
EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

Presenta:

REYNALDO DE JESUS MICHEL ACEVES.

Directores de Tesis:

**Dr. JOSÉ ALFREDO SIERRA RAMÍREZ
M. en C. ANGEL SERGIO OLIVARES MORALES**

México, D.F., Diciembre de 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 10:00 horas del día 28 del mes de Nov del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de ESM para examinar la tesis titulada:

“Eficacia de un esquema secuencial para la erradicación de *Helicobacter Pylori* en población mexicana”

Presentada por el alumno:

Michel

Apellido paterno

Aceves

Apellido materno

Reynaldo de Jesús

Nombre(s)

Con registro:

B	0	9	2	0	5	6
---	---	---	---	---	---	---

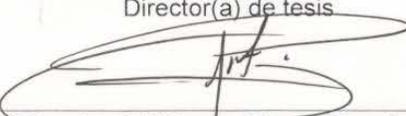
aspirante de:

Maestría en Ciencias de la Salud

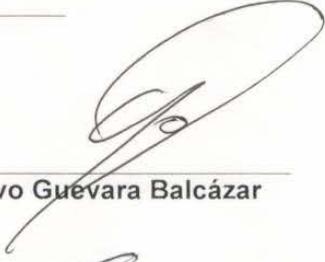
Después de intercambiar opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director(a) de tesis


Dr. José Alfredo Sierra Ramírez


Dra. María Esther Ocharan
Hernández


Dr. Gustavo Guevara Balcázar

CALZADA MENDOZA
CLAUDIA CAMILIA
Dra. Claudia Camila Calzada
Mendoza

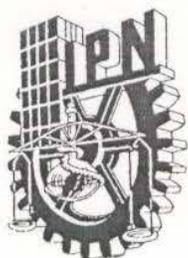

Dr. Angel Sergio Olivares
Morales

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


Dr. Eleazar Lara Padilla



ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
I.P.N.
SECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION
CONTROL ESCOLAR



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de **México** el día **07** del mes **Noviembre** del año **2011**, el que suscribe **Reynaldo de Jesús Michel Aceves** alumno del Programa de **Maestría en Ciencias de la Salud** con número de registro **B092056** adscrito a **La Escuela Superior De Medicina**, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **Dr. José Alfredo Sierra Ramírez** y cede los derechos del trabajo intitulado "**Eficacia de un esquema secuencial para la erradicación de *Helicobacter Pylori* en población mexicana**", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico **rmichelac@yahoo.com**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Reynaldo de Jesús Michel Aceves

Nombre y Firma

ÍNDICE GENERAL

Página

DEDICATORIA

ÍNDICE GENERAL

Resumen.....	6
Abstract.....	7
Introducción.....	8
Antecedentes.....	9
Genoma Bacteriano.....	12
Fisiopatología.....	13
Patogénesis.....	14
Datos Histológicos.....	17
Cuadro Clínico.....	18
Tratamiento.....	20
1 Planteamiento del problema.....	26
2 pregunta de investigación.....	26
3 Justificación.....	28
4 Hipótesis.....	29
OBJETIVOS.....	29
Diseño Metodológico.....	30
Tipo de Estudio.....	30
Población de estudio.....	30
Tamaño de la muestra	31
Criterios de selección	32
Esquemas de tratamiento.....	33

Definición de variables.....	34
Plan de análisis estadístico.....	35
RESULTADOS.....	36
DISCUSION.....	41
CONCLUSIONES.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	45
ANEXO 1.....	53
ANEXO 2.....	55
ANEXO 3.....	57
ANEXO 4.....	58.

Agradecimientos:

Con infinita gratitud:

A todos quienes han contribuido a mi formación como persona:

Padres, Hermanos, Maestros.

Al Ejército Mexicano y al Instituto Politécnico Nacional,

por la formación académica y por la oportunidad de servir a mi País.

A mi esposa, compañera y sustento de mis sueños.

A mis hijos, por su cariño y por su impulso a seguir aprendiendo.

A los pacientes, por sus enseñanzas.

A mí me encanta Dios.

**Ha puesto orden en las
galaxias y distribuye bien
el camino de las
hormigas.**

**Y es tan juguetón y
travieso que el otro día
descubrí que ha hecho,
frente al ataque de los
antibióticos...**

¡Bacterias mutantes!

Jaime Sabines.

RESUMEN

Antecedentes. En todo el mundo la eficacia de los esquemas de tratamiento empleados para la erradicación de *Helicobacter pylori* (*Hp*) ha disminuido como resultado del proceso de resistencia a los antibióticos empleados, los porcentajes de erradicación con esquemas que inicialmente de alta eficacia (80% o más) están disminuyendo hasta 47% de éxito. Se han implementado múltiples esquemas alternativos, uno de los más eficientes es el denominado secuencial con porcentajes de éxito superiores al 90%. Los trabajos se han realizado en Europa, en particular en Italia lo que hace indispensable conocer la eficiencia de dicho esquema en nuestra población.

Objetivo. Evaluar la eficacia del esquema secuencial versus el esquema tradicional en el tratamiento de erradicación del *Hp* en población mexicana entre 4 y 68 años de edad.

Material y métodos: se realizó un ensayo clínico, se incluyeron niños y adultos de edades entre los 4 y 68 años, asignados a uno de dos grupos de tratamiento para la erradicación de *Hp*, “tradicional o el esquema secuencial”, 4 semanas después de completar el tratamiento mediante prueba de aliento con urea C13 se comprobó la eficacia. **Resultados 40** pacientes de ambos sexos con edades entre los 6 y los 68 años. 18 con tratamiento tradicional y 22 con tratamiento secuencial, la prueba de aliento resultó positiva para infección por *Hp* en 5 de 18 (25%) de los pacientes con tratamiento tradicional y en 1 de 22 (5%) con tratamiento secuencial con una eficacia de 95% versus 75% del tratamiento estándar. con una $p < 0.5$, se concluye que el tratamiento secuencial es mejor que el tratamiento estándar.

SUMMARY

Background. Throughout the world the efficacy of treatment regimens used to eradicate *Helicobacter pylori* (Hp) has declined as a result of the resistance to the antibiotics used, the rates of eradication with schemes that initially high efficiency (80% or more) are declining to 47% success rate. The clinicians have implemented multiple alternative schemes, one of the most efficient is called sequentially with success rates exceeding 90%. The work has been performed in Europe, particularly Italy which makes it essential to know the efficiency of this scheme in our population.

Aims To evaluate the efficacy of sequential scheme versus the traditional in Hp eradication therapy in the Mexican population between 4 and 68 years of age.

Material and methods: We conducted a clinical trial included children and adults between the ages of 4 and 68, assigned to one of two treatment groups for the eradication of Hp, "traditional or sequential scheme, 4 weeks after completion of treatment were assessed using a breath test to check the effectiveness of the treatment used. **Results** were collected from 40 patients of both sexes aged between 6 and 68. 18 patients with traditional treatment and the remaining 22 patients with sequential treatment breath test was positive for Hp infection in 5 of 18 (25%) patients with conservative treatment and 1 of 22 (5%) with sequential treatment effectiveness 95% versus 75% of standard treatment. with $p < 0.5$, so that it can be concluded that sequential therapy is better than standard treatment.

MARCO TEÓRICO.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es un microorganismo de crecimiento lento. Estudios filo-geográficos indican que hemos estado colonizados con la bacteria aún antes de la migración de las poblaciones humanas fuera de África, es decir por algo más de 58,000 años. (1) Figura 1 Los seres humanos parecen ser el principal reservorio de *Hp*, otros reservorios propuestos son el agua, los gatos y las moscas, la vía de transmisión no está bien determinada, afecta hasta al 80 % de la población mundial (2)

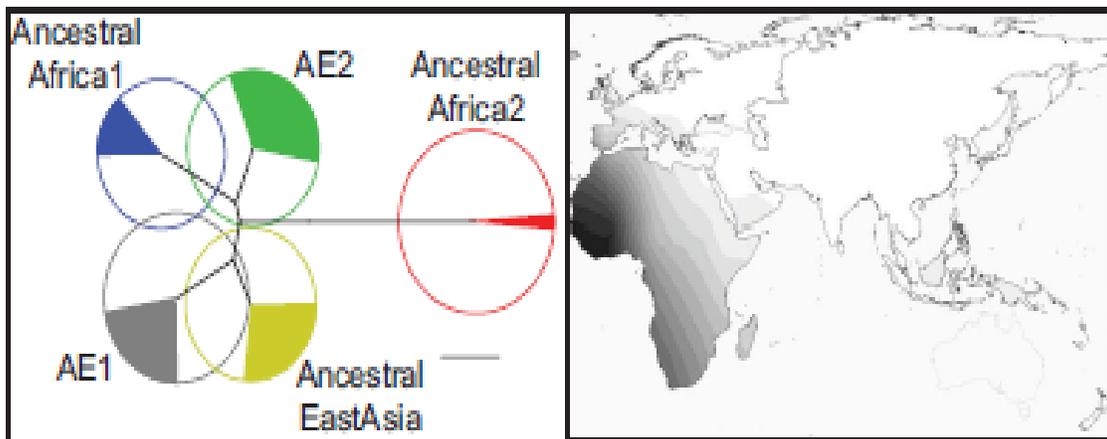


Figura 1 El origen africano de las cepas de *Helicobacter*. (1)

Datos epidemiológicos en México mostraron que el 20% de los niños de 1 año de edad presentaban anticuerpos contra *Hp*, la frecuencia aumentó hasta un 50 % en los niños de 10 años de edad y hasta un 80 % en adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad. (3)

La mayoría de los afectados no experimentan síntomas aún cuando esta infección se asocia con gastritis crónica activa o gastritis atrófica, adenocarcinoma gástrico, linfoma y con la dispepsia no ulcerosa. La infección por *Hp* se caracteriza por un incremento en la secreción de gastrina y en un incremento en el número y masa de células parietales con el aumento en la secreción de ácido, desde el punto de vista Histológico, la gastritis asociada a la infección por *Hp* se caracteriza por inflamación crónica activa. El cuadro clínico es inespecífico y se pueden encontrar síntomas relacionados como dolor abdominal crónico en

un 15% de la población en edad pediátrica, aunque la mayoría de los casos pueden permanecer asintomáticos (4).

Tratamiento.

Como en todos los procesos infecciosos la meta del tratamiento es la eliminación de la bacteria(3,4). Para que un esquema de tratamiento de erradicación de *Hp* sea clínicamente relevante, debe proporcionar una tasa de eliminación del 80 al 90 % de eficacia. Desde hace algunos años, la eficacia de los esquemas empleados para erradicar *Hp* está disminuyendo, en especial en países en desarrollo hasta cifras tan bajas como de 47% de éxito, todo lo anterior ha dado como resultado la búsqueda e implementación de múltiples esquemas alternativos, todos estos trabajos se han realizado principalmente en Europa, en particular en Italia (5,6)

ANTECEDENTES

Helicobacter pylori es un microorganismo gram-negativo, curvo, espirilado, que mide aproximadamente 3.5 por 0.5 micrómetros, posee de 5 a 6 flagelos en uno de sus polos lo que lo hace altamente móvil (Figuras 2 y 3). Es un microorganismo de crecimiento lento, toma de 5 a 7 días para poder apreciar las colonias en medios sólidos, y para su crecimiento en el laboratorio se requiere de condiciones de microaerofilia (10 % de CO₂) y medios artificiales ricos en nutrimentos como: peptona, triptona, extracto de levadura, glucosa, y sales como cloruro de sodio y bisulfito de sodio suplementados con sangre de caballo, poli enriquecimiento, suero fetal bovino (SFB) o una mezcla de los anteriores. Su característica bioquímica más sobresaliente es la abundante producción de la enzima ureasa, que cataliza la hidrólisis de la urea en amonio y bióxido de carbono; el cual es un mecanismo importante para la sobrevivencia de la bacteria en un ambiente con pH tan ácido como en el jugo gástrico.



Figura 2. Imagen del *Helicobacter pylori*. (5) **Figura 3.** Biopsia gástrica con *Hp* (5)

En la actualidad se conocen otras especies de *Helicobacter* asociados con la mucosa gástrica y mucosa intestinal de diferentes hospederos como *H. acinonyx*, aislado de mucosa gástrica de chitas, *H. mustelae* de hurones, *H. nemestrinae* de monos macaco y *H. suis* de cerdos, sin embargo, la única especie involucrada con el humano capaz de producir enfermedad es *Hp* (1-3).

La infección por *Hp* afecta en promedio al 50% de la población mundial, pero la mayoría de los afectados no experimentan síntomas, aún cuando esta infección se asocia con gastritis crónica activa o gastritis atrófica, adenocarcinoma gástrico, linfoma y con la dispepsia no ulcerosa (3,4). En países de Latinoamérica como Costa Rica y Brasil se reporta una incidencia anual de 45 enfermos de cáncer gástrico asociado a *Hp* por cada 100,000 habitantes. En México, se han observado regiones de mayor riesgo, como las zonas altas del estado de Chiapas donde existen grupos indígenas que presentan una alta incidencia de cáncer gástrico asociado a este microorganismo (5). En un estudio epidemiológico realizado en 1997, se trabajó con un banco de sueros representativo de la población de todos los estados de la República Mexicana (11,605 sueros) procedentes de personas cuya edad fluctuó entre 1 a 90 años (6). Los resultados mostraron que el 20 % de los niños de 1 año de edad presentaban anticuerpos contra *Hp* y que la seropositividad aumentó hasta un 50 % en los niños de 10 años de edad, lo que indicaba que la infección por el microorganismo en nuestro país se adquiere a edades tempranas y alcanza un 80 % en adultos jóvenes entre los 18 y 20 años de edad (7). La tasa de incremento de seropositividad fue aproximadamente del 5 % anual durante los primeros 10 años de vida.

Existen datos epidemiológicos en los que se ha encontrado que la infección por *Hp* se adquiere en la infancia, antes de los 5 años de edad (8).

La incidencia de esta infección en países industrializados es del 0.5 % anual, mientras que en los países en vías de desarrollo es del 3 al 10 % anual. En la población pediátrica los datos en cuanto a prevalencia son limitados ya que se obtienen de estudios retrospectivos de sero prevalencia de adultos (9). Los seres humanos parecen ser el principal reservorio de *Hp*, otros reservorios propuestos incluyen; el agua, gatos y moscas. Los factores de riesgos para adquirir la infección incluyen lugar de residencia, estado socioeconómico, hacinamiento, grupo étnico y predisposición genética (10).

La vía de transmisión no está bien determinada, pero se ha propuesto que es fecal-oral, gástrica-oral (vómitos) u oral-oral (11,12). Distintos grupos colaborativos de investigación a nivel mundial, han encontrado que las cepas de *Hp* distribuidas en la población varían en forma regional y se han clasificado en 3 tipos de cepas: Tipo I, distribuida principalmente en hispanos nativos, nativos africanos y residentes de Estados Unidos. Tipo II, que predomina en japoneses y chinos, y Tipo III, que se encuentra distribuida principalmente en los indios de Calcuta. Las cepas bacterianas que infectan a los latinoamericanos son más parecidas a las de España y Europa, esto sugiere que estas cepas de *Hp* fueron traídas al Nuevo Mundo por los conquistadores europeos hace más de cinco siglos (Figura 3) (13,14).

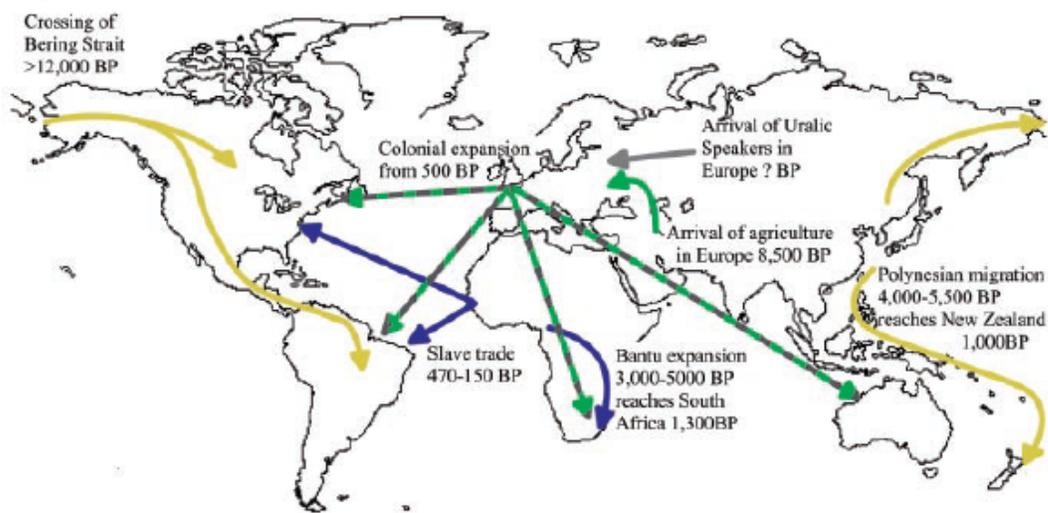


Figura 4. Rutas de migración de los portadores de las cepas ancestrales de *Hp* (13)

Actualmente se dispone de gran cantidad de información acerca de la bacteria, así como de los padecimientos que origina. Inicialmente se le ligó con úlcera péptica, gástrica y duodenal, posteriormente al basarse en los resultados de estudios de casos y controles y a una asociación epidemiológica sólida en 1994, La Organización Mundial de la Salud reconoció al *Hp* como un carcinógeno tipo I asociado con el cáncer gástrico y el Linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa gástrica (MALT, por sus siglas en inglés) (15,16).

Genoma bacteriano.

Se ha realizado la secuenciación del genoma completo de dos cepas de *Hp*: la cepa 26695 aislada en el Reino Unido en 1987 y la cepa J99 aislada en Estados Unidos en 1994. El cromosoma circular de la cepa 26695 contiene 1, 667,867 pares de bases (pb) y el de la J99 1,643,831 pb. Estos tamaños son similares al de *Haemophilus influenzae* y aproximadamente a una tercera parte del de *Escherichia coli*. El promedio en el contenido de G + C es del 39 % en ambas cepas secuenciadas. Sin embargo, 5 regiones en el genoma de la cepa 26695 y 9 en la J99 se han encontrado con diferente composición de G + C. La región 2 (con 35 % de G + C) de la cepa 26695 corresponde a la isla de patogenicidad *cag* que está asociada con la producción del antígeno *CagA* y la sobreexpresión de interleucina. Las otras 4 regiones no han sido bien caracterizadas, sin embargo, la región 1 y 3 (con 33 % de G + C) contienen copias de la secuencia de inserción IS605, de los genes 5S rRNA y una secuencia repetida de 521 pb. Además, la región 1, contiene el gen *virB4*, que codifica la proteína involucrada en la transferencia del ADN-T. La región 4 (con 43 % de G+C) contiene fusionados los genes *rpoB* y *rpoC* que codifican para las subunidades b y b' de la ARN polimerasa. El gen *fusA*, el cuál codifica para el factor de elongación de la traducción EF-G está también asociado con esta región. Finalmente la región 5 (con 33 % de G+C) contiene dos sistemas de modificación / restricción.(46)

Ambos genomas contienen dos copias de los genes 16 S y dos juegos de los genes 5S-23S del ARN ribosomal, además la cepa 26695 contiene un gen extra del 5S rRNA. En contraste a otras bacterias los genes rRNA de *Hp* no están situados continuamente en el cromosoma, sugiriendo que su regulación es más compleja que la de otros procariontes. Ambos genomas codifican para 36 especies de ARNs de transferencia, aparentemente localizados en las mismas regiones del mapa cromosómico en las dos cepas.

El diagnóstico molecular y la tipificación de *Hp* proporciona información imprescindible para estudios epidemiológicos y clínicos, así como para determinar la estructura genética de las poblaciones y entender la evolución del microorganismo

```
>gi|15611071|ref|NC_000921.1| Helicobacter pylori J99, complete genome
AGTGATTAGTGATTACAGCATCATTTTTTTAAATTTAGGCATAAAAAACGCCCTTAAATCAAGGGTTTTTGAG
CGAGCTTTTTGCTCAAAAGAATCCAAAGATAGCGTTTTAAAAATTTAGGGGTGTTAGGCTCAGCGTAGAGTTT
GCCAAGCTCTATGCATTTCATTGATGATGATAGGGTTTTGTGTGGGCGTGAAGCCAATTTTCATACGCTCCT
AAGCGTAAAAATCGCCTTTTCCATGCTCCCTAATCGCTTGAAAAATCCCAGTCTTTTAAATGCGGTTTCGATGA
GAGCGTCAATCTCATTGATTTTTTCTAACACGCCATTAAAAAAGGCTTAAAGCGAAAAGCGAGCTGGTTGTT
TTTAAATCTTTTTTCTTCTAACATGCTGGAAAGCGATTTTTTTAAATTTCTTCATTACCGCTCTCAAAACGCA
TACAACAATTCAAACCACAGCCCCCTGGCTTGAGTTCGTGTGCGCCATTTTAAATCCTTGAGAGTTTGGCAC
AAGCTCAATAATTCAAATGAGGGTGCTCATCGCTTCAAAAGGCCCTTATTACCGGCTTTACTGCCCGCTCTTT
CAATCGCTTGTTCAATATTGTCTGTGGTCAAGCAGCCAAAAGCTTACCGGCATGCTGTATTTTAGCATCGC
ACTAGCAATGCCCTTAGTCGCTTCCGCGCTCACGTAGTCAAAAATGCGGAGTCCCCCTCTAATGATCGCT
CCTAAAAACGCACAGCCATCGTATTTTCCGCTCTCTAACAAATTTGTCTAAAAATCAAAAGGCAATTCATAAG
CCCCAGGCACTAGCAGGATCTAAAAAGCTCCTCATCGCCCCATGCCTTTTAAAGCAATCCATCGCCCC|
TTCTTTTAAATCTGTCTGTGATGATATGGTTGAAGCGCGATGTTAAAAATAGCGATTTTTTTCATTCCCTTGT
AATTGCAATTTCCCTTCTATGATTTGCATGAAAATTCCTTTAAAAATAAAATTTGGATTTTTTAAACATGTGG
TTACTAAAGTGTCTAGCTCGTCAGGTTTTAGCATGTTTGTCCATCGCTTAGGGCGTTTTTAGGATCAAT
ATGCGTTTCAGCGAACAGCCCATCAATCCCCACCGCCGCCCGCTCTGGGTAAAAATAGGGGGAAAAAGAG
```

Figura 5. Genoma bacteriano del *Helicobacter pylori*. (12).

Fisiopatología.

La infección por *Hp* produce alteraciones en la secreción de hormonas y de polipéptidos gastrointestinales producidos por las células del antro gástrico. Estas anomalías tienen impacto en la fisiología gástrica y en la fisiopatología de la enfermedad ácido péptica.

La gastrina es una hormona producida por las células G, que se encuentran principalmente en el antro gástrico, estimula la secreción de ácido y actúa como una hormona trófica de las células parietales del cuerpo gástrico secretoras de ácido, la infección por *Hp* se caracteriza por un incremento en la secreción de gastrina que después de algún tiempo produce un incremento en el número y masa de células parietales con el consecuente incremento en la secreción de ácido. La síntesis y liberación de gastrina de las células G está bajo el control inhibitorio de la somatostatina, que es producida por las células D del antro. La infección por *Hp* también se asocia con un incremento en las concentraciones de gastrina sérica. La erradicación de la infección produce una remisión completa de la hipergastrinemia.(14,15).

Las proteínas contenidas en los alimentos estimulan a las células G para la liberación de gastrina. Esta hormona pasa a la circulación sistémica y estimula las células parietales en el cuerpo gástrico para secretar ácido. Cuando aumenta el ácido en el antro gástrico ejerce un control inhibitorio negativo para prevenir una mayor secreción de ácido que puede estar relacionado con enfermedad ácido péptica tanto gástrica como duodenal. El descenso en el pH gástrico estimula la liberación de somatostatina de las células D, la cual está en estrecha relación con las células G. Además, cuando las proteínas y la grasa contenida en los alimentos junto con el ácido gástrico entran al duodeno, estimulan la liberación de colecistoquinina la cual inhibe la liberación de gastrina por estímulo de la somatostatina. La cuál es la clave para el control inhibitorio y ahora es claro que la infección por *Hp* interrumpe este importante mecanismo de control(14,15).

Tanto la producción basal de ácido, estimulada por el péptido liberador de gastrina (PLG) como los niveles séricos de pentagastrina, están hasta seis veces más elevados en pacientes infectados con *Hp* y con úlcera duodenal que en sujetos sanos. La producción basal de ácido en pacientes con *Hp* y úlcera duodenal disminuye significativamente tras la erradicación de *Hp*. La producción de ácido estimulada por el PLG cae 66 % al mes y paulatinamente vuelve a concentraciones normales al año de la erradicación del *Hp*. Estos cambios en la secreción de ácido se acompañan con cambios similares en la producción de pepsina.(16)

Patogénesis.

La mucosa gástrica se encuentra bien protegida contra las infecciones bacterianas. El *Hp* está perfectamente adaptado a ese nicho ecológico mediante una serie de características únicas que le permiten a esta bacteria el desplazamiento por el moco, adherirse a las células epiteliales, evadir la respuesta inmune y como resultante una colonización permanente y la posibilidad de transmisión.

A pesar de la alta incidencia de la infección por *Hp* a nivel mundial **(16) figura 4**, no todas las personas infectadas por esta bacteria desarrollan la enfermedad, al parecer es determinante el tipo de cepa bacteriana que se encuentra colonizando la mucosa gástrica para el desarrollo de la infección y la sintomatología **(17, 18- 27)**.

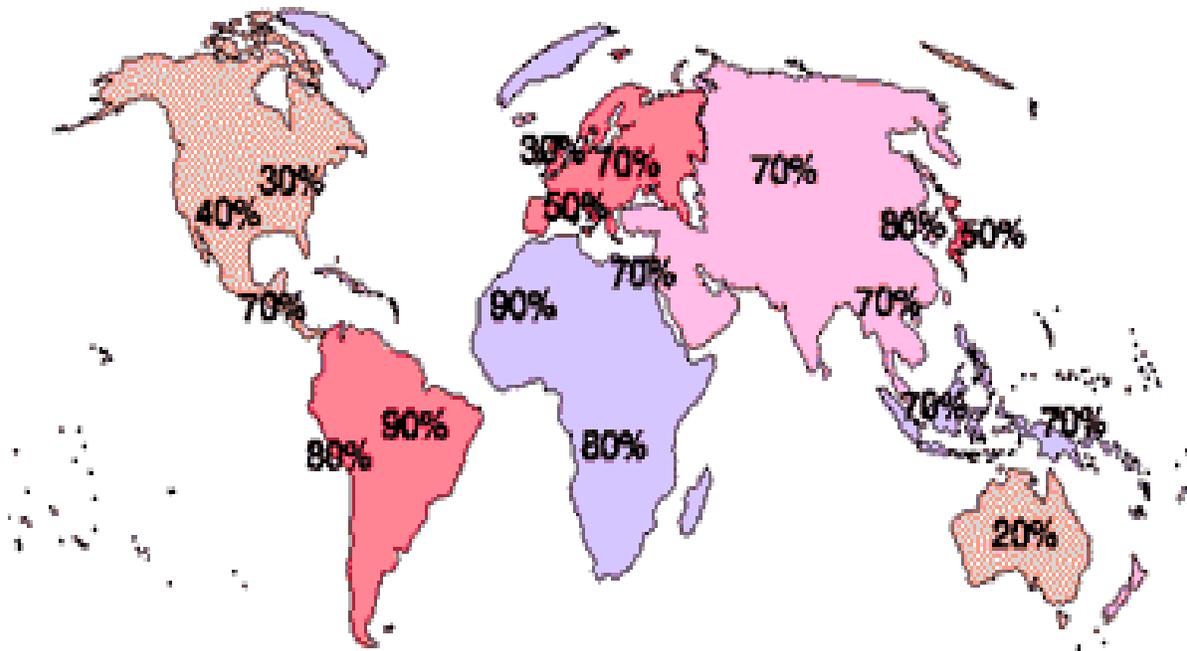


Figura 6. Prevalencia regional de infección por *Helicobacter*

Se han propuesto varios mecanismos de virulencia para *Hp*, uno de ellos es la producción de ureasa, **figura 7 (28-33)**. Esta enzima tiene un peso molecular de 550 kDa y está formada por dos subunidades UreA y UreB; es una de las proteínas más abundantes, ya que constituye el 5 % del total de proteínas que origina del microorganismo. La ureasa hidroliza la urea y necesita que dos iones de níquel (Ni^{2+}) se fijen en su sitio activo, produciendo amonio y bióxido de carbono. El amonio neutraliza el ácido clorhídrico del estómago, lo que ocasiona aclorhídria transitoria con un pH gástrico neutro. Este proceso permite que *Hp* se mueva rápidamente y atraviese la capa de moco para llegar al epitelio gástrico (34-42), quedando la ureasa y el amonio como producto final del desdoblamiento.

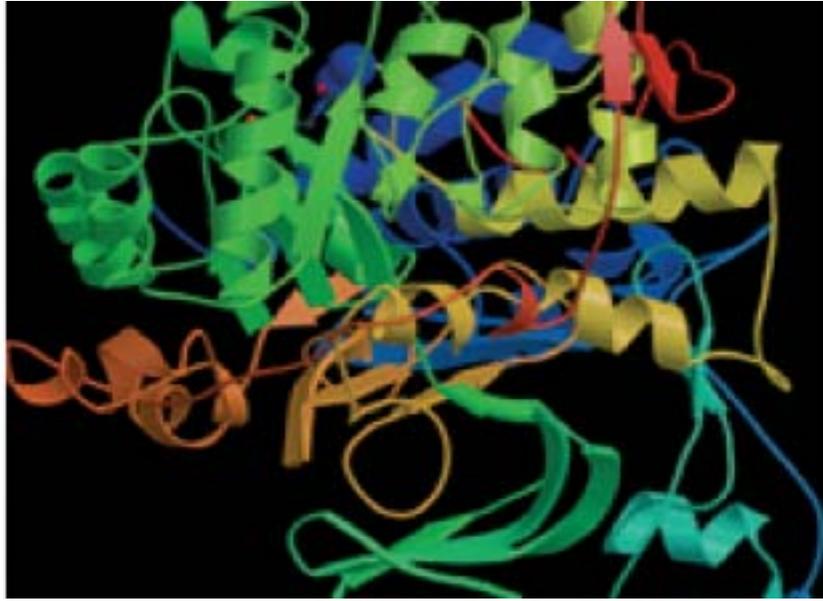


Figura 7. Modelo molecular de la enzima de ureasa.

El genoma del *H pylori* (165 millones de pares de bases) codifica aproximadamente 1500 proteínas. Existen al menos dos proyectos de secuenciación del genoma de *Hp* gracias a los cuales se sabe de la existencia de las adhesinas y otras proteínas de la cubierta externa (Hop), así como de genes que se activan o desactivan mediante mutaciones puntuales, estas proteínas de cubierta externa incluyen enzimas con capacidad de cambiar la estructura antigénica de las moléculas de superficie, controlan el ingreso de partículas de DNA de otras cepas de *Hp*. De tal modo que el genoma de la bacteria y la resistencia a los antibióticos puede cambiar durante la colonización crónica (15,43).

Un factor clave de virulencia es una proteína de membrana externa (CagA), esta proteína es altamente inmunogénica, su función aún no ha sido especificada. Estudios realizados por Cover y col. detectan niveles elevados de anticuerpos IgG por ELISA contra CagA en pacientes con úlcera duodenal en un 87.5 %, con úlcera gástrica en un 76 % y con dispepsia no ulcerosa en un 56.4 %, con una diferencia estadísticamente significativa de $p < 0.001$ para pacientes infectados con cepas CagA + y úlcera péptica, por lo cual proponen al gen *cagA* como un marcador de virulencia. A raíz de estudios realizados en Japón, Corea y China notamos que no solo es importante la presencia de *cagA* si no del tipo de *cagA* que posee la bacteria (43).

La mayoría de las cepas de *Hp* expresan una cito-toxina vacuolante (VacA) que se inserta en la membrana celular, en donde forma un canal con estructura selectiva de aniones, dependiente de voltaje por donde se pueden liberar bicarbonato y aniones orgánicos y probablemente permite el paso de nutrientes, esta cito-toxina también está dirigida a la pared mitocondrial en donde causa liberación de citocromo C e induce apoptosis. Si bien esta citotoxina no se considera indispensable para la colonización, se han descrito variaciones genéticas de la cito-toxina VacA en países occidentales, asociadas con una enfermedad más severa (43,44).

Aproximadamente el 60 % de las cepas del *Hp* producen proteínas codificadas por genes localizados en una isla de patogenicidad denominada PAI-cag, esta isla posee alrededor de 40 genes. El PAI-cag es similar en características a otras islas de patogenicidad encontradas en *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Yersinia*.(42-44)

Las características de la isla de patogenicidad de *Hp* son las siguientes: (i) su contenido de G + C es de 35 % comparado con 39 % del cromosoma bacteriano; contiene genes de virulencia y genes que codifican para proteínas del sistema de secreción tipo IV; presenta una o dos secuencias de inserción (IS605 y IS606) en algunas cepas; en otras cepas está flanqueada por secuencias repetidas directas, las cuales participan importantemente en la integración de la isla dentro del genoma bacteriano(44).

Datos histológicos.

Histológicamente la gastritis asociada a la infección por *Helicobacter pylori* se caracteriza por inflamación crónica activa, en el epitelio y en la lámina propia se observan infiltrados con células polimorfonucleares. En el interior de las células, las vacuolas con frecuencia son muy evidentes, es común la destrucción del epitelio y puede presentarse atrofia glandular (45).

Las biopsias endoscópicas del antro o de cuerpo gástrico se fijan en formol, se procesan rutinariamente y se tiñen, sea con hematoxilina y eosina, Warthin-Starry (figura 8) o tinción modificada de Giemsa. Estos métodos han mostrado una sensibilidad del 90 % y especificidad del 90 % para la identificación de *Hp*.

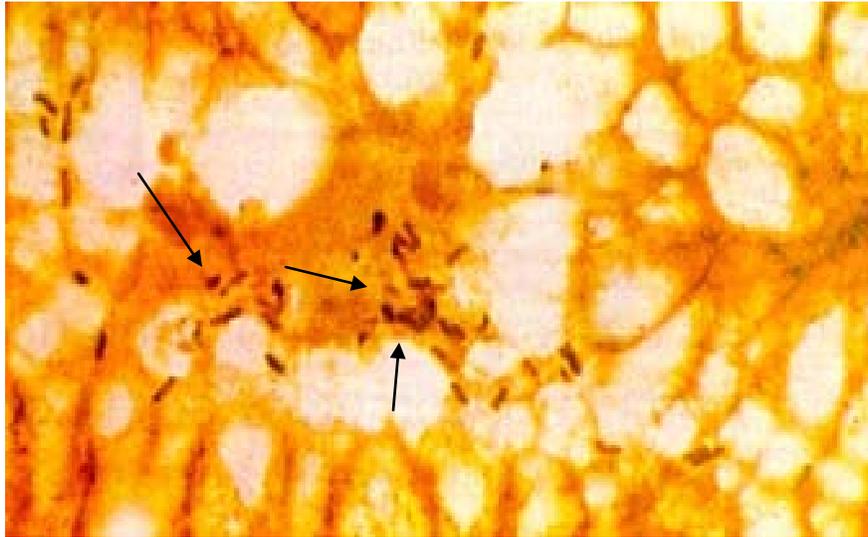


Figura 8. Tincion de warthin starry a 40 X.Biopsia gástrica con helicobacter (flechas)

Cuadro clínico.

El cuadro clínico es inespecífico, se pueden encontrar síntomas relacionados como dolor abdominal crónico en un 15 % de la población en edad pediátrica, aunque la mayoría de los casos pueden permanecer asintomáticos.

El proceso natural de la gastritis asociada a infección por *Hp* se puede dividir en 2 fases:

- 1. Fase aguda.** Se caracteriza por proliferación bacteriana intensa e inflamación que ocasiona sintomatología transitoria del tubo digestivo alto.
- 2. Fase crónica.** Se establece en las siguientes semanas o meses. Los síntomas desaparecen y el grado de inflamación es leve, superficial y difuso con un pH gástrico normal. Esta fase es la forma más frecuente de presentación en los pacientes infectados.

El *Hp* produce una gastritis crónica tipo B -antral, multifocal que puede, con la participación de otros factores genéticos o ambientales, evolucionar a cáncer gástrico, pasando por una serie de alteraciones histológicas intermedias, sucesivas y progresivas, de importancia creciente (19,20). El 40 % aproximadamente de las gastritis crónicas superficiales se convierten en atróficas con el paso del tiempo. En la historia natural de la carcinogénesis gástrica se establece la siguiente evolución: gastritis crónica superficial =>

gastritis crónica atrófica (GCA) => metaplasia intestinal (MI) => displasia (bajo grado y de alto grado) => cáncer gástrico ver figura 9 (20 46).

Figura 9 – Historia Natural de la gastritis asociada a infección por *Hp*.

Se describe la progresión de la infección y las enfermedades asociadas con respecto al tiempo.

Tratamiento.

Como en cualquier proceso infeccioso, la meta del tratamiento es la eliminación de la bacteria. Una vez que se ha logrado eliminar el, porcentaje de recurrencias es bajo, de tal suerte que el beneficio del tratamiento apropiado es durable, en relación con esta premisas consideraremos lo siguiente.

Desde 1987 se demostró que era posible la reducción en la recurrencia de úlcera péptica prácticamente a cero, en pacientes que reciben tratamiento de erradicación (46,47). Sin embargo, los porcentajes de erradicación empleando esquemas que inicialmente demostraron alta eficacia, están disminuyendo desde hace algunos años en prácticamente todo el mundo y en especial en países en desarrollo (48), a cifras tan bajas como de 47 % de éxito, todo lo anterior ha dado como resultado la implementación de múltiples esquemas alternativos, todos estos trabajos se han realizado principalmente en Europa, en particular en Italia.

Para que un esquema de tratamiento de erradicación de *Hp* sea clínicamente relevante, debe obtener una tasa de eliminación (eficacia) de por lo menos 90 %, y de un 80 % de acuerdo por protocolo a la intención de tratar. Idealmente el tratamiento empleado debe reunir las siguientes características; 1) Buena aceptación, 2) Pocos efectos colaterales y 3) Mínima inducción de resistencia bacteriana. Estos requisitos no se han logrado solamente con el empleo de antibióticos, debido a que la acidez gástrica influye sobre la efectividad de los antibióticos útiles para el tratamiento de la infección por *Hp*. Por lo tanto se deben emplear conjuntamente agentes anti secretores, como los inhibidores de la bomba de protones, bloqueadores H2 de la histamina, o sales de bismuto, que conforman los esquemas denominados como triple terapia, es decir la combinación de un anti secretor mas dos antibióticos, con duración variable que oscilan de 7 a 10 días, o bien durante 14 días (48), estos esquemas han sido extensamente probados y están avalados por las sociedades Europeas, y en los Estados Unidos por la Food and Drug Administration (FDA). Esta combinación de medicamentos incrementa los porcentajes de éxito, reduciendo la selección de cepas resistentes.

Los principales antibióticos empleados en pacientes adultos y pediátricos son la amoxicilina, claritromicina y metronidazol, dicho esquema ha sido exitoso por más de una década, sin embargo, se ha incrementado la resistencia a estos tres antimicrobianos.(48,49) Con frecuencia la resistencia a la amoxicilina es transitoria y generalmente no impacta en el porcentaje de éxito de los esquemas empleados, Actualmente la claritromicina es el antibiótico más eficiente con el que disponemos para el tratamiento de la infección por *Hp* y se emplea como parte esencial de los esquemas triples denominados estándar que están avalados por las guías de tratamiento europeas y americanas (49), la resistencia de la bacteria a los macrólidos, que se debe a mutaciones en la fracción 23S en los genes del RNA ribosomal, hasta el momento se han descrito cambios de una adenina por una guanina en la posición 2142 y 2143 o de adenina por citocina solo en la posición 2143, estos cambios impiden la unión del macrólido al sitio de acción.

La resistencia a claritromicina impacta de manera importante en el porcentaje de erradicación, que es hasta el 98 % en pacientes con cepas sensibles, disminuyendo a 23 % con cepas resistentes, este porcentaje de resistencia se ha ido incrementando en todo el mundo (50,51). La resistencia a metronidazol se debe principalmente a mutaciones en los

genes de la nitroreductasa (rdxA y frxA) los cuales interfieren con la activación intracelular de los nitroimidazoles. En nuestro país, tanto en adultos como en pacientes pediátricos, la resistencia a amoxicilina es de 18 %, a claritromicina 24 % y a metronidazol 80 % **(52,53)**.

Una de las principales causas de falla terapéutica es la resistencia bacteriana. En ese caso se recomienda emplear un esquema alternativo, especialmente cuando la resistencia es a la claritromicina, y la eficacia disminuye a cifras de hasta 47 % **(53)** se ha intentado incrementar la dosis lo que no ha demostrado mejores resultados **(54)**.

Pueden emplearse otros antibióticos como tetraciclina (en adultos y niños mayores de 8 años) y metronidazol sin olvidar las particularidades ya descritas. En países donde la resistencia al metronidazol es elevada, como es el caso de nuestro país, se recomienda como alternativa el tinidazol, existen algunos reportes con la combinación de tinidazol, claritromicina y omeprazol con porcentajes de erradicación considerados bajos (61 %) y con elevado porcentaje de efectos adversos 45 % **(55)**. Los nuevos esquemas llamados secuenciales parecen ofrecer una alternativa promisoriosa como segunda línea de tratamiento.

Las razones por las cuales el tratamiento secuencial es mejor que la triple terapia considerada estándar no son del todo claras, sin embargo, se sabe que en la pared celular de las cepas de *Hp* resistentes a los antibióticos, existen un bombas dependientes de ATP que tiene la función de causar una rápida extracción de antibióticos, que por ende disminuye la concentración intracelular del antibiótico, mermando su acción bactericida **(50,51)**, estas bombas se han propuesto como un mecanismo alternativo de resistencia bacteriana adicional a los descritos previamente **(47,52)** ver **figura 9**.

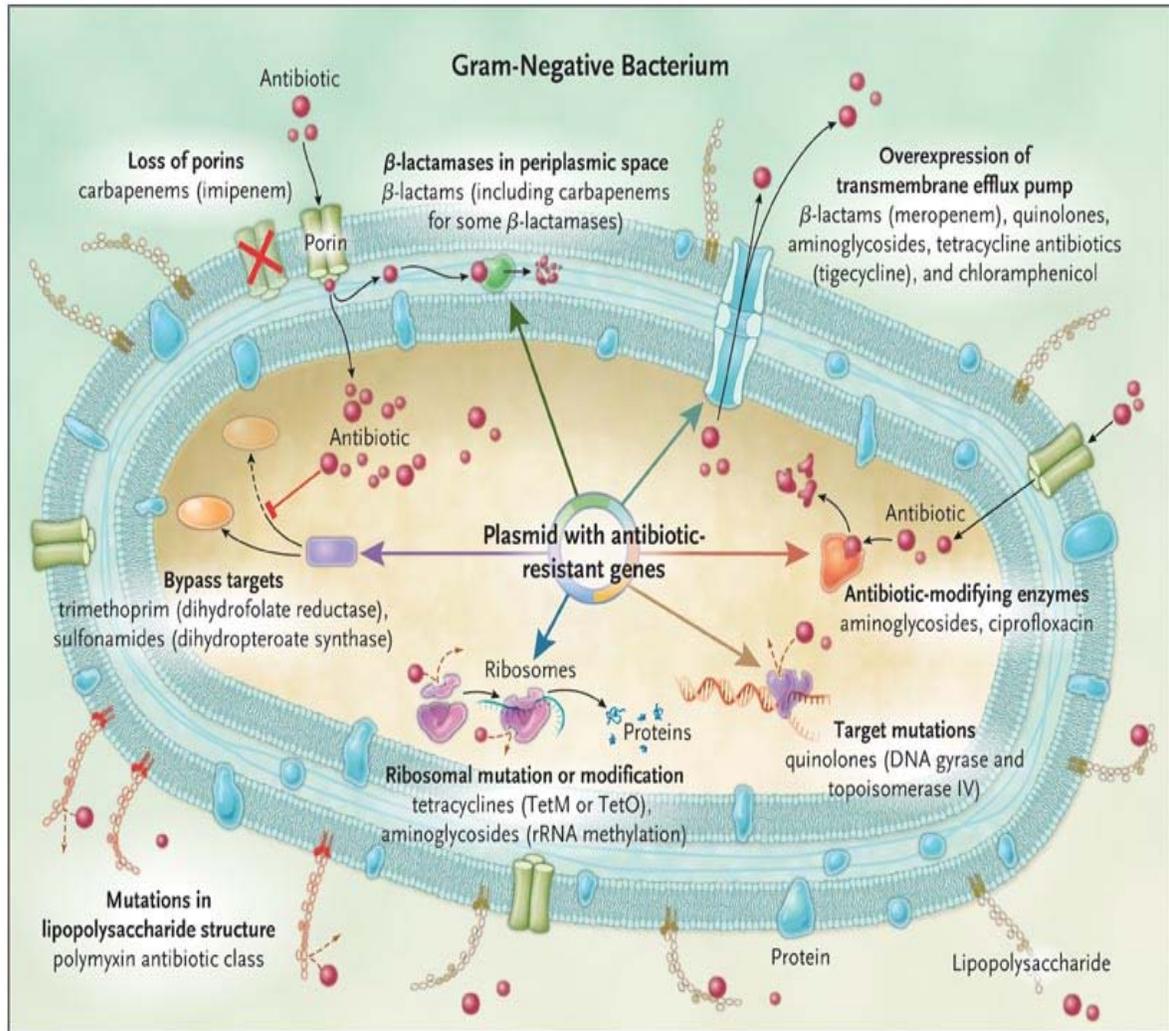


Figura 10. Bombas de extracción de antibióticos y otros mecanismos de resistencia (53).

Por lo tanto, la amoxicilina con su capacidad para destruir la pared celular disminuye o impide el funcionamiento del sistema de eflujo lo cual favorece el incremento en la concentración intracelular de los macrólidos, combinando acceso facilitado y una menor extracción, gracias a una pared celular debilitada, e imposibilitada para evitar el paso de los macrólidos a sus sitios de acción, lo cual en el caso de la claritromicina resulta fatal para la bacteria, dicho de otro modo, los primeros cinco días de un tratamiento secuencial funcionan como grupo de choque que debilita algunos de los mecanismos claves de la

resistencia bacteriana, favoreciendo la eficacia de la segunda fase del tratamiento, aún en las cepas resistentes a claritromicina.

Este esquema secuencial se emplea como una opción de segunda línea, después del fracaso del tratamiento con esquema tradicional, o bien algunos centros los recomiendan como primera línea, sobre todo en los países en donde las resistencias a claritromicina y metronidazol son elevadas, como es el caso de nuestro país. Con los esquemas secuenciales en Europa se reportan tasas de erradicación por arriba de 90 %. Considerando las diferencias geográficas, las variantes de en las cepas(10,13) así como las diferencias en la resistencia, se recomienda la aplicación de este esquema, motivo por el cuál es importante validarlo en nuestra población **(53-55)**.

La prescripción del tratamiento secuencial puede requerir de un tiempo adicional para el médico por la intención del tratamiento, este tiempo extra será bien empleado ya que pocos pacientes necesitaran un segundo o hasta un tercer esquema de tratamiento **(54)**.

La reciente publicación de un meta análisis demuestra que el porcentaje de erradicación con un esquema secuencial es de 93.4 % comparado con 76.9 % obtenido con un esquema triple, sin que esto sea afectado por la carga bacteriana o por factores del hospedero, aún las cepas resistentes a claritromicina en las cuales el porcentaje de erradicación con la terapia secuencial fue de 82.2 % y de solo 40.6 % con el esquema triple **(55,56)**. Hasta la fecha, la mayoría de los reportes de tratamiento con esquema secuencial han sido realizados en Italia en donde las nuevas guías de tratamiento para *Hp* recomiendan la triple terapia por 7 o 14 días, o bien la terapia secuencial como tratamiento de primera línea **(57)**. El principal inconveniente de la terapia secuencial es que es necesario emplear un tiempo adicional para la prescripción, debido a la relativa complejidad que tiene una duración intermedia, a la mitad del tratamiento cambian los medicamentos, sin embargo, en el meta análisis ya mencionado se informa acerca de una mejor adherencia al tratamiento y sin más efectos adversos que un esquema triple **(58)**.

Las guías del Colegio Americano de Gastroenterología para el tratamiento de la infección por *Hp*, declaran que la terapia secuencial puede ser una alternativa de tratamiento en los esquemas basados en claritromicina, de igual forma el Consenso Europeo de Maastricht III lo considera como una alternativa viable y sugieren urgentemente la evaluación en

diferentes países, sustentando la recomendación en la variabilidad regional de esta bacteria (59). Indudablemente, la terapia secuencial se mantiene como una promesa que debe ser evaluada antes de recomendarla como terapia inicial en lugar de las triples terapias, considerando la posibilidad de esquemas cuádruples y otros con adyuvantes como los probióticos con el fin de mejorar los porcentajes de erradicación (60).

La infección por *Hp* sigue siendo la más común en los seres humanos, todavía no está del todo claro como una bacteria que se puede considerar comensal para los seres humanos, en algún punto de la evolución se ha tornado “patógena” y está vinculada con neoplasias del tubo digestivo alto y algunas otras afecciones extra-intestinales, la genómica funcional podrá llenar esos huecos del mismo modo en que ayudara en la producción de nuevos tratamientos o bien el desarrollo de la tan ansiada vacuna, que ya ha sido probada en modelos animales y debido a las peculiaridades de la inmunología gástrica no ha sido posible hacer factible la vacuna para humanos. Existe una gran cantidad de investigaciones en curso dirigidas a una mejor comprensión de los mecanismos patogénicos, para luego abrir el camino a nuevos tratamientos, sin embargo, la posibilidad de que estos conocimientos salgan a práctica se ve aún lejana, en tanto esto sucede, la controversia continua, no se define cuales pacientes deben recibir tratamiento, en qué momento y con cuál esquema (61).

Si bien es cierto que todo lo que se debe hacer, debe hacerse bien, actualmente el esquema secuencial para el tratamiento de la infección por *Hp* se presenta como una de las mejores opciones, al parecer con los mismos efectos adversos que la triple terapia (35), es importante hacer una validación de este esquema en nuestra población, verificar su efectividad, reconocer cual es el estado actual de la resistencia a antibióticos, para diseñar un esquema a la medida (36,61).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Actualmente existen descritos más de un centenar de esquemas (dobles, triples, cuádruples y duración variable) con porcentajes de erradicación por arriba del 80% mínimo aceptado como satisfactorio.

A nivel mundial se reporta una disminución de la eficacia del esquema tradicional para la erradicación del *Helicobacter pylori*, en nuestro país las resistencias a los antibióticos en las cepas de esta bacteria en pacientes adultos y pediátricos son, a Metronidazol del 78.4 % a Amoxicilina 15.5 % y a claritromicina del 21.6 %. Por tal motivo Las guías del Colegio Americano de Gastroenterología para el tratamiento de la infección por *Hp*, declaran que la terapia secuencial puede ser una alternativa de tratamiento en los esquemas basados en claritromicina, de igual forma el Consenso Europeo de Maastricht III lo considera como una alternativa viable y sugieren urgentemente la evaluación en diferentes países, sustentando la recomendación en la variabilidad regional de esta bacteria, con base en lo anteriormente expresado el presente trabajo pretende probar cual será la eficacia del esquema secuencial en la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori*

En la población mexicana.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál será la eficacia de un esquema secuencial en la erradicación de la infección por *Hp* ?

JUSTIFICACIÓN

A nivel mundial se reporta una disminución de la eficacia del esquema tradicional para la erradicación del *Helicobacter pylori*, en nuestro país no contamos con estudios recientes acerca de la eficacia de los esquemas empleados, se sabe las resistencias a los antibióticos en las cepas de *Helicobacter pylori* en México, en pacientes adultos y pediátricos son, para Metronidazol del 78.4 % para Amoxicilina 15.5 % y para claritromicina del 21.6 %, con estos datos se recomienda, no emplear metronidazol y reconsiderar el empleo de claritromicina o bien usar un esquema secuencial, este tratamiento no está validado en población pediátrica mexicana. Existen reportes en la literatura europea de que es más eficaz y más económico, de confirmar estos datos en nuestra población se contaría con bases para recomendar este tratamiento incluso como de primera línea considerando que el tiempo de empleo de claritromicina es de solo 5 días, lo cual podría disminuir los efectos adversos frecuentemente reportados con el empleo de este fármaco como son: Cefalea, náuseas, vómito, diarrea y alteración del sentido del gusto , lo que sería benéfico sobre todo en niños, por el empleo de suspensión que tiene un marcado sabor amargo .

HIPÓTESIS

El esquema secuencial para la erradicación de *Helicobacter pylori* es más eficaz que el esquema tradicional.

OBJETIVOS

PRINCIPAL Evaluar la eficacia del esquema secuencial en la erradicación de *Helicobacter pylori*. *comparado con el esquema tradicional*

SECUNDARIOS

Calificar por medio de escala numérica la sintomatología antes y después de tratamiento

Valorar porcentaje de curación con los tratamientos de erradicación .

DISEÑO METODOLÓGICO

DISEÑO DEL ESTUDIO: Se realizó un ensayo clínico aleatorizado, abierto, controlado.

POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Fueron incluidos pacientes de ambos sexos. niños de 4 años de edad y adultos hasta 68 años que acudieron a la consulta externa de gastroenterología, pediatría y gastroenterología pediátrica de la clínica de especialidades médicas de la Secretaría de la Defensa Nacional, donde se les realizó historia clínica, exploración física llegando a la sospecha diagnóstica de dispepsia, enfermedad ácido péptica o infección por *Helicobacter pylori*, motivo por el que previa firma de la carta de consentimiento bajo información fueron enviados al servicio de endoscopia a fin de realizarles estudio endoscópico del tubo digestivo alto con toma de dos biopsias de la mucosa gástrica del cuerpo gástrico y dos biopsias de la mucosa del antro gástrico, de las cuales una biopsia de antro y una del cuerpo gástrico fueron colocadas en un tubo de ensayo con una solución preparada en el laboratorio del hospital de acuerdo a la siguiente fórmula de urea al 4% con un indicador de pH (rojo de fenol) ,60 g/L de urea, 0,012 g/L de rojo fenol, 2 g/L de KH_2PO_4 , 1 g/L de peptona, 5 g/L de NaCl y 10 g/L de glucosa en agua destilada, con el fin de realizar prueba de ureasa rápida. Las dos biopsias restantes se colocan en solución de formol al 10% y remitidas al departamento de patología donde se realizara la inclusión en bloques de parafina, corte y tinción con hematoxilina y eosina y fueron interpretadas por un patólogo con experiencia, quien asentaba en el reporte los datos correspondientes, consignando la presencia de infección por *Helicobacter* a fin de corroborar la sospecha diagnóstica,

Con la prueba de ureasa rápida positiva los pacientes fueron contactados para participar en el protocolo. El tratamiento se fue asignado de acuerdo a una tabla de números aleatorios por bloques, (balanceada) donde el tratamiento A correspondía al esquema tradicional y el tratamiento B al esquema secuencial, el estudio fue abierto dado que los investigadores prescribían el tratamiento de acuerdo a la aleatorización conociendo los medicamentos empleados al igual que los pacientes.

Una vez concluido el tratamiento de erradicación durante 10 días los pacientes continuaron por 4 semanas con omeprazol, una vez al día por 4 semanas más, y entre 4 y 6 semanas después se programó una prueba de aliento con urea ¹³ marcada a fin de corroborar la

erradicación del helicobacter, previamente se instruyó sobre no ingerir en las 4 semanas previas a la prueba antibióticos ni de inhibidores de la bomba de protones ni de sales de bismuto, y en caso necesario notificar al investigador principal para reprogramar el estudio.

La prueba de aliento con ^{13}C -urea. Se basa en la capacidad del *Helicobacter pylori* para transformar la urea. Para realizar la prueba se administra una solución con urea marcada con carbono 13 que es un isótopo no radioactivo: En presencia del *Helicobacter pylori*, la urea marcada es transformada en dióxido de carbono (CO_2) y amoníaco (NH_3). El CO_2 se absorbe, pasa a la sangre y es eliminado en forma de aire espirado a través de los pulmones.

La UBT BreathTek (ver anexo 4) es la prueba de aliento para *H. pylori* aprobada por la FDA para confirmar la erradicación después del tratamiento con antibióticos.

La muestra se analiza en espectrofotómetro infrarrojo UBiT(R)-IR 300

Preparación para el estudio:

El paciente debe acudir con un ayuno de al menos una hora y se procede a realizar el estudio de la siguiente manera:

En una primera fase se realiza una determinación basal, en la que deberá soplar de forma continua en el interior del contenedor de muestras, que será cerrado inmediatamente.

Posteriormente se le suministra la solución de prueba, generalmente con sabor a limón, que contiene C^{13} -urea.

Transcurridos 20 minutos se recoge la segunda muestra espiratoria .

Ambas muestras tienen los datos de identificación del paciente , una vez recolectadas se llevan al espectrofotómetro infrarrojo UBiT(R)-IR 300 y se analizan por el equipo que realiza las lecturas y arroja el resultado final de la prueba. Los resultados se expresan en unidades delta (d), que es la expresión en tantos por mil (‰) de la relación de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ del post y la basal.

CÁLCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA.

El tamaño de la muestra asumiendo un porcentaje de erradicación con la triple terapia de 77 %. Estimando encontrar una diferencia de 20 % en la erradicación con un poder de 0.80 para encontrar una diferencia significativa ($P = .05$ con un nivel de confianza del 95% se requieren 16 pacientes en cada grupo de estudio .

Tabla 1 fórmula desglosada para el cálculo del tamaño de muestra

$$N = \frac{\left[Z_{\alpha} \sqrt{2 \cdot P(1 - P)} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1 - P_1) + P_2(1 - P_2)} \right]^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

2	pA	0.97	
3	qA	0.03	
4	pB	0.47	
5	qB	0.53	
6	pm	0.485	
7	qm	0.515	
8	alfa	0.05	
9	zeta alfa/2	1.9600	
10	beta	0.2	
11	zeta beta	0.8416	
12	Numerador	3.9209	
13	Denominador	0.25	
14	n (cada grupo) =	16	

CRITERIOS DE SELECCIÓN.

INCLUSIÓN:

1. Edad entre 4 y 68 años
2. Sintomatología de tubo digestivo alto, pirosis, vomito, nausea o dolor abdominal.(escala de síntomas digestivos)
3. Endoscopia de tubo digestivo alto (panendoscopia) normal , toma de biopsias* de antro gástrico, cuerpo , y duodeno ..
4. Con prueba de ureasa rápida positiva y presencia de Helicobacter pylori en el estudio histopatológico.

EXCLUSIÓN:

1. Ingesta de bloqueadores de la bomba de protones o de medicamentos que contengan derivados del bismuto por lo menos un mes antes de ingresar al estudio.
2. Cualquier modificación al esquema de tratamiento
3. Antecedente de alergia a alguno de los medicamentos del esquema de tratamiento propuesto
4. Negación de los padres o de los pacientes para participar en el estudio.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

1. No conclusión del tratamiento.
2. No realización de la prueba de aliento post tratamiento.

ESQUEMAS DE TRATAMIENTO:

Toda vez que los pacientes fueron seleccionados se les invitó para participar en el estudio. Previa firma de la carta de consentimiento bajo información, fueron asignados en forma aleatoria

(Mediante una tabla de números aleatorios) para recibir uno de 2 tratamientos,

1. esquema tradicional (T3).
2. esquema secuencial (Tsec).

1.- Esquema tradicional. tratamiento **Niños** 10 días con: Claritromicina (7.5mg/k/dosis 2 veces al día), Amoxicilina (50mg/k/día) 2 veces al día) y Omeprazol (1mg/kg 2 veces al día en niños menores de 20 kg y 20mg 2 veces al día en niños mayores de 20kg (dosis máxima 20 mg /kg/día). **Adultos** Amoxicilina 1 g cada 12 hrs Claritromicina 500 mg cada 12 hrs, omeprazol 20 mg cada 12 hrs .

2.- Esquema secuencial . Primera fase Niños 5 días Amoxicilina (50mg/k/día) 2 veces al día) y Omeprazol (10mg 2 veces al día en niños menores de 30 kg y 20mg 2 veces al día . Segunda fase 5 días con Omeprazol (10mg 2 veces al día en niños menores de 30 kg y 20mg 2 veces al día , más Claritromicina (7.5mg/k/dosis 2 veces al día), Amoxicilina (50mg/k/día) 2 veces al día) **adultos** . Primera fase 5 días con Amoxicilina 1 g cada 12 hrs, Omeprazol 20 mg cada 12 hrs , Segunda fase 5 días con Amoxicilina 1 g cada 12 hrs, Omeprazol 20 mg cada 12 hrs agregando Claritromicina 500 mg cada 12 hrs.

3.- 4 semanas después de completar el tratamiento todos los pacientes fueron evaluados con la escala de síntomas digestivos y se les realizó prueba de aliento para comprobar la erradicación del helicobacter.

Tabla 2 DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Evaluación	Tipo	Análisis
<u>Independiente</u> Tratamiento para erradicación “tradicional “	1.-Amoxicilina 50 mg /kg 2 dosis por 10 días .2.- Omeprazol 1 mg /kg cada 12 hrs por 10 días 3.- Claritromicina 25 mg /kg 2 dosis x 10 días	Administración o no del tratamiento	Cualitativa dicotómica	Chi ² Tabla de 2 x 2
<u>Independiente</u> Tratamiento secuencial para la erradicación	1.-Amoxicilina 50 mg /kg 2 dosis por 5 días 2.- Omeprazol 1 mg /kg cada 12 hrs por 5 días		Cuantitativa dicotómica	Chi ² Tabla de 2 x 2
<u>Dependiente</u> Prueba de aliento	Prueba de aliento con urea marcada con C13	Punto de corte 2.3 considera como negativo un Valor de 0 a 2.3	Cuantitativa dicotómica	Chi ² Tabla de 2 x 2

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO: los resultados fueron analizados mediante el programa SPS versión 15 .

RESULTADOS

Se recolectaron 40 pacientes de ambos sexos (gráfica 1), con edades comprendidas entre los 6 y los 68 años de edad a todos se les realizó endoscopia de tubo digestivo alto con toma de biopsias y tuvieron una prueba de ureasa rápida positiva (tablas 3 y 4). A todos se les evaluó con una escala tipo Likert para síntomas digestivos antes y después de tratamiento, la distribución de acuerdo al género fueron 15 pacientes Masculinos 25 pacientes femeninos y de acuerdo a la edad 16 niños y 19 adultos (gráficas 1y 2),18de ellos recibieron tratamiento tradicional y los 22 restantes tratamiento secuencial (gráfica.3).

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a grupos de edad ni distribución por sexo , sintomatología antes y después de recibir el tratamiento asignado .

Al realizar prueba de aliento para corroborar la erradicación de Helicobacter 5 de los 18 pacientes que equivalen al 25% de los casos que recibieron tratamiento tradicional resultaron con la prueba positiva para infección por Helicobacter, lo cual traduce una eficacia del 75 %.

De los 22 pacientes que recibieron tratamiento secuencial 1 paciente, que equivale al 5 % resultado con prueba de aliento positiva para infección por Helicobacter con lo anterior se concluye un eficacia del 95 % del tratamiento secuencial versus 75 % del tratamiento es decir un 20 % más de eficacia que el tratamiento tradicional, al realizar el análisis estadístico con la prueba de Chí cuadrada de Pearson de 4.19 con 1gl se obtiene una p de 0.41 con lo que se puede concluir con un 95% de certeza que el tratamiento secuencial es más eficaz para la erradicación de la infección por Helicobacter pylori en niños y adultos mexicanos.(gráficas 4 y 5)

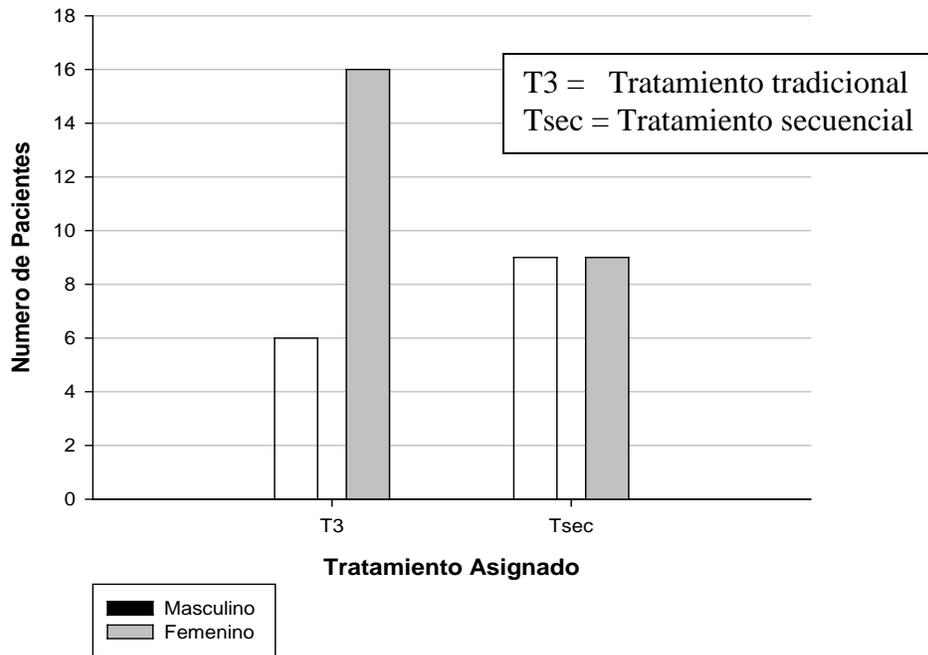
Tabla 3 . Datos poblacionales y estudios antes de tratamiento.

Variable	Tratamiento tradicional	Tratamiento secuencial
masculinos	9	6
Femeninos	9	16
Rango edad 6-14 años	6	8
15-28	2	2
29-40	3	5
41-60	6	6
61- 70	1	1
Endoscopia y biopsias	100 %	100%
Prueba de ureasa	100%	100%

Tabla 4 . sintomatología y resultados de la prueba de aliento .

Variable	Tratamiento tradicional	Tratamiento secuencial
Síntomas antes de tratamiento	6.61 ±3.80	8.2 ± 1.47
Síntomas post tratamiento	2.0 ±3.24	1.5 ±1.0
Prueba de aliento negativa	13	21
Prueba de aliento positiva	5	1
Pba de aliento (valor absoluto)	11.2 ± 7.3	0.9 ±1.7

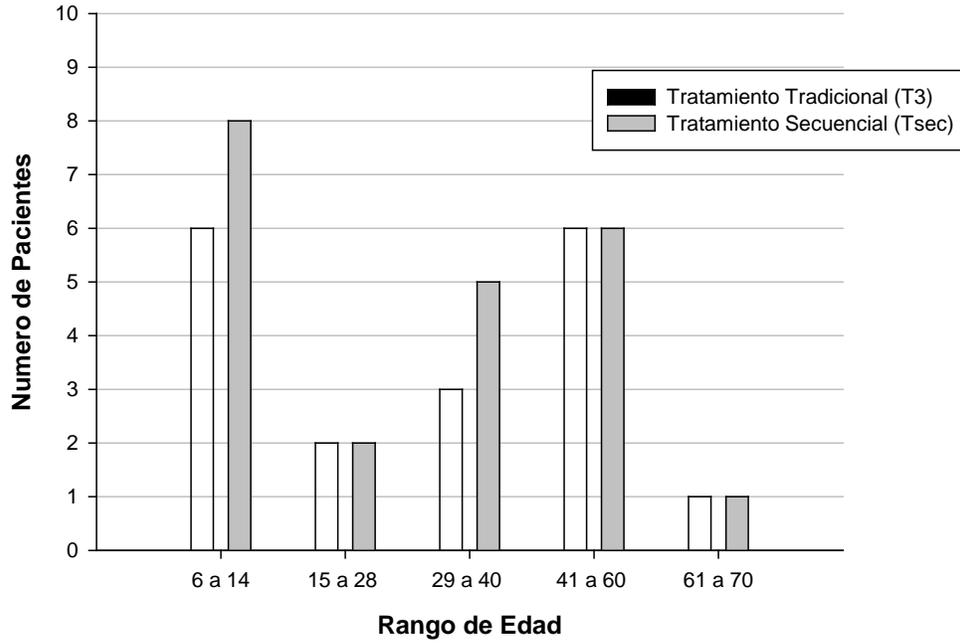
Distribución por genero



Gráfica 1 distribución por género .

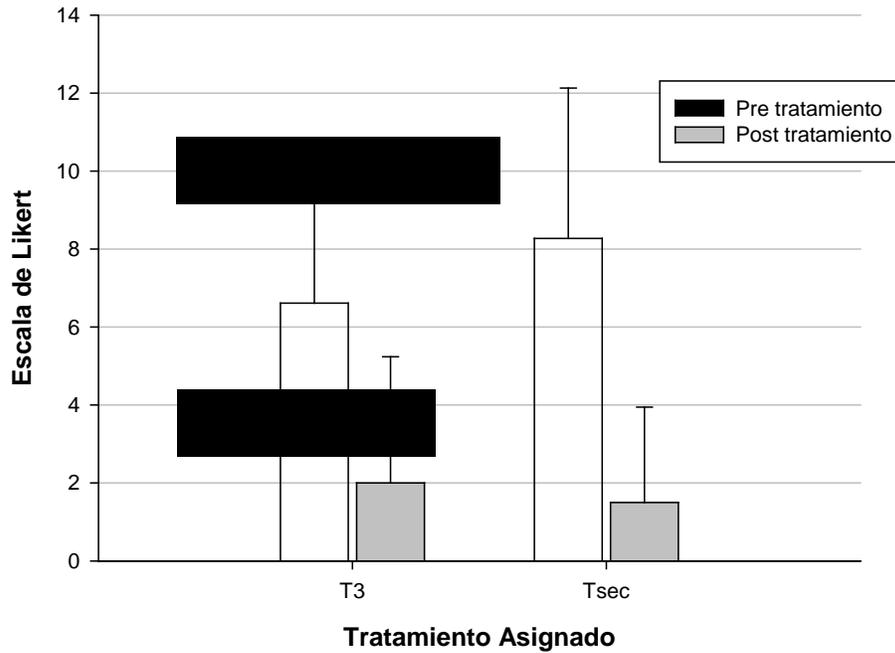


Distribución por Rango de Edad



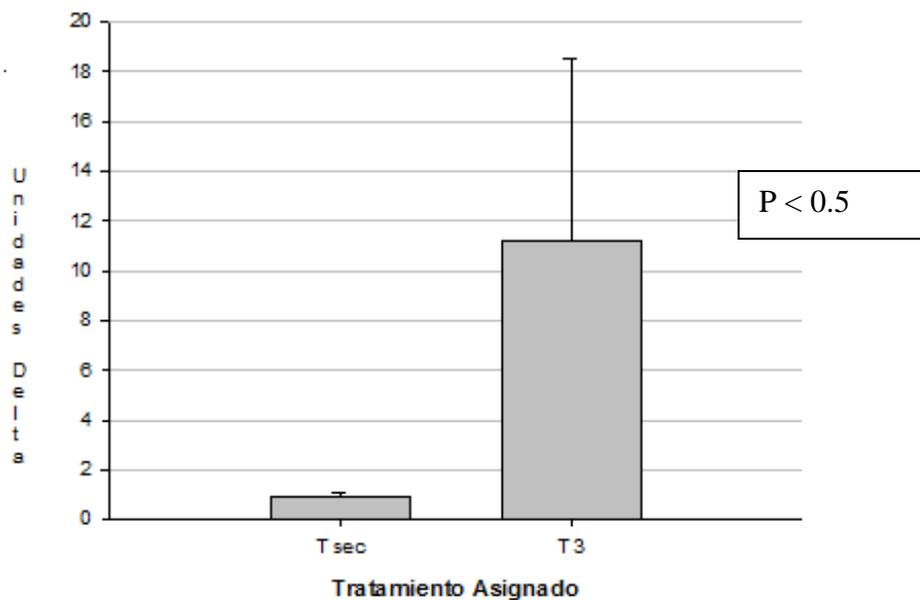
Gráfica 2 distribución por rango de edad.

Sintomas



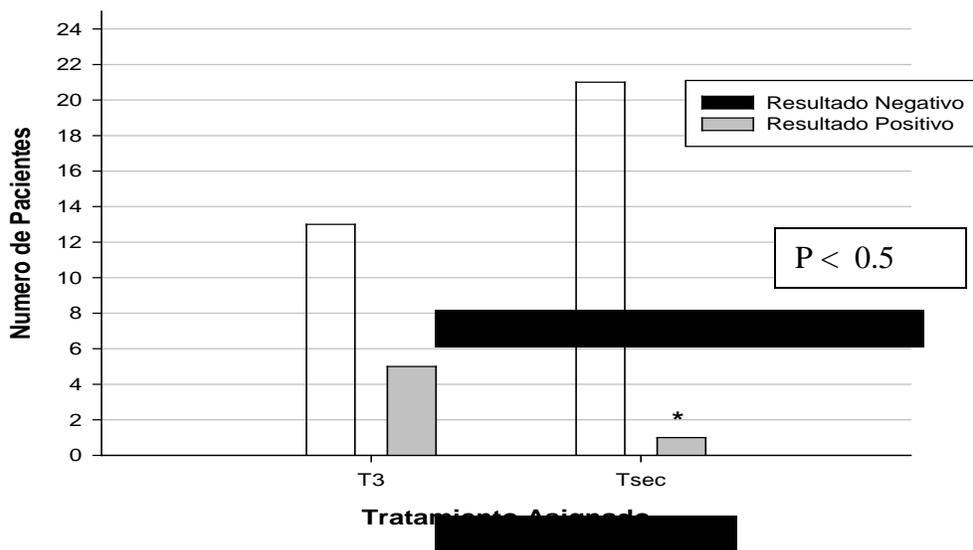
Gráfica 3 valores de síntomas pre y post tratamiento .

PRUEBA DE ALIENTO



Gráfica 4 reporte de prueba de urea en aliento en unidades delta

Prueba de Aliento



Gráfica 5 interpretación de prueba de aliento

9.-DISCUSIÓN

Desde que se descubrió el *H. pylori*, la forma de tratarlo y sobre todo la erradicación ha constituido uno de los más importantes retos para la gastroenterología. Mundialmente diversas circunstancias hacen difícil eliminar esta infección siendo algunas de ellas inherentes a *H. pylori*, al hospedero y otras a las infecciones bacterianas en general.

El tratamiento utilizado en todo el mundo para la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori*, recomendado por todas las guías internacionales, es la llamada terapia estándar, compuesta por un inhibidor de la bomba de protones (IBP) y la combinación de 2 antibióticos (Claritromicina más Amoxicilina o Metronidazol), durante por lo menos 7 días (56-62), sin embargo, las tasas de erradicación de la infección por *H. pylori* con la triple terapia estándar han caído desde un éxito inicial de > 90% a 75% y hasta 47% en algunas áreas (63,64). Por ejemplo, dos estudios multicéntricos recientes realizados en EE.UU., con tasas de erradicación del 75 % consideradas como inaceptables con el tratamiento estándar (65) similar a la obtenida en el presente trabajo. Dos meta-análisis que incluyen más de 53.000 pacientes demuestran que la tasa de curación, en la actualidad, es menor del 80% (66,67). En resumen, las tasas de erradicación en países occidentales han llegado a niveles considerados como inaceptables, se ha intentado incrementar la duración de la terapia triple, prolongando la exposición a los antibióticos con lo que se han logrado resultados más bien controversiales, que en general, no se han traducido en mejoría para los pacientes (68,69).

Nuevas estrategias para mejorar el tratamiento de primera línea son una necesidad urgente.

El beneficio real de un tratamiento para ser considerado altamente efectivo y recomendable como de primera línea debe tender a mejorar la eficacia del tratamiento y reducir las posibilidades del fracaso terapéutico. La continuidad de empleo de la triple terapia estándar está en tela de juicio y la terapia secuencial podría ser recomendada en su lugar (70-72).

Estrictamente hablando la innovación terapéutica, postulada como una alternativa recomendable para sustituir a la triple terapia estándar, es conocida como tratamiento secuencial. En realidad no es un nuevo tratamiento ya que utiliza fármacos bien conocidos, con indicación aprobada para la erradicación de *H. pylori*. Sin embargo, la estrategia de su

empleo es innovadora. El tratamiento secuencial en pocas palabras es una simple terapia dual que incluye un Inhibidor de la Bomba de Protones (IBP) más amoxicilina 1 g (dos veces al día) dado por los primeros 5 días, seguido de terapia de un IBP triple incluyendo 500 mg de claritromicina y tinidazol (todos dos veces al día) para los restantes 5 días. Por lo tanto, es un "cinco más cinco días la terapia". el esquema secuencial empleado en el presente trabajo es una variante de lo descrito en la literatura, es sabido que en los lugares donde se tenga reportada una alta resistencia a metronidazol como en nuestro país que es cercana al 80%. no se recomienda el empleo de Tinidazol (73-74) Varios ensayos clínicos aleatorizados han demostrado que el tratamiento secuencial es más eficaz que la terapia triple estándar, lo cual concuerda con los datos obtenidos en el presente trabajo

Aunque se refiere en la literatura consultada, que ambos tratamientos tienen una incidencia similar de efectos secundarios. En el presente trabajo no fue evaluado el aspecto de efectos adversos lo que podría ser considerado como una área de oportunidad en el futuro cercano (73,74).

Hasta ahora, casi todos los estudios que han analizado el tratamiento secuencial se han realizado en Italia. El esquema secuencial utilizado en el presente trabajo, considerando los precios al público de los medicamentos empleados tiene un costo de hasta 38% más económico que el tratamiento estándar, lo cual coincide con lo descrito en la literatura (68,69) Hasta donde hemos podido investigar este trabajo podría ser uno de los primeros en nuestro país en evaluar el esquema secuencial y el único con la combinación utilizada, y de confirmarse la tendencia de los resultados obtenidos en el presente trabajo tendríamos una alternativa aceptable, más económica para el tratamiento de la erradicación de la infección por *Helicobacter pylori*.

Por ejemplo, el meta-análisis de Jafri et al, (75) los 10 estudios efectuados en este país. Aunque el tratamiento secuencial ha resultado equivalente a lo obtenido con la tripe terapia los datos reportados en Italia no puede ser extrapolables a otras poblaciones. Algunas publicaciones recientes dan una idea de la eficacia de la terapia secuencial de otros países (74-78). Un estudio realizado en Tailandia confirmó una elevada tasa de curación de la terapia secuencial comparada con el tratamiento estándar (96% tasa de erradicación) (79). Sin embargo, el estudio realizado por Sánchez-Delgado y cols en

España (74) alcanzó una tasa de curación de sólo el 84%. Resultados similares (89% tasa de erradicación) Otro estudio en Panamá con triple la terapia durante 10 días o secuencial (79).No hubo diferencias en las tasas de erradicación produjo (87,8% vs 85,5%, respectivamente). En un estudio reciente en Taiwan (75,76). Del mismo modo, Kalach et al, (80) en Francia, no pudo demostrar diferencias entre los dos esquemas en un estudio realizado en niños: 85% vs 80% secuencial y el estándar respectivamente durante 1 semana o bien durante 10 días de tratamiento.

CONCLUSIONES.

- 1.- El tratamiento secuencial propuesto en este trabajo resultó eficaz
- 2.- El tratamiento secuencial podría surgir como una alternativa a tratamiento estándar
- 3.-El tratamiento secuencial tiene una tasa de éxito significativamente mayor que la observada con la triple terapia estándar.
- 4.- El tratamiento secuencial abate el costo hasta en un 38 %

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- LINZ B, BALLOUX F, MOODLEY Y, et al. An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature* 2007; 445:915.
- 2.- Anthony Axon, MD, FRCP *Helicobacter pylori* What Do We Still Need to Know? *J Clin Gastroenterol* 2006;40:15–19
- 3.- Serrano et al, *Helicobacter pylori* y Cáncer Gástrico *Cancerología*. 2009 ;4 : 193-204
- 4.- Passaro D, Taylor D. Growth Slowing After *Helicobacter pylori* Infection Is Age-Dependent. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2002;35: 522-526.
- 5.-Suerbaum S, Michetti P. Medical Progress: *Helicobacter pylori* Infection. *The New England Journal of Medicine* 2002; 347: 1175-86
- 6.Drumm B, Rowland M. The Epidemiology of *Helicobacter pylori*: Where to From here?. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2003;36: 7-8.
- 7.Gold B, Colletti R, Abbot M. *Helicobacter pylori* Infection: Recommendations for Diagnosis and Treatment. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2000;31: 490-497
- 8.Kato S, Abukawa D. *Helicobacter pylori* Reinfection Rates in Children After Eradication Therapy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 1998;27: 543-546.
- 9.Makola D, MBChB, PhD, Peura D A, MD, Crowe S H , MD . *Helicobacter pylori* Infection and Related Gastrointestinal Diseases *J Clin Gastroenterol* 2007;41:548–558
- 10.Chung S J , MD,* Kim J S , MD, Kim, H MD,* Kim S G et al. Long-term Clinical Outcome of *Helicobacter pylori*-negative Gastric Mucosa-associated Lymphoid Tissue Lymphoma is Comparable to That of *H. pylori*-positive Lymphoma *J Clin Gastroenterol* 2009;43:312–317
- 11.A geographically explicit genetic model of worldwide human-settlement history Liu, H.; Prugnolle, F.; Manica, A.; Balloux, F . *American Journal of Human Genetics* 2006. 79 : 2 : 230 - 237 .
- 12.Tomb JF, White O, Kerlavage AR, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997;388:539- 47.
- 13 Writers; Daniel Falush, Thierry Wirth, Bodo Linz ,Jonathan K. Pritchard, Matthew Stephens, Mark Kidd,et al. Traces of Human Migrations in *Helicobacter pylori* Populations *Science* 2003. 299;5612:1582-1585.

14. Giovanna Morelli¹, Xavier Didelot, Barica Kusecek¹, Sandra Schwarz, Christelle Bahlawan Daniel et al. Microevolution of *Helicobacter pylori* during Prolonged Infection of Single Hosts and within Families. *Genetics*, 2010 6 :e-1001036 1- 11 .
15. recombination size, and minimal age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:15056-61
16. Suerbaum S, Smith JM, Bapumia K, et al. Free recombination within *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:12619-24.
17. Hunt RH, Xiao SD, Megraud F, Barua LG, Bazzoli F et al. WGO-OMGE practice guideline highlights: *Helicobacter pylori* in developing countries
http://www.org/publications/archive/2006_2/sci/sci7.htm
18. - Jean-F. Tomb¹, Owen White¹, Anthony R. Kerlavage¹, Rebecca A. Clayton¹, Granger G. Sutton¹, Robert D. Fleischmann¹, Karen A. Ketchum¹, Hans Peter Klenk¹, Steven Gill¹, Brian A. Dougherty et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997, 388(6642):539-547.
19. Alm RA, Ling LS, Moir DT, King BL, Brown ED, et al. (1999) Genomic sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter* ... *Nature* 1999. 397:176–180.
20. Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY, Sepulveda AR. 1998. Variants of the 3' Region of the *cagA* Gene in *Helicobacter pylori* Isolates from Patients with Different *H. pylori*-Associated Diseases. *J Clin Microbiol.* **36**: 2258- 2263
21. Atherton JC, Tham KT, Peek RM, Cover TI, Blaser MJ. 1996. Density of *Helicobacter pylori* Infection In Vivo as Assessed by Quantitative Culture and Histology. *J Infect Dis.* 174: 552-556.
22. Atherton J, Peek R, Tham K, Cover T, Blaser M. 1997. Clinical and Pathological Importance of Heterogeneity In *vacA*, The Vacuolating Cytotoxin Gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol.* 112: 92-99.
23. Atherton JC. 1997. The Clinical Relevance of Strains Types of *Helicobacter pylori*. *Gut* 40:701-703.
24. Berg D, Hoffman P, Appelmelk B, Kusters J.. The *Helicobacter pylori* Genome Sequence: Genetic Factors for Long Life in the Gastric Mucosa. *Trends Microbiol.* 1997 5: 468-473

25. Cecini S, Lange C, Xiang Z, Cabtree JE, Giara P, Borodovsky M, Rappuoli R, Covacci A. *cag*, a Pathogenicity Island of *Helicobacter pylori*, Encodes Type I-Specific and Disease-Associated Virulence Factors. . Proc Natl Acad Sci. 1996. 93: 14648-14653.
26. Hacker J, Blum-Oehler G, Muhldorfer I, Tschape H. Pathogenicity Island of Virulent Bacterial. Structure, Function and Impact on Microbial Evolution. Molecular Microbiol 1997. 23: 1089-1097.
27. Rudi J, Kolb C, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Galle P, Stremmel W. Diversity of *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* Genes and Relationship to VacA and Protein Expression, Cytotoxin Production, and Associated Diseases. J Clin Microbiol 1998 . 36: 944-948.
28. Telford J, Ghiara P, Dell'Orco M, Comanducci M, Burroni D, Bugnoli M. Gene Structure of the *Helicobacter pylori* Cytotoxin and Evidence of Its Key Role in Gastric Disease. J Exp Med 1994 . 179: 1653-1658.
29. Weel Jfl. van der Hulst Rwm, Gerrits Y, Roorda P, Feller M, Dankert J, Tytgat GNI, van der Ende A. . The Interrelationship between Cytotoxin- Associated Gene A, Vacuolating Cytotoxin. And *Helicobacter pylori*-Related Diseases. J Infect Dis.1998 173: 1171-1175.
30. Ye D, Willhite C, Blanke SR. Identification of the Minimal Intracellular Vacuolating Domain of the *Helicobacter pylori* Vacuolating Toxin J Biol Chemis.1999. 274: 9277-9282.
31. Cover TL, Puryear W, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Effect of Urease on HeLa Cell Vacuolation Induced by *Helicobacter pylori* Ciytotoxin. Infec Immun. 1991. 59: 1264-1270.
32. Dunn B, Campbell G, Perez-Perez G, Blaser M. Purification and Characterization of Urease from *Helicobacter pylori* . J Biol Chem. 1990 . 265: 9464- 9468.
33. Ge Z, Taylor D, Contributions of Genome Sequencing to Understanding the Biology of *Helicobacter pylori*. Annu Rev Microbiol.. 1999 :53;355-387.
34. Jiang Q, Hiratsuka K, Taylor D. Variability of Gene Order in Different *Helicobacter pylori* Strains Contributes to Genome Diversity.Mol Microbiol.1996 20: 833-842.
35. Marshall DG, Dundon WG, Beesley SM, Smyth C J. *Helicobacter pylori* a Conundrum of Genetic Diversity. Microbiol.1998. 144: 2925-2939.

- 36 Berg D, Hoffman P, Appelmek B, Kusters J. The Helicobacter pylori Genome Sequence: Genetic Factors for Long Life in the Gastric Mucosa. Trends Microbiol 1996 5: 468-473.
37. Aspinall GO, Monteiro MA. Lipopolysaccharides of Helicobacter pylori Strains P466 and MO19: Structures of the O antigen and Core Oligosaccharide Strains. Biochemistry. 1996;35: 2498-2504.
38. Kobayashi K, Sakamoto J, Kito T, Yamamura Y, Koshikawa T, Fujita M, Watanabe T, Nakazato H. Lewis Blood Group-related Antigen Expression in Normal Gastric Epithelium, Intestinal Metaplasia, Gastric Adenoma, and Gastric Carcinoma. Am J Gastroenterol.1993. 88: 919-924.
39. Negrini R, Lisato L, Zanella F, Cavazzini L, Gullini S, Villanacci V, Poiesi C, Albertini A, Ghielmi. 1991. Helicobacter pylori Infection Induced Antibodies Cross Reacting with Human Gastric Mucosa. Gastroenterology.1991. 101: 437-439.
- 40.- Esquivel A . F . Tratamiento de la infección por Helicobacter pylori Rev Gastroenterol Mex, Vol. 73, Supl. 1, 2008
41. Queiroz D M , M.D., Ph.D., Dani,R M.D., Ph.D., Silva L D , M.D., Santos A , M.Sc., Moreira, L S M.D., et al Factors Associated With Treatment Failure of Helicobacter pylori Infection in a Developing Country J Clin Gastroenterol 2002;35(4):315–320.
42. Malfertheiner P, Me´graud F, O’Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, et al. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther. 2002;16:167- 80.
43. Me´graud F. H pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut. 2004;53:1374-84.
- 44.De FrancescoV, Margiotta M, Zullo A, Hassan C, Troiani L, Burattini Oet al. Clarithromycin-resistant genotypes and eradication of Helicobacter pylori. Ann Intern Med. 2006;144:94-100.
- 45.. Webber MA, Piddock LJ. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. J Antimicrob Chemother. 2003;51:9-11.
- 46.Roberts MC.Resistance to macrolide, lincosamide, streptogramin, ketolide, and oxazolidinone antibiotics.Mol Biotechnol. 2004;28:47-62.

47. Arévalo A . Trespalacios A. A. , Otero W. Importancia de la proteína CagA en infección por *Helicobacter pylori* Rev Col Gastroenterol . 2009.24;4: 388-395.
- 48.- Barry Marshall, MD Sequential Therapy for *Helicobacter pylori*: A Worthwhile Effort for Your Patients *Annals of Internal Medicine* 2008 148 : 962- 963.
- 49.-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: 1414–9.
50. Caselli M, Zullo A, Maconi G, Parente F, Alvisi V, Casetti T, et al. “Cervia II Working Group Report 2006: guidelines on diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection in Italy.*Dig Liver Dis* 2007;39:782–9.
- 51.- O’Morain CA, O’Connor JP. Is sequential therapy superior to standard triple therapy for the treatment of *Helicobacter pylori* infection? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009;6: 8–9.
- 52.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;14:109–18.
- 53.-Peleg, Anton Y. M.D., M.B., B.S., M.P.H.; Hooper, David C. M.D. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria.*The New England Journal of Medicine*, 2010;362:1804-1813.
- 54.-Agarwal Kanishtha, Agarwal Shevetank. *Helicobacter pylori* Vaccine: From the Past to Future *Mayo Clin Proc.* 2008; 83 (2): 169
- 55.-Furuta T, Shirai N, Kodaira M, et al. Pharmacogenomics – based tailored versus Standard therapeutic regimen for eradication of *H. pylori*. *Clin Pharmacol Ther*, 2007; 81: 521–528.
56. Meta-analysis: Sequential Therapy Appears Superior to Standard Therapy for *Helicobacter pylori* Infection in Patients Naive to Treatment Nadim S. Jafri, ; Carlton A. Hornung, ; and Colin W. Howden, *Ann Intern Med.* 2008;148:923-931.
- 57.- Paul Moayyedi Sequential regimens for *Helicobacter pylori* eradication *The lancet* 2007.370;22:1010- 1012
- 58.- Javier P. Gisbert, MD, PhD,* Xavier Calvet, MD, PhD,w Anthony O’Connor, MB, MRCPI,z Francis Me’graud, MD, PhD,y and Colm A. O’Morain, MD, PhDz Sequential

Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication A Critical Review *J Clin Gastroenterol* 2010;00:000–1-13

59 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;56:772–781.

60.- Chey WD, Wong BC. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol*. 2007;102:1808–1825.

61.-Lam SK, Talley NJ. Report of the 1997 Asia Pacific Consensus Conference on the management of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 1998;13:1–12.

62.-Coelho LG, Leon-Barua R, Quigley EM. Latin-American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Latin- American National Gastroenterological Societies affiliated with the Inter-American Association of Gastroenterology (AIGE). *Am J Gastroenterol*. 2000;95:2688–2691.

63.-Gisbert JP, Calvet X, Gomollon F, et al. [Eradication treatment of *Helicobacter pylori*. Recommendations of the II Spanish Consensus Conference]. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:301–316.

64 .- Egan BJ, Marzio L, O’Connor H, et al. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2008;13(suppl 1):35–40.

65.-Gómez M, Gutiérrez O, Osato M, Graham D Increasing multidrug resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from children and adults in Mexico. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2677-2680

66 .-Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. A report card to grade *Helicobacter pylori* therapy. *Helicobacter*. 2007;12:275–278.

67.- Janssen MJ, Van Oijen AH, Verbeek AL, et al. A systematic comparison of triple therapies for treatment of *Helicobacter pylori* infection with proton pump inhibitor/ ranitidine bismuth citrate plus clarithromycin and either amoxicillin or, a nitroimidazole. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001;15:613–624.

68.- Graham DY, Lu H, Yamaoka Y. Therapy for *Helicobacter pylori* infection can be improved: sequential therapy and beyond. *Drugs*. 2008;68:725–736.

- 69.- 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;147:553–562.
- 70.- Calvet X, Gene E, Lopez T, et al. 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.
- 71.-Graham DY, Yamaoka Y. Ethical considerations of comparing sequential and traditional anti *Helicobacter pylori* therapy. *Ann Intern Med.* 2007;147:434–435.
- 72.-Paoluzi OA, Visconti E, Andrei F, et al. Sequential Regimens Have Greater Efficacy and Better Tolerability Than Standard Triple Therapy in the Eradication of *Helicobacter pylori* Infection. *Gastroenterology.* 2008;134(suppl. 1):A-331.
- 73.- William Otero Regino, Alba Alicia Trespalacios, Elder Otero. *Helicobacter pylori*: Tratamiento actual Un importante reto en gastroenterología. *Rev Colomb Gastroenteol* 2009. 24;3: 279-292.
- 74.- J. J.Granizo, M. Rodicio F. J., Manso. M. Giménez Tinidazol: un anaerobicida clásico con múltiples usos potenciales en la actualidad. *Rev Esp Quimioter* 2009;22(2):106-114
- 75.- Park S, Chun HJ, Kim ES, et al. The 10-Day Sequential Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication in Korea: less effective than expected. *Gastroenterology.* 2009;136(suppl.1):M1053.
- 76.- Ruiz-Obaldí a JR, Torrazza EG, Carreno NO. *Helicobacter pylori* eradication with either conventional 10-day triple therapy or 10-day modified sequential regimen. (preliminary report). *Gastroenterology.* 2008;134(suppl. 1):A-24.
- 77.- Sanchez-Delgado J, Calvet X, Bujanda L, et al. Ten-day sequential treatment for *Helicobacter pylori* eradication in clinical practice. *Am J Gastroenterol.* 2008;103:2220–2223.
- 78.- 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;20:113–117.
- 79.- Sirimontaporn N, Thong-ngam D, Tumwasorn S, et al. Ten- Day Sequential Treatment for *Helicobacter pylori* Infection in Thailand. *Gastroenterology.* 2009;136(suppl.1):M1068.

80.- Wu DC, Hsu PI, Wu JY, et al. Randomized controlled comparison of sequential and quadruple (concomitant) therapies for H. pylori infection. Gastroenterology. 2008;134(suppl. 1): A-24.

Anexo 1 consentimiento válidamente informado . (tratamiento)

HOSPITAL CENTRAL MILITAR

Departamento de Pediatría

Hoja de Consentimiento válidamente informado

DATOS PERSONALES:

Nombre: _____

—

Edad _____ Sexo: M F Matricula: _____

Nombre de la persona que recibió la información y da el consentimiento:

Sr. (a) _____

Representante legal () Padre () Madre () Parentesco _____

Nombre del Médico: COR. M.C REYNALDO DE JESUS MICHEL ACEVES

Plan de manejo: Participar en ensayo clínico para el tratamiento de la infección por Helicobacter en el que usted recibirá uno de dos tratamientos disponibles , el tratamiento habitual o un nuevo tratamiento denominado secuencial

Efectos adversos esperados: nausea , mal sabor , dolor de cabeza

A. El propósito del tratamiento es erradicar la infección por Helicobacter pylori

B. se aclaró al paciente (Su familiar o representante legal) que los antecedentes clínico patológicos referidos en la historia clínica, pueden considerarse como causales naturales de complicaciones potenciales para el padecimiento actual.

Por lo tanto con la anotación verbal y escrita:

1. Declaro que en forma libre y voluntaria sin existir presión física o moral sobre mi persona, que he comprendido, por las explicaciones que se me han proporcionado, la finalidad y los riesgos del tratamiento , aclarando las dudas que he planteado. Así mismo, declaro que he leído y comprendido totalmente el consentimiento y los espacios en blanco que han sido llenados antes de firmar.

A la vuelta.....

.....de la vuelta.

2. Estoy enterado de que en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación, puedo revocar el consentimiento que otorgo.
3. en caso de efectos adversos o que decida NO continuar con el tratamiento favor de comunicarse con el Cor. M.C Reynaldo de Jesús Michel Aceves al 55 57 31 00 ext 1511 o al Cel 55 22 47 04 59.

Autorizo:

Que mi hijo (a) participe en el protocolo de tratamiento denominado erradicación de Helicobacter pylori

Nombre y firma de la persona

que da el consentimiento

Sello del Médico investigador.

Anexo 2 consentimiento válidamente informado . (panendoscopia)

HOSPITAL CENTRAL MILITAR

Departamento de Pediatría /Gabinete de Endoscopia .

Hoja de Consentimiento válidamente informado

Nombre:_____

Edad_____ Sexo: M F

Matricula:_____

Nombre de la persona que recibió la información y da el consentimiento:

Sr.(a)_____

Representante legal () Padre () Madre ()

Parentesco_____

Nombre del Médico: COR. M.C REYNALDO DE JESUS MICHEL ACEVES

Plan de manejo: Panendoscopia con toma de biopsias

Riesgos esperados: Sangrado , perforación , muerte

A. El propósito del de diagnosticar infección por Helicobacter pylori, descartar enfermedades asociadas como úlcera gástrica o duodenal , de ser positiva, prescribir tratamiento para esta infección.

B. se aclaró al paciente (Su familiar o representante legal) que los antecedentes clínico patológicos referidos en la historia clínica, pueden considerarse como causales naturales de complicaciones potenciales para el procedimiento actual.

Por lo tanto con la anotación verbal y escrita:

1. Declaro que en forma libre y voluntaria sin existir presión física o moral sobre mi persona, que he comprendido, por las explicaciones que se me han proporcionado, la finalidad y los riegos del procedimiento, aclarando las dudas que he planteado. Así mismo, declaro que he leído y comprendido totalmente el consentimiento y los espacios en blanco que han sido llenados antes de firmar.

A la vuelta.....

.....de la vuelta.

2. Estoy enterado de que en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación, puedo revocar el consentimiento que otorgo.

Autorizo:

Que se le realice a mi hijo (a) el procedimiento planeado

Denominado: Panendoscopia con toma De biopsias

Nombre y firma de la persona
investigador.

Sello del Médico

Anexo 3 .

escala tipo Likert para síntomas digestivos

Síntomas

Dolor abdominal

Llenura post prandial

Nauseas

Vómito

Eructos

Calificación

0 = ausente

1.- molestia que no afecta actividades

2.- modifica actividad

3.- incapacita las actividades .

Interpretación

0 = mejor

15 = peor

Anexo 4 inserto de prueba de aliento



Introduction and Test Instructions

Note: This "Introduction and Test Instructions" contains information for:

Test Collection Kit	Breath Test Instrument
BreathTek® UBT for <i>H. pylori</i>	1. UBiT®-IR300 Infrared Spectrophotometer
	2. POcone® Infrared Spectrophotometer

I. Intended Use

The BreathTek® UBT for *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) Kit is intended for use in the qualitative detection of urease associated with *H. pylori* in the human stomach and as an aid in the initial diagnosis and post-treatment monitoring of *H. pylori* infection in adult patients. The test may be used for monitoring treatment if used at least 4 weeks following completion of therapy. For these purposes, the system utilizes an Infrared Spectrophotometer for the measurement of the ratio of $^{13}\text{CO}_2$ to $^{12}\text{CO}_2$ in breath samples.

The BreathTek UBT Kit is for administration by a health care professional, as prescribed by a physician.

II. Summary and Explanation

Since the isolation of the spiral urease-producing *H. pylori* bacteria in 1983 by Drs. Marshall and Warren¹, a significant body of evidence has accumulated indicating that the bacteria is an important pathogen in the upper GI tract of humans.²⁻³ The causal relationship between *H. pylori* and chronic active gastritis, duodenal ulcer, and gastric ulcer is well documented.^{4,5} Methods available for detecting current infection of the human stomach by *H. pylori* are generally divided into two (2) general types: Invasive and Non-invasive.

Invasive methods are so named because they include, as a first step, an esophagogastroduodenoscopy ("EGD") with collection of gastric biopsies. These biopsies are then examined by one or more detection methods: histological examination of stained tissue, microbiological culture of the organism, or direct detection of urease activity in the tissue (for example, the CLOtest®). Biopsy based methods are expensive, entail some patient risk and discomfort and may give false negative results due to sampling errors when colonization of the gastric mucosa is patchy.⁶

The non-invasive, non-radioactive method for detecting current *H. pylori* infection is based on the BreathTek UBT which is described in the next section. Several serological tests that detect serum antibodies to *H. pylori* are commercially available. A positive result with these tests cannot distinguish between current infection and past exposure to infection and, therefore, is not a conclusive indicator of current gastrointestinal colonization by *H. pylori*.

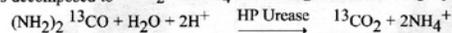
III. Principle of the BreathTek UBT for *H. pylori*

A. Description of the Pranactin®-Citric Diagnostic Drug Component

The diagnostic drug component of the kit is ^{13}C -urea, a synthetic urea contained in a granulated powder (Pranactin-Citric) for reconstitution with potable water to provide a clear solution for oral administration. The carbon in the drug component is predominantly Carbon-13, a stable, naturally occurring, non-radioactive isotope of carbon; the relative abundance of Carbon-13 is greater than or equal to 99%. Each 3 gram dose of Pranactin-Citric is supplied in a polyethylene-lined foil pouch and contains 75 mg of ^{13}C -urea, citric acid⁷, aspartame and mannitol. ^{13}C -urea is the diamide of ^{13}C -carbonic acid and is highly soluble in water (1 gram per mL at 25°C). It has the following chemical formula: $^{13}\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$. An average adult body normally contains about 9 grams of urea, which is a product of protein metabolism. Urea in the body is referred to as natural isotopic abundance urea since it is composed of 98.9% ^{12}C -urea and 1.1% ^{13}C -urea.

B. Principle of the Test

Pranactin-Citric drug product is a component of the BreathTek UBT for *H. pylori* kit. Three (3) g of reconstituted Pranactin-Citric containing 75 mg of ^{13}C -urea is ingested by the patient. In the presence of urease associated with gastric *H. pylori*, ^{13}C -urea [$(\text{NH}_2)_2\ ^{13}\text{CO}$] is decomposed to $^{13}\text{CO}_2$ and NH_4^+ according to the following equation:



The $^{13}\text{CO}_2$ is absorbed in the blood, then exhaled in the breath. It results in an increase in the ratio of $^{13}\text{CO}_2$ to $^{12}\text{CO}_2$ in a POST-DOSE breath sample taken after the Pranactin-Citric solution was consumed, compared to a BASELINE sample taken before the Pranactin-Citric solution was consumed. Analysis of the breath samples is performed by UBiT®-IR300 Infrared Spectrophotometer or POcone® Infrared Spectrophotometer [located at your testing laboratory, physician office or hospital].

BreathTek® UBT for *H. Pylori*

The BreathTek UBT can detect very low levels of *H. pylori* colonization and, by assessing the entire gastric mucosa, avoids the risk of sampling errors inherent in biopsy based methods. In the absence of gastric *H. pylori*, the ^{13}C -urea does not produce $^{13}\text{CO}_2$ in the stomach. The ratio of $^{13}\text{CO}_2$ in the POST-DOSE breath sample remains essentially the same as the BASELINE.

IV. Warnings and Precautions

A. For in vitro diagnostic use only. The Pranactin-Citric drug solution is taken orally as part of the diagnostic procedure.

B. Phenylketonurics: Contains Phenylalanine (one of the protein components of Aspartame), 84 mg per dosage unit. (For reference, 12 ounces of typical diet cola soft drinks contain approximately 80 mg of Phenylalanine.)

C. Blood glucose: Use with caution in diabetic patients. Pranactin-Citric contains Aspartame.

D. A negative result does not rule out the possibility of *H. pylori* infection. False negative results do occur with this procedure. If clinical signs are suggestive of *H. pylori* infection, retest with a new sample or an alternate method.

E. Antimicrobials, proton pump inhibitors, and bismuth preparations are known to suppress *H. pylori*. Ingestion of these within 2 weeks prior to performing the BreathTek UBT may give false negative results.

F. A false positive test may occur due to urease associated with other gastric spiral organisms observed in humans such as *Helicobacter heilmannii*.

G. Premature POST-DOSE breath collection time can lead to a false negative diagnosis for a patient with a marginally positive BreathTek UBT result.

H. A false positive test could occur in patients who have achlorhydria.⁸

I. If particulate matter is visible in the reconstituted Pranactin-Citric solution after thorough mixing, the solution should not be used.

J. Hypersensitivity: Patients who are hypersensitive to mannitol, citric acid or Aspartame should avoid taking the solution as this drug solution contains these ingredients.

K. Risk of Aspiration: Use with caution in patients with difficulty swallowing or who may be at high risk for aspiration due to medical or physical conditions.

L. Pregnancy: No information is available on use of the drug solution during pregnancy.

V. Postmarketing Experience

The following adverse events have been identified during postapproval use of BreathTek UBT. Because these reactions are reported voluntarily from a population of uncertain size, it is not always possible to establish a causal relationship to drug exposure: rash, burning sensation in the stomach, tingling in the skin, vomiting and diarrhea.

VI. Shelf Life and Storage

The Breath Tek UBT Kit should be stored at 15°-30°C (59°-86°F). Pranactin-Citric has an expiration date. Do not use beyond the expiration date stated on the label.

VII. Patient Preparation

A. Remind the patient that Pranactin-Citric contains phenylalanine (one of the protein components of Aspartame). Phenylketonurics restrict dietary phenylalanine.

B. The patient should have fasted at least 1 hour before administering the BreathTek UBT.

C. The patient should not have taken antimicrobials, proton pump inhibitors, or bismuth preparations within 2 weeks prior to administering the BreathTek UBT.

VIII. Procedure for Collecting Breath Samples Using BreathTek UBT Kit, for Analysis by Infrared Spectrophotometer

A. Materials

1. Materials provided

Each sealed single-patient BreathTek UBT Collection Kit contains:

- One (1) plastic kit tray containing:
 - One (1) "How To" guide
 - Test instructions
 - One (1) pouch of Pranactin-Citric powder (3 g)
 - A set of four (4) self-adhesive bar-code stickers. All bar-codes should bear the same number.
 - Two (2) breath collection bags, one (1) blue bag for the BASELINE sample and one (1) pink bag for the POST-DOSE sample.
 - One (1) sample transport bag
 - One (1) plastic straw
 - One (1) plastic drinking cup

2. Materials needed but not provided

- A timer capable of timing an interval up to 15 minutes
- Scissors for opening the Pranactin-Citric pouch

Note: An Infrared Spectrophotometer (UBiT-IR300 or POcone, Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.) is required for analysis of breath samples.

B. Step-By-Step Procedure

Time intervals listed in the following step-by-step procedure are critical. They are highlighted by the timer icon:

1. Verify that the patient has been prepared for the test as specified in Section VII.
2. Open the BreathTek UBT Collection Kit, which should contain all the materials listed in Step VIII. Slide out the kit tray. Label each breath collection bag to maintain patient identification using the bar-code labels provided, or according to your laboratory or office procedure.
3. Collect the BASELINE breath sample according to the following procedure:
 - a. Remove the blue breath collection bag from the kit tray.
 - b. Remove the pull-off cap from the mouthpiece of the breath collection bag.
 - c. Instruct the patient to: (1) breathe normally; (2) take a deep breath then pause momentarily; (3) exhale into the mouthpiece of the bag.
 - d. Replace the cap firmly until it clicks on the mouthpiece of the bag.
4. Prepare the Pranaactin-Citric solution *no more than 60 minutes before administering it to the patient. Urea slowly decomposes in water.*
 - a. Remove the Pranaactin-Citric pouch from the kit tray. Tap the upright packet of Pranaactin-Citric to settle the contents in the bottom half.
 - b. With clean scissors, cut off the top of the packet and carefully empty the contents into the drinking cup provided, making sure to transfer all of the contents by tapping on the bottom of the pouch.
 - c. Add potable water to the fill line indicated on the outside of the cup by a raised plastic ridge.
 - d. Replace the lid securely and swirl the mixture for up to 2 minutes to dissolve the packet contents; typically, only 1 minute is required for complete dissolution. *The resulting solution should be clear with no particulate matter. If particulate matter is present after thorough mixing, the solution should not be used.*
5. Instruct the patient to drink all of the solution with the straw provided, without stopping. Advise the patient NOT to 'rinse' the inside of his/her mouth with the solution before swallowing. *Discard the straw.*
6. Set the timer for 15 minutes. The patient should sit quietly and should not eat, drink or smoke during the 15 minute interval.
7. After 15 minutes have elapsed, remove the pink breath collection bag from the kit tray. Collect the POST-DOSE breath sample according to the procedure described in Steps VIII B.3.b through B.3.d.
8. Store the specimens at 15°-30°C (59°-86°F) until analysis is performed.
9. Perform breath sample analysis within 7 days of breath sample collection. If desired, use the plastic sample transport bag for transport of the breath samples.

IX. Quality Control

Complete operating information, including self-diagnostic instrument routines and user maintenance procedures, is provided in the Instruction Manuals for the UBIT-IR300 Spectrophotometer, the UBIT-AS10 Autosampler and the POCone Spectrophotometer, respectively. Additionally, each office laboratory or test facility should follow its own internal procedures for quality control.

X. Test Results**A. The Test Method**

The ratio of $^{13}\text{CO}_2$ to $^{12}\text{CO}_2$ in breath samples is determined by Infrared Spectrophotometer, (i.e., UBIT-IR300 or POCone).

B. Calculation of Results

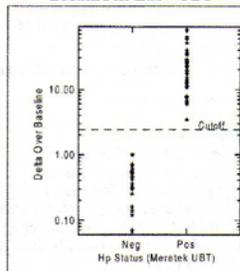
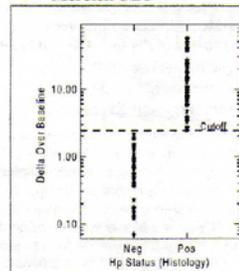
The result of the BreathTek UBT is provided as the Delta Over Baseline. No calculations are required by the user. Delta Over Baseline is the difference between the ratio ($^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2$) in the POST-DOSE sample and the corresponding ratio in the BASELINE sample.

C. Determination of the Cutoff Point

The cutoff point is the level of BreathTek UBT result used to discriminate between *H. pylori* infected and uninfected individuals. For the BreathTek UBT, the Delta Over Baseline cutoff point was determined to be 2.4 in a controlled study of 26 infected, and 23 uninfected adult volunteers. Test subjects were judged to be in acceptable health based on the results of a medical history and physical examination and demonstrated no uncontrolled clinically significant abnormality other than, for some, symptoms of peptic ulcer. The previous version of the BreathTek UBT (Meretek UBT) urea breath test, the Meretek UBT™ was used as the reference standard. The cutoff point was calculated by determining the BreathTek UBT result level at which negative and positive subjects were best distinguished by co-optimization of relative sensitivity and specificity. The 2.4 cutoff point for the BreathTek UBT was verified in an independent study

by retrospective analysis of Clinical Field Trial data collected on 145 *H. pylori* negative and 105 *H. pylori* positive test subjects, again using the original Meretek UBT as reference. Asymptomatic subjects and those with dyspepsia were included in the validation study. Figure 1a depicts graphically the BreathTek UBT Delta Over Baseline cutoff point which distinguishes *H. pylori* positive and negative subjects.

For the Meretek UBT Breath Test, the Delta Over Baseline cutoff point was determined to be 2.4 in a controlled study of 66 infected and 53 uninfected asymptomatic, apparently healthy volunteers. Histological examination of biopsy tissue was used as the reference standard. The cutoff point was evaluated by determining the Meretek UBT Breath Test result level at which histologically negative and positive subjects were best distinguished. Figure 1b graphically depicts the Meretek UBT Breath Test Delta Over Baseline cutoff point which distinguishes histologically positive and negative subjects. Note that in Figures 1a and 1b, the Delta Over Baseline scales are logarithmic.

Figure 1a. Cutoff for BreathTek-Lab® UBT**Figure 1b. Cutoff for Meretek UBT****D. Interpretation of Results**

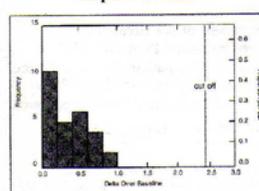
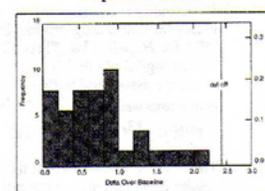
For the BreathTek UBT, a result greater than or equal to 2.4 Delta Over Baseline is interpreted as diagnostically positive indicating the presence of urease associated with *H. pylori*. A BreathTek UBT result less than 2.4 Delta Over Baseline is interpreted as diagnostically negative indicating the absence of urease associated with *H. pylori*. The 2.4 Delta Over Baseline cutoff point applies to both initial diagnosis and post-treatment monitoring of *H. pylori* infection.

XI. Limitations of the Test

- A. The BreathTek UBT should not be used until 4 weeks or more after the end of treatment for the eradication of *H. pylori* as earlier post-treatment assessment may give false negative results.
- B. The performance characteristics for persons under the age of 18 have not been established for this test.
- C. The specimen integrity of breath samples and reference gases stored in breath bags under ambient conditions has not been determined beyond 7 days.
- D. A correlation between the number of *H. pylori* organisms in the stomach and the BreathTek UBT result has not been established.
- E. The predicate device (Meretek UBT) was standardized in asymptomatic healthy volunteers and subsequently validated in clinical trials limited to patients with documented duodenal ulcer disease.

XII. Expected Values

Delta Over Baseline values for the BreathTek UBT were determined in a controlled clinical study of 26 infected and 23 uninfected adult volunteers. The Meretek UBT Breath Test was used as the reference method in the diagnosis of infection. The range of BreathTek UBT Delta Over Baseline values for the uninfected group was determined to be 0.0 to 1.0. A histogram for the distribution of Delta Over Baseline values from the uninfected subjects is shown in Figure 2a.

Figure 2a. BreathTek UBT Expected Values**Figure 2b. Meretek UBT Expected Values**

Values for the Meretek UBT Breath Test were determined in a controlled clinical study of 66 infected and 53 uninfected asymptomatic, apparently healthy volunteers. Histological examination of biopsy tissue was used as the reference method in the determination of infection in this study. The range of Meretek UBT Delta Over Baseline values for the uninfected group was determined to be 0.0 to 2.2. A histogram for the distribution of Delta Over Baseline values from the uninfected subjects is shown in Figure

XIII. Performance Characteristics

- A. *Performance Characteristics for the UBiT-IR300 Spectrophotometer.*
Refer to the Instruction Manual for the instrument.
- B. *Performance Characteristics for the POCone Spectrophotometer.*
Refer to the Instruction Manual for the instrument.
- C. *Method Comparisons in Clinical Trials*

1. Comparison of the BreathTek UBT with the Meretek UBT

a. Experimental Design

The method comparison data presented here were collected from a prospective, cross-over clinical field trial designed to validate the BreathTek UBT test procedure and to examine the effect of pre-test fasting time on test performance. The study included 252 adult test subjects from Houston and Galveston, Texas. Subjects were judged to be in acceptable health based on the results of a medical history and physical examination and demonstrated no uncontrolled clinically significant abnormality other than, for some, symptoms of dyspepsia. Test subjects were tested for *H. pylori* infection using the Meretek UBT Breath Test according to established procedure and with the BreathTek UBT under differing conditions of pre-test fasting times. Otherwise, no special instructions were given to subjects beyond those listed in the step-by-step procedures for administration of the Meretek UBT and BreathTek UBT. To minimize potential bias due to test order, the sequence of urea breath tests administered to each subject was randomized. All breath tests were administered to a given individual within 14 days of one another, most often and at a minimum, on successive days.

b. Results

It was demonstrated in the field trial that the BreathTek UBT may be administered at any time beyond 1 hour after consuming solid and/or liquid food.

Method comparison results are presented in a two-way contingency table (Table 1).

Point estimates of Percent Agreement of the BreathTek UBT with Meretek UBT positive and negative results are listed in the contingency table (Table 1). The comparative method for determining the true diagnosis was the predicate device (Meretek UBT) rather than endoscopic methods. The exact binomial distribution was used to calculate the lower and upper limits of the 95% confidence intervals of the performance statistics. The confidence intervals are entered in parentheses following the point estimate of the statistic.

Table 1. Comparison of BreathTek UBT (≥ 1-hour fast) with Meretek UBT

Meretek UBT	BreathTek UBT Results		
	Positive	Negative	Total
Positive	105	1	106
Negative	1	145	146
Total	106	146	252

Percent Agreement with Meretek UBT positive subjects: 99.1% [95% CI: (94.9, 100.0)]
Percent Agreement with Meretek UBT negative subjects: 99.3% [95% CI: (96.2, 100.0)]

2. Comparison of Gas Isotope Ratio Mass Spectrometry (GIRMS) and UBiT-IR300 Infrared Spectrophotometry Method

A multi-center prospective clinical trial was conducted to compare the UBiT-IR300 method with the traditional GIRMS method. The study included a total of 320 adult test subjects enrolled at 4 physicians' office laboratory (POL) settings and at a clinical laboratory. The results of the clinical trial are provided in the Instructional Manual for the UBiT-IR300 Infrared Spectrophotometer (refer to the Application Note, ¹³C-Urea Breath Test using the UBiT-IR300 Infrared Spectrophotometry System).

Table 2 shows the percent agreement of the UBiT-IR300 results as compared to the GIRMS method. Overall agreement was excellent at 99.06 percent.

Table 2. Agreement of UBiT-IR300 and GIRMS for ¹³C urea breath test

UBiT-IR300 Results	GIRMS Results		
	Positive	Negative	Total
Positive	115	1	116
Negative	2	202	204
Total	117	203	320

%Overall Agreement: 99.06% [95% CI: (97.35, 99.74)]
%Positive Agreement: 98.29% [95% CI: (94.26, 99.70)]
%Negative Agreement: 99.51% [95% CI: (97.49, 99.97)]

3. Comparison of UBiT-IR300 and POCone Infrared Spectrophotometry Methods

A multi-center, prospective study was conducted to compare the POCone Infrared Spectrophotometer to the UBiT-IR300 Infrared Spectrophotometer for measuring ¹³CO₂ enrichment in breath. The study included a total of 220 adult test subjects enrolled at 5 physicians' office laboratory (POL) and point of care (POC) settings. The results of the clinical trial are provided in the Instruction Manual for the POCone Infrared Spectrophotometer (refer to the Application Note, ¹³C-Urea Breath Test using the POCone Infrared Spectrophotometry System).

Table 3 shows the percent agreement of the POCone results with the UBiT-IR300 results. Overall agreement was 99.55 percent.

Table 3. Agreement of POCone and UBiT-IR300 for the ¹³C urea breath test

POCone Results	UBiT-IR300 Results		
	Positive	Negative	Total
Positive	86	1	87
Negative	0	133	133
Total	86	134	220

%Overall Agreement: 99.55% [95% CI: (97.67, 99.98)]
%Positive Agreement: 100.00% [95% CI: (95.90, 100.00)]
%Negative Agreement: 99.25% [95% CI: (96.27, 99.96)]

4. Comparison of Meretek UBT with Endoscopic Methods

a. Experimental Design

The method comparison data presented here were collected from two (2) independent double blind clinical field trials which involved treatment of *H. pylori* infection. The studies included 499 adult patients with duodenal ulcer disease at 75 clinical sites in the United States. Patients were tested for *H. pylori* infection initially (using histopathology, microbiological culture, CLOtest, and the Meretek UBT), and at various post-treatment intervals throughout the study (using histopathology, microbiological culture, and the Meretek UBT). In these clinical trials, patients were treated with various combinations of clarithromycin, omeprazole and placebo. Note, however, that there is no evidence that differing treatment regimens affect the performance of the Meretek UBT.

1) Histopathology

Biopsy specimens, fixed with 10% buffered formalin were cut into 4-mm sections, stained with Genta stain and examined by an experienced pathologist.

2) Microbiologic culture

Culture was performed using fresh blood-based media, both selective and non-selective, at 37°C in 12% CO₂ in air with 98% humidity. *H. pylori* were identified by Gram stain, typical colony morphology, and biochemical properties (production of oxidase, catalase and urease).

3) CLOtest (Delta West, Limited, Bently, West Australia)

A biopsy specimen was tested for urease activity with the CLOtest according to the instructions in its package insert.

4) The Meretek UBT Breath Test for *H. pylori*

The diagnostic Meretek UBT Breath Test was performed in accordance with procedures described in its package insert.

b. Results

Method comparison results are presented in two-way contingency tables. In Tables 4, 5, and 6, the Meretek UBT Breath Test results are compared with the CLOtest, histology, and with the combined endoscopic method results (CLOtest, histology, and culture) for the initial patient visit⁹. In Table 7, the Meretek UBT Breath Test results are compared with the combined endoscopic method results (histology and culture) for the

post-treatment visits which occurred 4 weeks or more after end of treatment.

The exact binomial distribution was used to calculate the lower and upper limits of the 95% confidence intervals of the performance statistics. The confidence intervals are entered in parentheses following the point estimate of the statistic.

D. Performance Characteristics For Initial Diagnosis

Table 4. Comparison with CLOtest for Initial Visit

CLOtest Results	Meretek UBT Results		
	Positive	Negative	Total
Positive	397	31	428
Negative	1	16	17
Total	398	47	445

Relative Sensitivity: 92.8% [95% CI: (90, 95)]

Relative Specificity: 94.1% [95% CI: (71, 100)]

Table 5. Comparison with Histology for Initial Visit

Histology	Meretek UBT Results		
	Positive	Negative	Total
Positive	394	20	414
Negative	3	27	30
Total	397	47	444

Relative Sensitivity: 95.2% [95% CI: (93, 97)]

Relative Specificity: 90.0% [95% CI: (74, 98)]

Table 6. Comparison with Combined Endoscopic Methods for Initial Visit

Combined endoscopic methods used were CLOtest, histology, and culture per DAIDP guidelines⁹ for pre-treatment diagnosis.

Endoscopy	Meretek UBT Results		
	Positive	Negative	Total
Positive	395	20	414
Negative	3	26	29
Total	398	46	444

Sensitivity: 95.2% [95% CI: (93, 97)]

Specificity: 89.7% [95% CI: (73, 98)]

E. Performance Characteristics for Post-Treatment Monitoring

Table 7. Comparison with Combined Endoscopic Methods* for Post-Treatment Visits (four weeks or more after End of Treatment (EOT))

Endoscopy	Meretek UBT Breath Test Results							
	1 Month EOT		3 Months EOT		6 Months EOT		1-6 Months Combined	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Positive	187	6	123	8	91	5	401	19
Negative	5	97	4	87	2	80	11	264
Sensitivity (95% CI)	96.9 (93, 99)		93.9 (88, 97)		94.8 (88, 98)		95.5 (93, 97)	
Specificity (95% CI)	95.1 (89, 98)		95.6 (89, 99)		97.6 (92, 100)		96.0 (93, 98)	

*Combined endoscopic methods used were histology and culture per DAIDP guidelines⁹ for post-treatment monitoring.

Please note that the post-treatment performance characteristics at 1, 3 and 6 months after therapy are not statistically different. Therefore, the single best estimates of sensitivity and specificity are presented in the 1-6 Months Combined column.

Negative Predictive Value (NPV) for Post-Treatment Monitoring

Given the post-treatment sensitivity (95.5%) and specificity (96.0%) observed in these studies, and assuming a treatment efficacy of 90% (10% prevalence of residual *H. pylori* infection), the NPV of the Meretek UBT is greater than 99%. When efficacy of treatment drops to 50%, the NPV is still greater than 95%.

XIV. Bibliography

1. Marshall, B.J., Warren, J.R. **Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis**, Lancet, June 4: 1273-1275; 1983.
2. Northfield T.C., Mendall M., Goggin P.M., (Eds), **Helicobacter pylori infection. Pathophysiology, Epidemiology and Management**. Kluwer Academic Publisher (1993).
3. Rathbone B.J., Heatley R.V., (Eds) **Helicobacter pylori and Gastrointestinal Disease**, Blackwell Scientific Publications, 2nd edition (1992).
4. **Helicobacter pylori in Peptic Ulcer Diseases**, Program and Abstracts. NIH Consensus Development Conference, February 7-9, 1994, Bethesda, MD.
5. NIH Consensus Development Panel, **H. pylori in Peptic Ulcer Disease**, JAMA, July 6, 1994 - Vol. 272, No.1, 65-69.
6. Reference 2, page 113.
7. Graham, D.Y., Runke, D., Anderson, S., Malaty, H.M., and Klein, P.D. **Citric Acid as the Test Meal for the ¹³C-Urea Breath Test**. American Journal of Gastroenterology, 5, 1214-1217; 1999.
8. Borriello, S.P., Reed, P.J., Dolby, J.M., Barclay, F.E. and Webster, A.D.B. **Microbial and metabolic profile of achlorhydric stomach: comparison of pernicious anemia and hypogammaglobulinaemia**. J. Clin. Pathol. 38, 946-953; 1985.
9. FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Division of Anti-Infective Drug Products, **DAIDP Points to consider document - Helicobacter pylori-associated Peptic Ulcer Disease**. Indication #25. (March 1995 Addendum to March 15, 1995 Draft).

XV. Name and Place of Business

The BreathTek UBT for *H. pylori* Kit is manufactured for Medical Device Division of Otsuka America Pharmaceutical, Inc., 2440 Research Boulevard, Rockville, MD 20850.

XVI. Labeling Revision Information

Revision: April 2010
Print Code: 0510L-0360
Part Number: 002215AD