

Patrón de susceptibilidad de *Helicobacter pylori* a cinco antibióticos: aislamientos de pacientes con enfermedades gastroduodenales del área metropolitana del valle de Aburrá y otras regiones de Antioquia entre 2019 y 2021

José Danilo Atehortúa Rendón

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Magister en ciencias Básicas Biomédicas, énfasis Microbiología y Parasitología

Directora:

Tania Liseth Pérez Cala *Bact, M.Sc.*

Codirector:

Alonso Martínez *PhD*

Comité tutorial:

Juan José Builes Gómez *M.Sc.* Laboratorio GENES. S.A.S

Ana Lucia Rodríguez Perea *M.Sc. PhD* Universidad de Antioquia, Medellín

Andrés Felipe Villa Restrepo. *M.Sc. PhD* Universidad de Antioquia, Medellín

Universidad de Antioquia

Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas

Medellín-Colombia

2022

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Quiero agradecer a Dios por la vida y la oportunidad de hacer este trabajo que me permite optar al título Magister en ciencias Básicas Biomédicas. Esta tesis está dedicada principalmente a nuestra hija **Rafaela** quien llena de alegría y motivación cada día en nuestra familia. Quiero dedicarle este trabajo a mi esposa **Manuela**, quiero agradecerle su apoyo incondicional, su amor, los abrazos y los ánimos que tiene siempre de manera incondicional para mí, que Dios nos permita estar juntos siempre aprendiendo y creciendo como familia. Te amo. También quiero agradecer a mi madre **Ascensión**, gracias infinitas por el apoyo, por estar siempre con la disposición para acompañarme y enseñarme a ser un hombre de valor.

Quiero agradecer a mi familia adoptiva, mis suegros **Patricia** y **Edgar** y a mi hermano **Samuel**, gracias por los consejos, el apoyo y la motivación día a día, los amo.

Por último, quiero agradecer de manera especial a mi tutora, la profesora **Tania Liseth Pérez Cala**, gracias profe pro acompañarme en este proceso, gracias por tanta paciencia, por formarme, entenderme y apoyarme en todo. Dios la bendiga siempre.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Quiero agradecer a mi codirector de tesis, el profesor **Alonso Martínez**. Gracias profe por su apoyo incondicional en cada etapa de mi proceso formativo. Sus comentarios siempre fueron propositivos y esenciales para el desarrollo de mi tesis. Dios lo bendiga. Gracias a mi comité asesor por ser un apoyo fundamental en mi proceso de formación por guiarme y enseñarme en cada paso de este trabajo.

Gracias a mis compañeros y profesores del **laboratorio de microbiología 218 de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia** por el acompañamiento y apoyo durante mi proceso formativo, por las vivencias y aportes durante estos años. Especialmente agradezco a mis compañeros de línea **la profesora Beatriz Salazar** por sus comentarios y aportes. **A Diego Vélez** por sus aportes para todos en la línea de investigación en bacterias, por los comentarios de otras cosas que me daban un respiro. Quiero agradecer a mi amiga **Erika Sánchez** por ser mi compañera de posgrado, por sus comentarios, aportes y acompañamiento en las jornadas de laboratorio, igualmente, quiero agradecer a mi amigo y colega **Andrés Castro** por las enseñanzas, por años de compañía y de estar ahí para todo. Cuentan conmigo siempre. **Gracias a todos los estudiantes de pregrado que pasaron por el grupo durante este proceso: Alejandra, Isaac, Brandon, Kellys, Yesenia, Laura Mesa, Verónica, Daniel** por ser mis compañeros de laboratorio y posteriormente amigos con los que aún comparto. Siempre fuimos un excelente equipo de trabajo en la línea de investigación en bacterias. El compañerismo y amabilidad buena energía fueron un refugio para todos en nuestro

proceso de formación. Agradezco a mis amigos de posgrado los “**Enhancers**” por su apoyo y buenos deseos siempre Dios los bendiga siempre.

Finalmente agradezco especialmente a todos los pacientes que aceptaron amablemente participar en el estudio y permitir que esto fuese posible. A nuestra alma mater, la Universidad de Antioquia y todas sus dependencias y al personal de Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas por el acompañamiento y apoyo en este proceso.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	6
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN.....	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	33
HIPOTESIS	33
OBJETIVOS	33
MATERIALES Y METODOS	35
ANALISIS ESTADISTICO.....	48
RESULTADOS	50
DISCUSION.....	97
CONCLUSIONES.....	107
PERSPECTIVAS	109
LIMITACIONES DEL ESTUDIO	111
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	112

RESUMEN

Introducción: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es un bacilo gramnegativo microaerófilo que coloniza la mucosa gástrica e infecta a más de la mitad de la población mundial, siendo la segunda infección bacteriana más común. La prevalencia de la infección y de las enfermedades asociadas entre las que destaca el cáncer gástrico, es alta en países en vías de desarrollo. En Colombia existe una guía clínica para el tratamiento de este agente infeccioso donde se recomienda tener en cuenta el patrón de susceptibilidad bacteriano antes de suministrar la terapia de erradicación y emplear las pruebas fenotípicas como herramienta en pacientes con tratamiento fallido.

El tratamiento recomendado como primera línea para la erradicación es la triple terapia —un inhibidor de bomba de protones, y dos de tres opciones de antimicrobianos amoxicilina, metronidazol o claritromicina—, sin embargo, en el mundo hay preocupación porque la eficacia de los tratamientos de primera línea es inferior al 80%. Entre las causas de esta disminución está la falta de adherencia al tratamiento y la aparición de cepas resistentes (1, 2). En el país existen registros de *H. pylori* resistente a amoxicilina, metronidazol, claritromicina, levofloxacina, y tetraciclina. Los estudios del patrón de susceptibilidad señalaron que las frecuencias de las resistencias de *H. pylori* varían entre departamentos y demuestran la falta de datos en el departamento de Antioquia. Basado en lo anterior, se desea conocer el patrón de susceptibilidad de las cepas circulantes de *H. pylori* a cinco antibióticos en el departamento de Antioquia.

Para esto se planteó caracterizar microbiológica y molecularmente el patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a cinco antimicrobianos en aislamientos bacterianos

circulantes de pacientes con enfermedades gastroduodenales en el área metropolitana del valle De Aburrá y otras regiones del departamento de Antioquia entre los años 2019 y 2021.

Inicialmente se obtuvo información sobre las características demográficas, estilo de vida, condiciones clínicas e higiénicas de la población de estudio que manifestó la intención de participar del estudio, mediante una encuesta semiestructurada digitalizada utilizando el programa KoBoToolbox (*Harvard humanitarian initiative*). Después, se acudió al servicio de endoscopia en compañía de los pacientes para la obtención de las biopsias. Las biopsias de antro y cuerpo se cultivaron hasta por 2 semanas. Igualmente, se realizó la prueba de ureasa rápida y, para la identificación de *H. pylori* se llevaron a cabo las pruebas confirmatorias a las colonias aisladas, posteriormente, se hizo el análisis fenotípico de la resistencia mediante pruebas de epsilometría. A los aislamientos con resistencia fenotípica se les hizo análisis genotípico, el ADN de 46 aislamientos de *H. pylori* se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar por secuenciamiento con el método de Sanger. Las mutaciones se analizaron en las secuencias traducidas a aminoácidos y se compararon con la cepa de referencia *H. pylori* 26695. En total, se analizaron las muestras de 100 pacientes de los cuales el 65% (65/100) fueron mujeres. El 86% (86/100) se encontraba en un rango de edad entre los 49 y 87 años. El 56% (56/100) pertenece a los estratos 4-6 y el 94% (94/100) habita zona urbana. El 98% (98/100) cuenta con todos los servicios públicos. Al indagar por el motivo de consulta el 79% (79/100) refirió como principal síntoma la epigastralgia, seguido de dispepsia, eructos y reflujo gástrico con 65, 60 y 51%, respectivamente.

Se evaluaron 200 biopsias gástricas (100 de antro y 100 de cuerpo) por cultivo microbiológico lográndose 46 aislamientos de *H. pylori*. La frecuencia en la resistencia fenotípica después de aplicar la prueba de epsilometria fue: 82,6% para metronidazol (38/46), 30,4% para claritromicina (14/46); 21,7% para levofloxacina (10/46), y 8,69% para amoxicilina (4/46). En el caso de la tetraciclina no se obtuvieron aislamientos con resistencia fenotípica a este medicamento.

En la caracterización genotípica al metronidazol se encontró que la mutación más frecuente en la nitroreductasa RdxA fue en el codón de terminación D59N (38/46 muestras) y mutaciones puntuales en R90K (25 muestras), y R131K (20 muestras), además, se encontraron mutaciones en H97T y G98S con (6/46). En cuanto a claritromicina, se encontró que la mutación A2142G fue la más encontrada con 4/46 muestras, seguido de A2143G en 3/46 muestras. Los resultados genotípicos de levofloxacina mostraron cambios en la secuencia que codifica la girasa A con mutaciones puntuales en N87K y N87I con 7 y 6 muestras de 46, respectivamente. En el caso de la amoxicilina, se encontraron mutaciones en las posiciones S417T (2 muestras) y S543R (4 muestras) de 46.

La frecuencia de resistencia fenotípica encontrada a los antibióticos metronidazol y claritromicina en aislamientos de *H. pylori* en Antioquia sugiere que estos medicamentos no constituyen opciones válidas como tratamiento empírico de erradicación en pacientes de la población estudiada.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, farmacorresistencia microbiana, gastritis, neoplasias gástricas. genotipificación de resistencia.

ABSTRACT

Introduction: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a microaerophilic gram-negative bacillus that colonizes the gastric mucosa and infects more than half of the world population, being the second most common bacterial infection. The prevalence of infection and associated diseases, among which gastric cancer stands out, is high in developing countries. In Colombia there is a clinical guidance for the treatment of this infectious agent where it is recommended to consider the pattern of bacterial susceptibility before administering eradication therapy and to use phenotypic tests as a tool in patients with failed treatment.

The treatment recommended as first line for eradication is triple therapy —a proton pump inhibitor, and two of three options of antimicrobials amoxicillin, metronidazole, and/or clarithromycin. However, in the world there is concern because the efficacy of first-line treatments is less than 80%. This decrease due to lack of adherence to treatment and the appearance of resistant strains. In Colombia, there are records of *H. pylori* resistant to amoxicillin, metronidazole, clarithromycin, levofloxacin, and tetracycline. Studies of the susceptibility pattern indicated that the frequencies of *H. pylori* resistance vary between departments and demonstrate the lack of data in the department of Antioquia.

General objective: to characterize microbiologically and molecularly the susceptibility pattern of *H. pylori* to five antimicrobials in circulating bacterial isolates from patients with gastroduodenal diseases in the área Metropolitana del valle de Aburrá and other regions of the department of Antioquia between the years 2019 and 2021.

Materials and methods: information was initially obtained by recording demographic characteristics, lifestyle, clinical, and hygienic conditions of the study population that expressed the intention to participate in the study, through a digitized semi-structured survey using the KoBoToolbox program (Harvard humanitarian initiatives). Then, a visit to the endoscopy service was done in the company of the patients to obtain the biopsies. Antrum and corpus biopsies were cultured for up to 2 weeks. Likewise, the rapid urease tests were carried out and for the identification of *H. pylori*, the confirmatory tests were done on the isolated colonies (Gram, urease, catalase, and oxidase), then the phenotypic analysis of resistance was performed using epsilometry tests. Isolates with phenotypic resistance underwent genotypic analysis. DNA of 46 isolates of *H. pylori* was amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) to detect mutations by Sanger sequencing. Translated amino acid sequences were analyzed and compared to the reference strain 26695.

Results: The study population consisted of 100 patients, of which 65% (65/100) were women. 86% (86/100) were in an age range between 49 and 87 years. 56% (56/100) belong to socioeconomical strata 4-6, and 94% (94/100) live in urban areas. 98% (98/100) have all public services. When inquiring about the reason for consultation, 79% (79/100) reported epigastric pain as the main symptom, followed by dyspepsia, belching, and gastric reflux with 65, 60, and 51%, respectively. Two hundred gastric biopsies (100 antrum biopsies and 100 corpus biopsies) were collected through microbiological culture, where 46 *H. pylori* isolates were obtained. The frequency of phenotypic resistance after applying the epsilometry test was: 82.6% for metronidazole, 30.4% for clarithromycin; 21.7% for levofloxacin, and 8.69% for amoxicillin. In the case of tetracycline, no isolates with phenotypic resistance to this antibiotic were obtained.

The genotypic resistance results showed that in metronidazole for the nitroreductase *RdxA* the most frequent mutations were in the termination codon D59N (in 38/46 samples) and point mutations in R90K (in 25/46 samples), and R131K (in 20/46 samples); furthermore, mutations in H97T and G98S were found with (6/46). Regarding clarithromycin, it was found that the A2142G mutation was the most frequently found (4/46) samples, followed by A2143G 3/46 samples. Levofloxacin genotypic results showed changes in the gyrase A coding sequence with point mutations in N87K and N87I with 7 and 6 samples out of 46, respectively. In the case of amoxicillin, mutations were found at positions S417T (2 samples) and S543R (4 samples).

Conclusions: The high frequency of phenotypic resistance found to the antibiotics metronidazole and clarithromycin in isolates of *H. pylori* in Antioquia suggests that these antimicrobials are not valid options as empirical eradication treatment in patients of the studied population.

Key words: *Helicobacter pylori*, drug resistance, microbial, gastritis, stomach neoplasms.

1. INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori (*H. pylori*) pertenece a la subdivisión de ϵ -Proteobacterias, orden Campylobacterales, familia Helicobacteriaceae, género *Helicobacter*, con al menos 24 especies descritas (3, 4). Bottcher y Letulle en 1875 observaron por primera vez la presencia de bacterias en el estómago en biopsias obtenidas de pacientes con úlcera gástrica; más tarde, Bizzozero en 1892 describió una bacteria similar a *H. pylori* y la denominó «spirale» (5). Un siglo después Marshal y Warren aislaron y cultivaron la bacteria a partir de biopsias gástricas y la llamaron «*Campylobacter pyloridis*», desde entonces este microorganismo se asocia con enfermedades gastroduodenales (6, 7). En 1989, esta bacteria se denominó con base en sus características taxonómicas como *H. pylori* (8, 9).

H. pylori es un bacilo gramnegativo, pleomórfico, con tamaño entre 0,5-1 μm de ancho y de 3-6.4 μm de largo (10), posee de 5 a 7 flagelos que le confieren movilidad y la posibilidad de alcanzar la mucosa gástrica (11). Es una bacteria microaerofílica, ureasa, oxidasa y catalasa positiva (12); en cultivo forma colonias pequeñas, grises o translúcidas como «gotas de rocío» (13). La vía de transmisión sigue siendo un tema de controversia, sin embargo, se sugiere la vía oral-oral y oral-fecal. La oral-oral puede ser vertical (núcleo familiar) u horizontal (14, 15).

El estómago es el hábitat principal de *H. pylori*; esta bacteria sobrevive en medio ácido, resiste los movimientos peristálticos, escapa de la presencia de fagocitos y la liberación de especies reactivas del oxígeno (ROS) (16-18). Esta capacidad de adaptarse se da por los factores de virulencia del microorganismo que le permiten ubicarse en la cavidad

gástrica de donde puede ser aislado (19). Asimismo, en ocasiones se ha aislado de cavidad bucal, duodeno y esófago (20). La bacteria se adquiere en la mayoría de casos en la infancia, las personas infectadas usualmente son asintomáticas, pero alrededor del 30% desarrollan enfermedades gastroduodenales (14). La infección se asocia con el desarrollo de gastritis y es un factor predisponente para la aparición de úlcera péptica, linfoma de células B del tejido linfoide asociado a mucosa —MALT—(del inglés: *mucosa-associated lymphoid tissue*), displasia, metaplasia y cáncer gástrico (CG) (21). *H. pylori* coloniza la mucosa gástrica produciendo inflamación y afectando la fisiología gástrica (22).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) a través de la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC, por su sigla en inglés *International Agency for Research on Cancer*), en 1994 clasificó a *H. pylori* como carcinógeno tipo I (23). En 2014, la IARC determinó que la infección con este microorganismo es el principal factor de riesgo para el desarrollo de CG (24). Estudios epidemiológicos demostraron que individuos infectados tenían entre 2,8 a 6 veces más riesgo de desarrollar CG que los no infectados (25, 26). Sin embargo, un estudio de seguimiento realizado en una región con altas tasas de CG en China en 2012 mostró que el tratamiento con antibióticos para la infección con *H. pylori* redujo la incidencia de CG (27). Esta misma conclusión fue encontrada por Hernández y cols., en 2014 en una revisión sistémica y metaanálisis, donde se concluyó que la erradicación de *H. pylori* disminuye el riesgo de CG (28). El país, en cabeza del Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, no tiene una guía clínica para el tratamiento de este agente infeccioso que tenga en cuenta el patrón de susceptibilidad bacteriana, asimismo; la mayoría de los médicos generales (80%) desconoce los

tratamientos establecidos por los consensos internacionales, generando un abordaje empírico del problema (29). Un tratamiento ineficaz ocurre porque los antibióticos son prescritos con desconocimiento de las indicaciones de los consensos internacionales, no se realizan cultivos de *H. pylori* y tampoco se determinan los patrones locales de susceptibilidad, como si ocurre con otros protocolos que se realizan para las demás infecciones donde el cultivo y el antibiograma se hacen de rutina.

En Antioquia no hay estudios sobre el perfil de susceptibilidad de *H. pylori*, y las investigaciones previas en el departamento se limitan a estudios de frecuencia, en los cuales no se emplea el diagnóstico microbiológico, ni establecen la resistencia a antibióticos. Existe un único estudio que evaluó resistencia a claritromicina por RFLP en pacientes de la ciudad de Medellín donde encontró una frecuencia de resistencia de 18,8% (30). El desarrollo de esta investigación es relevante porque la información obtenida se aplicará en el diseño de estrategias para prevenir el desarrollo de enfermedades como gastritis y CG mediante el tratamiento de esta infección.

1.1 EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN

H. pylori infecta alrededor de la mitad de la población mundial (31, 32) y alcanza niveles más altos en países en vías de desarrollo. Los registros varían presentándose prevalencias del 79,1% para África; 63,4% para Latinoamérica y el Caribe; 54,7% para Asia; 37,1% para Norteamérica y 24,1% para Oceanía (33, 34). Bravo y cols., (2003) encontraron en Colombia alta prevalencia (69,1%) y variación geográfica de la infección, similar a la que se observó en Medellín que fue de 65% (35). Estudios posteriores reportaron prevalencias de *H. pylori* similares en la ciudad Medellín: Campuzano y cols., (2007) evaluaron la prevalencia mediante la prueba del aliento, encontrando que el 77,2% estaban infectados (36); posteriormente, Correa y cols. (2016) mediante histopatología estimaron una prevalencia de 36,4% (37). Finalmente, en 2019, Roldán y cols. mediante PCR determinaron una prevalencia de infección de 44,2% (30). Las diferencias en las prevalencias se deben a las diferencias en las características en la población de cada estudio, así como, la metodología empleada por cada uno.

1.2 TRATAMIENTO

Actualmente, el manejo de la infección se hace con base en las disposiciones del V consenso de Maastricht que recomienda como primera opción terapéutica, la triple terapia empírica —inhibidor de la bomba de protones (IBP), amoxicilina y claritromicina o metronidazol—. Sin embargo, la eficacia del tratamiento no es completa porque hay factores que contribuyen a la disminución de esta y a la falla terapéutica (FT) (38). Entre los cuales están: la falta de adherencia al tratamiento, acidez gástrica, alta carga bacteriana, y, principalmente, la resistencia a antibióticos de *H. pylori* (39, 40). El V

consenso de Maastricht también indica que el tratamiento debe durar 14 días; si este incluye rifabutina la duración cambia a 10 días (40).

No existen fármacos exclusivos para el tratamiento de *H. pylori*, se recomienda el uso de amoxicilina, claritromicina, metronidazol, furazolidona y levofloxacina acompañado de sales de bismuto e IBP (41); se emplean en diferentes combinaciones de esquemas terapéuticos junto con IBP en altas dosis. Sin embargo, cuando la bacteria se expone a antibióticos que no la erradican se presenta el aumento progresivo de la resistencia (38). Eso se evidencia en la caída de la eficacia de la triple terapia, que está por debajo de 80% (42).

El consenso de Maastricht señala que cuando la resistencia a claritromicina sea $< 1\%$ se recomienda su uso por 14 días, mientras que, en áreas donde la resistencia supera el 15% se sugiere adicionar bismuto o reemplazarlo por levofloxacina (1, 40, 43). Las terapias de rescate o salvamento constituyen la cuarta línea cuando tres tratamientos previos fallan y se dificulta encontrar una opción terapéutica válida; para esto se recomienda el uso de furazolidona. Un estudio conducido en Colombia con este antibiótico en combinación con amoxicilina, citrato de bismuto y lansoprazol mostró eficacia del 95,2%; sin embargo, la furazolidona no se utiliza por sus posibles efectos adversos (44).

En Colombia se publicó la guía de tratamiento en 2015, dirigida a población general mayor de 18 años de edad, exceptuando pacientes con previos efectos adversos al tratamiento y mujeres gestantes. Esta sugiere que el tratamiento no sea empírico sino

ajustado a las tasas de resistencias locales porque la evidencia indica que existe diferencia en las cifras de resistencia entre las divisiones administrativas territoriales (45, 46).

Igualmente, en la guía clínica propuesta por Otero y cols., recomienda disponer de alternativas como esquemas de segunda y tercera línea y hasta tratamientos de rescate porque ninguna terapia presenta eficacia mayor al 95% (1). Idealmente, el tratamiento que se dé por primera vez (tratamiento de primera línea) debe ser guiado por pruebas de susceptibilidad y cuando no se dispone de éstas, por el patrón de susceptibilidad local; no obstante, el cultivo y las pruebas moleculares no están disponibles en todos los lugares ni son asequibles para todos los pacientes (29).

1.3 RESISTENCIA BACTERIANA

1.3.1 Resistencia de *H. pylori* a los antibióticos

La resistencia de *H. pylori* a los antibióticos presenta variaciones importantes en los diferentes continentes. Una revisión sistemática y un metaanálisis hecho por Savoldi y cols., publicada en 2018 donde se evaluaron 178 estudios de 65 países, reportó que las tasas de prevalencia de la resistencia antibiótica de *H. pylori* fueron más altas en África donde la resistencia al metronidazol fue de 91%, seguido de amoxicilina 38%, claritromicina 15%, levofloxacina 14% y tetraciclina 13%. En el caso de Europa, la prevalencia de la resistencia para el metronidazol fue del 38%, 32% para claritromicina y

14% para levofloxacin y no se encontró resistencia ni a amoxicilina ni a tetraciclina (47). Resultados similares de resistencia a metronidazol fueron reportados por Megraud y cols., en 2018 en Europa (48). En este estudio, se evaluaron datos de 24 centros de 18 países europeos y se analizó la información de 1211 pacientes desde 2008 hasta 2017. Allí se encontró mayor frecuencia de resistencia a metronidazol (38,9%) seguido de claritromicina (21,4%) y levofloxacin (15,8%) (48).

En el caso de Latinoamérica, Camargo y cols. (2014) publicaron una revisión sistemática acerca de la resistencia de *H. pylori* a los diferentes antibióticos en la región, evidenciándose que Colombia y Brasil mostraron las tasas de resistencia a amoxicilina más altas, con 7 y 15%, respectivamente (49). En Colombia, los estudios de resistencia se han realizado en Bogotá, el Eje Cafetero, Nariño, Cauca y un único estudio en Antioquia. Al comparar los datos de estos estudios se encuentran diferencias en el patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a los antibióticos empleados para su tratamiento, incluso en Bogotá se presentó aumento de la resistencia en general con los años (46, 50-55). Lamentablemente, no se conocen más reportes de otras regiones en el país.

Las diferencias en el patrón de susceptibilidad y el desconocimiento de este conducen al uso de terapias empíricas que podrían generar una falla terapéutica. Esta falla en la erradicación de *H. pylori* se puede atribuir a la aparición de cepas resistentes, a la no adherencia al esquema de tratamiento por parte del paciente, así como factores genéticos del hospedero y bacterianos, entre otros. Sin embargo, la principal causa de falla terapéutica es la resistencia bacteriana a los antibióticos. Esta resistencia ocurre por la capacidad de los microorganismos para adaptarse de manera natural a medios hostiles,

y se puede generar de dos maneras: intrínseca, por la ausencia del sitio de unión del fármaco; y adquirida, por cambios genéticos, la cual es posible en *H. pylori* por su capacidad de adquirir diversidad genética por mutaciones y recombinaciones homólogas (56-63). A continuación, se describe el mecanismo de acción de cada uno de los antibióticos evaluados, así como el mecanismo de resistencia y los estudios de resistencia realizados en Colombia, resumidos en la figura 1.

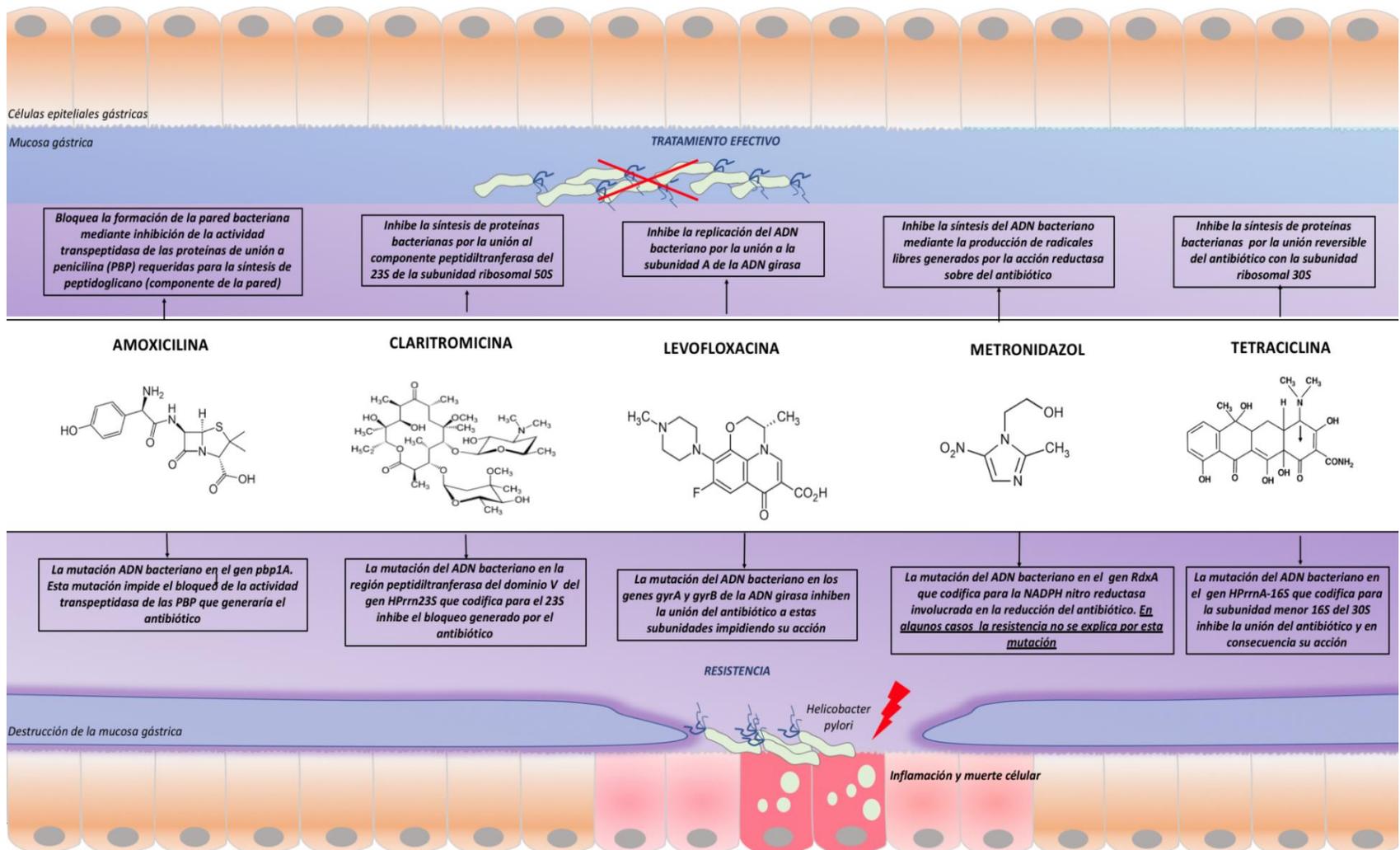


Figura 1. Mecanismo de acción y de resistencia de los antibióticos amoxicilina, claritromicina, levofloxacin, metronidazol y tetraciclina. En la parte media de la figura se muestra la estructura química. Arriba el mecanismo de acción, y abajo los mecanismos de resistencia. Elaboración propia.

1.3.1.1 Amoxicilina

Es un antibiótico de primera elección para el tratamiento de *H. pylori* por la alta sensibilidad que presenta el microorganismo. Es una penicilina semisintética que pertenece al grupo de los betalactámicos que inhiben la síntesis del peptidoglicano bloqueando la actividad transpeptidasa de las proteínas de unión a penicilina (*penicillin binding protein, PBP*) (40, 64). El anillo de los betalactámicos es similar al pentapéptido del ácido N-acetil murámico, que interrumpe la actividad transpeptidasa bloqueando la síntesis de pared por la acetilación de la enzima PBP haciéndola incapaz de cumplir su función, comprometiendo la integridad de la pared y volviéndola permeable (65).

La bacteria adquiere resistencia a este fármaco por mutaciones en el gen *pbpA* (proteínas de unión a penicilina que codifica para proteínas PBP involucradas en la síntesis de pared), producción de beta-lactamasas o presencia de bombas de eflujo (66, 67). Así bien, las mutaciones en *pbpA* inducen un cambio conformacional modificando el sitio de unión del antibiótico (**Figura 1**). Las mutaciones en los nucleótidos se producen por sustituciones en posiciones específicas que llevan a modificaciones como: la transversión de citosina por guanina en la posición 1667 {C1667G} que resulta en una sustitución de treonina por serina, en el aminoácido 556 {Thr556→Ser}; en la posición 648 se da el cambio de lisina por glicina {Lys648→Gly} por transiciones en las dos primeras posiciones del codón {AA648GG} (68, 69). Además de estas mutaciones, también se han reportado los cambios {Val469→Met}, fenilalanina por leucina en la posición 473 {PHe473→Leu}, serina por treonina en la posición 417 {Ser417→Tre} y serina por arginina en la posición 543 {Ser543→ Arg}, entre otras (70, 71).

Una encuesta realizada a 648 médicos de nueve ciudades del país demostró que la amoxicilina fue el antibiótico más prescrito para el tratamiento de *H. pylori*, con el 73% (72) y estudios de resistencia en Bogotá, Pereira y Armenia muestran tasas de resistencia variables de *H. pylori* a este antibiótico del 1,9, 3,8 y 9,5%, respectivamente (51, 73, 74).

1.3.1.2 Claritromicina

La claritromicina es un macrólido con actividad bacteriostática y bactericida, que inhibe la síntesis proteica al unirse a la unidad peptidiltransferasa del componente 23S de la subunidad ribosomal 50S (75). *H. pylori* adquiere resistencia al antibiótico por mutaciones en el gen *ARNr 23S*, el cual codifica el componente ribosomal 23S, las cuales modifican el sitio de unión del antibiótico a la región peptidiltransferasa del domino V de la proteína (75). Las mutaciones más frecuentes en este gen se localizan en las posiciones 2142, con la transición de adenina por guanina {A2142G}, y la transversión de adenina por citosina {A2142C}. También está la transición en la posición 2143 de adenina por guanina {A2143G} que genera un cambio conformacional en el sitio de unión del antibiótico e impide su acción (2, 76, 77).

En Latinoamérica se encontró que la prevalencia de resistencia a los macrólidos más alta se registra en Argentina (14%%) y México (13%) (49). En Colombia, un estudio del 2009 en el Eje Cafetero registró baja resistencia a claritromicina (2,2%) (72, 74). Por otro lado, estudios de prevalencia de la resistencia a los macrólidos realizados en la ciudad de Bogotá describen diferentes valores: en un estudio realizado en el Hospital Universitario

San Ignacio en 2008, Yepes y cols., reportaron una resistencia de 63,1% mientras que en 2013, Trespacios y cols., reportaron una resistencia de 13,6% (52, 78).

En cuanto a la resistencia genotípica en Bogotá se determinó que la transición {A2143G} es la más frecuente (90,5 %) seguida por la transición {A2142G} (7,1%) y {A2142C} (2,4%) (77, 79). En Medellín, Roldán y cols., identificaron las mutaciones A2143G y A2142G en 27 muestras (18,8 %; 27/143) (30) (Figura 1).

1.3.1.3 Levofloxacin

La levofloxacin pertenece a la familia de las quinolonas, específicamente una fluoroquinolona. En el caso de *H. pylori* se utiliza como terapia de rescate en tratamientos no exitosos con claritromicina (1). Las fluoroquinolonas ejercen su acción al unirse a la subunidad A de la ADN girasa evitando la formación del tetrámero (dos subunidades A y dos B) y bloqueando la función de esta enzima cuya principal actividad es catalizar un superenrollamiento negativo del ADN. La subunidad A y B son codificadas por los genes *gyrA* y *gyrB*, respectivamente (80).

La resistencia de *H. pylori* a las fluoroquinolonas se presenta por mutaciones en la región determinante de resistencia a quinolonas o del inglés (quinolone resistance domain región: QRDR) y por alteraciones de las porinas que impiden que el antibiótico pase a través de la membrana externa hacia la membrana interna y posteriormente se una a los ácidos nucleicos para ejercer su efecto (81). Así, las mutaciones que ocurren en la región determinante de resistencia a las quinolonas del *gyrA*, previenen la unión del antibiótico a la girasa, por alteración en el sitio de unión de las quinolonas en el complejo ADN

girasa-ADN (82). Los cambios en los aminoácidos generados por las mutaciones causantes de este fenómeno son mutaciones únicas: cambio de adenina por timina {A260T} o de citosina por guanina {C261G} lo que ocasiona un cambio de asparagina por lisina en la posición 87 {Asn87→Lys} o de asparagina por isoleucina {Asn87→Iso}; de igual manera, alanina por valina en la posición 88 {Ala88→Val} debido a un cambio en la segunda posición del codón de {C88T}; asparagina por glicina {Asn91→Gly} por una doble transición de adeninas por guaninas en los dos primeros nucleótidos del codón {AA91GG} o asparagina por tirosina {Asn91→Tyr} en la posición 91 debido a un cambio de {A91T} en la primera posición del codón. También mutaciones dobles de ácido aspártico por asparagina en la posición 91 {Asp91→Asn} y un cambio de alanina por valina en la posición 88 {Ala88→Val} (50, 83).

En Colombia existe un estudio de seguimiento de resistencia a levofloxacin realizado en Bogotá, en el cual se evaluó la resistencia de cepas provenientes de pacientes sometidos a endoscopia entre 2009 y 2014. Este trabajo halló en 2009 resistencia del 11,8%, mientras que en 2014 fue del 27,3%; los autores consideraron que este aumento es una consecuencia del uso de este antibiótico en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio y urinario (Figura 1)(50).

1.3.1.4 Metronidazol

El metronidazol se utiliza para tratar una amplia variedad de infecciones. La acción bactericida depende de la reducción enzimática por lo que debe ser activado previamente. La reducción genera radicales aniónicos como derivados nitrosos e hidroxilaminas, que al unirse al anillo imidazólico conducen a la inhibición en la síntesis

de los ácidos nucleicos y producen daño en el ADN y en las estructuras bacterianas (80, 84, 85). *H. pylori*, no posee superóxido dismutasa, entonces la reducción es efectuada por la NADPH nitro reductasa insensible al oxígeno codificada por el gen *RdxA*, la NAD(P)H flavina oxidorreductasa codificada por *FrxA* y la ferredoxina codificada por *FdxB*.

En 1996 Hoffman y cols., reportaron que el principal mecanismo de resistencia al metronidazol es por mutaciones en el gen *RdxA* (84-86); sin embargo, algunos autores como Kwon y cols., en 2000 demostraron que las mutaciones en *RdxA* no eran las únicas implicadas en la resistencia al metronidazol porque cepas que tenían intacto el gen *RdxA* presentaron resistencia al metronidazol por lo que otros mecanismos y otras enzimas estarían involucrados (87). Algunas mutaciones generan pérdida de función de *RdxA*, aun cuando esta pérdida de función no implica siempre disminución de la susceptibilidad al medicamento, generando resultados discordantes *in vitro* e *in vivo* (87-89).

En Latinoamérica, la resistencia a metronidazol es > 30%; no obstante, en países como Perú y Colombia es del 66 y 83%, respectivamente (49). En Colombia, diferentes estudios reportan valores de resistencia, por métodos microbiológicos entre el 72-97,6% (51, 73, 74). En 2017, Acosta y cols., determinaron la frecuencia de mutaciones en este gen (*RdxA*) y encontraron que el 78,2% de los casos (133/170) presentaban resistencia al fármaco (49). En Colombia, el esquema amoxicilina, metronidazol e IBP es de los más prescritos por los médicos generales (20,5%) para el tratamiento de *H. pylori* (Figura 1) (72).

1.3.1.5 Tetraciclina

Son un grupo de antibióticos naturales y semisintéticos derivados de la naftacenocarboxamida policíclica con un núcleo tetracíclico de donde deriva el nombre del grupo. Las tetraciclinas son empleadas en los regímenes cuádruples para la erradicación de *H. pylori* (40). Actúan como bacteriostáticos al unirse de forma reversible a la subunidad ribosomal 30S bloqueando la unión aminoacil-ARNt e inhibiendo la síntesis de proteínas. Las mutaciones que confieren resistencia al antibiótico se localizan en el gen *HPrrnA-16S* que codifica para la subunidad menor 16S del complejo (30S) (Figura 1).

Las mutaciones más frecuentes involucran mutaciones dobles, la transición adenina por guanina en la posición 926 y acompañada de las transversiones adenina por guanina en la posición 926 {A926G} /{A928C}; adenina por citosina en la posición 928 o guanina por timina en la posición 927 {A926G} /{G927T} generando el cambio del aminoácido arginina por fenilalanina {Arg926/928→Phe} (figura 1). También se han registrado mutaciones puntuales adenina por citosina en la posición 939 {A939C} (90-94). En Latinoamérica encontraron bajos valores de resistencia primaria a tetraciclina del 6% en Costa rica y el 14% en Chile (49); sin embargo, en Colombia en el 2008, Yepes y cols., encontraron que el 85,7% (72/84) de los aislamientos presentaron resistencia (73).

1.4 Genoma de *H. pylori*

El primer genoma de *H. pylori* fue secuenciado en 1997 por Tombs y cols., y corresponde a la cepa de referencia *H. pylori* 26695 (RefSeq NC_000915.1) la cual tiene un tamaño de 1.667.867 pares de bases (pb) con un porcentaje de guanina-citocina de 38,9%, con 1566 proteínas y 1632 genes de los cuales 1509 se encuentran identificados, 45 son ADN no codificante y 48 pseudogenes (95) (**Figura 2**).

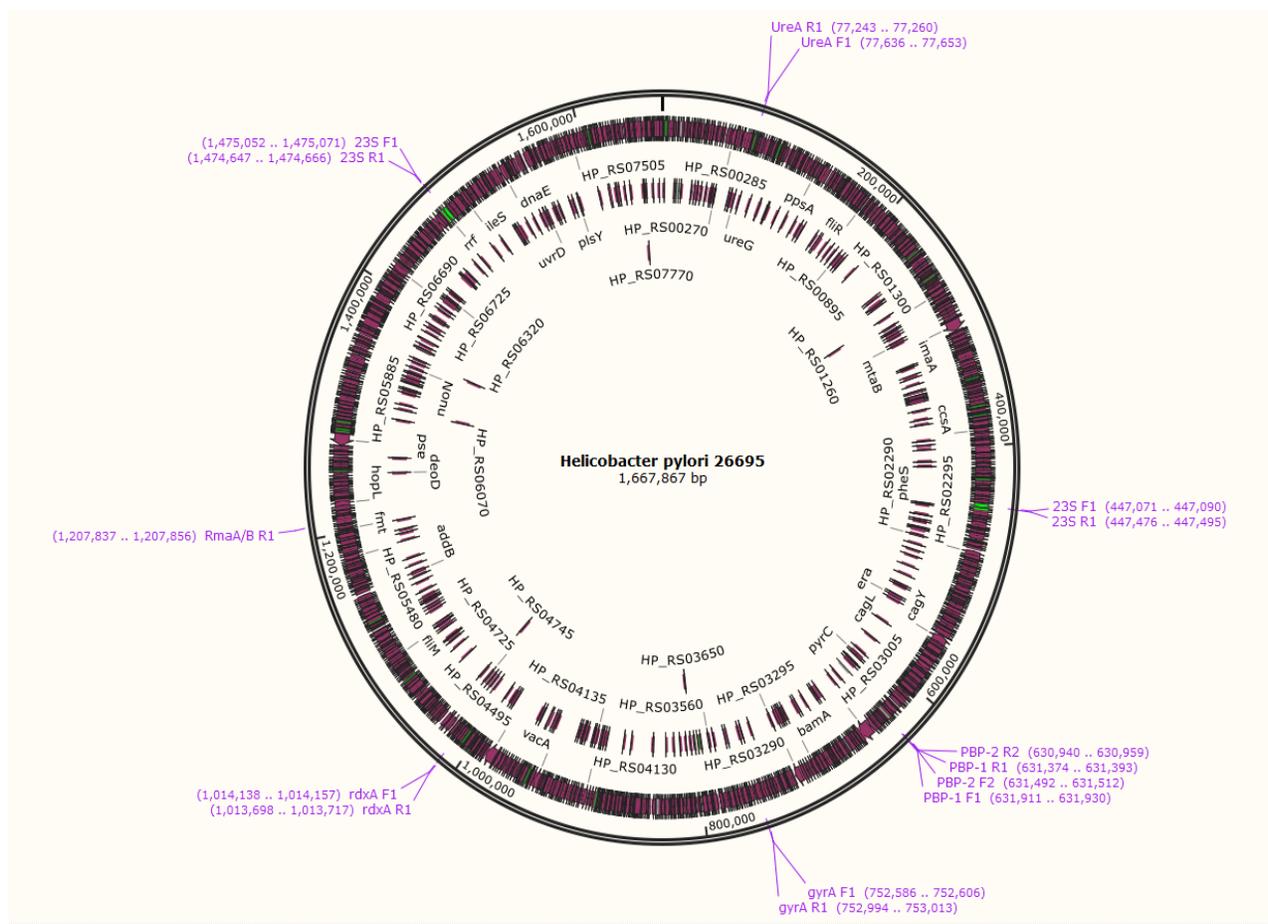


Figura 2. Genoma de la cepa referencia *H. pylori* 26695. En morado se muestra la ubicación de los genes de interés y la posición en el genoma donde amplifican las secuencias de los cebadores utilizados para determinar las mutaciones, figura tomada de análisis elaborado por José Danilo Atehortúa Rendón con el programa Snappene 6.0.

La tabla 1 describe las características y posición en el genoma de los genes asociados con resistencia.

Tabla 1. Características y posición en el genoma de *H. pylori* 26695 de los genes asociados con resistencia

Antibiótico	Gen	Inicio	Finalización	Tamaño (pb)	Producto codificado
Amoxicilina	<i>HP0597</i>	630840	632819	1980	Penicilin binding protein 1A Subunidad
Claritromicina	<i>RNAr 23S</i>	445249	448223	2975	ribosomal 23S
Levofloxacin	<i>HP0701</i>	752512	754995	2484	Subunidad A ADN girasa
Metronidazol	<i>HP0954</i>	101355 3	1014185	633	NAD(P)H nitroreductasa insensible al oxígeno
Tetraciclina	<i>RNAr 16S</i>	120758 3	1209081	1499	Subunidad ribosomal 16S

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección por *H. pylori* es la segunda infección más prevalente en el mundo después del *Streptococcus mutans* y se asocia con diferentes enfermedades del tracto digestivo superior como el CG, la gastritis crónica atrófica, el linfoma tipo MALT, úlcera gástrica y metaplasia intestinal (MI) entre otros (96, 97). La alta prevalencia se asocia con condiciones socioeconómicas bajas, por lo que la infección es más frecuente en países en vías de desarrollo, incluyendo África (79,1%), Latinoamérica y el caribe (63,4%) (98). Entre los antibióticos de elección utilizados para el tratamiento de *H. pylori* están claritromicina, amoxicilina, metronidazol, tinidazol, tetraciclina y fluoroquinolonas (levofloxacina) (99). Para el control de la infección estos antibióticos se utilizan en diferentes combinaciones, dosis y duración, pero ninguno erradica la infección en el 100% de los casos. La terapia triple estándar, con amplio uso internacionalmente, presenta valores de erradicación aceptables (90%) (25–27). Es posible disminuir el riesgo de desarrollar enfermedades gastroduodenales complejas como el CG mediante los tratamientos de erradicación de la bacteria, al reducir la incidencia de lesiones precancerosas en etapas tempranas de la carcinogénesis gástrica (100).

El enfoque antimicrobiano para la erradicación de *H. pylori* difiere de los usados para otras infecciones bacterianas. Para estas últimas, el tratamiento se hace con base en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, mientras que en el manejo de la infección por *H. pylori* por lo general no se conoce y tampoco es usual la verificación de la erradicación bacteriana, la cual se debe hacer cuatro a seis semanas después de terminado el tratamiento (29, 38, 101). La confirmación de la curación es fundamental,

para identificar pacientes que continúan infectados y cambiar o prolongar el tratamiento. Además, los estudios clínicos evalúan en pocas ocasiones la susceptibilidad pretratamiento, la cual permitiría la adecuada evaluación de la eficacia, además de permitir planear tratamientos alternativos para pacientes con fallas terapéuticas (101).

Estudios previos demuestran que la determinación del patrón de susceptibilidad de *H. pylori* antes de iniciar el tratamiento son rentables en diversos escenarios, lo que la posiciona como una estrategia costo-efectiva para enfermedades como úlcera péptica, dispepsia funcional y dispepsia no diagnosticada (102). Los modelos económicos indican que el tratamiento para erradicar la bacteria es más rentable que no recibir tratamiento porque los costos para tratar, por ejemplo, el CG son más elevados (103). Además, estos modelos sugieren evaluar la rentabilidad del tratamiento y el diagnóstico en cada población, pero para esto es necesario conocer: 1) proporción de cepas de *H. pylori* circulantes resistentes a los antibióticos de primera elección; 2) tasa de curación para las cepas sensibles; 3) tasa de curación para las cepas resistentes; y 4) los costos del diagnóstico y tratamiento utilizados (104). En el departamento de Antioquia no se conocen estas cifras.

La aparición de cepas de *H. pylori* resistentes se relaciona con la frecuencia, el uso indiscriminado y la automedicación. En la actualidad, hay reportes que indican que la bacteria ha adquirido resistencia a claritromicina, metronidazol, levofloxacina, tetraciclina, y amoxicilina, la mayoría de las veces por mutaciones en su genoma (105). En Colombia se presentan altas tasas de resistencia a metronidazol 83% [95% CI (76-89)], porcentajes

intermedios a tetraciclina 33% [95% CI (76-89)], y claritromicina 16% [95% CI (7-28)], y bajos a amoxicilina <6% [95% CI (2-12)] (49). Todos los estudios sobre resistencia documentados en el país presentan valores variables, lo que demuestra la importancia de los estudios locales de resistencia (105). En Antioquia no hay estudios que evalúen el patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a los antibióticos disponibles para su control, ni la efectividad de las terapias en la población, por lo que se desconoce si hay alguna terapia con tasa de erradicación del 90%. Solo existe un estudio de resistencia por Roldan y cols., en 2019 que evaluó resistencia genotípica a claritromicina (18,8%). Además, el cultivo y las pruebas de susceptibilidad no se hacen de rutina, por lo tanto, los clínicos no tienen ninguna herramienta para seleccionar, con buen criterio, el mejor tratamiento para los pacientes. Teniendo en cuenta que la infección por *H. pylori* es un problema de salud pública y el fenómeno de resistencia a antibióticos está en aumento se propone caracterizar microbiológica y molecularmente aislamientos clínicos de *H. pylori* para describir el patrón de susceptibilidad de las cepas circulantes en el departamento de Antioquia.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el patrón local de resistencia fenotípica y genotípica de *H. pylori* a los antibióticos (amoxicilina, claritromicina, levofloxacina, metronidazol y tetraciclina) en cepas aisladas de pacientes con enfermedades gastroduodenales del área metropolitana del valle de Aburrá y otras regiones de Antioquia entre 2019-2021?

4. HIPÓTESIS

La hipótesis central de esta propuesta es que existe alta frecuencia de resistencia a cinco antibióticos (amoxicilina, claritromicina, levofloxacina, metronidazol y tetraciclina) en aislamientos de *H. pylori* de pacientes del área metropolitana del Valle de Aburrá y otras regiones de Antioquia entre 2019-2021.

5. OBJETIVOS

- **5.1 OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar fenotípicamente y genotípicamente el patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a los antibióticos amoxicilina, claritromicina, levofloxacina, metronidazol y tetraciclina en aislamientos de pacientes con enfermedades gastroduodenales del Área metropolitana del Valle de Aburrá y otras regiones de Antioquia entre 2019 y 2021.

- **5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Describir las características demográficas, estilo de vida, condiciones clínicas e higiénicas de la población de estudio.
- Determinar el patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a amoxicilina, tetraciclina, claritromicina, levofloxacina y metronidazol por el método fenotípico E-test.
- Determinar las mutaciones asociadas con resistencia a los antibióticos estudiados en los genes *PBP1a* (porción central), *PBP1a* (porción C- terminal), *RdxA*, *rrna16S*, *rrna23S* y *GyrA*.
- Correlacionar las características epidemiológicas, clínicas y la presencia de *H. pylori* con los patrones de susceptibilidad.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Diseño del estudio

Estudio descriptivo de corte transversal de fuente primaria. Para esto, se captaron pacientes con síntomas compatibles con enfermedad gastroduodenal que acudieron a los servicios de endoscopia de centros hospitalarios del oriente antioqueño y el Valle de Aburrá durante los años 2019 y 2021. El muestreo fue por conveniencia.

6.2 Población y muestra del estudio

En el estudio se incluyeron 100 pacientes que acudieron a los servicios de endoscopia de las entidades participantes (IPS Universitaria sede Medellín, Clínica del Rosario sede Medellín y Unidad Gastroenterológica S.A.S entre otras) desde junio de 2019 a septiembre del 2021 con síntomas compatibles de enfermedad gastroduodenal, con falla terapéutica para la infección por *H. pylori* o con persistencia de síntomas después del tratamiento. A los pacientes que cumplían los criterios de inclusión se les invitó a participar del estudio.

6.3 Criterios de inclusión

- Pacientes remitidos al servicio con indicación de endoscopia de tracto digestivo superior con infección clínica o subclínica de enfermedad gastroduodenal.
- Individuos mayores de 18 años.

6.4 Criterios de exclusión

- Pacientes embarazadas.
- Pacientes con inestabilidad hemodinámica y hemorragia activa.
- Pacientes con alteraciones mentales que le impidan dar su aprobación para ingresar al estudio.
- Pacientes con tratamiento exitoso y sin síntomas de infección por *H. pylori* en los últimos tres meses.
- Pacientes con enfermedades concomitantes como: falla renal crónica, falla cardíaca descompensada, falla respiratoria, tumores u otras enfermedades malignas (excepto cáncer gástrico), cirugía gástrica previa, diabetes descompensada, alteraciones de la coagulación, trombocitopenia, uso actual de anticoagulantes, pacientes que hubiesen recibido radioterapia o quimioterapia.
- Individuos tratados con inhibidores de la bomba de protones o antagonistas de los receptores H2 en los 15 días previos al procedimiento de endoscopia.
- Pacientes tratados con antibiótico para *H. pylori* el mes previo al procedimiento.

6.5 Consideraciones éticas

El estudio contempló el uso de biopsias de pacientes que acudieron al servicio para la realización de una endoscopia y expresaron su intención de participar en el proyecto. Una vez confirmada la posibilidad de ingreso del paciente al estudio se procedió a explicarle el estudio, (ver anexo consentimiento informado) resolverle inquietudes y en caso de aceptar, el paciente firmó y colocó su huella. El proceso se realizó ante dos testigos. De acuerdo con las normas científicas técnicas y administrativas para la investigación en salud, contempladas en la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud y Protección

social, la toma de biopsia gástrica se clasifica en la categoría de investigación de riesgo mínimo. Los procedimientos con los pacientes se hicieron en concordancia con la declaración de Helsinki. El paciente recibió los resultados de los análisis microbiológicos, moleculares e histopatológicos. Adicional a esto, el estudio contó con la aprobación de los comités de ética del Instituto de Investigaciones Médicas mediante el acta de aprobación 016 del 22 de agosto de 2019, el aval de comité de ética de la IPS Universitaria en el acta 143 del 27 de febrero de 2020 y el acta número 28-2021 del 24 de septiembre de 2021 por el comité de ética de la investigación del hospital San Vicente Fundación (anexos).

6.6 Recolección de información

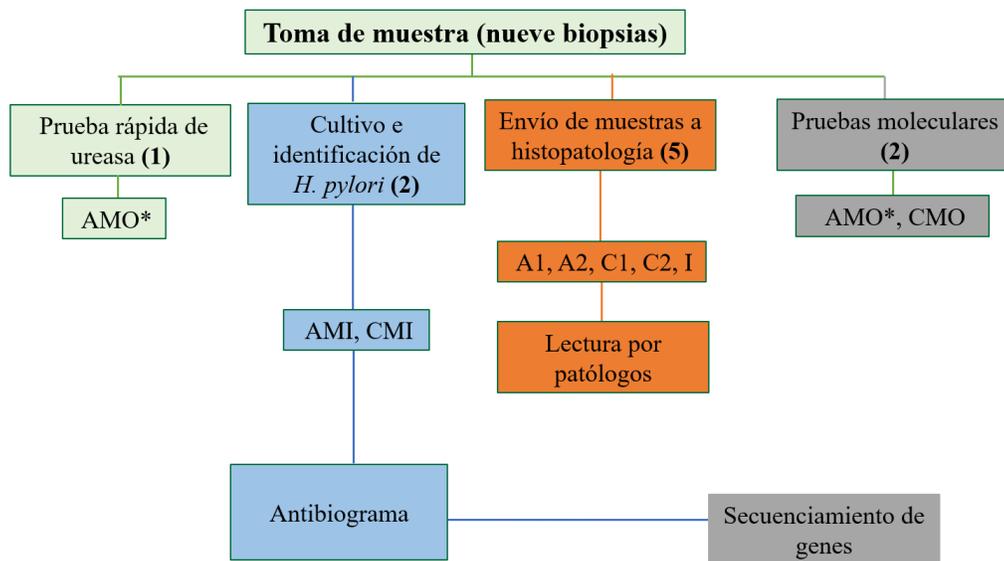
Antes de la toma de muestras los pacientes respondieron una encuesta semiestructurada diseñada previamente en el Grupo Bacterias & Cáncer de la Universidad de Antioquia, que incluía preguntas acerca de datos demográficos, estilos de vida, condiciones higiénicas e historia clínica del individuo y del núcleo familiar. Para la recolección y almacenamiento de datos se utilizó el software KoBoToolbox (Harvard).

6.7 TOMA DE MUESTRAS

Los pacientes tenían ayuno absoluto de al menos 7 horas. Las endoscopias se hicieron en sala de cirugía por personal especializado y siguiendo los procedimientos establecidos por cada institución prestadora del servicio de salud. El paciente se ubicó en posición decúbito lateral izquierdo bajo efectos de sedación con anestesia tópica de la región faríngea e hipofaríngea o intravenosa, ambas con monitoreo permanente de signos

vitales. En el procedimiento se recolectaron 9 biopsias cada una aproximadamente de 2 mm³. Dos muestras se destinaron para análisis microbiológicos, dos para análisis moleculares, y cinco muestras para el análisis histopatológico del proyecto (Diagrama 1).

Las nueve biopsias destinadas para este trabajo se tomaron de los siguientes sitios anatómicos: dos biopsias de antro curvatura menor: A1 (antro 1) y AMO (antro para molecular); dos biopsias de antro curvatura mayor: A2 (antro 2) y AMI (antro para microbiología) y cuerpo: dos biopsias de cuerpo curvatura menor: C1 (cuerpo 1), CMI (cuerpo para microbiología); y dos biopsias de cuerpo curvatura mayor: C2 (cuerpo 2), y CMO (cuerpo para molecular) y una biopsia de la incisura angular (I). Las muestras se depositaron en tubos previamente rotulados que contenían medio de transporte (Solución preparada con formol al 37% tamponada con fosfato monobásico y fosfato dibásico para las muestras de histopatología y medio de transporte (caldo Brúcela BBL® (*Le pont de claix*, France) con 20% de glicerol (SIGMA-ALDRICH, Malasia) y suplementado con 10% de suero bovino fetal (GIBCO, USA) para las muestras de microbiología y molecular) y se llevaron al laboratorio para su procesamiento.



En verde: prueba rápida de ureasa, **azul** se presenta el flujograma de las pruebas fenotípicas, en **naranja:** flujograma de la evaluación histopatológica; en **gris:** flujograma de pruebas moleculares.

AMO*: se utiliza primero para realizar la prueba rápida de ureasa y luego se pasa a otro tubo para utilizarse como muestra para la prueba molecular.

Diagrama 1. Flujograma de procesamiento de muestras.

6.8 Procesamiento de biopsias y análisis histopatológico

Las muestras del antro curvatura mayor y menor (A1 y A2), las del cuerpo curvatura mayor y menor (C1 y C2) y la biopsia de la *incisura angularis* (I) se utilizaron para el diagnóstico histopatológico. Cada muestra se depositó en tubos cónicos que contenían 500 µl de formol (Protokimica, Medellín-Colombia) tamponado al 10%; estos se transportaron a la Unidad de Citología y Patología IPS SAS para su procesamiento. Una placa de cada participante se tiñó con hematoxilina y eosina (H&E) y otra placa se tiñó con Giemsa modificado Diff Quick (RAL Diagnostics y Siemens Healthineers).

Para la lectura de las biopsias se utilizó un formato unificado diseñado en un estudio previo del grupo (ver adjunto formato reporte histopatológico) (106), el cual permite

evaluar la atrofia gástrica mediante el método OLGA (por las siglas en inglés *Operative Link for Gastritis Assessment*) que evalúa y determina la atrofia estableciendo puntuaciones que van desde el grado 0 a IV (106). El 0 representa ausencia de atrofia y el nivel IV es el grado más severo donde se observa una afectación mayor de la mucosa antral y afectación de las celular parietales o oxínticas. Mientras que, para determinar la metaplasia intestinal (MI) se empleó el sistema OLGIM (*Operative Link for the evaluation of Gastric Intestinal Metaplasia*) descrito por Rugge y cols., (107, 108). La detección de *H. pylori* fue positiva cuando se halló la bacteria en al menos una de las 200 placas (H&E y Giemsa). El grado más severo en la lectura de las placas de H&E se consideró como el diagnóstico de OLGA y OLGIM. Estos instrumentos fueron utilizados por un patólogo entrenado y familiarizado con estos sistemas, quien realizó la lectura y registró la información en el formato histopatológico propuesto.

6.9 Identificación y cultivo de *H. pylori*.

Una muestra de antro se utilizó para hacer la prueba de la ureasa rápida, esta prueba se fundamenta en la capacidad que tiene *H. pylori* de hidrolizar la urea y producir amoníaco y CO², los resultados positivos se muestran por un cambio en el pH que genera un cambio de color en el medio de amarillo a fucsia. Para esto la biopsia se colocó en un tubo Eppendorff de 1,5 mL que contenía solución estéril de agar base urea BBL® (Sparks, USA) suplementado con urea al 10% y se incubó por dos horas a 37 °C en el laboratorio. La prueba se consideró como positiva si se observaba un cambio de color amarillo a fucsia. Posteriormente, la biopsia se transfirió al tubo rotulado como AMO para extracción del ADN.

Las muestras de antro y cuerpo para el análisis microbiológico se marcaron como antro (AMI) y cuerpo para microbiología (CMI) respectivamente; estas se depositaron en tubos Eppendorff de 1,5 ml estériles que contenían 400µl del medio caldo Brucella BBL® con 10% de glicerol y 10% de suero bovino fetal. En el laboratorio, las biopsias se transfirieron a tubos que contenían 200 µL de solución salina (pH= 7,4) y se homogenizaron con un macerador eléctrico (Peller Pestle–Mott–Kontes) en condiciones estériles hasta que se observara el tejido totalmente macerado. El macerado se sembró por confluencia en agar Brucella BBL® suplementado con sangre de caballo al 7%, Dent (Oxoid)® e IsoVitaleX (BD)® (Le pont de claix, France), las muestras se incubaron a 37°C con 10% (v/v) de CO₂ hasta por 15 días. Los cultivos se revisaron los días 3, 5, 8 y 15 de incubación. Al cabo de este tiempo, se clasificaron como negativos cuando no se observó crecimiento de colonias de *H. pylori*. Los cultivos con crecimiento de colonias compatibles con *H. pylori* se colorearon con tinción de Gram y se confirmaron por pruebas bioquímicas de identificación (catalasa, oxidasa y ureasa). La prueba de la catalasa es una prueba que se fundamenta en la capacidad que tiene *H. pylori*, así como otras bacterias mediante la enzima del mismo nombre de catalizar la descomposición del peróxido de hidrogeno en oxígeno y agua, su resultado positivo se observa por la producción de burbujas en el fenómeno de descomposición del peróxido de hidrogeno (109). En el caso de la oxidasa esta prueba determina la presencia de enzimas oxidasas que catalizan reacciones de oxidación y reducción, reduciendo el oxígeno a agua y peróxido de hidrogeno. Se realiza con una tirilla o un disco de papel que al entrar en contacto con la bacteria se torna de color negro (110).

6.10 Pruebas para la determinación de la susceptibilidad genotípica

Las biopsias de antro y cuerpo para análisis moleculares se marcaron como AMO y CMO, respectivamente. Posterior a esto, se extrajo el ADN de los aislamientos obtenidos mediante el kit DNeasy Blood and Tissue de Qiagen (Maryland-USA) acorde a las instrucciones del fabricante partiendo de un inóculo de 2 de McFarland.

6.11 Determinación de los patrones de susceptibilidad por E-Test (Epsilometria).

El patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a los cinco antibióticos se determinó en 46 aislamientos provenientes de 200 biopsias sembradas para el cultivo microbiológico. Solo una colonia se usó para cultivar en agar Brucella BBL® y cuando se obtuvo suficientes colonias se hizo el antibiograma. Se realizó una suspensión en solución salina de cada aislamiento hasta obtener un patrón 2 de McFarland (1×10^7 o 1×10^8 UFC/mL); después, la suspensión se sembró en agar *Muller-Hinton II* (BD), suplementado con 10% de sangre de caballo y 0,4% de IsoVitaleX® (Le pont de claix, France) y se dejó secar por 20 min. Sobre el cultivo se colocaron las tiras de E-test (Marcy-l'Etoile, BIOMERIAUX) de cada uno de los antibióticos siguiendo las recomendaciones del fabricante y se incubaron a 37°C en condiciones microaerófilas durante tres días para determinar la concentración inhibitoria mínima (MIC). La MIC se interpretó como la concentración más baja del antibiótico que inhibía el crecimiento bacteriano. Los puntos de corte para determinar la resistencia se basaron en la guía de EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) (**Tabla 2**). Como control positivo de cada procedimiento se utilizó la cepa ATCC 43504 con patrón de susceptibilidad conocido.

Tabla 2. Puntos de corte clínico según guía EUCAST v.11.0 enero de 2021.

Sensible (mg/L)	
Amoxicilina	≤0,125
Claritromicina	≤0,25
Levofloxacina	≤1
Metronidazol	≤8
Tetraciclina	≤1

6.12 MUTACIONES ASOCIADAS CON RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN LOS AISLAMIENTOS DE *H. pylori*

6.12.1 Confirmación de la presencia de *H. pylori* mediante PCR del gen *UreA*

Para confirmar la presencia de *H. pylori* se llevó a cabo una PCR para amplificar un fragmento de 411 pares de bases del gen constitutivo *UreA* según lo descrito por Clayton y cols., en 1992 y, posteriormente, empleado en 2002 por Fuenmayor y cols., (111, 112). Las reacciones de PCR tenían un volumen final de 50 µL que contenían 25 µL PCR Master Mix Taq polymerase y buffer estándar (New England Biolabs, Inc, Hitchin, Herts,UK), 16 µL de agua grado molecular (Rockland, USA), 5 µl de cada iniciador a 2 pmol/uL y 4 µL de ADN genómico. La PCR se llevó a cabo en un termociclador (Labnet International, Inc NJ, USA), con las siguientes condiciones de amplificación: una

desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min, seguida de 25 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 seg, alineamiento a la temperatura de cada set de cebadores por 30 seg y extensión a 68 °C; seguido de extensión final a 68 °C por 5 minutos. Como control positivo se utilizó ADN extraído de la cepa ATCC 43504 y como control negativo se empleó H₂O.

6.12.2 Condiciones de las reacciones de PCR

Las reacciones de PCR tenían un volumen final de 50 µL que contenían 25 µL PCR Master Mix Taq polymerase y buffer estándar (New England Biolabs, Inc, Hitchin, Herts,UK), 16 µL de agua grado molecular (Rockland, USA), 5 µL de cada iniciador a 2 pmol/uL y 4 µL de ADN genómico. La PCR se llevó a cabo en un termociclador (Labnet International, Inc NJ, USA), con las siguientes condiciones de amplificación: una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min, seguida de 25 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 seg, alineamiento a la temperatura de cada set de cebadores por 30 seg y extensión a 68 °C; seguido de extensión final a 68 °C por 5 minutos. Las secuencias de cada set de cebadores se encuentran en la **tabla 3**. Como control positivo se utilizó ADN de la cepa NCTC11637 y como control negativo H₂O.

Tabla 3. Características de cebadores utilizados para las pruebas PCR.

Gen	Secuencia	Tamaño del oligo	Tamaño del amplicón (pb)	T melting (°C)	Ref.
<i>HP0597</i> Codifica la <i>PBP1a</i> (porción central) Amoxicilina	Forward: 5´TAGAGTCCTTGCGTTTTGGG´3	20	557	62	(69)
	Reverse: 5´TTCAGCCGCTTCAATGGGTG´3	20			
<i>HP0597</i> Codifica la <i>PBP1a</i> (porción C- terminal) Amoxicilina	Forward: 5´AGCCACGATCAATTTAAGCGA´3	21	573	62	(69)
	Reverse: 5´CGCAAGCCTTTGGGGACATC´3	20			
<i>HP0954</i> Codifica la <i>nitroreductasa RdxA</i> Metronidazol	Forward: 5´GACAATTATTAACGAGCGC´3	20	460	56	(89)
	Reverse: 5´CCTCCAATAATGCAACTATC´3	20			
<i>HP ARNr 16S</i> Tetraciclina	Forward: 5´CTGACGCTGATTGCGCGAA´3	19	537	62	(113)
	Reverse: 5´TGGCTCCACTTCGCAGTATT´3	20			
<i>HP ARNr 23S</i> Claritromicina	Forward: 5´CCACAGCGATGTGGTCTCAG´3	20	425	60	

Gen	Secuencia	Tamaño del oligo	Tamaño del amplicón (pb)	T melting (°C)	Ref.
<i>HP0701</i> Codifica la ADN girasa <i>GyrA</i> Levofloxacin	Reverse: 5'CTCCATAAGAGCCAAAGCCC'3	20			(30, 114)
	Forward: 5'TTTRGCTTATTCMATGAGCGT'3	21	428	58	(50)
<i>UreA</i>	Reverse: 5'GCAGACGGCTTGGTARAATA'3	21			(111)
	Forward: 5'GCCAATGGTAAATTAGTTT'3	18	421	46	
	Reverse: 5'CTCCTTAATTGTTTTTAC'3	18			

6.12.3 Electroforesis en gel de agarosa

Los fragmentos amplificados se corrieron en geles de agarosa al 3% a 50 voltios por 120 minutos y se colorearon con HydraGreen™ Safe DNA Dye (ACTgene–USA), posteriormente se visualizaron con transiluminador (Molecular Imager® Gel Doc™ XR System. BioRad Laboratories, Inc. Hercules, CA, EE. UU). Para determinar el tamaño de los amplificados se utilizó el marcador de peso molecular de 50 pb N3236L (New England Biolabs, Inc).

6.12.4 Secuenciación

Los fragmentos amplificados por PCR de los genes *PBP1a*, *RdxA*, *rrnA 23S*, *rrnA 16S* y *GyrA* se secuenciaron por el método de Sanger (115). Esta estrategia consiste en sintetizar, de forma secuencial, una hebra de ADN complementaria a otra de cadena simple (que se utiliza como molde), en una mezcla de reacción que contiene ADN polimerasa, los deoxinucleótidos dATP, dGTP, dCTP y dTTP y los dideoxinucleótidos ddATP, ddGTP, ddCTP y ddTTP. Estos últimos carecen del grupo 3'-OH, que permite la adición del nucleótido consecutivo, de forma que cuando uno de ellos se incorpora a la cadena, se interrumpe la elongación de la nueva hebra. El resultado final son fragmentos de diferente tamaño. La secuenciación fue realizada por personal del laboratorio GENES S.A.S en sus instalaciones.

Los productos amplificados por PCR fueron purificados y secuenciados usando el kit BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Vilnius, Lithuania).

Los productos de PCR para la secuenciación fueron purificados usando el kit de

purificación BigDye XTerminator™ (Applied Biosystems, Warrington, UK) y ExoSAP-IT™ (Applied Biosystems, Vilnius, Lithuania). Para la lectura se utilizó el equipo ABI 3500 Genetic Analyser.

Para determinar cambios en las secuencias obtenidas, estas se compararon con la secuencia de la cepa de referencia de 26695 (GenBank HP26695) y la secuencia de la cepa 11638 (identificación de la secuencia: emb|CAC83809.1| y gi|9858509|gb|AF180408.1|). Las secuencias obtenidas se evaluaron con la herramienta SecScape de Applied Biosystems® versión 3 donde se estableció el *Quality value* mayor a 20. Posteriormente, los cambios encontrados se relacionaron con los codones de parada y las mutaciones de cambio de aminoácidos. Para esto, se utilizó el programa DNA Dynamo v 1.615 de Bluetractor software para el análisis de los cambios más significativos que pudiesen tener influencia en la resistencia. Como control en la secuenciación para todos los antibióticos se incluyeron 2 aislamientos sensibles fenotípicamente para establecer una comparación con la secuencia de los aislamientos fenotípicamente resistentes.

6.13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS V. 24 licenciado por la Universidad de Antioquia . El análisis de variables cualitativas (frecuencias absolutas y relativas) y cuantitativas se realizó de acuerdo con la distribución de las variables de medidas de tendencia central (media, mediana y moda). El análisis bivariado

se llevó a cabo con la prueba de chi-cuadrado (X^2) para calcular la asociación entre variables dependientes e independientes. Se utilizó un intervalo de confianza del 95% y un valor $p < 0,05$ como asociación estadísticamente significativa. La asociación entre variables se hizo por medio de la razón de oportunidades para estudios de prevalencia (OR de prevalencia). Posteriormente se empleó un modelo de regresión logística para el análisis de las variables.

7. RESULTADOS

Entre agosto de 2019 y octubre de 2021 se contactaron 436 pacientes programados por síntomas de enfermedad gastroduodenal para endoscopia en los diferentes servicios de salud del área metropolitana del Valle de Aburrá (AMVA) y el municipio de Rionegro. Los pacientes se contactaron inicialmente vía telefónica y posteriormente de forma presencial. Del total de pacientes, 336 se descartaron por no cumplir los criterios de inclusión (ver diagrama 2), siendo la principal causa de exclusión fue el consumo de IBP. De los 100 pacientes que cumplían los criterios de inclusión, 87 provenían del AMVA y 13 de otras regiones de Antioquia. El número de muestras recolectadas según la institución prestadora de salud se describen en la tabla 4.

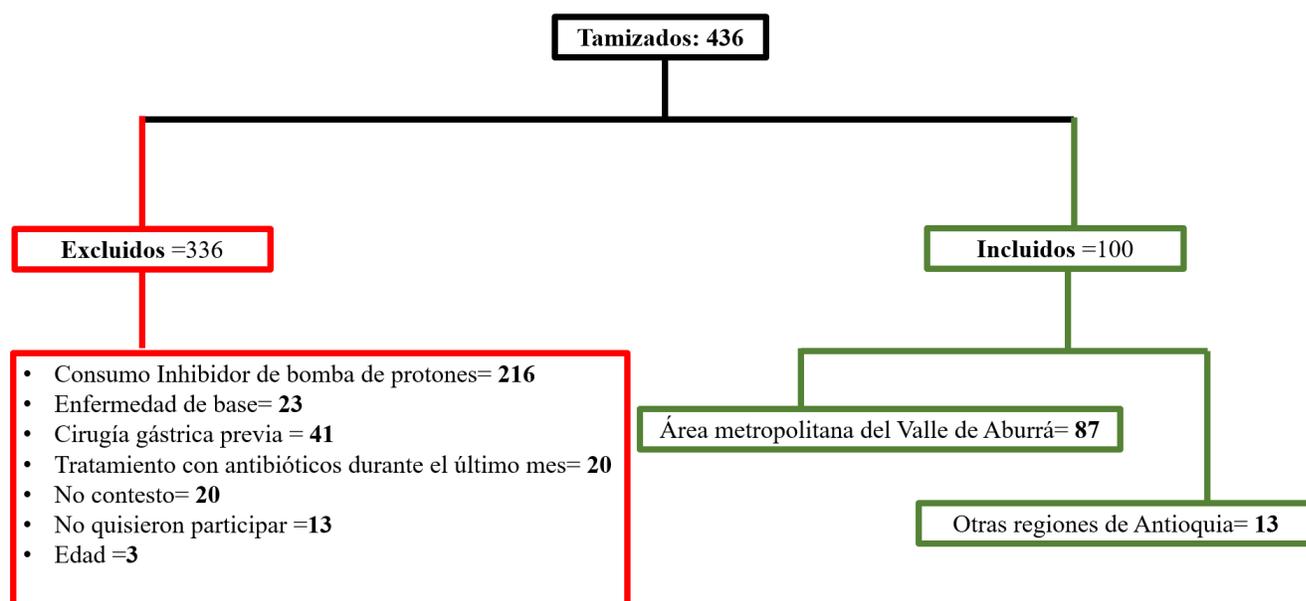


Diagrama 2. Selección de participantes del estudio. Los recuadros rojos muestran los pacientes y los motivos de la exclusión. En verde el número de participantes incluidos y el lugar de procedencia.

Tabla 4. Número de muestras por institución prestadora de salud

Institución	Número	(%)
Clínica El Rosario	48	48,0
IPS Universitaria	38	38,0
GastrOriente	4	4,0
Unidad Gastroenterológica SAS	5	5,0
Sura	2	2,0
Nueva EPS Sede Estadio	1	1,0
Promedan Sede Mayorca	1	1,0
San Vicente Fundación Sede Medellín	1	1,0
Total	100	100,0

7.1 Características sociodemográficas de la población

Los resultados de las encuestas mostraron que la mayoría de los pacientes son mujeres (65%), con edad entre 49-87 años y la media de edad de la población fue de 59,17 años. De acuerdo con la ocupación, el 32% de los participantes eran pensionados seguido de ama de casa (22%), empleado (16%), independiente (13%), desempleado (4%) y estudiante (2%). El 91% pertenecía al régimen contributivo de seguridad social; mientras que, en la escolaridad los resultados mostraron que el 30% (30/100) de los participantes no terminaron la educación secundaria. Del 70% que si lo hizo solo el 15,7% (11/70) terminaron carreras técnicas o tecnológicas y el 42,8% (30/70) terminaron carreras profesionales. De los participantes, el 51% (51/100) se reconoció como blanco y el 45% (45/100) como mestizo.

Al preguntar por el ingreso mensual del grupo familiar, el 37% (37/100) manifestó que era de 1 a 3 salarios mínimos legales vigentes (SMLV), otro 37% manifestó que su ingreso

familiar era de 3 a 9 SMLV, el 10% (10/100) tenía un ingreso superior a 9 SMLV y otro 10 % de menos de un salario mínimo. Según el lugar de residencia: 99% (99/100) de los participantes residían en Antioquia, el otro vivió en Antioquia pero al momento de la encuesta vivía en Córdoba. La mayoría de la población residían en el AMVA con 77% (77/100) (tabla 7). El 52% (52/100) vivía en apartamento, 46% (46/100) en casa y 2% (2/100) en una finca. Cuando se les indagó por la ubicación de la vivienda el 6% (6/100) vivía en zona rural. De acuerdo al estrato socioeconómico, 56% (56/100) viven en estratos 4-6 y 44% (44/100) en estratos 1-3. El 98% (98/100) de los hogares vierten sus aguas residuales al alcantarillado (**ver tablas 5 y 7**). La mayoría de pacientes nacieron en municipios antioqueños (78%) (**tabla 6**).

Tabla 5. Características sociodemográficas de la población de estudio divididos por región, SMLV*: salario mínimo mensual legal vigente.

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		n	%	n	%
Sexo	Hombre	32	36,8	3	23,1
	Mujer	55	63,2	10	76,9
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Edad	19-28	2	2,3	1	7,7
	29-38	10	11,5	1	7,7
	39-48	9	10,3	2	15,4
	49-58	13	14,9	7	53,8
	59-68	20	23,0	1	7,7
	69-78	24	27,6	1	7,7
	79-87	9	10,3	0	0,0
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Régimen de Seguridad Social	Contributivo	82	94,3	9	69,2
	No sabe	2	2,3	1	7,7
	Subsidiado	3	3,4	3	23,1
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Etnia	Afrocolombiano o Afrodescendiente	2	2,3	0	0,0
	Blanco	46	52,9	5	38,5
	Indígena	1	1,1	0	0,0

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		n	%	n	%
	Mestizo	38	43,7	7	53,8
	Mulato	0	0,0	1	7,7
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Escolaridad	Ninguno	1	1,1	0	0,0
	Primaria incompleta	7	8,0	1	7,7
	Primaria completa	10	11,5	5	38,5
	Secundaria incompleta	6	6,9	0	0,0
	Secundaria completa	21	24,1	5	38,5
	Técnico, tecnológico completo	11	12,6	0	0,0
	Universitario incompleto	2	2,3	1	7,7
	Universitario completo	21	24,1	1	7,7
	Especialización	5	5,7	0	0,0
	Maestría	3	3,4	0	0,0
<i>Total</i>	87	100	13	100	
Ocupación	Ama de casa	22	25,3	7	53,8
	Desempleado	4	4,6	0	0,0
	Empleado	16	18,4	2	15,4
	Estudiante	2	2,3	1	7,7
	Independiente	13	14,9	1	7,7
	Pensionado	30	34,5	2	15,4
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Ingresos del grupo familiar	Menos de un salario mínimo	9	10,3	1	7,7
	Entre 1 y 3 salarios	27	31,0	10	76,9
	Entre 3 y 6 salarios	13	14,9	1	7,7
	Entre 6 y 9 salarios	13	14,9	0	0,0
	Más de 9 salarios	9	10,3	1	7,7
	No sabe no responde	16	17,4	0	0,0
<i>Total</i>	87	100	13	100	
Estrato	1	3	3,4	1	7,7
	2	17	19,5	7	53,8
	3	13	14,9	3	23,1
	4	9	10,3	1	7,7
	5	30	34,5	1	7,7
	6	15	17,2	0	0,0
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Tipo de vivienda	Apartamento	49	56,3	3	23,1
	Casa	37	42,5	9	69,2
	Finca	1	1,1	1	7,7
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Servicios públicos de la vivienda	Acueducto	87	100	13	100,0
	Energía	87	100	13	100,0
	Gas	85	97,7	9	69,2
	Recolección de basuras	87	100	13	100
	Alcantarillado	87	100	11	84,6
	Pozo séptico	0	0,0	1	7,7

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		n	%	n	%
Destino de las aguas residuales	Río o quebrada	0	0,0	1	7,7
	Total	87	100	13	100
Zona de la vivienda	Urbano	87	100	7	7
	Rural	0	0	6	6

Tabla 6. Departamento de nacimiento

Departamento	Frecuencia	Porcentaje
Antioquia	78	78,0
Bogotá, D.C.	4	4,0
Caldas	3	3,0
Bolívar	2	2,0
Boyacá	2	2,0
Santander	2	2,0
Valle del Cauca	2	2,0
Atlántico	1	1,0
Chocó	1	1,0
Córdoba	1	1,0
Cundinamarca	1	1,0
Huila	1	1,0
Magdalena	1	1,0
Norte de Santander	1	1,0
<i>Total</i>	<i>100</i>	<i>100,0</i>

Tabla 7. Municipio de residencia

Departamento	Municipio	Recuento	%
Antioquia	Medellín	67	64,6
	Envigado	12	12,1
	Bello	4	4,0
	Itagüí	3	3,0
	El Carmen de Viboral	2	2,0
	Yarumal	1	1,0
	Santa Bárbara	1	1,0
	San Pedro de los Milagros	1	1,0

Departamento	Municipio	Recuento	%
	Sabaneta	1	1,0
	Rionegro	1	1,0
	Retiro	1	1,0
	Montebello	1	1,0
	Fredonia	1	1,0
	El Santuario	1	1,0
	Andes	1	1,0
	Amagá	1	1,0
	Total	99	100,0
	Montería	1	100,0
	Total	100	100,0

7.2 Descripción de aspectos conductuales, condiciones higiénicas y estilo de vida de la población de estudio.

El 93% (93/100) de la población utiliza el agua del acueducto para el consumo de la vivienda y el 86% (86/100) no tiene tanque de almacenamiento (**Tabla 8**). Con respecto al hábito del tabaquismo el 96% (96/100) no fuma actualmente mientras que el 12% (12/100) manifestó que consumió tabaco previamente y 4% (4/100) eran consumidores de tabaco activos. El 10% (10/100) manifestó consumir bebidas alcohólicas, las más consumidas fueron aguardiente, cerveza y vino con al menos una copa semanalmente. Al indagar por el número de tazas de café/día, el 62% (62/100) de la población manifestó consumir al menos 1 taza de café/día (**Tabla 8**). De los encuestados el 69% (69/100) no añadía sal a la comida después de hacerla. Los resultados relacionados con la frecuencia con la cual cada participante come en la semana por fuera de casa/semana el 49% (49/100) sí lo hace al menos 1 vez /semana. Sobre la frecuencia con la que se realiza limpieza al tanque de almacenamiento de agua se encontró que la mayoría no cuenta

con este porque utiliza el agua del acueducto; sin embargo, en los casos donde se cuenta con tanque, un participante el 1% (1/100) manifestó que una vez al año se realiza limpieza del tanque de almacenamiento de agua para consumo y otras actividades, el 2% (2/100) cada 6 meses, un participante manifestó desconocer con qué frecuencia se realiza esta labor.

Tabla. 8. Descripción de aspectos conductuales, condiciones higiénicas y estilo de vida divididos por región.

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		N	%	n	%
Agua para consumo	Acueducto	85	97,7	8	61,5
	Acueducto veredal	0	0,0	4	30,8
	Botellón	2	2,3	0	0,0
	Rio/quebrada	0	0,0	1	7,7
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Utiliza el agua del tanque para consumo humano	No tiene tanque	75	86,2	11	84,6
	No	8	9,2	2	15,4
	Sí	4	4,6	0	0,0
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Frecuencia limpieza al tanque	1 vez al año	1	1,1	0	0,0
	No tiene tanque	75	86,2	11	84,6
	Cada 6 meses	10	12,3	0	0,0
	No sabe	1	1,1	0	0,0
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Hierva usted el agua antes de consumirla	consume agua del acueducto municipal	81	93,1	8	61,5
	No	6	6,9	1	7,7
	Sí	0	0,0	4	30,8
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Personas del núcleo familiar que viven permanentemente en la vivienda	1	5	5,7	1	7,7
	2	28	32,2	2	15,4
	3	26	29,9	7	53,8
	4	18	20,7	3	23,1
	5	8	9,2	0	0,0
	6	2	2,3	0	0,0
	<i>Total</i>	87	100	13	100

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		N	%	n	%
Cuartos que destinan para dormir	1	15	17,2	1	7,7
	2	42	48,3	6	46,2
	3	25	28,7	6	46,2
	4	5	5,7	0	0,0
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Fumador actual	No	84	96,6	12	92,3
	Sí	3	3,4	1	7,7
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Fumador previo	Fuma actualmente	3	3,4	1	7,7
	No	73	83,9	11	84,6
	Sí	11	12,6	1	7,7
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Toma usted bebidas alcohólicas	No	78	89,7	12	92,3
	Sí	9	10,3	1	7,7
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Consume café diariamente	No	35	40,2	3	23,1
	Sí	52	59,8	10	76,
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Tazas de café que consume al día	1	8	9,2	3	23,1
	2	16	18,4	4	30,8
	3	11	12,6	3	23,1
	4	8	9,2	0	0,0
	5	2	2,3	0	0,0
	6	5	5,7	0	0,0
	7	1	1,1	0	0,0
	8	1	1,1	0	0,0
	No consume café diariamente	35	40,2	3	23,1
<i>Total</i>	87	100	13	100	
Añade sal a la comida	No	59	67,8	10	76,9
	Sí	28	32,2	3	23,1
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Come por fuera de la casa	No	46	52,9	5	38,5
	Sí	41	47,1	8	61,5
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Veces que come por fuera de la casa	1. Una o dos veces a la semana	33	37,9	7	53,8
	2. Tres a cuatro veces a la semana	6	6,9	1	7,7
	3. Cinco o más veces	2	2,3	0	0,0
	No come por fuera de la casa	46	52,9	5	38,5
<i>Total</i>	87	100	13	100	

7.3 Descripción de las condiciones clínicas de la población. Sintomatología del paciente y antecedentes médico-familiares

La epigastralgia fue el síntoma más frecuente registrado por los pacientes 79% (79/100), seguido de dispepsia, eructos, y reflujo (65%, 60% y 51%), respectivamente. El 60% (60/100) tenía diagnóstico previo de enfermedad gástrica. De estos, el 25% (15/60) con gastritis crónica, y el 22% (13/60) con diagnóstico de gastritis, entre otros. De los participantes 77% (77/100) tuvieron endoscopia previamente y el 52% de estos (40/77) fueron diagnosticados con *H. pylori*. De los 40 pacientes diagnosticados como positivos, 90% (36/40) recibieron tratamiento. En cuanto a la adherencia al tratamiento, el 94% de los individuos (34/36) siguieron la terapia según las indicaciones médicas (**Tabla 9**). En los antecedentes familiares, la gastritis es el diagnóstico más común entre hermanos 18% (18/100) seguido de la infección por *H. pylori* 8% (8/100). En cuanto al diagnóstico con CG, los tíos y los abuelos son los familiares que presentaron con más frecuencia este antecedente (**Figura 3**).

Tabla 9. Descripción de las condiciones médico-personales.

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		n	%	n	%
Sintomatología	Dolor o ardor epigástrico	67	77,0	12	92,3
	Nauseas	34	39,1	5	38,5
	Vómito	8	9,2	0	0,0
	Dolor o dificultad para tragar	10	11,5	1	7,7
	Sensación de masa o bulto en la garganta	9	10,3	3	23,1
	Sensación de llenura con una comida normal	33	37,9	4	30,8
	Eructos	51	58,6	9	69,2

Variable	Categorías	Región			
		Área Metropolitana		Otras regiones	
		n	%	n	%
	Sensación de ardor/quemazón en la garganta	45	51,7	6	46,2
	Pérdida de apetito	21	24,1	2	15,4
	Pérdida de peso	5	5,7	1	7,7
	Vómito con contenido similar a granos de café oscuros	1	1,1	0	0,0
	Heces negras o muy oscuras	10	11,5	0	0,0
	Estómago inflado o distendido	55	63,2	10	76,9
Diagnóstico previo de enfermedad gástrica	No	35	40,2	5	38,5
	Sí	52	59,8	8	61,5
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Le han realizado endoscopias previamente	No	17	19,5	6	46,2
	Sí	70	80,5	7	53,8
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Tiene o ha tenido <i>Helicobacter pylori</i>	No	54	62,1	6	46,2
	Sí	33	37,9	7	53,8
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Diagnóstico de <i>H. pylori</i>	1995-2005	2	2,3	1	7,7
	2006-2015	3	3,4	1	7,7
	2016-2021	11	12,6	3	23,1
	No sabe	17	19,5	2	15,4
	No ha tenido <i>H. pylori</i>	54	62,1	6	46,2
	<i>Total</i>	87	100	13	100
Ha recibido tratamiento para <i>H. pylori</i>	No le han diagnosticado <i>H. pylori</i>	54	62,1	6	46,2
	No	4	4,6	0	0,0
	Sí	29	33,3	7	53,8
	<i>Total</i>	87	100	13	100

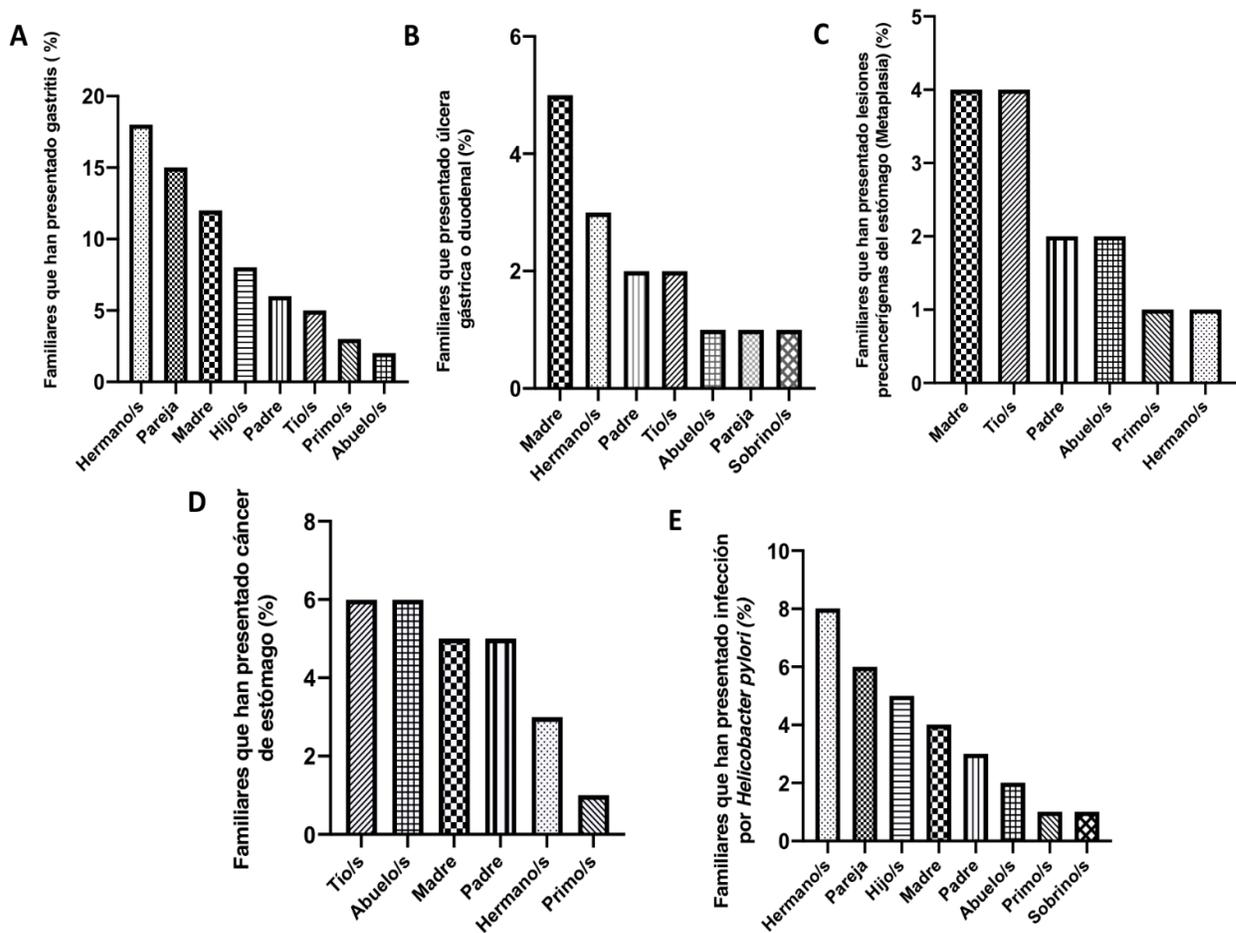


Figura 3. Antecedentes médico-familiares de la población de estudio. Familiares que han presentado A) gastritis; B) úlcera gástrica o duodenal; C) lesiones precancerosas del estómago (metaplasia intestinal o displasia); D) cáncer de estómago, E) infección por *H. pylori*.

7.4 Determinación del diagnóstico de *H. pylori* por prueba bioquímica de la ureasa rápida, cultivo, histopatología y pruebas moleculares

La prueba rápida de ureasa de *H. pylori* se aplicó en una muestra de antro a cada participante y en el 23% (23/100) la prueba rápida fue positiva (**ver Tabla 10**). En el cultivo, el microorganismo se aisló en el 23% (23/100) de los participantes. Sin embargo, como se evaluó muestras de antro y cuerpo, se obtuvieron 46 aislamientos en total.

Posteriormente, se extrajo ADN de estos y se confirmó la presencia de *H. pylori* mediante la amplificación del gen *UreA*.

Tabla 10. Resultados de pruebas con los que se determinó la infección por *H. pylori*

Tipo de prueba usada para la detección de <i>H. pylori</i>	Resultados de la prueba (%)
Resultado de prueba rápida de ureasa	
Positivo	23 (23)
Negativo	77 (77)
Cultivo	
Positivo	23 (23)
Negativo	77 (77)

8. PATRÓN DE SUSCEPTIBILIDAD FENOTÍPICO.

8.1 Patrón de susceptibilidad fenotípico mediante la prueba de epsilometría.

La MIC se obtuvo al realizar el antibiograma con la tirilla del E-test para los antibióticos: amoxicilina, claritromicina, levofloxacina, metronidazol y tetraciclina. Los resultados para este último no se muestran porque todos los aislamientos fueron sensibles (**Figura 4**). Al comparar los valores de la MIC de los aislamientos provenientes de cuerpo y antro no se observó ninguna diferencia. De los 46 aislamientos (23 de antro y 23 de cuerpo) el 87% (40/46) mostraron resistencia a algún antibiótico, siendo el 82,6% (38/46) resistentes a metronidazol; el 30,43% (14/46) a claritromicina; el 21,7% (10/46) a levofloxacina y el 8,26% (4/46) a amoxicilina. Un total de 20 (43,4%) aislamientos presentaron resistencia a dos o más antibióticos y se consideraron multirresistentes (**Figura 5**).

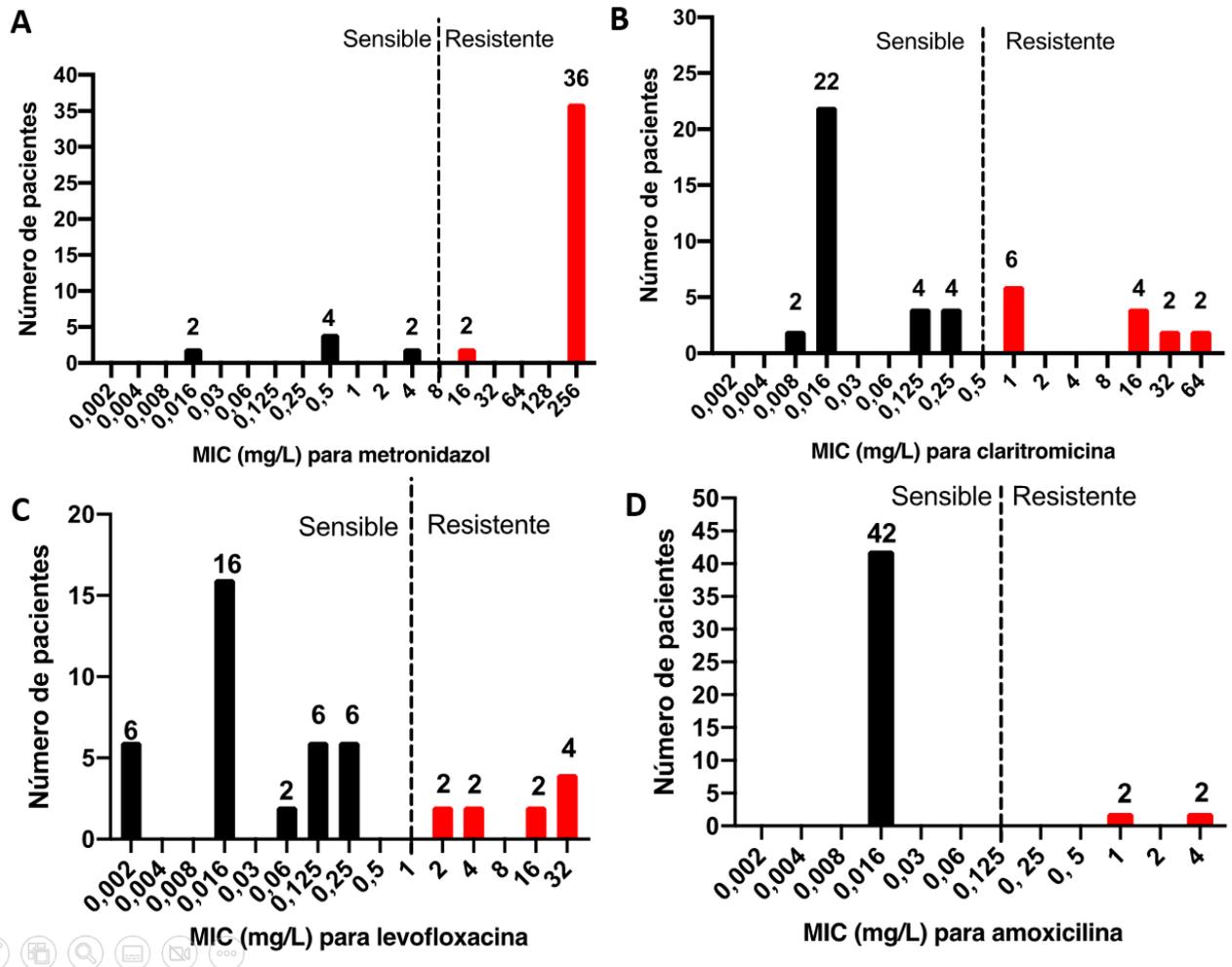


Figura 4. MIC obtenida de la evaluación de la resistencia fenotípica en aislamientos de *H. pylori* mediante E-test. **A)** Metronidazol; **B)** Claritromicina; **C)** Levofloxacina **D)** Amoxicilina.

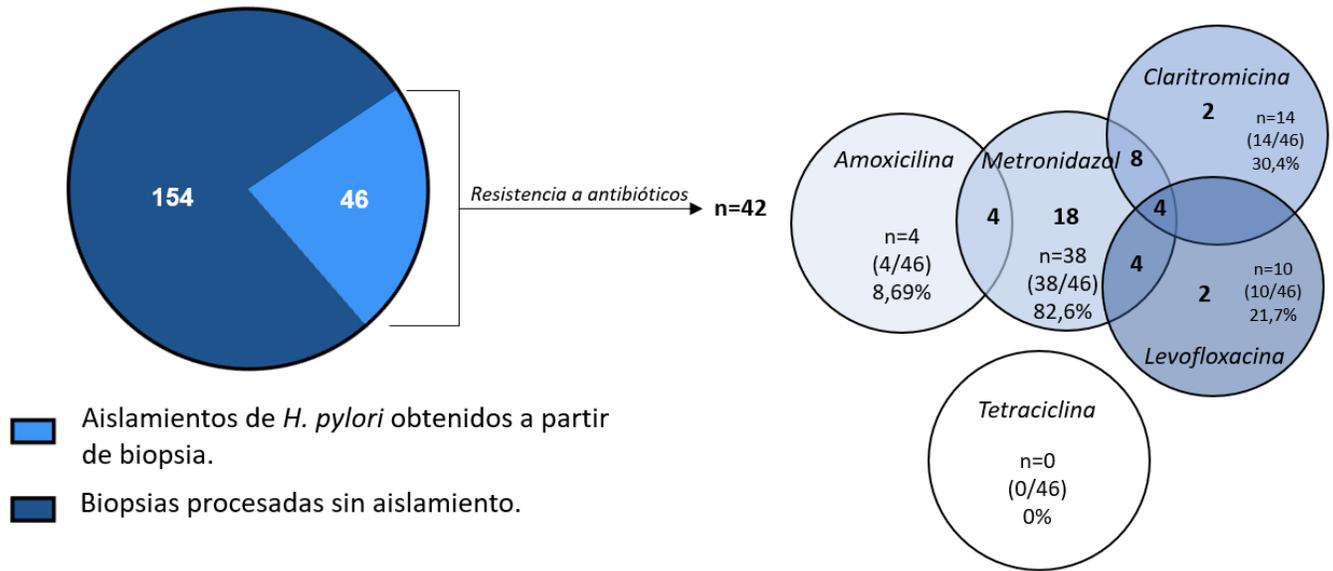


Figura 5. Frecuencia de la resistencia de los aislamientos de *H. pylori* a los antibióticos amoxicilina, metronidazol, claritromicina y levofloxacina. **Izquierda:** número de individuos a los que se le aisló *H. pylori* del total de la población. **Derecha:** Grafico de Venn que presenta el número de aislamientos resistentes obtenidos de pacientes para cada antibiótico, así como el número de individuos que tuvieron aislamientos resistentes a dos o más antibióticos.

9. PATRON DE SUSCEPTIBILIDAD GENOTIPICO.

9.1 Determinación de la presencia de *H. pylori* mediante la amplificación del gen *UreA*

Para determinar la posible presencia de ADN de *H. pylori* se amplificó un fragmento de 411pb del gen *UreA* (**Tabla 3**). Esta confirmación se realizó con la amplificación del ADN de *H. pylori* proveniente los 46 aislamientos obtenidos anteriormente por cultivo microbiológico (23 aislamientos de antro y 23 provenientes de cuerpo) (**Figura 6**).

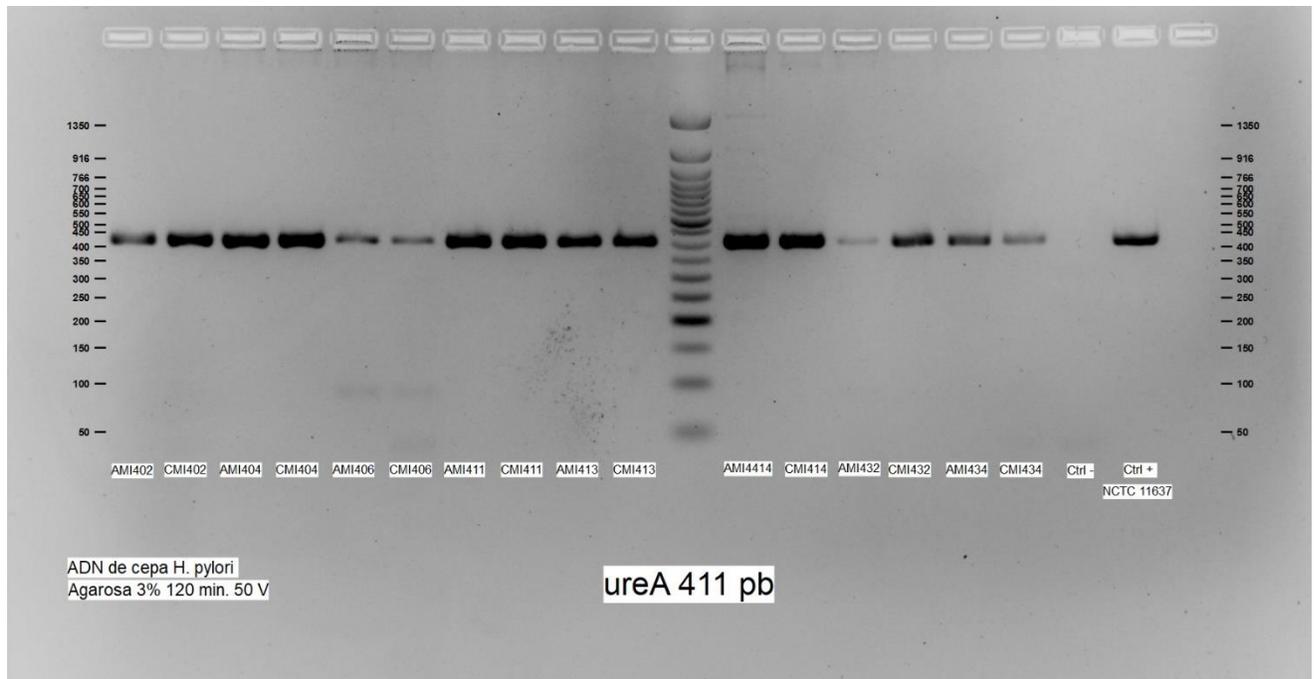


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa de 17 resultados representativos del gen *UreA* 411pb de los aislamientos de *H. pylori*. carril 1: AMI402, carril 2: CMI402, carril 3: AMI404, carril 4: CMI404, carril 5: AMI 406, carril 6: CMI406, carril 7: AMI411, carril 8: CMI411, carril 9: AMI413, carril 10: CMI413, carril 11: marcador de peso, carril 12: AMI414, carril 13: CMI414, carril 14: AMI432, carril 15: CMI432, carril 16: AMI434, carril 17: CMI434, carril 18 control negativo (agua grado molecular) y carril 19 control positivo ADN cepa NCTC 11637. **AMI:** aislamiento de biopsia antral, **CMI:** aislamiento de biopsia de cuerpo.

9.2 Determinación de las mutaciones asociadas con la resistencia a los genes de: *PBP1a* (porción central), *PBP1a* (porción C-terminal), *RdxA*, *rrna16S*, *rrna 23S* y *GyrA*

Para confirmar los resultados del patrón de susceptibilidad fenotípica se determinó el número y la frecuencia de mutaciones asociadas con resistencia a los antibióticos.

9.2.1 Amplificación del gen *PBP1a* asociado con la resistencia a la amoxicilina porción central y porción C-terminal

Para la evaluación de resistencia amoxicilina se amplificaron dos partes del gen: un fragmento de la región central del gen *PBP1a* con un fragmento de 557 pb y un fragmento de la porción c-terminal de 573 pb de 46 muestras de ADN obtenido de los aislamientos de antro y cuerpo (**Tabla 3**). Se amplificaron las muestras que habían presentado resistencia fenotípica, en este caso cuatros aislamientos (**Figura 7 y Figura 8**).

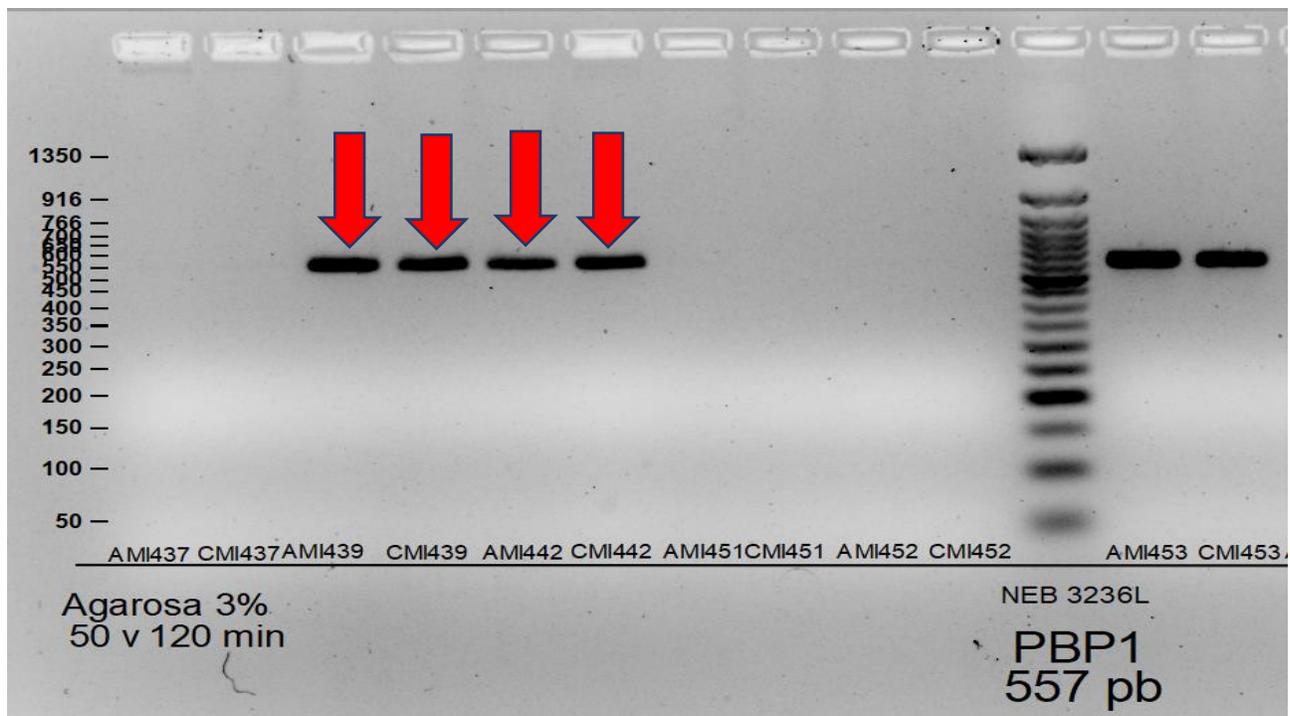


Figura 7. Figura representativa de electroforesis en gel de agarosa del gen *PBP1a* de **557pb**. En los carriles: 4-7 se muestra la presencia de la banda. Carril 3: AMI 439, Carril 4: CMI 439, Carril 5: AMI442, Carril 6: CMI442, Carril 11: marcador de peso. Las muestras que presentaron resistencia fenotípica a amoxicilina se señalan con las flechas rojas. **AMI**: aislamiento de biopsia antral, **CMI**: aislamiento de biopsia de cuerpo.

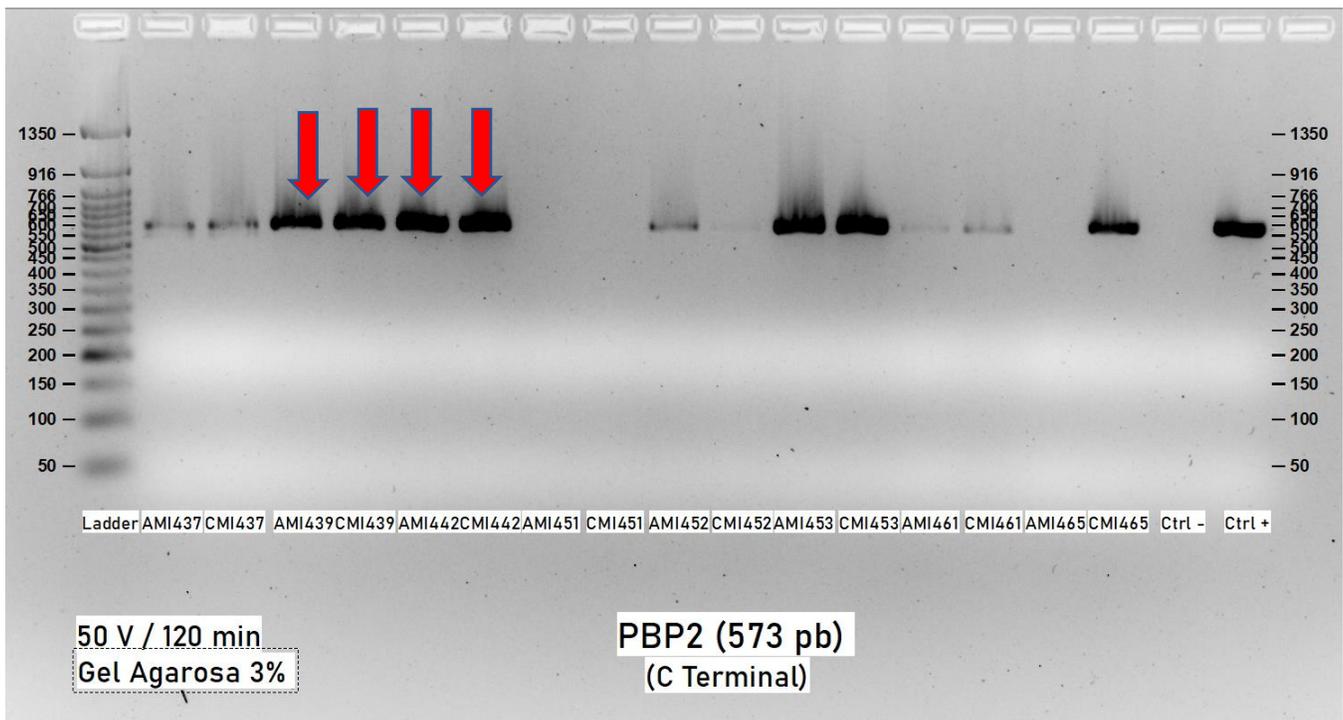


Figura 8. Electroforesis en gel de agarosa del gen *PBP1a* de 573 pb. En los carriles: 4-7 se muestra la presencia de la banda. Carril 1: marcador de peso, carril 3: AMI 439, carril 4: CMI 439, carril 5: AMI442, carril 6: CMI442, carril 18 control negativo (agua grado molecular) y carril 19 control positivo ADN cepa NCTC 11637. Las muestras con resistencia fenotípica a amoxicilina se señalan con las flechas rojas. **AMI:** aislamiento de biopsia antral, **CMI:** aislamiento de biopsia de cuerpo.

9.2.2 Amplificación del gen *ARNr 23S* asociado con la resistencia a la claritromicina

Para la confirmación del gen *ARNr 23S* se amplificó un fragmento de 425 pb. (Tabla 3). De las 46 muestras de ADN se amplificó el gen en 14 aislamientos que previamente mostraron resistencia fenotípica. La Figura 9 es un gel representativo del amplicón asociado con la resistencia a claritromicina.

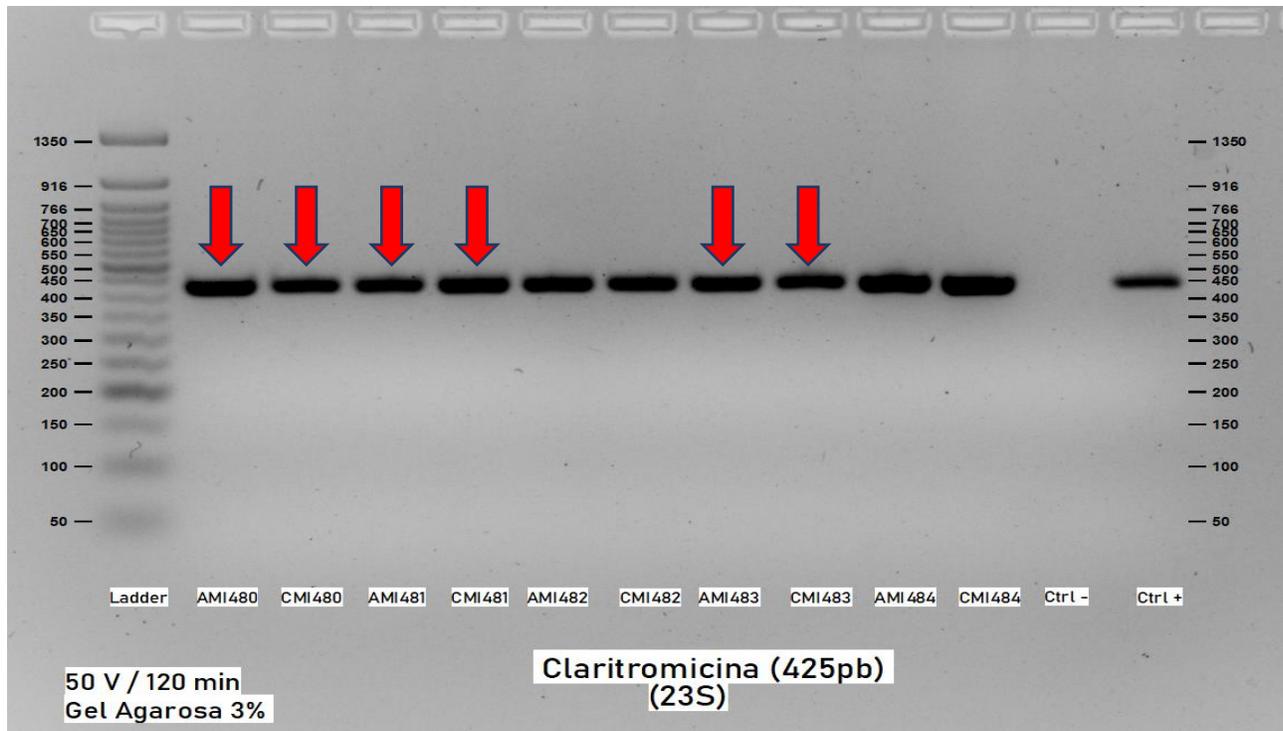


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa del gen *ARNr* 23S de 425 pb. En los carriles: 2-5 y 8,9 se muestra la presencia de la banda. Carril 1: marcador de peso, carril 2: AMI 480, carril 3: CMI 480, carril 4: AMI481, carril 5: AMI481, carril 8: AMI483, carril 9: CMI483, carril 12 control negativo (agua grado molecular) y carril 13: control positivo ADN cepa NCTC 11637. Las muestras que presentaron resistencia fenotípica a CLR se señalan con las flechas rojas. **AMI:** aislamiento de biopsia antral, **CMI:** aislamiento de biopsia de cuerpo.

9.2.3 Amplificación del gen *GyrA* asociado con la resistencia a la levofloxacin.

Para confirmar la amplificación del gen *GyrA* (HP0701) se obtuvo un fragmento de 428 pb. (**tabla 3**). En el ADN de 12 aislamientos que previamente mostraron resistencia fenotípica se amplificó este fragmento. La figura 10 es de un gel representativo del amplicón asociado con la resistencia a levofloxacin (**figura 10**).

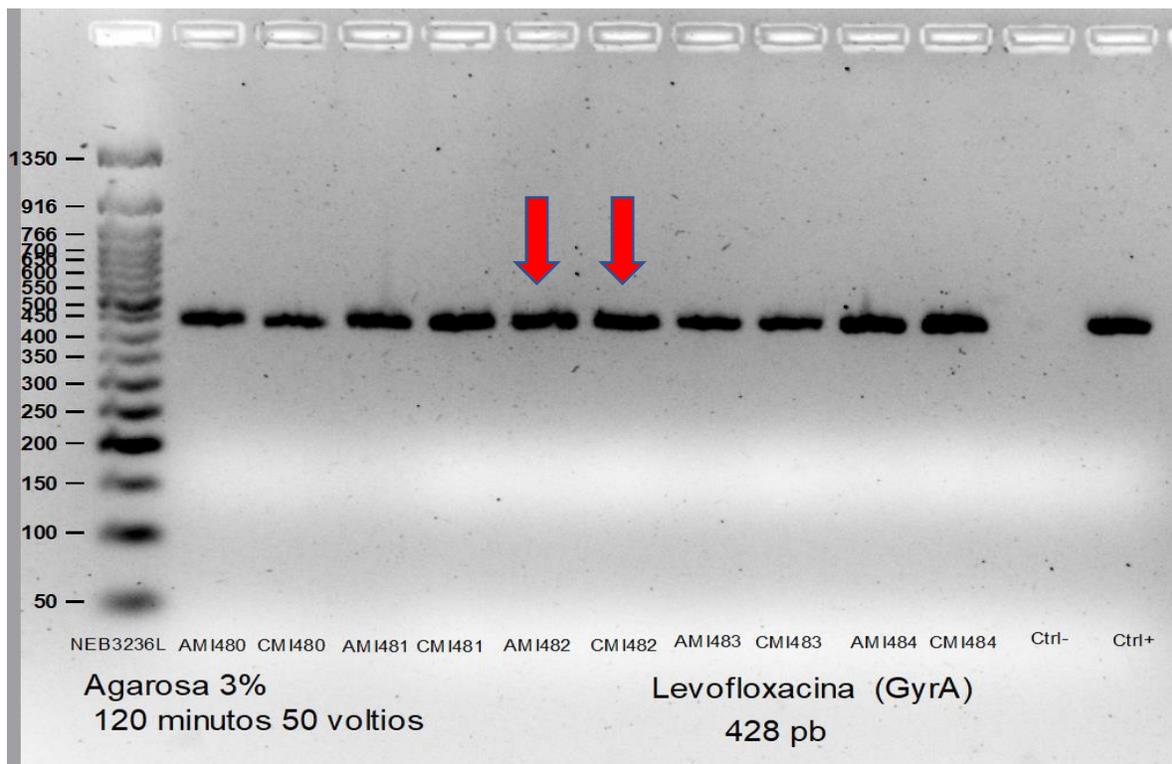


Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa del gen *GyrA* (HP0701) de 428 pb. En los carriles: 6 y 7 se muestra la presencia de la banda que corresponde al tamaño del amplicón. Carril 1: marcador de peso, carril 6: AMI 482 y carril 7: CMI 482, carril 12 control negativo (agua grado molecular) y carril 13: control positivo ADN cepa NCTC 11637. Las muestras que presentaron resistencia fenotípica a levofloxacina se señalan con las flechas rojas. **AMI:** aislamiento de biopsia antral, **CMI:** aislamiento de biopsia de cuerpo.

9.2.4 Amplificación del gen *RdxA* asociado con la resistencia a metronidazol

Para el gen *RdxA* se amplificó un fragmento de 460 pb (**Tabla 3**). De las 46 muestras de ADN se amplificó el gen *RdxA* (HP0954) en 38 aislamientos que mostraron resistencia fenotípica. En la Figura 11, se muestra un gel representativo de la amplificación de este gen.

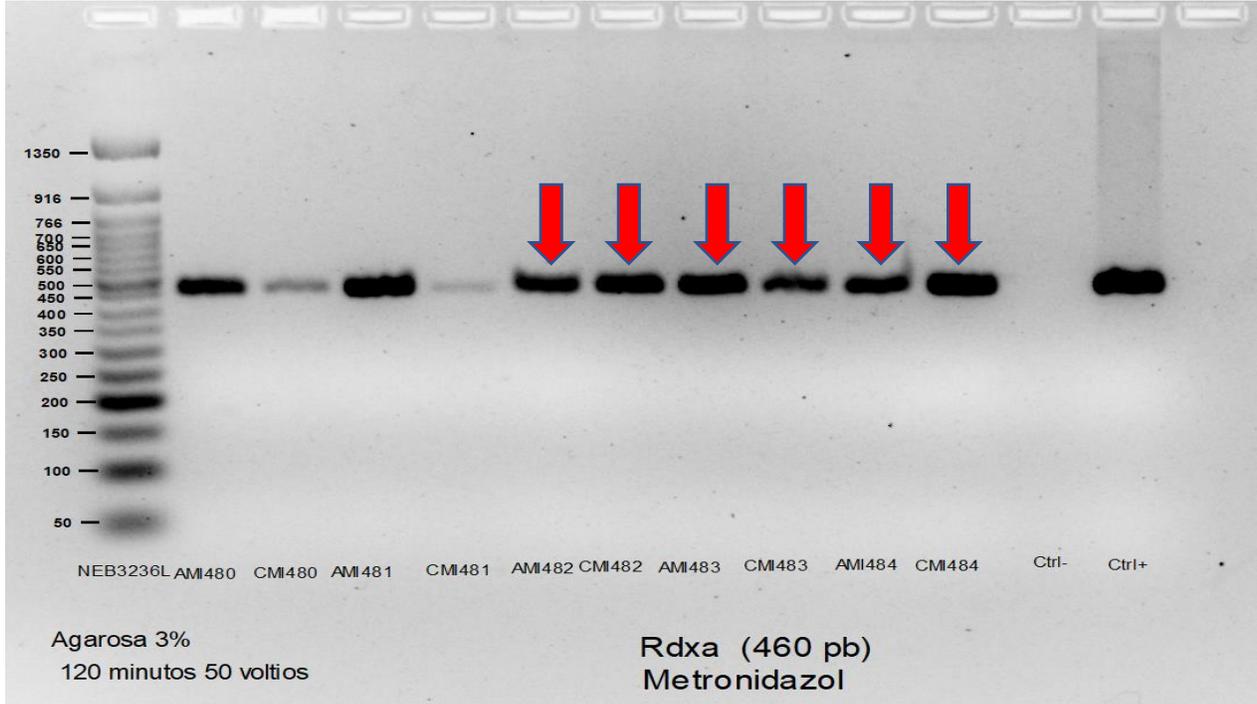


Figura 11. Electroforesis en gel de agarosa del gen *RdxA* (HP0954) de 460 pb. En los carriles: 5-10 se muestra la presencia de la banda que corresponde al tamaño del amplicón. Carril 1: marcador de peso, carril 6: AMI482, carril 7: CMI482, carril 8: AMI483, carril 9: AMI484, carril 10: CMI484, carril 11 control negativo (agua grado molecular) y carril 12: control positivo ADN cepa NCTC 11637. Las muestras que presentaron resistencia fenotípica a MET se señalan con las flechas rojas. **AMI**: aislamiento de biopsia antral, **CMI**: aislamiento del cultivo de biopsia de cuerpo.

9.2.5 Amplificación del gen *ARNr 16S* asociado con la resistencia a la tetraciclina

Para la confirmación del gen *ARNr 16S* se amplificó un fragmento de 537 pb (**Tabla 3**). De las 46 muestras de ADN obtenidas se amplificó este gen en los 46 aislamientos, sin embargo, ningún aislamiento fue resistente y no fueron llevados a secuenciación, la Figura 12 es un gel representativo de la amplificación del fragmento asociado con la resistencia a tetraciclina.

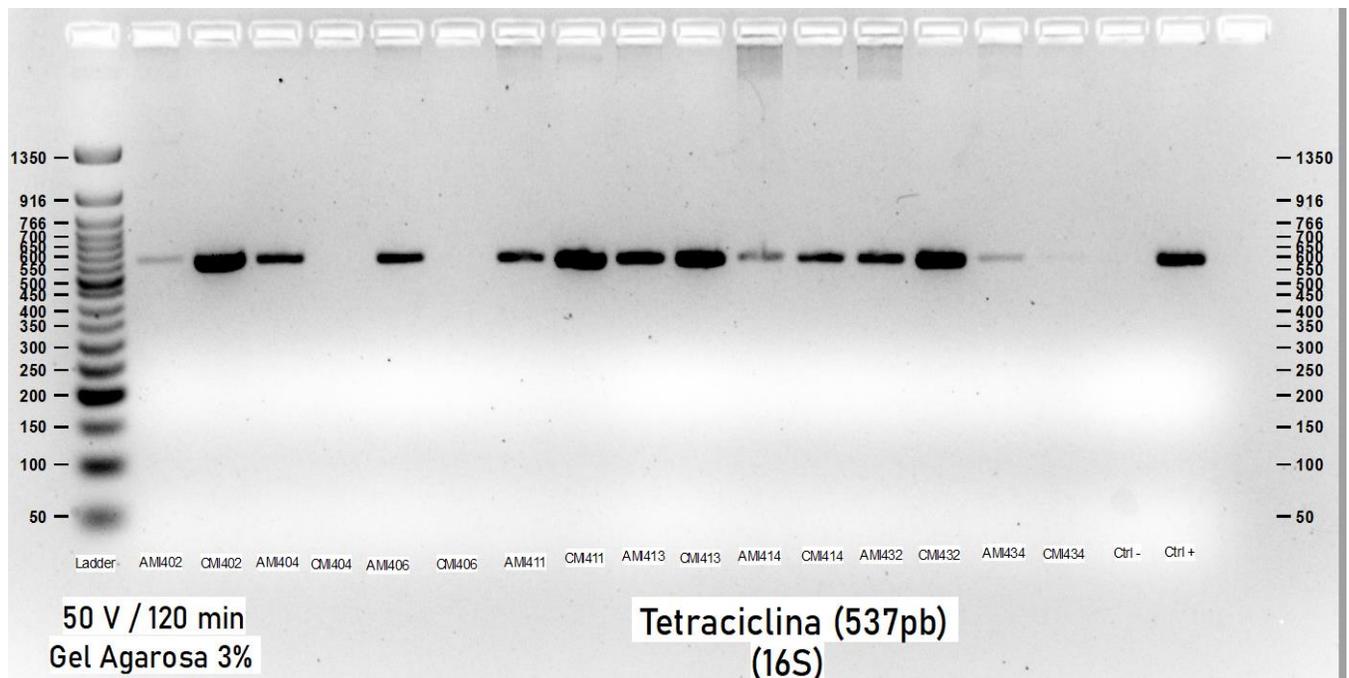


Figura 12. Electroforesis en gel de agarosa del gen *ARNr 16S* de 537 pb. En los carriles: 2-5 y 8,9 se muestra la presencia de la banda. Carril 1: marcador de peso, carril 2: AMI 402, carril 3: CMI 402, carril 4: AMI404, carril 5: AMI404, carril 6: AMI406, carril 7: CMI406, carril 8: AMI411, carril 9: CMI411, carril 10: AMI 413, carril 11: CMI 413, carril 12: AMI414, carril 13: CMI414, carril 14: AMI432, carril 15: CMI432, carril 16: AMI434, carril 17: CMI434, carril 18 control negativo (agua grado molecular) y carril 19: control positivo ADN cepa NCTC 11637. **AMI:** aislamiento de biopsia antral, **CMI:** aislamiento del cultivo de biopsia de cuerpo.

10. RESULTADOS SECUENCIACIÓN

10.1 Análisis de secuencia del gen *pbp1A* para mutaciones asociadas con la resistencia a la amoxicilina

Los resultados de la evaluación de los fragmentos para el gen *HP0597* que codifica para *pbp1A* amplificados con dos juegos de cebadores (**Tabla 3**) que amplifican 557 y 573 pb mostraron la presencia de mutaciones por cambio de nucleótidos en la posición T1249A que produce un cambio de aminoácido de serina por treonina en la posición 417 del 33.3% de los aislamientos (2/6) y la presencia de mutaciones por cambio de nucleótidos

en la posición A1627C que genera el cambio de aminoácido de serina por arginina en la posición 543 de 66.6% de los aislamientos (4/6) (**Figura 13**).

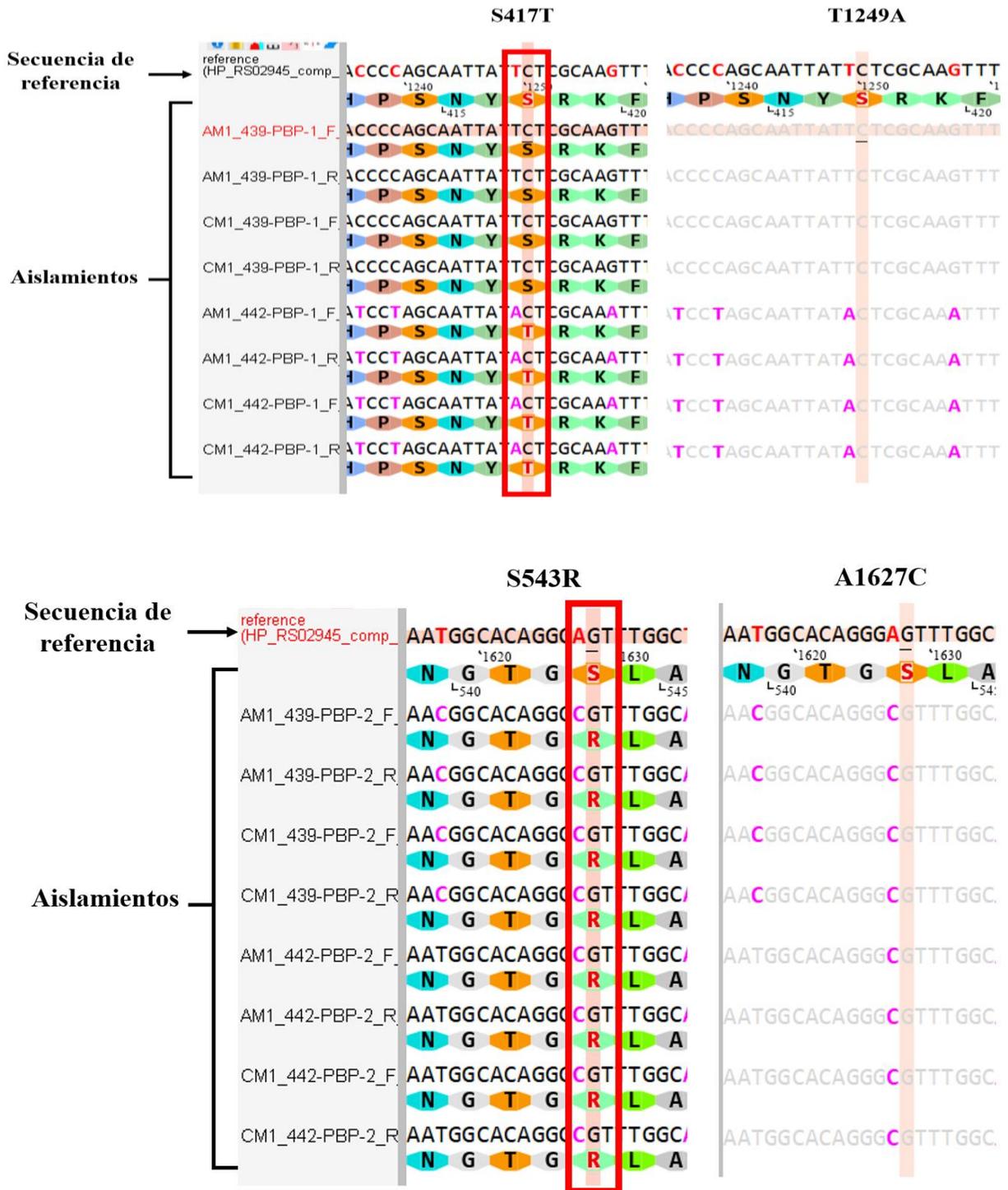


Figura 13. Resultados de la secuenciación de los amplicones del *pbp1A*. Cambio de aminoácidos en los sitios reportados con mutaciones asociadas a la resistencia. **Arriba izquierda:** posición 417 donde se observa un cambio de serina (S) por treonina (S417T). **Arriba derecha:** cambio de nucleótido en posición 1249 de timina por adenina responsable del cambio de aminoácido en la posición 417. **Abajo izquierda:** posición 543 donde se observa cambio de serina (S) por arginina (S543A). **Abajo derecha:** cambio de nucleótido en posición 1627 de adenina por citocina responsable del cambio de aminoácido en la posición 543.

10.2 Análisis de secuencia del gen *ARNr 23S* para mutaciones asociadas con la resistencia a la claritromicina.

El análisis de la secuencia del fragmento obtenido de 425 pb del gen *ARNr 23S* proveniente de los aislamientos de *H. pylori* de los pacientes mostró que el 25% (4/16) de los aislamientos presentaron la mutación A2142G y el 25% (4/16) presentaron la mutación A2143G relacionada con resistencia de *H. pylori*. No se encontró la mutación A2142C, así como tampoco se encontraron dobles mutaciones (**Figura 14B**). Adicional a esto, los aislamientos no presentaron ninguna de estas mutaciones asociadas con resistencia de *H. pylori* a la claritromicina. Seis de 16 de los aislamientos con resistencia fenotípica a claritromicina mostraron mezcla de un alelo silvestre y uno resistente como se observa en la figura 14C. Este genotipo mixto se había reportado previamente (116, 117). La mutación A2143G fue la más encontrada en este estudio.

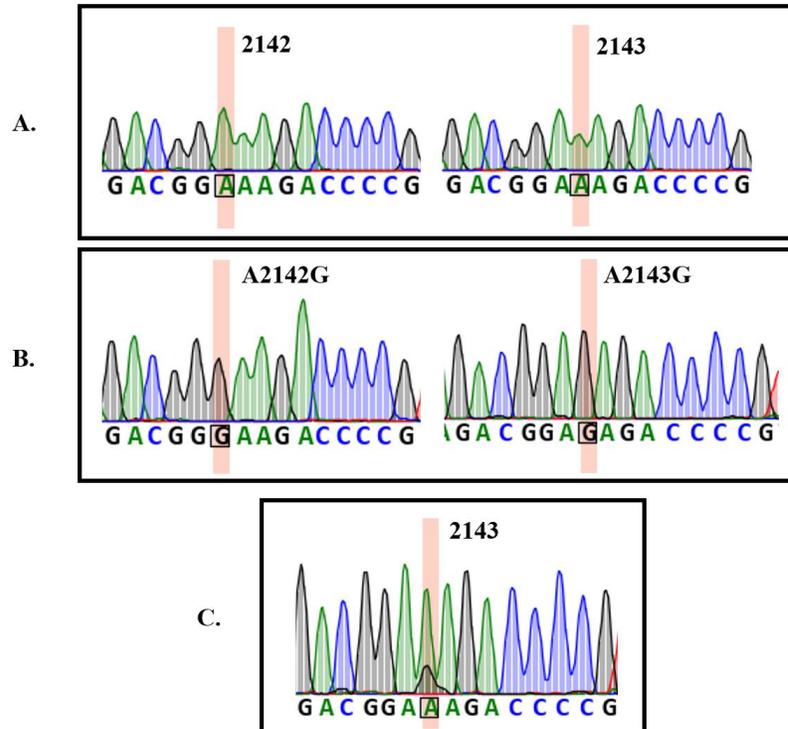


Figura 14. Resultados de la secuenciación de los productos de PCR amplificados (Claritromicina). Las secuencias mutadas presentan cambio de nucleótido en la posición 2142 o 2143. **(A)** Secuencias silvestres, sin mutaciones en las posiciones 2142, 2143. **(B)** Secuencia con mutación A2142G y A2143G. **(C)** Secuencia sin mutación en posición 2143 pero con aparición de pico de guanina por un alelo diferente.

10.3 Análisis de secuencia del gen *GyrA* para mutaciones asociadas con la resistencia a la levofloxacina.

Al analizar los resultados de los fragmentos obtenidos para el gen *GyrA* de 428 pb y en comparación con la secuencia del mismo gen en la cepa de referencia 26695 se encontró que el 50% (6/12) aislamientos fenotípicamente resistentes a levofloxacina presentaron cambios de aminoácidos en la posición N87K, 25% (3/12) y N87I 25% (3/12) (50) **(Figura 15).**

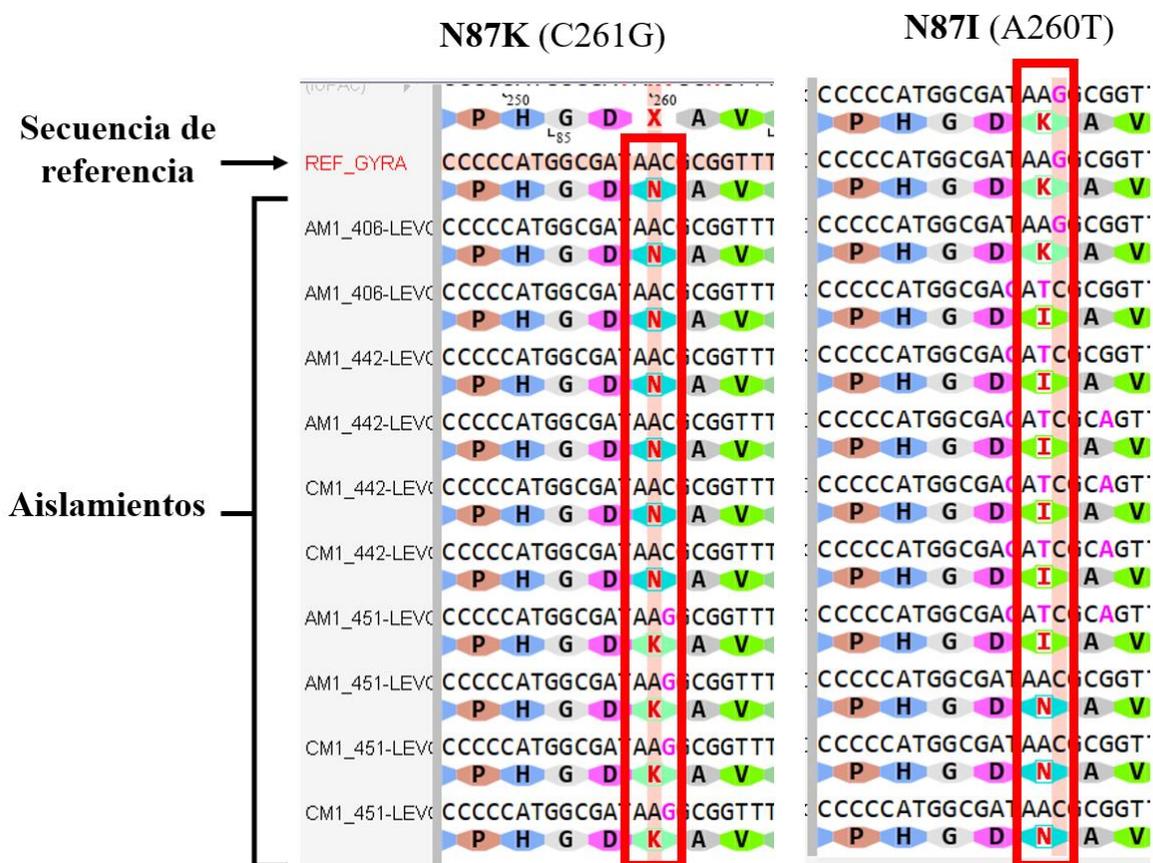


Figura 15. Resultados de la secuenciación de los productos de PCR amplificados (Levofloxacin). Cambio de aminoácidos en los sitios reportados con mutaciones asociadas a la resistencia a levofloxacin. **Izquierda:** Posición 87 donde se observa un cambio de asparagina (N) por lisina (N87K). **Derecha:** Posición 87 donde se observa un cambio de aminoácido de asparagina (N) por Isoleucina (N87I).

10.4 Análisis de secuencia del gen de la nitroreductasa *RdxA* para mutaciones asociadas con la resistencia al metronidazol.

El 100% (38/38) de los aislamientos presentaron al menos un cambio en uno de los aminoácidos en comparación con el gen *Hp_RS04670* de la cepa 26695. Las mutaciones encontradas corresponden a un cambio en una posición de un codón de parada (D59N) y mutaciones puntuales (R90K, H97T, G98S y R131K). Las mutaciones más frecuentes a este antibiótico encontradas en este estudio se relacionan en la Tabla 11. En la Figura

16 se observa los análisis de las secuencias donde se muestran tres de estas alteraciones (D59N, R90K y R131K) asociadas con resistencia de *H. pylori* al metronidazol.

Tabla 11. Frecuencia de mutaciones en la nitroreductasa *RdxA* de *H. pylori* en los productos de PCR amplificados provenientes de los aislamientos con resistencia fenotípica.

Tipo de mutación	Cambios en <i>RdxA</i>	n	%
Codón de terminación	D59N	38	100
Mutaciones puntuales	R90K	25	65.7
	H97T	3	7.89
	G98S	3	7.89
	R131K	20	52.6
Total, aislamientos evaluados		38	100

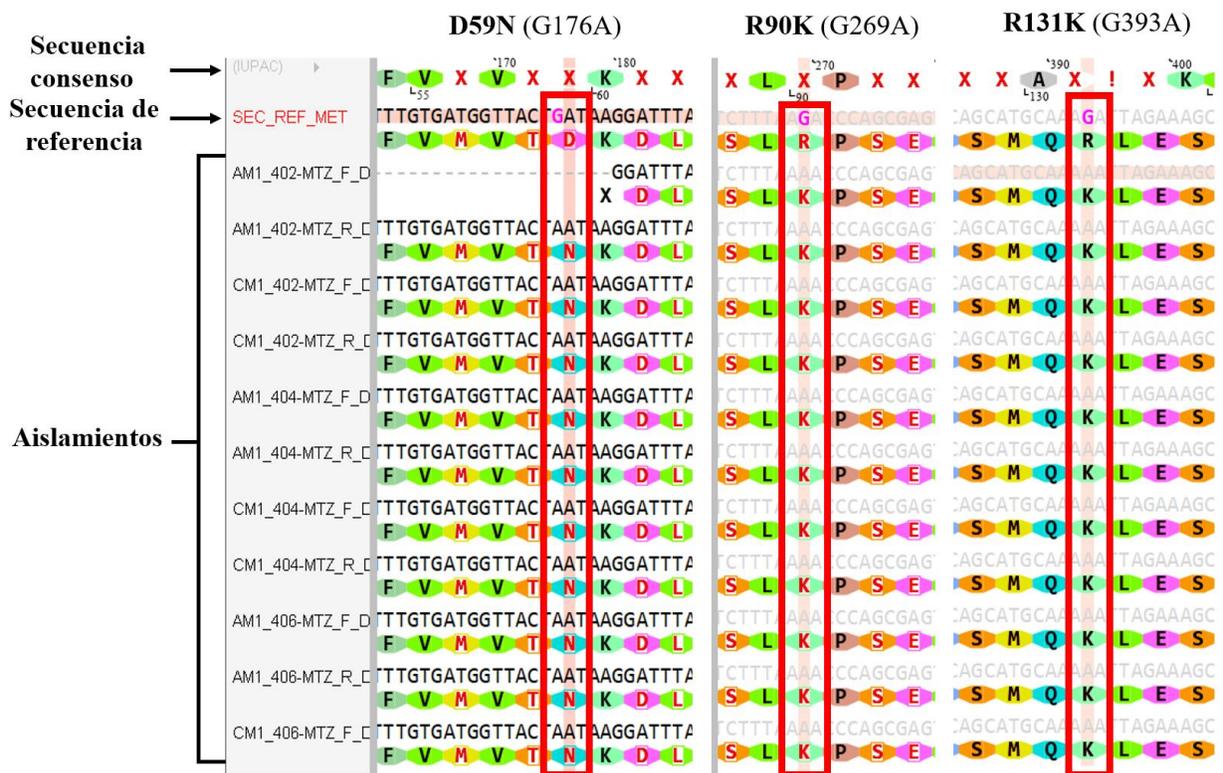


Figura 16. Resultados de la secuenciación de los productos de PCR amplificados (metronidazol). Posiciones variables relacionadas con los cambios en la proteína *RdxA* de *H. pylori* a partir del alineamiento de la secuencia traducida y analizada. **Izquierda:** cambio en el codón de parada D59N. **Centro:** mutación puntual R90K. **Derecha:** mutación puntual R131K.

11. RESULTADOS DE HISTOPATOLOGÍA

Los resultados de histopatología obtenidos de las placas teñidas con H&E y Giemsa indicaron que el 16 % (16/100) de las biopsias provenientes de pacientes fueron positivas para *H. pylori*. El 80% (80/100) de las muestras se clasificó como gastritis crónica no atrófica y el 14% (14/100) como gastritis crónica atrófica; 4% (4/100) de las muestras se clasificaron con histología normal y 2% (2/100) con MI. Para el análisis de resultados los diagnósticos de atrofia, MI y displasia se agruparon como lesiones preneoplásicas. Los resultados indicaron que 16% pacientes (16/100) presentaron lesión preneoplásica y 3% (3/100) fueron clasificados en niveles III y IV de OLGA y 2% (2/100) personas estuvieron clasificados con OLGIM II (**Tabla 12**).

Tabla 12. Principales hallazgos histopatológicos de la población de estudio.

Variable	Categorías	N (%)
Lesiones preneoplásicas resumen	Sí	16 (16)
	No	84 (84)
	Total	100 (100)
Diagnóstico	Gastritis crónica atrófica	14 (14)
	Gastritis crónica no atrófica	80 (80)
	Histología normal	4 (4)
	Metaplasia	2 (2)
Estadio OLGIM	II	2 (2)
Estadio OLGA	I	11 (11)
	II	2 (2)
	III	1 (1)
	IV	2 (2)

11.1 Hallazgos histopatológicos de la población de estudio y su asociación con factores sociodemográficos.

De las 16 personas con lesión preneoplásica, 9 fueron mujeres, mayores de 69 años de edad, se auto reconocieron como blancas, pensionadas y habitaban en apartamentos. El análisis mostró que el 69 % de estas personas con lesiones preneoplásicas (11/16) fueron personas de estratos 4, 5 y 6 y que estos presentaron más lesiones preneoplásicas en comparación con participantes de estratos más bajos.

11.2 Características de la población de estudio como factores de riesgo asociados a la presencia de lesiones preneoplásicas

La tabla 13 muestra los resultados de asociación de diferentes factores de riesgo con la presencia de lesiones preneoplásicas. Así mismo, se encontró una tendencia en las asociaciones: sexo, puesto que las mujeres tuvieron 1,5 veces más posibilidad de presentar lesión preneoplásica que los hombres. En estrato, las personas pertenecientes a los estratos 4, 5 y 6 presentaron una posibilidad casi dos veces mayor que las personas pertenecientes a estratos más bajos de presentar lesión preneoplásica. Dispepsia, o sentir el estómago inflado o distendido y tener un diagnóstico previo de enfermedad gástrica, sin embargo, ninguna de estas asociaciones fue estadísticamente significativa. Tener un familiar con antecedentes de la infección por *H. pylori* fue la categoría que estuvo asociada con presentar lesiones preneoplásicas.

Tabla 13. Asociación de factores de riesgo con lesiones preneoplásicas

Variable	Lesiones preneoplásicas				OR crudo	IC 95%		Valor P
	Sí		No			Inferior	Superior	
	N	%	n	%				
Sexo								
Hombre	7	43,8	28	33,3	1,556	0,525	4,612	0,42
Mujer	9	56,3	56	66,7	---			
Edad								
19 - 50	13	81,3	60	71,4	1,733	0,453	6,631	0,55
51 - 87	3	18,8	24	28,6	---			
Régimen de seguridad social								
Contributivo	16	100,0	75	92,6	---	---	---	0,59
Subsidiado	0	0,0	6	7,4	---			
Nivel de escolaridad								
Técnico, universitario o superior	8	50,0	36	42,9	1,333	0,457	3,891	0,60
Secundaria completa o inferior	8	50,0	48	57,1	---			
	8	66,7	48	66,7	---			
Zona de la vivienda								
Urbana	16	100,0	78	92,9	---	---	---	0,59
Rural	0	0,0	6	7,1	---			
Estrato								
4, 5 y 6	11	68,8	45	53,6	1,907	0,609	5,966	0,26
1, 2 y 3	5	31,3	39	46,4	---			
Agua para consumo humano								
Acueducto municipal	16	100,0	77	91,7	---	---	---	0,59
Río, pozo, la compra	0	0,0	7	8,3	---			
Consumo agua de tanque								
Sí	1	6,3	3	3,6	1,800	0,175	18,487	0,51
No	15	93,8	81	96,4	---			
Fumador actual o previo								
Si	1	6,3	15	17,9	0,307	0,038	2,504	0,46
No	15	93,8	69	82,1	---			
Nauseas								
Sí	7	43,8	32	38,1	1,264	0,429	3,727	0,67
No	9	56,3	52	61,9	---			
Vómito								
Sí	2	12,5	6	7,1	1,857	0,340	10,150	0,61
No	14	87,5	78	92,9	---			
Sensación de llenura con una comida normal								
Sí	7	43,8	30	35,7	1,400	0,474	4,139	0,54
No	9	56,3	54	64,3	---			
Eructos								
Sí	11	68,8	49	58,3	1,571	0,501	4,927	0,44

No	5	31,3	35	41,7	---			
ensación de ardor/quemazón en la garganta o en el pecho que asciende o de que la comida se devuelve								
Sí	10	62,5	41	48,8	1,748	0,583	5,245	0,32
No	6	37,5	43	51,2	---			
Sensación de tener el estómago inflado o disentido								
Sí	8	50,0	57	67,9	0,474	0,161	1,397	0,17
No	8	50,0	27	32,1	---			
Diagnóstico previo de enfermedad gástrica								
Sí	12	75,0	48	57,1	2,250	0,670	7,555	0,27
No	4	25,0	36	42,9	---			
Ha tenido <i>H. pylori</i>								
Sí	5	31,3	35	41,7	0,636	0,203	1,995	0,44
No	11	68,8	49	58,3	---			
Familiares con gastritis								
Sí	6	37,5	41	48,8	0,629	0,210	1,888	0,41
No	10	62,5	43	51,2	---			
Familiares con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	3	18,8	9	10,7	1,923	0,459	8,062	0,40
No	13	81,3	75	89,3	---			
Familiar con metaplasia								
Sí	3	18,8	8	9,5	2,192	0,514	9,360	0,38
No	13	81,3	76	90,5	---			
Familiares con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	6,3	24	28,6	0,167	0,021	1,333	0,07
No	15	93,8	60	71,4	---			

12. Factores asociados a la infección con *H. pylori*

12.1 Aspectos demográficos como factores asociados con la infección por *H. pylori*

La tabla 14 muestra la asociación entre varios factores con la infección por *H. pylori*. Los pacientes con un rango de edad entre los 19-37 años tuvieron 22 veces más posibilidad de ser positivos para *H. pylori* que los pacientes entre los 70 y 87 años (valor $p=0,003$). Adicionalmente, habitar en zona rural representa una posibilidad 7,8 veces más alto que las personas en zona urbana (valor $p=0,02$) y los participantes que vivían en estrato 1, 2 y 3 tenían 7 veces más posibilidad que los de estratos 4, 5 y 6 de ser positivos para la bacteria (valor $p=0,00$).

Las variables sexo e ingresos económicos del grupo no representaron un factor de asociación significativo. El número de mujeres (16/23) infectadas fue mayor que los hombres; sin embargo, no tuvo asociación directa con la variable desenlace. Las demás variables incluidas en la tabla 14 no se asociaron con la posibilidad de infectarse con *H. pylori*.

Tabla 14. Asociación de aspectos demográficos con la infección con *H. pylori*

Variables: demográficas	Infección <i>H. pylori</i>				OR crudo	IC 95%		Valo r P
	Sí		No			Inferio r	Superio r	
	n	%	n	%				
Región								
Otras regiones de Antioquia	7	30,4%	6	7,8%	5,17 7	1,532	17,499	0,0 0
AMVA	16	69,6%	71	92,1%				
Sexo								
Mujer	16	69,6	49	63,6	1,306	0,479	3,558	0,60
Hombre	7	30,4	28	36,4	---			
Edad								
19 - 37	12	52,2	15	19,5	4,509	1,669	12,180	0,00
51 - 87	11	47,8	62	80,5	---			
Régimen de seguridad social								
Subsidiado	4	18,2	2	2,7	8,111	1,376	47,811	0,01
Contributivo	18	81,8	73	97,3	---			
Nivel de escolaridad								
Secundaria completa o inferior	14	60,9	42	54,5	1,296	0,501	3,352	0,59
Técnico, universitario o superior	9	39,1	35	45,5	---			
Ingresos económicos del grupo familiar								
\$1.000.000 o menos	9	39,1	19	31,1	1,421	0,524	3,853	0,49
Más de \$1.000.000	14	60,9	42	68,9	---			
Zona de la vivienda								
Rural	4	17,4	2	2,6	7,895	1,344	46,370	0,02
Urbana	19	82,6	75	97,4	---			
Estrato								
1, 2 y 3	18	78,3	26	33,8	7,062	2,356	21,164	0,00

12.2 Modelo explicativo de la asociación de aspectos demográficos con la infección por *H. pylori*

Al ajustar la probabilidad de que se adquiriera una infección con *H. pylori*, el resultado del modelo de regresión logística mostró que los factores que aumentaban la posibilidad de manera significativa eran: la edad (19-35 años), zona donde habita (rural), el estrato, la pérdida de peso y si tiene o ha tenido alguna vez *H. pylori*.

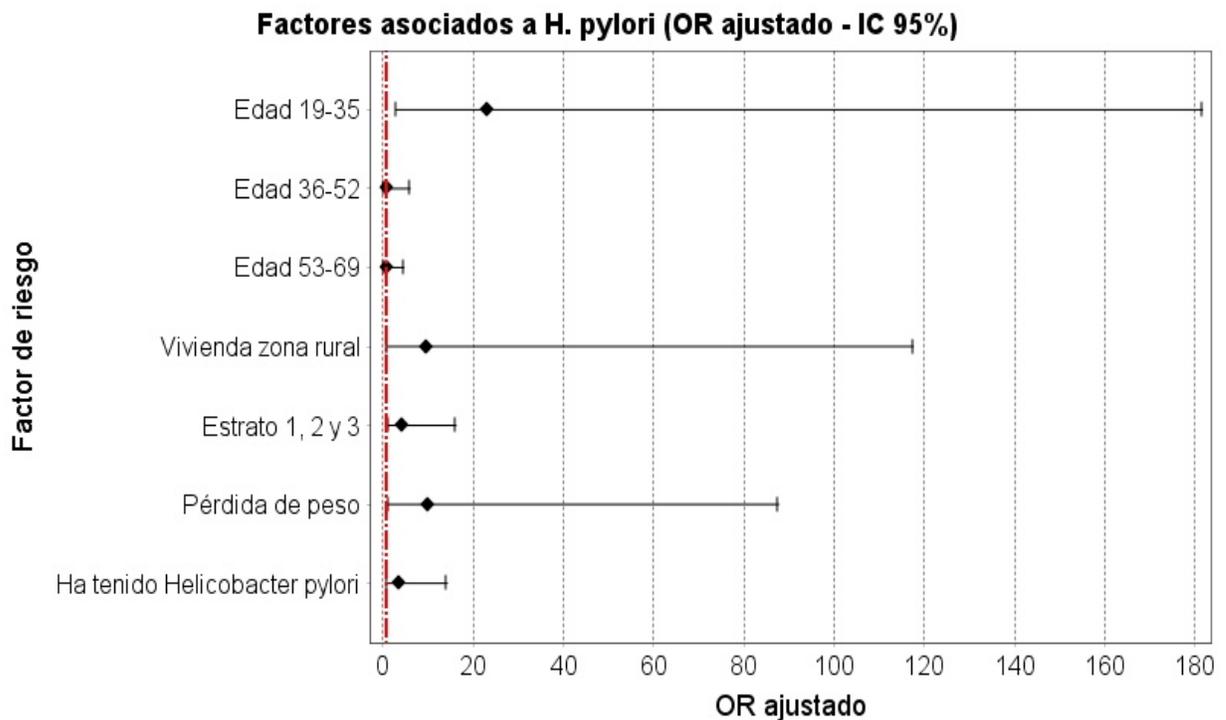


Figura 17. OR ajustado de los factores asociados a la probabilidad de adquirir una infección por *H. pylori*

12.3 Condiciones clínicas como factores asociados con la infección por *H. pylori*

La asociación entre las condiciones clínicas y la probabilidad de adquirir la infección por *H. pylori* muestran que las personas que presentaron vómito tuvieron 6,8 veces más posibilidades de ser positivos para la infección (valor $p=0,01$). Las personas que perdieron peso presentaron una posibilidad 7,8 veces mayor de ser positivos para *H. pylori* (valor $p=0,02$). Además, tener diagnóstico previo de enfermedad gástrica representó una posibilidad tres veces mayor de presentar infección por *H. pylori* que las personas que no tenían ese diagnóstico previamente. Por otro lado, en variables como presencia previa de dolor o dificultad para deglutir, sensación de plenitud con el consumo de alimentos, dispepsia y *H. pylori*, no se observó asociación estadística con la infección por el microorganismo (Tabla 15).

Tabla 15. Asociación de las condiciones clínicas con la infección con *H. pylori*

Variables: condiciones clínicas	Infección <i>H. pylori</i>				OR crudo	IC 95%		Valor P
	Sí		No			Inferio r	Superio r	
	n	%	n	%				
Nauseas								
Sí	12	52,2	27	35,1	2,020	0,787	5,185	0,14
No	11	47,8	50	64,9	---			
Vómito								
Sí	5	21,7	3	3,9	6,852	1,497	31,366	0,01
No	18	78,3	74	96,1	---			
Dolor o dificultad para tragar								
Sí	5	21,7	6	7,8	3,287	0,901	11,996	0,06
No	18	78,3	71	92,2	---			
Sensación de masa o bulto en la garganta								
Sí	5	21,7	7	9,1	2,778	0,789	9,784	0,10

No	1 8	78,3	7 0	90,9	---			
Sensación de llenura con una comida normal								
Sí	1 2	52,2	2 5	32,5	2,269	0,880	5,850	0,09
No	1 1	47,8	7 7	67,5	---			
Eructos								
Sí	1 7	73,9	4 3	55,8	2,240	0,797	6,299	0,12
No	6	26,1	3 4	44,2	---			
Sensación de ardor/quemazón en la garganta o en el pecho que asciende o de que la comida se devuelve								
Sí	1 4	60,9	3 7	48,1	1,682	0,651	4,345	0,28
No	9	39,1	4 0	51,9	---			
Pérdida de apetito								
Sí	8	34,8	1 5	19,5	2,204	0,790	6,155	0,13
No	1 5	65,2	6 2	80,5	---			
Pérdida de peso								
Sí	4	17,4	2	2,6	7,895	1,344	46,370	0,02
No	1 9	82,6	7 5	97,4	---			
Vómito con contenido similar a granos de café oscuros								
Sí	0	0,0	1	1,3	--	--	--	1,00
No	2 3	100,0	7 6	98,7	---			
Heces negras o muy oscuras								
Sí	4	17,4	6	7,8	2,491	0,638	9,732	0,23
No	1 9	82,6	7 1	92,2	---			
Sensación de tener el estómago inflado o disentido								
Sí	1 9	82,6	4 6	59,7	3,201	0,993	10,319	0,05
No	4	17,4	3 1	40,3	---			
Diagnóstico previo de enfermedad gástrica								
Sí	1 8	78,3	4 2	54,5	3,000	1,011	8,902	0,04
No	5	21,7	3 5	45,5	---			
Ha tenido <i>H. pylori</i>								
Sí	1 3	56,6	2 7	35,1	2,407	0,933	6,213	0,07

No	1 0	43,5	5 0	64,9	---			
Anemia por deficiencia de hierro								
Sí	1	4,3	1 0	13,0	0,305	0,037	2,515	0,45
No	2 2	95,7	6 7	87,0	---			

12.4 Antecedentes médico-familiares como factores asociados con la infección por *H. pylori*

Al asociar los antecedentes médico-familiares con la probabilidad de adquirir la infección por *H. pylori* se encontró que pacientes en los que la madre padecía de gastritis tuvieron 4 veces más posibilidades de ser positivo para la infección (valor $p=0,02$). Igualmente, las personas con familiares con antecedentes de úlcera gástrica o duodenal tuvieron 4 veces más posibilidades de estar infectado (valor $p=0,02$). Los otros antecedentes médico-familiares no estuvieron asociados con la adquisición de la infección por *H. pylori* (Tabla 16).

Tabla 16. Asociación de antecedentes médico-familiares con la infección con *H. pylori*

Variables antecedentes médico-familiares	Aislamiento de <i>H. pylori</i>				OR crud o	IC 95%		Valo r P
	Sí		No			Inferio r	Superio r	
	n	%	n	%				
Familiares con gastritis								
Sí	1 4	60,9	3 3	42,9	2,07 4	0,801	5,370	0,13
No	9	39,1	4 4	57,1	---			
Madre con gastritis								
Sí	6	26,1	6	7,8	4,17 6	1,198	14,566	0,02

No	1 7	73,9	7 1	92,2	---			
Padre con gastritis								
Sí	1	4,3	5	6,5	0,65 5	0,073	5,904	0,70
No	2 2	95,7	7 2	93,5	---			
Tíos con gastritis								
Sí	1	4,3	4	5,2	0,83 0	0,088	7,812	1,00
No	2 2	95,7	7 3	94,8	---			
Primos con gastritis								
Sí	1	4,3	2	2,6	1,70 5	0,148	19,695	0,55
No	2 2	95,7	7 5	97,4	---			
Abuelos con gastritis								
Sí	2	8,7	0	0,0	---	---	---	0,05
No	2 1	91,3	7 7	100,0	---			
Hermanos con gastritis								
Sí	4	17,4	1 4	18,2	0,94 7	0,279	3,221	1,00
No	1 9	82,6	6 3	81,8	---			
Pareja con gastritis								
Sí	6	26,1	9	11,7	2,66 7	0,835	8,521	0,09
No	1 7	73,9	6 8	88,3	---			
Hijos con gastritis								
Sí	3	13,0	5	6,5	2,16 0	0,475	9,823	0,38
No	2 0	87,0	7 2	93,5	---			
Familiares con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	6	26,1	6	7,8	4,18	1,20	14,57	0,02
No	1 7	73,9	7 1	92,2	---			
Madre con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	2	8,7	3	3,9	2,34 9	0,368	14,995	0,32
No	2 1	91,3	7 4	96,1	---			
Padre con úlcera gástrica o duodenal								

Sí	0	0,0	2	2,6	---	---	---	1,00
No	2 3	100,0	7 5	97,4	---			
Tíos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	1	1,3	3,45 5	0,208	57,502	0,41
No	2 2	95,7	7 6	98,7	---			
Abuelos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	2 2	95,7	7 7	100,0	---			
Hermanos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	2	8,7	1	1,3	7,23 8	0,625	83,761	0,13
No	2 1	91,3	7 6	98,7	---			
Pareja con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	2 2	95,7	7 7	100,0	---			
Sobrinos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	2 2	95,7	7 7	100,0	---			
Familiar con metaplasia								
Sí	5	21,7	6	7,8	3,28 7	0,901	11,996	0,06
No	1 8	78,3	7 1	92,2	---			
Madre con metaplasia								
Sí	0	0,0	4	5,2	---	---	---	0,57
No	2 3	100,0	7 3	94,8	---			
Padre con metaplasia								
Sí	1	4,3	1	1,3	3,45 5	0,208	57,502	0,41
No	2 2	95,7	7 6	98,7	---			
Tíos con metaplasia								
Sí	2	8,7	2	2,6	3,57 1	0,474	26,891	0,23
No	2 1	91,3	7 5	97,4	---			
Primos con metaplasia								
Sí	0	0,0	1	1,3	---	---	---	1,00

No	2 3	100,0	7 6	98,7	---			
Abuelos con metaplasia								
Sí	2	8,7	0	0,0	---	---	---	0,05
No	2 1	91,3	7 7	100,0	---			
Hermanos con metaplasia								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	2 2	95,7	7 7	100,0	---			
Familiares con cáncer de estómago								
Sí	8	34,8	1 6	20,8	2,03 3	0,734	5,636	0,17
No	1 5	65,2	6 1	79,2	---			
Madre con cáncer de estómago								
Sí	0	0,0	5	6,5	---	---	---	0,59
No	2 3	100,0	7 2	93,5	---			
Padre con cáncer de estómago								
Sí	2	8,7	3	3,9	2,34 9	0,368	14,995	0,32
No	2 1	91,3	7 4	96,1	---			
Tíos con cáncer de estómago								
Sí	1	4,3	5	6,5	0,66	0,07	5,90	1,00
No	2 2	95,7	7 2	93,5	---			
Primos con cáncer de estómago								
Sí	0	0,0	1	1,3	---	---	---	1,00
No	2 3	100,0	7 6	98,7	---			
Abuelos con cáncer de estómago								
Sí	3	13,0	3	3,9	3,70 0	0,693	19,750	0,13
No	2 0	87,0	7 4	96,1	---			
Hermanos con cáncer de estómago								
Sí	2	8,7	1	1,3	7,23 8	0,625	83,761	0,13
No	2 1	91,3	7 6	98,7	---			
Familiares con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	8	34,8	1 7	22,1	1,88 2	0,684	5,184	0,22

No	1 5	65,2	6 0	77,9	---			
Madre con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	2	8,7	2	2,6	3,57 1	0,474	26,891	0,23
No	2 1	91,3	7 5	97,4	---			
Padre con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	2	2,6	1,70 5	0,148	19,695	0,55
No	2 2	95,7	7 5	97,4	---			
Primos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	0	0,0	1	1,3	---	---	---	1,00
No	2 3	100,0	7 6	98,7	---			
Abuelos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	1	1,3	3,45 5	0,208	57,502	0,41
No	2 2	95,7	7 6	98,7	---			
Hermanos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	7	9,1	0,45 5	0,053	3,900	0,68
No	2 2	95,7	7 0	90,9	---			
Pareja con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	3	13,0	3	3,9	3,70 0	0,693	19,750	0,13
No	2 0	87,0	7 4	96,1	---			
Sobrinos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	2 2	95,7	7 7	100,0	---			
Hijos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	2	8,7	3	3,9	2,34 9	0,368	14,995	0,32
No	2 1	91,3	7 4	96,1	---			

13. Factores asociados con la posibilidad de presentar resistencia fenotípica de los aislamientos de *H. pylori*.

En lo que respecta al lugar de procedencia como factor asociado a la resistencia fenotípica de *H. pylori*, los resultados mostraron que las personas procedentes de otras regiones de Antioquia presentaron una posibilidad 5 veces mayor de que su aislamiento de *H. pylori* fuese resistente a los antibióticos frente a las personas del AMVA (valor $p=0.00$) (Tabla 17).

Tabla 17. Resultados de comparación de lugar de procedencia como factor de riesgo para que *H. pylori* presente resistencia.

Variable	Resistencia				OR crudo	IC 95%		Valor P
	Resistente		Sensible			Inferior	Superior	
	n	%	n	%				
Región								
Otras regiones de Antioquia	7	30,4%	6	7,8%	5,177	1,532	17,499	0,00
AMVA	16	69,6%	71	92,2%	---			

13.1 Condiciones clínicas como factores asociados a la resistencia antibiótica de los aislamientos de *H. pylori*

Los resultados de asociación de varios factores con la resistencia de los aislamientos obtenidos de *H. pylori* se muestran en la tabla 18, estas variables se seleccionaron acorde a la literatura. El análisis de asociación de las variables con la presencia de resistencia en los aislamientos de *H. pylori* mostró que las personas con diagnóstico previo de enfermedad gástrica presentaron más aislamientos de *H. pylori* resistentes en comparación con las personas sin este diagnóstico (valor $p=0,04$) (Tabla 18).

Tabla 18. Asociación de factores de riesgo con la presencia de resistencia en los aislamientos

Variable	Resistencia				OR crudo	IC 95%		Valor P
	Resistente		Sensible			Inferior	Superior	
	n	%	n	%				
Diagnóstico previo de enfermedad gástrica								
Sí	18	78,3	42	54,5	3,000	1,011	8,902	0,04
No	5	21,7	35	45,5	---			
Ha tenido <i>H. pylori</i>								
Sí	13	56,5	27	35,1	2,407	0,933	6,213	0,07
No	10	43,5	50	64,9	---			
Alguna vez ha recibido tratamiento para <i>H. pylori</i>								
Sí	10	76,9	26	96,3	0,128	0,012	1,382	0,09
No	3	23,1	1	3,7	---			
Anemia por deficiencia de hierro								
Sí	1	4,3	10	13,0	0,305	0,037	2,515	0,45
No	22	95,7	67	87,0	---			

obtenidos
de *H. pylori*

13.2 Antecedentes médico-familiares como factores asociados a la resistencia antibiótica de los aislamientos de *H. pylori*

En la asociación de los antecedentes médico-familiares con la posibilidad para que *H. pylori* adquiriera resistencia se observó que los participantes que tenían madre con diagnóstico de gastritis tenían 4 veces una mayor posibilidad de que su aislamiento de *H. pylori* presentara resistencia antibiótica en comparación con los participantes sin madre con este diagnóstico (valor $p=0,02$). Así mismo, los participantes con un familiar con antecedentes de úlcera gástrica o duodenal mostraron tener una posibilidad 4 veces mayor de que su aislamiento de *H. pylori* presentara resistencia antibiótica frente a los participantes sin familiares con este antecedente (valor $p=0,02$) (**Tabla 19**).

Tabla 19. Asociación de factores (antecedentes médico-familiares) con la presencia de resistencia en los aislamientos de *H. pylori*.

Variable	Resistencia				OR crudo	IC 95%		Valor P
	Resistente		Sensible			Inferior	Superior	
	n	%	n	%				
Familiares con gastritis								
Sí	14	60,9	33	42,9	2,074	0,801	5,370	0,13
No	9	39,1	44	57,1				
Madre con gastritis								
Sí	6	26,1	6	7,8	4,176	1,198	14,566	0,02
No	17	73,9	71	92,2				
Padre con gastritis								
Sí	1	4,3	5	6,5	0,655	0,073	5,904	1,00
No	22	95,7	72	93,5				
Tíos con gastritis								
Sí	1	4,3	4	5,2	0,830	0,088	7,812	1,00
No	22	95,7	73	94,8				
Primos con gastritis								
Sí	1	4,3	2	2,6	1,705	0,148	19,695	0,55
No	22	95,7	75	97,4				
Abuelos con gastritis								
Sí	2	8,7	0	0,0	---	---	---	0,05
No	21	91,3	77	100,0	---			
Hermanos con gastritis								
Sí	4	17,4	14	18,2	0,947	0,279	3,221	1,00
No	19	82,6	63	81,8				
Pareja con gastritis								
Sí	6	26,1	9	11,7	2,667	0,835	8,521	0,09
No	17	73,9	68	88,3				
Hijos con gastritis								
Sí	3	13,0	5	6,5	2,160	0,475	9,823	0,38
No	20	87,0	72	93,5				
Familiares con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	6	26,1	6	7,8	4,176	1,198	14,566	0,02
No	17	73,9	71	92,1				
Madre con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	2	8,7	3	3,9	2,349	0,368	14,995	0,32

No	21	91,3	74	96,1	---			
Padre con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	0	0,0	2	2,6	---	---	---	0,59
No	23	100,0	75	97,4	---			
Tíos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	1	1,3	3,455	0,208	57,502	0,41
No	22	95,7	76	98,7	---			
Abuelos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	22	95,7	77	100,0	---			
Hermanos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	2	8,7	1	1,3	7,238	0,625	83,761	0,13
No	21	91,9	76	98,7	---			
Pareja con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	22	95,7	77	100,0	---			
Sobrinos con úlcera gástrica o duodenal								
Sí	1	4,3	0	0,0				0,23
No	22	95,7	77	100,0	---			
Familiar con metaplasia								
Sí	5	21,7	6	7,8	3,287	0,901	11,996	0,06
No	18	78,3	71	92,2	---			
Madre con metaplasia								
Sí	0	0,0	4	5,2	---	---	---	0,57
No	23	100,0	73	94,8	---			
Padre con metaplasia								
Sí	1	4,3	1	1,3	3,455	0,208	57,502	0,41
No	22	95,7	76	98,7	---			
Tíos con metaplasia								
Sí	2	8,7	2	2,6	3,571	0,474	26,891	0,23
No	21	91,3	75	97,4	---			
Primos con metaplasia								
Sí	0	0,0	1	1,3	---	---	---	1,00
No	23	100,0	98,7		---			
Abuelos con metaplasia								
Sí	2	8,7	0	0,0	---	---	---	0,05
No	21	91,3	77	100,0	---			
Hermanos con metaplasia								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23
No	22	95,7	77	100,0	---			
Familiares con cáncer de estómago								
Sí	8	34,8	16	20,8	2,033	0,734	5,636	0,17

No	15	65,1	61	79,2	---			
Madre con cáncer de estómago								
Sí	0	0,0	5	6,5	---	---	---	0,59
No	23	100,0	93,5		---			
Padre con cáncer de estómago								
Sí	2	8,7	3	3,9	2,349	0,368	14,995	0,32
No	21	91,3	74	96,1	---			
Tíos con cáncer de estómago								
Sí	1	4,3	5	6,5	0,655	0,073	5,904	1,00
No	22	95,7	72	93,5	---			
Primos con cáncer de estómago								
Sí	0	0,0	1	1,3	---	---	---	1,00
No	23	100,0	76	98,7	---			
Abuelos con cáncer de estómago								
Sí	3	13,0	3	3,9	3,700	0,693	19,750	0,13
No	20	87,0	74	96,1	---			
Hermanos con cáncer de estómago								
Sí	2	8,7	1	1,3	7,238	0,625	83,761	0,13
No	21	91,3	76	98,7	---			
Familiares con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	8	34,8	17	22,1	1,882	0,684	5,184	0,22
No	15	65,2	60	77,9	---			
Madre con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	2	8,7	2	2,6	3,571	0,474	26,891	0,23
No	21	91,3	75	97,4	---			
Padre con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	2	2,6	1,705	0,148	19,695	0,55
No	22	95,7	75	97,4	---			
Primos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	0	0,0	1	1,3	---	---	---	1,00
No	23	100,0	76	98,7	---			
Abuelos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	1	1,3	3,455	0,208	57,502	0,41
No	22	95,7	76	98,7	---			
Hermanos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	7	9,1	0,455	0,053	3,900	0,68
No	22	95,7	70	90,9	---			
Pareja con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	3	13,0	3	3,9	3,700	0,693	19,750	0,13
No	20	87,0	74	96,1	---			
Sobrinos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	1	4,3	0	0,0	---	---	---	0,23

No	22	95,7	77	100,0	---			
Hijos con infección por <i>H. pylori</i>								
Sí	2	8,7	3	3,9	2,349	0,368	14,995	0,32
No	21	91,3	74	96,1	---			

13.3 Modelo explicativo de la asociación de condiciones clínicas y antecedentes médico-familiares con la resistencia antibiótica de los aislamientos obtenidos de *H. pylori*

El modelo de regresión logística para ajustar la probabilidad de presentar resistencia antibiótica de los aislamientos de *H. pylori* mostró que los factores que aumentaron la posibilidad de presentar resistencia significativamente fueron: vivir en otras regiones de Antioquia diferentes al AMVA, enfermedad gástrica previa, familiar con úlcera gástrica o duodenal, abuelos con cáncer de estómago y pareja con *H. pylori* (Figura 18).

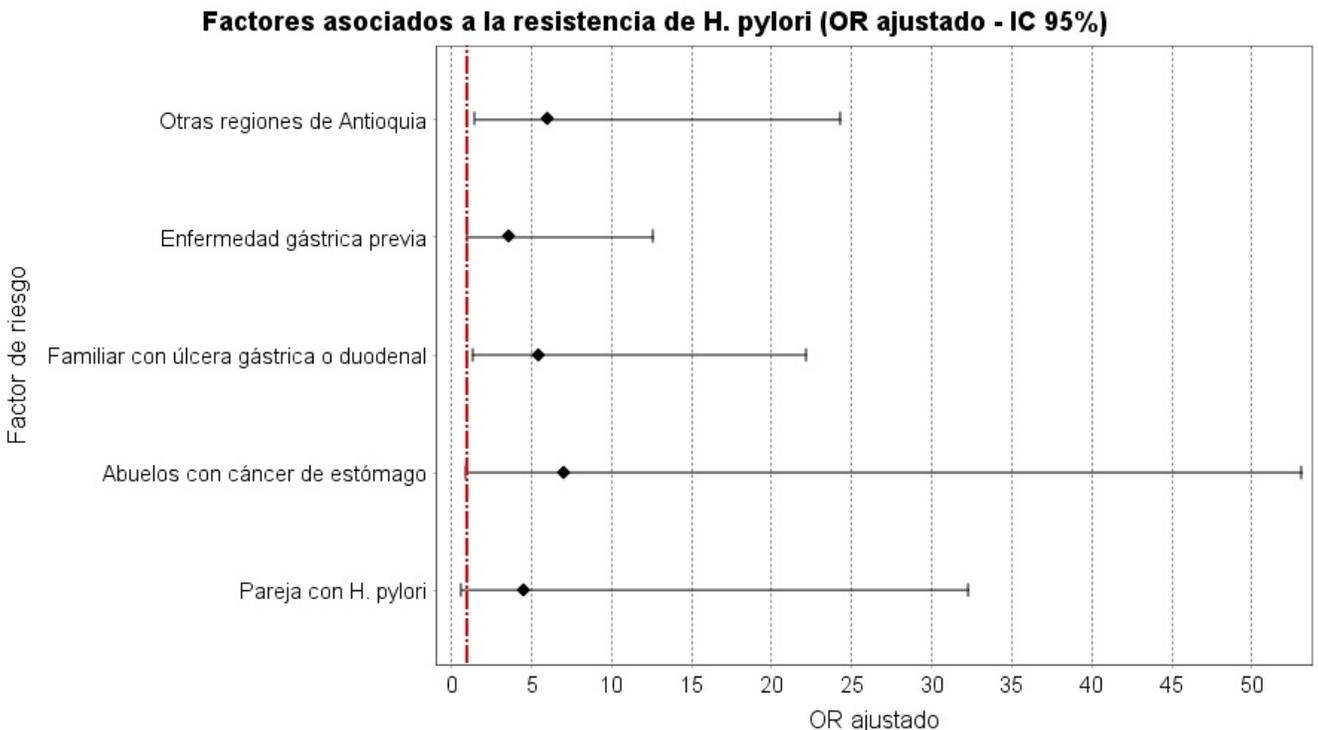


Figura 18. OR ajustado de los factores asociados con la probabilidad de presentar resistencia antibiótica de los aislamientos obtenidos de *H. pylori*

14 DISCUSIÓN

El descubrimiento de *H. pylori* rompió el paradigma del estómago como órgano estéril y fue el punto de partida para reevaluar la fisiología gástrica y la enfermedad gastroduodenal. Actualmente, *H. pylori* constituye la segunda infección bacteriana más prevalente del mundo y es catalogado como un microorganismo exigente (9). En este trabajo se evaluaron por cultivo 200 biopsias gástricas (100 de antro y 100 de cuerpo) provenientes de 100 pacientes que acudieron a los servicios de endoscopia del AMVA y otros municipios de Antioquia. A partir de este número de muestras se aisló *H. pylori* en 23 individuos, de los cuales se obtuvieron 46 aislamientos (23 para antro y 23 para cuerpo). Nuestro trabajo constituye el primer trabajo en Antioquia donde se evalúa el patrón de susceptibilidad de *H. pylori* fenotípica y genotípicamente, además es el único que evalúa la frecuencia de la infección en zonas fuera del Valle de Aburrá.

La frecuencia de la infección por *H. pylori* en la población estudiada fue del 23% (46/200) por cultivo y prueba rápida de la ureasa. En cuanto a los hallazgos de histopatología, la frecuencia encontrada fue del 16% (16/100). Lo encontrado en nuestro estudio por histopatología (16%) es mayor a la registrada por Uribe y cols., en 1989, quienes encontraron por esta misma técnica en la misma ciudad 3,3% de prevalencia, pero está por debajo de otros estudios como el de Bravo y cols., en 2003, que mostraron prevalencia por diagnóstico histopatológico del 69,1% en Medellín. Así mismo, el estudio de Campuzano y cols., en 2007 evaluó mediante la prueba de aliento la presencia de la infección en médicos de la ciudad y registró prevalencias de 77,2% (36). Mientras que,

Correa y cols., en 2016, quienes evaluaron población de estratos altos encontraron prevalencia de 36,4% (36, 37, 118, 119), eso puede deberse a las diferencias en las características de cada población y a la metodología empleada por cada estudio.

La frecuencia encontrada por cultivo coincidió con la prueba rápida de ureasa (23%) en la población de estudio, por el contrario, los resultados obtenidos por histopatología fueron menores (16%). Aunque la histología es considerada el método de referencia para la detección directa de *H. pylori*, existen diferentes factores que pueden explicar el resultado obtenido por este método, tales como: es la capacidad y experiencia del patólogo, la cantidad de la bacteria, el sitio anatómico de toma de la biopsia, el método de tinción, la posición de las biopsias en las inclusiones y el número de cortes de cada biopsia. En nuestro caso el obtener una placa por paciente para cada tinción, limitó el número de cortes leídos por el patólogo, dado que cada placa contenía los cortes de las cinco biopsias evaluadas por paciente. Otro factor que pudo ser importante fue la cantidad de bacilos de *H. pylori* puesto que, si la colonización de la bacteria en el sitio es poca, pudieron pasar inadvertidas (120, 121).

Al comparar la prueba rápida de la ureasa y el cultivo es importante tener en cuenta que ambos métodos pueden tener resultados falsos negativos si la distribución de la bacteria en el estómago no es homogénea. Adicionalmente, se pueden producir falsos positivos en la prueba rápida de ureasa si esta se lee en un tiempo menor al recomendado o cuando hay presencia de otras bacterias como *Proteus* spp. capaces de descomponer la urea (122). En el caso del cultivo de *H. pylori* a partir de biopsia es la prueba con 100% de especificidad, pero poco sensible; esto se debe a las características propias de *H.*

pylori al ser un microorganismo exigente con requerimientos especiales de transporte, incubación y suplementación de los medios. Factores como una pobre calidad de la muestra e inexperiencia del microbiólogo pueden afectar el diagnóstico. Adicional a esto, en 2015, Wang y cols., señalaron que hay factores propios del hospedero como la gastritis activa, baja carga bacteriana, consumo de bebidas alcohólicas y el uso de IBP entre otros que pueden afectar la sensibilidad de este método (120).

Acorde con el análisis de los datos de las características demográficas, estilo de vida, condiciones clínicas e higiénicas nuestro estudio indicó que estar entre los 19-37 años, estar afiliado al régimen de seguridad social en calidad de subsidiado, habitar en zona rural y pertenecer al estrato 1, 2 y 3, haber perdido peso, haber tenido un diagnóstico previo de enfermedad gástrica, madre con antecedentes de padecer gastritis; o familiares con antecedentes de úlcera gástrica o duodenal tuvieron más probabilidad de ser positivos para *H. pylori* que los otros participantes. Un estudio en Camerún dirigido por Mabeku y cols., en 2018, encontró que tener bajos ingresos, historia familiar de CG, tener síntomas como náuseas y vómito fueron factores importantes en la posibilidad para tener la infección (123). En un artículo de Razuka y cols., en 2020 en Letonia encontró que pacientes que tenían antecedentes de úlcera péptica y tratamiento de erradicación del microorganismo o fumaban eran más propensos a la infección por *H. pylori* (124). En el presente estudio pertenecer al estrato 1 al 3 fue un factor de probabilidad significativo para tener la infección, 18 de 23 individuos que tuvieron *H. pylori* tienen esta condición, lo que coincide con lo reportado en la literatura (125, 126), mientras que, los cinco restantes pertenecen a los estratos 4 al 6, un estrato socioeconómico mayor se asocia con menor número de infecciones por *H. pylori* (127).

En este estudio se encontró asociación entre la infección por *H. pylori* y tener entre 19-37 años. Esto coincide con un metaanálisis que encontró altas prevalencias de la infección en jóvenes (128) y otro estudio reciente (129) . La baja frecuencia de *H. pylori* en adultos mayores (51-87 años) se explicaría por la aparición de lesiones en estadios avanzados en las cuales no es común encontrar la bacteria (130). Varios reportes sugieren que la disminución en la incidencia de *H. pylori* se debe al mejoramiento de las condiciones de vida de algunas poblaciones (124, 129, 131).

Algunos estudios muestran que el nivel socioeconómico y educativo bajo son factores de riesgo para la infección por *H. pylori* (124, 132), en tanto que otro mostró la importancia del estrato socioeconómico en la adquisición y la prevalencia de la infección (133). Nuestro estudio concuerda con estos reportes; la mayor frecuencia de *H. pylori* se encontró en poblaciones de estratos 1,2 y 3, así como en habitantes de zonas rurales, esto posiblemente se debe a las menores condiciones sanitarias de estas poblaciones como acceso a agua potable de calidad, disposición correcta de excretas y basuras, acceso a educación, condiciones aceptables de infraestructura, entre otras (134).

En la prueba de susceptibilidad fenotípica mediante E-test, se presentó una resistencia al metronidazol de 82,6%. Esto coincide con lo esperado porque en Colombia existen estudios que presentaron altas tasas de resistencia para este antibiótico. En Bogotá los porcentajes de resistencia oscilaron entre el 72 y 93% (78, 135, 136) y en el eje cafetero el 88% (137). Aunque también se ha descrito que el uso de E-test puede sobreestimar la

resistencia a metronidazol (138). Al respecto Osato y cols., en 2001 observaron que al comparar la resistencia a metronidazol mediante E-test y dilución en agar, las muestras evaluadas por E- test presentaba mayor resistencia en comparación con las muestras evaluadas por dilución en agar. Estos autores sugieren que esto se debe a la presencia de MIC intermedias; esto también se describió en Colombia por Henao y cols., en 2009 (136). Además, los últimos autores sugieren que la amplitud en las MIC puede deberse a que existan más sitios de acción del metronidazol o que existen varias enzimas involucradas en la reducción intracelular del antibiótico. El V consenso de Maastricht sugiere que cuando el patrón local de resistencia a metronidazol se encuentra por encima del 40% —límite máximo recomendado para su uso según estándares internacionales— pone en consideración el uso del metronidazol en el esquema inicial de tratamiento de la infección por *H. pylori* (38).

En los resultados del análisis de secuencia para establecer mutaciones asociadas a la resistencia genotípica de los aislamientos de *H. pylori* al metronidazol se encontró que el 100% de los aislamientos presentó al menos un cambio en uno de los aminoácidos en comparación con la cepa de referencia de *H. pylori* 26695. Las mutaciones más frecuentes fueron en el codón de parada (D59N) y mutaciones puntuales (R90K, H97T, G98S y R131K). Estas mutaciones puntuales coinciden en su representatividad con las mutaciones reportadas por Acosta (89). Mendz y cols., en 2002 (139) encontraron mutaciones que implican pérdida de función de la proteína como los cambios de aminoácido en las posiciones 59, 90, y 97. Por otra parte, se evaluaron cuatro aislamientos que fueron sensibles fenotípicamente al metronidazol como control, estos aislamientos también presentaron la mutación en el codón de parada (D59N) asociada a

resistencia a este antibiótico; sin embargo, estos aislamientos habían sido sensibles fenotípicamente lo que indica que no se debe emplear la identificación de esta mutación como único marcador asociado a la resistencia de los aislamientos evaluados de *H. pylori*.

La claritromicina es el antibiótico con más estudios de resistencia en Colombia mostrando diferencias importantes. Nosotros encontramos que la resistencia a claritromicina fenotípica fue del 30,43% (14/46). Mientras que, en otra investigación en Medellín, el porcentaje de resistencia genotípica por RFLP del inglés (*Restriction Fragments Length Polymorphism*) o polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción a claritromicina fue del 18,8%, (30). En contraste con Bogotá donde los porcentajes de resistencia a claritromicina han presentado variaciones entre el 13,6 y 60% (52, 78, 135, 136). En Tumaco el porcentaje fue de 19,8% (140) y en Armenia y Pereira la resistencia fue más baja con 2,2% (137) y 3,8%, respectivamente (77). Según el V consenso de Maastricht en poblaciones con resistencia menor al 15 y 20% se debe utilizar la triple terapia estándar durante 7 días (18,8%), sin embargo, en el presente estudio como la resistencia a este antibiótico fue mayor al 20 % se recomienda utilizar la triple terapia estándar durante 14 días o utilizar una terapia cuádruple con bismuto (38).

Los resultados del análisis del gen *ARNr 23S* mostraron que las mutaciones más frecuentes en nuestro estudio fueron la A2142G y la A2143G, para una frecuencia de resistencia en 8 aislamientos de 50% (8/16), más alto que lo encontrado por Acosta y cols., en Bogotá quienes hallaron una frecuencia de mutaciones del 4,3% (114), y del porcentaje de mutaciones del estudio de Roldan y cols., de Medellín donde se reportaron ambas mutaciones (A2143G y A2142G) en 27 muestras (18,8%; 27/143) (30). Los

resultados obtenidos en nuestro estudio en la resistencia fenotípica de algunos aislamientos en los que no se presentaron estas mutaciones, puede deberse a que la resistencia bacteriana a este macrólido también se asocia a otras mutaciones u otros mecanismos, como las bombas de eflujo (no evaluadas en este trabajo) y reportadas por Hirata (2010) y Raj y cols; en 2021 (141, 142). En nuestro estudio, estas mutaciones se correlacionaron con la presencia de MIC entre: 1 y 64 µg/mL. Sin Embargo, nuestros hallazgos también indican que no hubo concordancia entre la presencia de mutaciones puntuales de *H. pylori* y la resistencia fenotípica encontrada, por lo que al relacionar los resultados fenotípicos obtenidos con la ausencia de mutaciones en aislamientos resistentes puede deberse a mutaciones no evaluadas en este estudio que se encontrasen por fuera de la región amplificada por los cebadores empleados. Estos resultados discordantes son similares a los reportados por Matta y cols., en Tumaco y Tuquerres en 2018 (143).

Los datos de resistencia fenotípica para amoxicilina encontrados en la presente tesis son mayores a los registrado en el país 2/6 (33.3%). En el país, la resistencia a amoxicilina se evaluó en tres estudios dos de ellos en Bogotá, presentándose cifras de 7% en 2008 (78) y 3,8% en 2010 (135); otra investigación en Tumaco reportó resistencias del 20,5% (140). (49, 78). En el mundo, la resistencia de *H. pylori* a amoxicilina ha sido baja, por lo que no se le considera un problema cuando se va a prescribir en la terapia; no obstante, el porcentaje obtenido de resistencia en nuestro estudio sugiere que esta es más alta que en otros países (49, 144). En los resultados obtenidos al evaluar resistencia genotípica se detectó la presencia de las mutaciones S417T y S543A que se ubican en el segundo motivo de la proteína codificada por el gen *pbp1A*. A esta última mutación se le atribuye

mayor efecto en los niveles de resistencia a este antibiótico y se ha descrito que el cambio por arginina en esta posición desvía el sitio de catálisis del antibiótico betalactámico cargado negativamente, lo que lleva a un reconocimiento electrostático inespecífico por la interacción de las cargas modificando la dinámica de la interacción proteína-ligando; este fenómeno fue descrito por Qureshi y cols., en 2011 (71). En 2006, Gerrits y cols.; encontraron la presencia de aislamientos de *H. pylori* resistentes a amoxicilina por diferentes mutaciones entre las que se incluyeron S417T y S543A (70), Qureshi y cols., corroboraron el papel del cambio de aminoácido en la posición S543A atribuyéndole el incremento de casi 4 veces la resistencia a amoxicilina (71).

En cuanto a la resistencia a levofloxacina, nuestro estudio presentó resistencia de 21,7% similar a la reportada por Trespalacios y cols. (50). El estudio de Trespalacios y cols., realizó el seguimiento de 2009 a 2014, evaluando mediante dilución en agar la prevalencia de la resistencia y encontró el 18,2% de aislamientos resistentes, ese estudio también evaluó la resistencia genotípica a este antibiótico mediante el gen *GyrA* encontrando mutaciones en las posiciones 87 y 91. La mutación más común fue la N87I (43,8%, 35/80) seguida de la mutación D91N (28,8%, 23/80) y la mutación N87K (11,3%, 9/80). Lo que contrasta con lo encontrado en nuestro estudio donde cada una de las mutaciones N87K y N87I estuvo presente en 3 de los aislamientos evaluados 50% (6/12) y no se observó presencia de la mutación D91N.

Para la resistencia a tetraciclina, en la ciudad de Bogotá, se tiene registro previo del 2008 del 85,7% y representa el único estudio que existe (78). En nuestro caso, no se encontró

resistencia a este antibiótico en ninguno de los aislamientos obtenidos. Lo que posiciona este antibiótico como una buena alternativa terapéutica en Antioquia.

En nuestro estudio encontramos multiresistencia (20/42) (resistencia a dos o más antibióticos) en cuatro aislamientos que presentaron resistencia a amoxicilina y metronidazol, cuatro más a metronidazol y levofloxacina, ocho fueron resistentes a metronidazol y claritromicina y cuatro aislamientos presentaron triple resistencia (metronidazol, claritromicina y levofloxacina) **(Figura 6)**. Dos estudios realizados en el país demuestran la aparición de cepas de *H. pylori* multirresistentes. El primero en Tumaco en 2012 detectó 10,96% (22/203) de aislamientos con resistencia múltiple a claritromicina y amoxicilina (140), y el segundo de Arévalo y cols., (2019) que encontró ocho aislamientos resistentes a dos o más antibióticos (amoxicilina, claritromicina, levofloxacina y metronidazol) provenientes de pacientes con 3 o 4 tratamientos fallidos (145).

En Colombia, según la guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la infección por *H. pylori* en adultos, se recomienda evitar la terapia triple combinada con amoxicilina, claritromicina, metronidazol o levofloxacina como tratamiento de primera línea, porque la evidencia demuestra resistencia primaria a este tipo de tratamientos y se debe partir desde la epidemiología local para sugerir un tratamiento ajustado, evitando emplear antibióticos de manera empírica que puedan terminar en falla terapéutica (29).

Con base en los resultados del patrón de susceptibilidad de *H. pylori* a los antibióticos evaluados en este estudio y acorde con el V consenso de Maastricht, *H. pylori* es una

bacteria con susceptibilidad variable para claritromicina al presentar resistencia entre 10 y 50% (30%). Dado que el valor de resistencia a claritromicina estuvo por encima del > 15% no se recomienda usar la terapia triple con claritromicina, se recomienda utilizar la terapia cuádruple con bismuto o sin bismuto o una terapia concomitante (IBP, amoxicilina, claritromicina y metronidazol) (38). La resistencia a metronidazol fue mayor de 40% lo que según las sugerencias del consenso este antibiótico no debe ser incluido en la triple terapia como esquema de primera línea (38).

En áreas donde se presenta resistencia dual a metronidazol y claritromicina la terapia recomendada es la terapia cuádruple con bismuto (IBP, bismuto y la combinación de dos antibióticos: furazolidona, tetraciclina, metronidazol y amoxicilina) como terapia de primera línea evitando incluir a la claritromicina y reemplazarla por tetraciclina, furazolidona y/o rifabutina. Adicional a esto, se recomienda que si se va a usar metronidazol debe haber un incremento en las dosis, el intervalo y la duración extendiendo la terapia cuádruple con bismuto hasta por 14 días (38).

Los datos presentados en este trabajo demuestran, una vez más, las variaciones geográficas existentes entre la susceptibilidad de los aislamientos de *H. pylori* en diferentes poblaciones, señalando la importancia de determinar el patrón de resistencia de cada departamento, así mismo, la importancia de hacer seguimiento de la frecuencia con que se presenta aislamientos de *H. pylori* resistentes en el país y la necesidad de más investigaciones que permitan determinar la resistencia genotípica de *H. pylori* para conocer las alteraciones responsables y poder controlar la diseminación de estas.

15. CONCLUSIONES

- Existe concordancia entre los resultados de diagnóstico de *H. pylori* obtenidos por la prueba rápida de ureasa y cultivo microbiológico.
- El diagnóstico histopatológico encontró menor número de pacientes con *H. pylori* en comparación con las otras pruebas.
- El 48% de los pacientes proviene de instituciones de alta complejidad que atiende los estratos 4 a 6, lo que podría haber incidido en la frecuencia (23%) de infección hallada.
- No se presentaron infecciones heterogéneas pues no hay diferencias en las concentraciones mínimas inhibitorias al comparar las pruebas de susceptibilidad a partir de los aislamientos de antro y cuerpo de un mismo paciente.
- La frecuencia de mutaciones en la nitroreductasa *RdxA* para D59N 82,6% (38/46), R90K 54,3% (25/46) y R131K 43,4% (20/46) sumado a los porcentajes obtenidos en resistencia fenotípica en los aislamientos obtenidos en el departamento de Antioquia sugiere que se debe evitar la prescripción de tratamientos empíricos con metronidazol en pacientes del departamento.
- Los genotipos encontrados al evaluar la susceptibilidad genotípica a claritromicina de los aislamientos de *H. pylori* obtenidos en el estudio fueron A2142G y A2143G en (4/16) cada uno representó prevalencia conjunta en la susceptibilidad genotípica del 50% lo que indica sumado al resultado fenotípico que la claritromicina no debe ser prescrita en los tratamientos empíricos en el departamento de Antioquia.

- La evaluación de la secuencia del gen *pbp1A* de los aislamientos obtenidos detectó el cambio de aminoácido en las posiciones 417 (S417T) y 543 (S543R) con un porcentaje de 33,3% (2/6) y 66,6% (4/6) respectivamente. Esta frecuencia al igual que la encontrada en la evaluación fenotípica es baja, lo que sugiere que se puede emplear amoxicilina como opción terapéutica en los tratamientos empíricos.
- Las mutaciones detectadas en el gen de la *GyrA* fueron en la posición 87 (N87K O N87I) con (3/12) cada una.
- Ningún aislamiento mostró resistencia al antibiótico tetraciclina lo que hace de este una alternativa en los pacientes con falla terapéutica.
- Dado que tanto la resistencia fenotípica como la genotípica en los aislamientos de *H. pylori* obtenidos en este estudio fue alta para los antibióticos metronidazol y claritromicina y superó los porcentajes recomendados por el V consenso de Maastricht (< 40%) y (> 15%) respectivamente, estos antibióticos no deben ser empleados en el tratamiento empírico de este microorganismo en Antioquia.

16. PERSPECTIVAS

Este estudio es el primero en evaluar la resistencia fenotípica y genotípica a cinco antibióticos en Antioquia. Este diseño experimental nos permitió encontrar alto porcentaje de resistencia en antibióticos usados en la triple terapia como metronidazol y claritromicina, lo cual nos ha llevado a plantear la necesidad de nuevos estudios que limiten la propagación de la resistencia, así como el seguimiento de aislamientos resistentes y sobre todo de los multirresistentes a los antibióticos evaluados. Lo ideal es usar un tratamiento con una terapia dirigida para cada caso y evaluar la efectividad en la erradicación de la infección.

Adicionalmente, los resultados de este proyecto plantean la necesidad de capacitaciones para el personal de salud en el manejo de la infección por *H. pylori* y considerar inicialmente usar la prueba de susceptibilidad, específicamente en los casos en los que se encuentre factores de riesgo asociados con resistencia o falla terapéutica previa. Actualmente el tratamiento de antibiótico para *H. pylori* representa un desafío para el personal de salud debido al incremento de la resistencia, conocer el patrón de susceptibilidad de más regiones de Colombia y Antioquia orientaría la prescripción de tratamientos más eficaces.

Los datos generados permitieron conocer la situación actual de la resistencia antibiótica de *H. pylori* en el AMVA en comparación con otras regiones de Antioquia constituyéndose

como un estudio que sienta las bases para posteriores estudios epidemiológicos de la infección, de la enfermedad, de las fallas terapéuticas, de la resistencia y de la prevalencia de mutaciones. Este trabajo fortalecerá la línea de resistencia de *H. pylori* del grupo Bacterias & Cáncer posicionándolo como un grupo de referencia regional.

17. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El estudio se inició en el año 2019 y se culminó en el 2021. Durante marzo del 2020 inició la pandemia de COVID-19, lo que limitó el desarrollo de la investigación en las instituciones de salud debido a restricciones de ingreso y acceso de los pacientes a los procedimientos por las constantes condiciones propuestas por las administraciones municipales, lo cual redujo el número de participantes. Además, no descartamos que las medidas de bioseguridad implementadas de manera generalizada a causa de la COVID-19 hayan tenido un impacto en el menor número de aislamientos positivos de los individuos del estudio considerando que *H. pylori* se propaga por vía oral-oral y fecal-oral. Las medidas de higiene tomadas en la pandemia pudieron reducir la infección con esta bacteria, lo que posiblemente influyó en la baja frecuencia encontrada de *H. pylori*.

Adicional a esto, en algunas IPS que atendían pacientes de estratos más bajos que se asocian con mayor presencia *H. pylori* no tuvieron servicio o limitaron la cantidad de procedimientos. Esto llevó a que la captación de pacientes se diera en IPS de estratos más altos donde la infección es menos frecuente. Es importante destacar que 56 participantes pertenecen a los estratos 4, 5 y 6, esta condición sugiere que estas personas tienen mejor acceso a salud y condiciones sanitarias y mayores ingresos lo que pudo limitar la cantidad de aislamientos obtenidos en el total de la población.

18. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Otero R W, Gómez Z M, Otero P L, Trespalacios R A. Helicobacter pylori: ¿cómo se trata en el 2018? Revista de Gastroenterología del Perú. 2018;38:54-63.
2. Mégraud F, Corti RJ. Resistencia bacteriana del Helicobacter pylori en el mundo en el año 2009. 2009;39(4).
3. Solnick JV, Vandamme P. Taxonomy of the Helicobacter genus. Helicobacter pylori: physiology and genetics: ASM Press; 2001.
4. Cao L, Yu J. Effect of Helicobacter pylori infection on the composition of gastric microbiota in the development of gastric cancer. Gastrointestinal tumors. 2015;2(1):14-25.
5. Bizzozero G. Sulle ghiandole tubulari del tubo gastro-enterico e sui rapporti del loro epitelio col'epitelio di rivestimento della mucosa. Appendice: Atti della Regia Accademia delle Scienze di Torino. 1892;28:249-51.
6. Blaser MJ. An endangered species in the stomach. Scientific american. 2005;292(2):38-45.
7. Marshall B, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. The Lancet. 1984;323(8390):1311-5.
8. Goodwin C, Blincow E, Warren J, Waters T, Sanderson C, Easton L. Evaluation of cultural techniques for isolating Campylobacter pyloridis from endoscopic biopsies of gastric mucosa. Journal of Clinical Pathology. 1985;38(10):1127-31.
9. Fock KM, Graham DY, Malfertheiner P. Helicobacter pylori research: historical insights and future directions. Nature reviews Gastroenterology & hepatology. 2013;10(8):495-500.
10. Guerrero JL, Vera G. Helicobacter pylori: revisión de los aspectos fisiológicos y patológicos. Revista Médicas UIS. 2011;24(3):275-82.

11. Mobley H, Mendz G, Hazell S. Urease--*Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics. 2001.
12. Bayona Rojas MA. Microbiological conditions for culturing *Helicobacter Pylori*. *Revista Colombiana de Gastroenterologia*. 2013;28(2):94-9.
13. Tummala S, Sheth SG, Goldsmith JD, Goldar-Najafi A, Murphy CK, Osburne MS, et al. Quantifying gastric *Helicobacter pylori* infection: a comparison of quantitative culture, urease breath testing, and histology. *Digestive diseases and sciences*. 2007;52(2):396-401.
14. Stefano K, Marco M, Federica G, Laura B, Barbara B, Gioacchino L. *Helicobacter pylori*, transmission routes and recurrence of infection: state of the art. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*. 2018;89(Suppl 8):72.
15. Rothenbacher D, Bode G, Berg G, Knayer U, Gonser T, Adler G, et al. *Helicobacter pylori* among preschool children and their parents: evidence of parent-child transmission. *The Journal of infectious diseases*. 1999;179(2):398-402.
16. Algood H, Cover TL. *Helicobacter pylori* persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. *Clinical microbiology reviews*. 2006;19(4):597-613.
17. Olczak AA, Olson JW, Maier RJ. Oxidative-stress resistance mutants of *Helicobacter pylori*. *Journal of bacteriology*. 2002;184(12):3186-93.
18. McGee D, Mobley H. Mechanisms of *Helicobacter pylori* infection: bacterial factors. *Gastrointestinal Disease and Helicobacter Pylori*: Springer; 1999. p. 155-80.
19. Roesler BM, Rabelo-Gonçalves EM, Zeitune JM. Virulence factors of *Helicobacter pylori*: a review. *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology*. 2014;7:CGast. S13760.
20. Sutton P, Mitchell H. *Helicobacter pylori* in the 21st Century: CABI; 2010.

21. Correa P. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. The American journal of surgical pathology. 1995;19:S37.
22. Kalali B, Mejías-Luque R, Javaheri A, Gerhard M. H. pylori virulence factors: influence on immune system and pathology. Mediators of inflammation. 2014;2014.
23. Reports IHP. Helicobacter pylori eradication as a strategy for preventing gastric cancer. 2014;8.
24. Cancer IARC. Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer. 2014;(IARC Working Group Reports, No. 8).
25. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018;68(6):394-424.
26. Cancer IARC. Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori: IARC Lyon; 1994.
27. Ma J-L, Zhang L, Brown LM, Li J-Y, Shen L, Pan K-F, et al. Fifteen-year effects of Helicobacter pylori, garlic, and vitamin treatments on gastric cancer incidence and mortality. Journal of the National Cancer Institute. 2012;104(6):488-92.
28. Páramo Hernández DB, Rodríguez Sabogal IA, Toledo Arenas JD. Eficacia de la erradicación del Helicobacter pylori en la prevención del cáncer gástrico: Revisión sistemática y metanálisis. Revista colombiana de Gastroenterología. 2014;29(3):262-9.
29. Otero W, Trespacios AA, Otero L, Vallejo MT, Amaya MT, Pardo R, et al. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la infección por Helicobacter pylori en adultos. Revista Colombiana de Gastroenterología. 2015;30(1):17-33.
30. Roldán IJ, Castaño R, Navas MC. Mutaciones del gen ARN ribosómico 23S de Helicobacter pylori asociadas con resistencia a claritromicina en pacientes atendidos en una unidad de endoscopia de Medellín, Colombia. Biomédica. 2019;39(2):117-29.

31. Loughlin MF. Novel therapeutic targets in *Helicobacter pylori*. *Expert Opin Ther Targets*. 2003;7(6):725-35.
32. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical microbiology reviews*. 2006;19(3):449-90.
33. O'Connor A, O'Morain CA, Ford AC. Population screening and treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(4):230-40.
34. Silva GM, Silva HM, Nascimento J, Gonçalves JP, Pereira F, Lima RJH. *Helicobacter pylori* antimicrobial resistance in a pediatric population. 2018;23(5):e12528.
35. Bravo LE, Buelvas AC, Carrascal E, Jaramillo R, García LS, Bravo PE, et al. *Helicobacter pylori*: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. *Colombia médica*. 2003;34(3):124-31.
36. Campuzano-Maya G, Hoyos-Castaño D, Calvo-Betancur VD, Suárez-Ramírez OA, Lizcano-Cardona D, Rojas-Arbeláez CA. Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*. 2007;37(2):99-103.
37. Correa S, Cardona AF, Correa T, Correa LA, García HI, Estrada S. Prevalencia de *Helicobacter pylori* y características histopatológicas en biopsias gástricas de pacientes con síntomas dispépticos en un centro de referencia de Medellín. *Revista colombiana de Gastroenterología*. 2016;31(1):9-15.
38. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C, Gisbert J, Kuipers E, Axon A, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut*. 2017;66(1):6-30.
39. Smith SM. An update on the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *EMJ Gastroenterol*. 2015;4:101-7.

40. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*. 2017;66(1):6-30.
41. Shiotani A, Lu H, Dore MP, Graham DY. Treating Helicobacter pylori effectively while minimizing misuse of antibiotics. *Cleveland Clinic journal of medicine*. 2017;84(4):310.
42. Castro-Fernández M, Lamas E, Pérez-Pastor A, Pabón M, Aparcero R, Vargas-Romero J, et al. Efficacy of triple therapy with a proton pump inhibitor, levofloxacin, and amoxicillin as first-line treatment to eradicate Helicobacter pylori. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*. 2009;101(6):395.
43. Fallone CA, Chiba N, van Zanten SV, Fischbach L, Gisbert JP, Hunt RH, et al. The Toronto consensus for the treatment of Helicobacter pylori infection in adults. *Gastroenterology*. 2016;151(1):51-69. e14.
44. Segura A, Gutierrez O, Otero W, Angel A, Genta R, Graham D. Furazolidone, amoxycillin, bismuth triple therapy for Helicobacter pylori infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 1997;11(3):529-32.
45. Otero W, Trespalacios AA, Otero L, Vallejo MT, Torres Amaya M, Pardo R, et al. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la infección por Helicobacter pylori en adultos. *Revista Colombiana de Gastroenterología*. 2015;30(1).
46. Atehortúa-Rendón JD, Martínez A, Pérez-Cala TL. Helicobacter pylori susceptibility to six commonly used antibiotics in Colombia. *Revista Colombiana de Gastroenterología*. 2020;35(3):351-61.

47. Savoldi A, Carrara E, Graham DY, Conti M, Tacconelli E. Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: a systematic review and meta-analysis in World Health Organization regions. *Gastroenterology*. 2018;155(5):1372-82. e17.
48. Megraud F, Bruyndonckx R, Coenen S, Wittkop L, Huang T-D, Hoebeke M, et al. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community. *Gut*. 2021;70(10):1815-22.
49. Camargo MC, García A, Riquelme A, Otero W, Camargo CA, Hernandez-García T, et al. The problem of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: a systematic review in Latin America. *The American journal of gastroenterology*. 2014;109(4):485.
50. Trespacios-Rangél AA, Otero W, Arévalo-Galvis A, Poutou-Piñales RA, Rimbara E, Graham DY. Surveillance of levofloxacin resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Bogotá-Colombia (2009-2014). *PLoS One*. 2016;11(7):e0160007.
51. Trespacios AA, Otero Regino W, Mercado Reyes M. Resistencia de *Helicobacter pylori* a metronidazol, claritromicina y amoxicilina en pacientes colombianos J *Revista Colombiana de Gastroenterología*. 2010;25:31-8.
52. Trespacios AA, Otero W, Caminos JE, Mercado MM, Ávila J, Rosero LE, et al. Phenotypic and genotypic analysis of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* from Bogotá DC, Colombia. *Journal of Microbiology*. 2013;51(4):448-52.
53. Trespacios AA, Rimbara E, Otero W, Reddy R, Graham DY. Improved allele-specific PCR assays for detection of clarithromycin and fluoroquinolone resistant of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies: identification of N87I mutation in GyrA. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2015;81(4):251-5.
54. Acosta CP, Hurtado FA, Trespacios AA. Determinación de mutaciones de un solo nucleótido en el gen 23S rRNA de *Helicobacter pylori* relacionadas con resistencia a

claritromicina en una población del departamento del Cauca, Colombia. *Biomédica*. 2014;34(Sup1):156-62.

55. Acosta CP, Quiroga AJ, Sierra-Torres CH, Trespalacios AA. Frecuencia de mutaciones de la nitrorreductasa RdxA de *Helicobacter pylori* para la activación del metronidazol en una población del departamento del Cauca, Colombia. *Biomédica*. 2017;37(2).

56. Arévalo A, Otero WA, Trespalacios AA. *Helicobacter pylori*: resistencia múltiple en pacientes de Bogotá-Colombia. *Biomédica*. 2019;39.

57. Björkholm B, Sjölund M, Falk PG, Berg OG, Engstrand L, Andersson DI. Mutation frequency and biological cost of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. 2001;98(25):14607-12.

58. Jorgensen M, Daskalopoulos G, Warburton V, Mitchell HM, Hazell SL. Multiple strain colonization and metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*-infected patients: identification from sequential and multiple biopsy specimens. 1996;174(3):631-5.

59. Enroth H, Björkholm B, Engstrand LJ. Occurrence of resistance mutation and clonal expansion in *Helicobacter pylori* multiple-strain infection: a potential risk in clarithromycin-based therapy. 1999;28(6):1305-7.

60. Otero Regino W, Trespalacios AA, Otero E. *Helicobacter pylori*: Tratamiento actual. Un importante reto en gastroenterología. 2009;24(3).

61. Furuta Y, Konno M, Osaki T, Yonezawa H, Ishige T, Imai M, et al. Microevolution of virulence-related genes in *Helicobacter pylori* familial infection. 2015;10(5):e0127197.

62. Cao Q, Didelot X, Wu Z, Li Z, He L, Li Y, et al. Progressive genomic convergence of two *Helicobacter pylori* strains during mixed infection of a patient with chronic gastritis. 2015;64(4):554-61.

63. Suerbaum S, Smith JM, Bapumia K, Morelli G, Smith NH, Kunstmann E, et al. Free recombination within *Helicobacter pylori*. 1998;95(21):12619-24.
64. Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clinical microbiology reviews*. 2007;20(2):280-322.
65. Zango U, Ibrahim M, Shawai S. A review on β -lactam antibiotic drug resistance. *MOJ Drug Des Develop Ther*. 2019;3(2):52-8.
66. Tseng YS, Wu DC, Chang CY, Kuo CH, Yang YC, Jan CM, et al. Amoxicillin resistance with β -lactamase production in *Helicobacter pylori*. 2009;39(9):807-12.
67. Liu Z-Q, Zheng P-Y, Yang P. Efflux pump gene *hefA* of *Helicobacter pylori* plays an important role in multidrug resistance. 2008;14(33):5217.
68. Matteo MJ, Granados G, Olmos M, Wonaga A, Catalano M. *Helicobacter pylori* amoxicillin heteroresistance due to point mutations in PBP-1A in isogenic isolates. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;61(3):474-7.
69. Tseng YS, Wu DC, Chang CY, Kuo CH, Yang YC, Jan CM, et al. Amoxicillin resistance with β -lactamase production in *Helicobacter pylori*. *European journal of clinical investigation*. 2009;39(9):807-12.
70. Gerrits MM, Godoy AP, Kuipers EJ, Ribeiro ML, Stoof J, Mendonça S, et al. Multiple mutations in or adjacent to the conserved penicillin-binding protein motifs of the penicillin-binding protein 1A confer amoxicillin resistance to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2006;11(3):181-7.
71. Qureshi NN, Morikis D, Schiller NL. Contribution of specific amino acid changes in penicillin binding protein 1 to amoxicillin resistance in clinical *Helicobacter pylori* isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011;55(1):101-9.

72. Gómez M, Otero W, Gutiérrez ÓJ. Tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. Encuesta en un grupo de médicos generales y especialistas en Colombia. 2007;22(1).
73. Yepes CA, Rodríguez Varón A, Ruiz Morales Á, Ariza B. Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá. *Acta Medica Colombiana*. 2008;33:11-4.
74. Álvarez A, Moncayo JI, Santacruz JJ, Corredor LF, Reinoso E, Martínez JW, et al. Resistencia a metronidazol y claritromicina en aislamientos de *Helicobacter pylori* de pacientes dispépticos en Colombia. 2009;137(10):1309-14.
75. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, Griffy MV, Beyer J, Flamm RK, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996;40(2):477-80.
76. Schmitt BH, Regner M, Mangold KA, Thomson Jr RB, Kaul KL. PCR detection of clarithromycin-susceptible and-resistant *Helicobacter pylori* from formalin-fixed, paraffin-embedded gastric biopsies. 2013;26(9):1222.
77. Álvarez A, Moncayo JI, Santacruz JJ, Santacoloma M, Corredor LF, Reinoso E. Antimicrobial susceptibility and mutations involved in clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* isolates from patients in the western central region of Colombia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(9):4022-4.
78. Yepes CA, Varón AR, Morales ÁR, Ariza B. Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en el hospital universitario San Ignacio de Bogotá. *Acta Médica Colombiana*. 2008;33(1):11-4.

79. Trespalacios AA, Otero W, Caminos JE, Mercado MM, Ávila J, Rosero LE, et al. Phenotypic and genotypic analysis of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* from Bogotá DC, Colombia. 2013;51(4):448-52.
80. Francesco VD, Zullo A, Hassan C, Giorgio F, Rosania R, Ierardi E. Mechanisms of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance: An updated appraisal. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2011;2(3):35-41.
81. Negrei C, Boda D. The Mechanisms of action and resistance to fluoroquinolone in *Helicobacter pylori* Infection. Roesler Trends in *Helicobacter pylori* Infection BM editor IntechOpen. 2014:349.
82. Glocker E, Kist M. Rapid detection of point mutations in the *gyrA* gene of *Helicobacter pylori* conferring resistance to ciprofloxacin by a fluorescence resonance energy transfer-based real-time PCR approach. *J Clin Microbiol.* 2004;42(5):2241-6.
83. Tankovic J, Lascols C, Sculo Q, Petit J-C, Soussy C, chemotherapy. Single and double mutations in *gyrA* but not in *gyrB* are associated with low-and high-level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*. 2003;47(12):3942-4.
84. O'Connor A, Vaira D, Gisbert JP, O'Morain C. Treatment of *Helicobacter pylori* infection 2014. *Helicobacter.* 2014;19 Suppl 1:38-45.
85. Jenks PJ, Edwards DI. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Int J Antimicrob Agents.* 2002;19(1):1-7.
86. Hoffman PS, Goodwin A, Johnsen J, Magee K, Veldhuyzen van Zanten S. Metabolic activities of metronidazole-sensitive and-resistant strains of *Helicobacter pylori*: repression of pyruvate oxidoreductase and expression of isocitrate lyase activity correlate with resistance. *Journal of bacteriology.* 1996;178(16):4822-9.

87. Kwon D-H, El-Zaatari FA, Kato M, Osato MS, Reddy R, Yamaoka Y, et al. Analysis of *rdxA* and involvement of additional genes encoding NAD (P) H flavin oxidoreductase (FrxA) and ferredoxin-like protein (FdxB) in metronidazole resistance of *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2000;44(8):2133-42.
88. Kim SY, Joo YM, Lee HS, Chung I-S, Yoo Y-J, Merrell DS, et al. Genetic analysis of *Helicobacter pylori* clinical isolates suggests resistance to metronidazole can occur without the loss of functional *rdxA*. 2009;62(1):43.
89. Acosta CP, Quiroga AJ, Sierra-Torres CH, Trespalacios AA. Frecuencia de mutaciones de la nitrorreductasa *RdxA* de *Helicobacter pylori* para la activación del metronidazol en una población del departamento del Cauca, Colombia. *Biomédica*. 2017;37(2):191-9.
90. Ribeiro ML, Gerrits MM, Benvengo YH, Berning M, Godoy AP, Kuipers EJ, et al. Detection of high-level tetracycline resistance in clinical isolates of *Helicobacter pylori* using PCR-RFLP. 2004;40(1):57-61.
91. Gerrits MM, Berning M, Van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters JG, chemotherapy. Effects of 16S rRNA gene mutations on tetracycline resistance in *Helicobacter pylori*. 2003;47(9):2984-6.
92. Wu JY, Kim JJ, Reddy R, Wang W, Graham DY, Kwon DH, et al. Tetracycline-resistant clinical *Helicobacter pylori* isolates with and without mutations in 16S rRNA-encoding genes. 2005;49(2):578-83.
93. Toledo H, López-Solís RJJ. Tetracycline resistance in Chilean clinical isolates of *Helicobacter pylori*. 2009;65(3):470-3.

94. Lawson AJ, Elviss NC, Owen RJ. Real-time PCR detection and frequency of 16S rDNA mutations associated with resistance and reduced susceptibility to tetracycline in *Helicobacter pylori* from England and Wales. 2005;56(2):282-6.
95. Tomb J-F, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. 1997;388(6642):539-47.
96. Cammarota G, Sanguinetti M, Gallo A, Posteraro B. biofilm formation by *Helicobacter pylori* as a target for eradication of resistant infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;36(3):222-30.
97. Otero Regino W, Gómez MA, Castro D. Gastric carcinogenesis. *Revista colombiana de Gastroenterología*. 2009;24(3):314-29.
98. Hooi JK, Lai WY, Ng WK, Suen MM, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017;153(2):420-9.
99. Rimbara E, Fischbach LA, Graham DY. Optimal therapy for *Helicobacter pylori* infections. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2011;8(2):79-88.
100. Piscione M, Mazzone M, Di Marcantonio MC, Muraro R, Mincione G. Eradication of *Helicobacter pylori* and gastric cancer: a controversial relationship. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:630852.
101. Otero Regino W, Trespalacios AA, Otero E. *Helicobacter pylori*: Tratamiento actual. Un importante reto en gastroenterología. *Revista colombiana de Gastroenterología*. 2009;24(3):279-92.

102. O'connor A, O'morain CA, Ford AC. Population screening and treatment of Helicobacter pylori infection. Nature reviews Gastroenterology & hepatology. 2017;14(4):230-40.
103. Moayyedi P. The health economics of Helicobacter pylori infection. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 2007;21(2):347-61.
104. Breuer T, Graham DY. Costs of diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection: when does choosing the treatment regimen based on susceptibility testing become cost effective? The American journal of gastroenterology. 1999;94(3):725-9.
105. Atehortúa-Rendón JD, Martínez A, Pérez-Cala TL. Descripción de la resistencia de Helicobacter pylori a seis antibióticos de uso frecuente en Colombia. Revista colombiana de Gastroenterología. 2020;35(3):351-61.
106. Salazar BE, Pérez-Cala T, Gomez-Villegas SI, Cardona-Zapata L, Pazos-Bastidas S, Cardona-Esteba A, et al. The OLGA-OLGIM staging and the interobserver agreement for gastritis and preneoplastic lesion screening: a cross-sectional study. Virchows Archiv. 2022;480(4):759-69.
107. Rugge M, Correa P, Di Mario F, El-Omar E, Fiocca R, Geboes K, et al. OLGA staging for gastritis: a tutorial. Digestive and liver disease. 2008;40(8):650-8.
108. Capelle LG, de Vries AC, Haringsma J, Ter Borg F, de Vries RA, Bruno MJ, et al. The staging of gastritis with the OLGA system by using intestinal metaplasia as an accurate alternative for atrophic gastritis. Gastrointestinal endoscopy. 2010;71(7):1150-8.
109. Hazell SL, Evans Jr DJ, Graham DY. Helicobacter pylori catalase. Microbiology. 1991;137(1):57-61.
110. Shields P, Cathcart L. Oxidase test protocol. American Society for Microbiology. 2010:1-9.

111. Clayton C, Kleanthous H, Coates P, Morgan D, Tabaqchali S. Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction. *Journal of clinical microbiology*. 1992;30(1):192-200.
112. Fuenmayor B, Cavazza M, Beltrán de Luengo H, Gallegos B, Inciarte A, Botero L, et al. Infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con patología gastrointestinal benigna. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 2002;22(1):27-31.
113. Toledo H, López-Solís R. Tetracycline resistance in Chilean clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010;65(3):470-3.
114. Acosta CP, Hurtado FA, Trespalacios AA. Determinación de mutaciones de un solo nucleótido en el gen 23S rRNA de *Helicobacter pylori* relacionadas con resistencia a claritromicina en una población del departamento del Cauca, Colombia. *Biomédica*. 2014;34:156-62.
115. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*. 1977;74(12):5463-7.
116. Talarico S, Korson AS, Leverich CK, Park S, Jalikis FG, Upton MP, et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* clarithromycin resistance mutations among Seattle patients measured by droplet digital PCR. *Helicobacter*. 2018;23(2):e12472.
117. Jaka H, Rüttgerodt N, Bohne W, Mueller A, Gross U, Kasang C, et al. *Helicobacter pylori* mutations conferring resistance to Fluoroquinolones and clarithromycin among dyspeptic patients attending a tertiary hospital, Tanzania. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019;2019.
118. Uribe A, Correa J, Molina J, Sierra F. Colonización por *Helicobacter pylori* en mucosa comprometida de pacientes con carcinoma gástrico. *Congregación Mariana de Medellín*, 1989. *Rev CES Med*. 1991;5:175-6.

119. Bravo LE, Cortés A, Carrascal E, Jaramillo R, García LS, Bravo PE, et al. Helicobacter pylori: patología y prevalencia en biopsias gástricas en Colombia. Colombia médica. 2003;34(3):124-31.
120. Wang Y-K, Kuo F-C, Liu C-J, Wu M-C, Shih H-Y, Wang SS, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection: Current options and developments. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2015;21(40):11221.
121. Galoş F, Năstase G, Boboc C, Coldea C, Anghel M, Orzan A, et al. A Study of the Correlation between Bacterial Culture and Histological Examination in Children with Helicobacter pylori Gastritis. Histology: IntechOpen; 2018.
122. Sankararaman S, Moosavi L. Urea Breath Test. 2019.
123. Mabeku LBK, Ngamga MLN, Leundji H. Potential risk factors and prevalence of Helicobacter pylori infection among adult patients with dyspepsia symptoms in Cameroon. BMC infectious diseases. 2018;18(1):1-11.
124. Razuka Ebela D, Polaka I, Parshutin S, Santare D, Ebela I, Herrero R, et al. Sociodemographic, lifestyle and medical factors associated with Helicobacter pylori infection. 2020.
125. Moayyedi P, Axon AT, Feltbower R, Duffett S, Crocombe W, Braunholtz D, et al. Relation of adult lifestyle and socioeconomic factors to the prevalence of Helicobacter pylori infection. International journal of epidemiology. 2002;31(3):624-31.
126. Elshair M, Ugai T, Oze I, Kasugai Y, Koyanagi YN, Hara K, et al. Impact of socioeconomic status and sibling number on the prevalence of Helicobacter pylori infection: a cross-sectional study in a Japanese population. Nagoya J Med Sci. 2022;84:374-87.

127. Attila T, Zeybel M, Yigit YE, Baran B, Ahishali E, Alper E, et al. Upper socioeconomic status is associated with lower *Helicobacter pylori* infection rate among patients undergoing gastroscopy. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 2020;14(03):298-303.
128. Yuan C, Adeloye D, Luk TT, Huang L, He Y, Xu Y, et al. The global prevalence of and factors associated with *Helicobacter pylori* infection in children: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Child & Adolescent Health*. 2022.
129. Yu X, Yang X, Yang T, Dong Q, Wang L, Feng L. Decreasing prevalence of *Helicobacter pylori* according to birth cohorts in urban China. *Turk J Gastroenterol*. 2017;28(2):94-7.
130. Cai H-L, Tong Y-L. Association of serum pepsinogen with degree of gastric mucosal atrophy in an asymptomatic population. *World Journal of Clinical Cases*. 2021;9(31):9431.
131. Nagy P, Johansson S, Molloy-Bland M. Systematic review of time trends in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China and the USA. *Gut pathogens*. 2016;8(1):1-14.
132. Wang W, Jiang W, Zhu S, Sun X, Li P, Liu K, et al. Assessment of prevalence and risk factors of *helicobacter pylori* infection in an oilfield Community in Hebei, China. *BMC gastroenterology*. 2019;19(1):1-8.
133. Ferrari F, Dutra ECG, Zanardi HC, Scolaro BL, Ferrari OM. Time trends of *Helicobacter pylori* prevalence in Itajaí-SC: a retrospective study of 25 years based on endoscopic database. *Arquivos de gastroenterologia*. 2019;56:10-4.

134. Social. MdSyP. Plan Nacional de Salud Rural 2018 2018. [updated 2018. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/PES/msps-plan-nacional-salud-rural-2018.pdf>.
135. Trespalcios AA, Regino WO, Reyes MM. Resistencia de Helicobacter pylori a metronidazol, claritromicina y amoxicilina en pacientes colombianos. Revista Colombiana de gastroenterología. 2010;25(1):31-8.
136. Henao SC, Otero W, Ángel LA, Martínez JD. Resistencia primaria a metronidazol en aislamientos de Helicobacter pylori en pacientes adultos de Bogotá, Colombia. Revista Colombiana de Gastroenterología. 2009;24(1):10-5.
137. Álvarez A, Moncayo JI, Santacruz JJ, Corredor LF, Reinoso E, Martínez JW, et al. Resistencia a metronidazol y claritromicina en aislamientos de Helicobacter pylori de pacientes dispépticos en Colombia. Revista médica de Chile. 2009;137(10):1309-14.
138. Chen J, Huang Y, Ding Z, Liang X, Lu H. E-Test or Agar Dilution for Metronidazole Susceptibility Testing of Helicobacter Pylori: Importance of the Prevalence of Metronidazole Resistance. 2021.
139. Mendz GL, Mégraud F. Is the molecular basis of metronidazole resistance in microaerophilic organisms understood? Trends in microbiology. 2002;10(8):370-5.
140. Figueroa M, Cortés A, Pazos Á, Bravo LE. Sensibilidad in vitro a amoxicilina y claritromicina de Helicobacter pylori obtenido de biopsias gástricas de pacientes en zona de bajo riesgo para cáncer gástrico. Biomédica. 2012;32(1):32-42.
141. Hirata K, Suzuki H, Nishizawa T, Tsugawa H, Muraoka H, Saito Y, et al. Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in Helicobacter pylori. Journal of gastroenterology and hepatology. 2010;25:S75-S9.

142. Raj DS, Kesavan DK, Muthusamy N, Umamaheswari S. Efflux pumps potential drug targets to circumvent drug Resistance—Multi drug efflux pumps of *Helicobacter pylori*. *Materials Today: Proceedings*. 2021;45:2976-81.
143. Matta AJ, Zambrano DC, Pazos AJ. Punctual mutations in 23S rRNA gene of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in Colombian populations. *World Journal of Gastroenterology*. 2018;24(14):1531.
144. Vakil N, Megraud F. Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*. 2007;133(3):985-1001.
145. Arévalo A, Otero W, Trespalacios AA. *Helicobacter pylori*: resistencia múltiple en pacientes de Bogotá, Colombia. *Biomédica*. 2019;39:125-34.

Anexos (En archivo PDF)