

# Erradicación de *Helicobacter pylori* en una población de alto riesgo de cáncer gástrico

Rafaela Sierra\*, Pilar Salas\*, Francisco Mora-Zúñiga\*\*, Marjorie Sanabria\*\*, Anne Chinnock\*, Salvador Peña\*\*\*, Eber Quirós\*\*, Walter Mora\*\*, Fernando Mena\*\*, Rodrigo Altman\*\*, Nubia Muñoz\*\*\*\*

## Resumen

**Objetivo:** Erradicación de *Helicobacter pylori* en pacientes dispépticos de una población de alto riesgo de cáncer gástrico.

**Antecedentes:** *H. pylori* causa gastritis crónica y úlceras pépticas; además se considera un factor de riesgo de cáncer gástrico. El tratamiento es muy controversial por la presencia de cepas resistentes, especialmente en los países en desarrollo. Costa Rica presenta una prevalencia alta de infección por *H. pylori* y es el país con mayor tasa de mortalidad por cáncer gástrico.

**Método:** En 180 pacientes dispépticos de una población de alto riesgo de cáncer gástrico, en Costa Rica, se determinó, por cultivo, tinción y ureasa rápida en las biopsias, la prevalencia de infección por *H. pylori*, y la tasa de erradicación un mes después de un tratamiento al azar con cimetidina o contra la bacteria (amoxicilina + subsalicilato de bismuto).

**Resultados:** La bacteria estaba presente en el 88,6% de los pacientes. Existe un traslape en la distribución de la frecuencia de los niveles de anticuerpos **IgG** e **IgA**, de las personas infectadas y no infectadas. Un mes después de finalizar el tratamiento sólo se había erradicado la bacteria en 28,9% de los pacientes.

**Conclusiones:** La alta probabilidad de cepas de *H. pylori* resistentes a los antibióticos y de infección y reinfección en las poblaciones tropicales, exigen evaluar los tratamientos de

erradicación, aunque éstos hayan tenido éxito en otras poblaciones. Los esfuerzos deben dirigirse a conocer la ecología y vías de transmisión de la bacteria para prevenir la infección; así como a la búsqueda de una vacuna. Los niveles de anticuerpos contra *H. pylori* no sirven para discriminar los pacientes infectados de los no infectados.

**Descriptores:** *H. pylori*, tratamiento, erradicación, poblaciones tropicales, cáncer gástrico.

## Introducción

*H. pylori* probablemente causa una de las infecciones crónicas más extendidas en el mundo. La expresión clínica de esa infección va desde la gastritis crónica y las úlceras pépticas hasta el cáncer gástrico<sup>1-4</sup>. En general, su prevalencia es más alta en los países en desarrollo, en los grupos de mayor edad y en las poblaciones con niveles socioeconómicos más bajos<sup>5,6</sup>.

Actualmente existe una gran variedad de técnicas diagnósticas para identificar a *H. pylori*. Cuando se utiliza el tejido gástrico, para el examen del tejido por tinción, cultivo de la bacteria, prueba rápida de ureasa, prueba de ADN, o estudio del tejido por PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) es necesaria la endoscopia, un procedimiento invasivo y caro. Por el contrario, la prueba de la respiración con urea (Urea breath test), serología y PCR en fluidos del cuerpo no necesitan de endoscopia y no están sujetas a error en la toma de la muestra. La elección de los métodos de diagnóstico depende de las consideraciones económicas, de las posibilidades locales y de la información clínica que se indaga<sup>4,7,8</sup>.

Esta bacteria puede evadir la vigorosa respuesta inmune que provoca y permanecer durante toda la vida del humano que la hospeda, causando diferentes grados de patología<sup>9</sup>. Sin embargo, la eliminación de la bacteria permite un mejoramiento significativo del epitelio gástrico<sup>10</sup>. Esto justifica detectar y erradicar la bacteria en pacientes con úlceras gástricas y duodenales. Por otro lado, hay gran controversia sobre el tratamiento adecuado<sup>11</sup>. Existen problemas en cuanto a las tasas de respuesta y a

\* Instituto de Investigaciones en Salud (INISA). Universidad de Costa Rica.  
\*\* Hospital Max Peralta. Caja Costarricense del Seguro Social. Cartago, Costa Rica.  
\*\*\* Facultad de Medicina. Universidad Libre de Amsterdam. Holanda.  
\*\*\*\* Agencia Internacional de Investigación en Cáncer IARC/OMS). Lyon, Francia.

Correspondencia: Rafaela Sierra. Instituto de Investigaciones en Salud (INISA). Universidad de Costa Rica.

la presencia de cepas resistentes en algunas poblaciones, sobre todo en los países en desarrollo<sup>12-14</sup>.

La prevalencia de resistencia a los antibióticos, de *H. pylori*, varía sustancialmente entre países, entre ciudades y aún en estudios consecutivos desarrollados por el mismo investigador. Esto hace concluir que las pruebas que demuestran una cura efectiva, para una terapia determinada, solo son válidas para el país o población donde fueron hechas<sup>14</sup>. También se cree importante investigar el impacto de la erradicación de la bacteria en la prevención primaria del cáncer gástrico, especialmente en poblaciones con alta prevalencia de infección y con altas tasas de cáncer gástrico<sup>15-17</sup>.

Costa Rica es uno de los países con mayores tasas de incidencia y mortalidad por cáncer gástrico. Además, el riesgo de padecer ese tumor es significativamente más alto en las poblaciones del interior del país que en las zonas costeras<sup>18-20</sup>. Por otro lado, en Costa Rica la prevalencia de infección por *H. pylori* es muy alta y se adquiere en etapas tempranas de la vida. Mas del 60% de los jóvenes entre 8 y 20 años presentan anticuerpos contra la bacteria y no existen diferencias, en la prevalencia de esos anticuerpos, entre las poblaciones de alto y bajo riesgo de cáncer gástrico<sup>21</sup>.

Presentamos un estudio que se llevó a cabo en Costa Rica en 1990, para conocer la prevalencia de la infección por *H. pylori* en pacientes dispépticos de una población de alto riesgo de cáncer gástrico y para probar un tratamiento con amoxicilina y subsalicilato de bismuto para erradicar la bacteria. Ese tratamiento había tenido algún éxito en los países desarrollados<sup>22,23</sup>. También se expone la dialéctica sobre el tratamiento adecuado, contra *H. pylori*, en los países tropicales con altas tasas de cáncer gástrico; alta prevalencia de infección por *H. pylori* y con la posibilidad de cepas resistentes a los antibióticos.

## Población y métodos

El estudio se llevó a cabo en 1990, con pacientes dispépticos, de 20 a 64 años de edad, que acudieron, para hacerse una gastroscopía, al hospital de la Seguridad Social, de la provincia de Cartago-Costa Rica. Dicho hospital cubre una población de alto riesgo de cáncer gástrico<sup>19,20</sup>.

Se excluyeron del estudio aquellos pacientes con cáncer o sospecha de cáncer, pacientes con enfermedades serias (corazón, pulmón o riñón, etc.) y mujeres en gestación o lactantes. Se eligieron a los pacientes con diagnóstico endoscópico de algún tipo de gastritis, duodenitis o úlceras pépticas.

Después de ser informados, dieron su consentimiento por escrito y participaron 180 pacientes. A cada uno se le hizo la gastroscopía; un cuestionario epidemiológico y se tomaron: cuatro biopsias del antro; una del cuerpo y una muestra de sangre. Se determinó la presencia de *H. pylori* por medio de cultivo, prueba de ureasa rápida y tinción de las biopsias. Se administró un tratamiento contra la bacteria (ver el punto Tratamiento contra *H. pylori*) solamente a los pacientes que según el cultivo de la biopsia, estaban infectados.

Cuatro semanas después de terminar ese tratamiento, se les hizo de nuevo la gastroscopía y las biopsias. Se consideró que se había erradicado la bacteria del estómago de un paciente cuando, después del tratamiento, los resultados de las tres pruebas (ureasa, tinción y cultivo), eran negativos. Es decir, no se había erradicado la bacteria si al menos una de las tres pruebas era positiva.

## Tratamiento contra *H. pylori*

A los pacientes que se les determinó *H. pylori* en el cultivo de sus biopsias se les administró un tratamiento al azar. Aquellos con números impares (orden de llegada al Servicio de Gastroenterología); se les administró 500 mg de amoxicilina, tres veces al día, durante siete días. Inmediatamente después, se les dió 300 mg de subsalicilato de bismuto cuatro veces al día durante seis semanas. Estos fármacos fueron donados por la casa comercial Newport. Los pacientes con números pares se les administró el tratamiento de rutina (cimetidina) de la Seguridad Social (CCSS).

## Cultivo de la bacteria

Las biopsias fueron cultivadas en Agar Brucella (BBL), adicionándole sangre de caballo al 10%, vancomicina (10 ug/ml), polimixina B (2,5 U./ml) y trimetropina (5 ug/ml). Los cultivos se incubaron a 37°C bajo una atmósfera microaerofílica (5-10% de oxígeno y 90-95% de una mezcla de nitrógeno y CO<sub>2</sub>) por cinco días<sup>24</sup>. Las colonias sospechosas fueron teñidas con tinción de Gram y se determinó su capacidad para producir catalasa, oxidasa y ureasa.

## Prueba de ureasa rápida

Se inoculó un macerado de una biopsia gástrica en una alícuota (0,5 ml) de una solución de urea al 6% con 0,5 de rojo de fenol. La lectura se hizo entre 1 y 10 minutos después de la inoculación. Usualmente el cambio de color (de amarillo a rosado) ocurrió antes del minuto.

## Tinción de las biopsias

Las biopsias fueron fijadas en viales con formalina y enviadas al Servicio de Patología, donde se les practicó los procedimientos histológicos de rutina. Las tinciones empleadas fueron las de Warthin-Starry modificado para espiroquetas<sup>25</sup> y la técnica de Giménez<sup>26</sup>.

## Anticuerpos contra *H. pylori*

Los anticuerpos IgG e IgA, específicos contra *H. pylori*, fueron medidos en el Hospital Universitario de Leiden, Holanda, siguiendo la técnica ELISA descrita por Peña<sup>27</sup>. Para

estandarizar la determinación de estos anticuerpos, fueron escogidas las condiciones de la prueba tales, que la absorbancia del suero estandar de referencia fuera de  $0,5 \pm 0,1$  para IgA y de  $1,0 \pm 0,1$  para IgG. Estos valores fueron usados para corregir la absorbancia dada por el suero bajo estudio. Los resultados fueron expresados como el AI:

$$AI = \frac{\text{Absorbancia promedio indicada en (n=2) del suero del paciente - Absorbancia indicada en el blanco}}{\text{Absorbancia promedio indicada en (n=2) del suero de referencia - Absorbancia promedio expresada en el blanco}}$$

Un suero con un AI mayor 0,32 para los anticuerpos IgG contra *H. pylori* era positivo por encima de 95%. Un AI mayor a 0,35 para IgA contra *H. pylori* fue positivo por encima del 95%. Bajo estas condiciones la sensibilidad y especificidad de la prueba serológica fue del 89% y 88% para IgG y de 78 y 88% respectivamente para IgA comparadas con la detección de *H. pylori* por cultivo o por la tinción Warthin-Starry<sup>27</sup>.

## Resultados

Ciento ochenta pacientes (97 hombres y 83 mujeres), con edades entre 20 y 64 años, comenzaron el estudio. El 2,7% de los pacientes entre 20 y 30 años presentaban lesiones gástricas precancerosas (gastritis crónica atrófica, metaplasia intestinal y displasia). Esas mismas lesiones aparecían en mayor proporción (15,7%) en los pacientes entre 30 y 64 años.

Estaban infectados por *H. pylori* el 88,6% del total: el 50% de los que tenían un diagnóstico histopatológico como "normal", el 92,5% de los que tenían gastritis-superficial, difusa o avanzada y el 86% de los que tenían lesiones precancerosas-gastritis crónica atrófica o metaplasia tenían la bacteria (Tabla 1).

Más del 83% de los pacientes infectados presentaban un AI para IgG e IgA, contra *H. pylori*, superiores a 0,32 y 0,35 respectivamente. También se presentaron niveles altos de IgG e IgA en los pacientes que no tenían la bacteria, 47% y 76,5% respectivamente. Estos datos muestran que existe un gran traslape, en la distribución de la frecuencia, de los niveles de anticuerpos IgG e IgA, entre las personas infectadas y no infectadas (Tabla 2).

Cuatro semanas después de finalizar el tratamiento, regresaron 81 (45%) pacientes: 43 del grupo que recibió el tratamiento de rutina del Hospital (cimetidina) y 38 del grupo que recibió amoxicilina y subsalicilato de bismuto. Se erradicó la bacteria en 1 paciente (2,3%; intervalo de confianza, CI: 0.1-12,3) de los que recibieron cimetidina y en 11 (28,9%; CI: 15,4-45,9) de los que recibieron amoxicilina y bismuto (Tabla 3). Además, no se encontraron diferencias entre los niveles de anticuerpos contra *H. pylori* entre los diferentes grupos de edad ni antes ni después de haber recibido el tratamiento contra la bacteria.

## Discusión

La prevalencia de la infección por *H. pylori* en los pacientes dispépticos es muy alta (88,6%) como también se ha encontrado en otros estudios desarrollados en otros grupos de pacientes dispépticos de Costa Rica<sup>28,29</sup>. Estudios posteriores, en pacientes entre 30 y 70 años, de la misma población, a los cuales se les tomó cuatro biopsias para determinar la bacteria, muestran una prevalencia de infección de 98%, Sierra et al., (en preparación).

Es importante destacar que los niveles de anticuerpos séricos contra *H. pylori*, son altos no solo en los pacientes infectados sino también en el 47% de los no infectados. Además, no se encontraron diferencias en el promedio y distribución de la frecuencia, de los niveles de anticuerpos de los pacientes de nuestro estudio y los de un grupo de donadores de sangre, aparentemente sanos, de la población de Costa Rica<sup>30</sup>. Estos resultados nos indican que los niveles de anticuerpos no sirven para discriminar a los pacientes infectados con *H. pylori* de los no infectados en la población de Costa Rica. Esto nos hace sospechar que los niveles encontrados, pueden estar relacionados, con la alta frecuencia de infecciones con bacterias que presentan algún grado de reactividad cruzada con *H. pylori*, tales como *Campylobacter* sp.<sup>30</sup>. Por otro lado, en un estudio desarrollado en jóvenes (7-20 años), de poblaciones de alto y bajo riesgo de cáncer gástrico en Costa Rica, se encontró una prevalencia alta de los niveles de anticuerpos séricos contra *H. pylori* en ambas poblaciones y no se encontraron diferencias significativas entre ellas<sup>21</sup>.

El haber utilizado, en los tres estudios, antígenos de cepas de otras poblaciones (Holanda), para determinar los niveles de anticuerpos, podría hacer que la prueba de anticuerpos no sea la más adecuada. La utilización de cepas locales de *H. pylori* y la validación de las pruebas permitirían resultados más precisos<sup>16,31</sup>. Es cuestionable el uso de pruebas comerciales importadas, que están utilizando laboratorios privados, para diagnosticar la infección por *H. pylori* en pacientes dispépticos de Costa Rica, si estas pruebas no han sido validadas para nuestra población.

En el presente estudio se administró un tratamiento contra *H. pylori* utilizando amoxicilina y subsalicilato de bismuto y la tasa de erradicación fue muy baja (28,9%). Usando protocolos semejantes, en algunos estudios de países desarrollados las tasas de erradicación, evaluadas mediante cultivo, fueron del 90% inmediatamente después del tratamiento y de 40% cuatro semanas más tarde<sup>23</sup>. En un estudio posterior, desarrollado por nuestro grupo, en una población semejante de la misma área geográfica, se utilizó amoxicilina, subcitrate de bismuto y metronidazol (triple terapia) y se encontraron tasas de erradicación mucho menores a las del presente estudio (10,8%) (Sierra et al., en preparación). En poblaciones de países desarrollados las tasas de erradicación, usando los mismos fármacos, fueron entre 60 y 90%<sup>23,32</sup>. Aunque estos tratamientos

**TABLA 1**  
Prevalencia de infección por *H. pylori* y diagnóstico histopatológico. Frecuencia y (%)

Diagnóstico	Presencia	Ausencia	Total
Normal	6 (50,0)	6 (50,0)	12 (100)
Gastritis S,D y F*	124 (92.5)	10 (7.5)	134 (100)
GCA y metaplasia I	25 (86.2)	4 (13.8)	29 (100.0)
Total	155 (88.6)	20 (11.4)	175 (100.0)

\* Gastritis superficial, difusa y folicular.

**TABLA 2**  
Niveles de anticuerpos IgG e IgA contra *H. pylori* en pacientes dispépticos

<i>H. pylori</i>	n	Anti-IgG		Anti-IgA	
		AI ≥ 0,32	X ± SD	AI ≥ 0,35	X ± SD
Presente	119	84,0 %	61,4+26,0	83,2 %	67,9+43,7
Ausente	17	47,1 %	37,1+34,9	76,5 %	56,4+46,7

**TABLA 3**  
Efecto del tratamiento en la erradicación de *H. pylori*

Tratamiento	Presente n	<i>Helicobacter pylori</i>		I.C.95%
		Ausente n	Erradicación (%)	
Cimetidina	42	1	2.3	(0.1-12.3)
Amoxicil.+bismuto	27	11	28.9	(15.4-45.9)

no son los más recomendados en la actualidad, fueron usados en otros momentos y dieron resultados diferentes dependiendo de las poblaciones donde fueron usados.

En Venezuela se utilizó amoxicilina y subsalicilato de bismuto y sólo se logró erradicar la bacteria en un 6,5% de la población estudiada. En esa población también se encontró alta prevalencia de cepas resistentes al metronidazol<sup>13,33</sup>. Se sospecha que en Costa Rica, como en muchos países tropicales, existen cepas resistentes a los antibióticos especialmente al metronidazol<sup>12,34</sup>.

La gran diversidad y abundancia biológica del trópico y la situación socioeconómica hace que las poblaciones presenten, desde la niñez, alta prevalencia de infecciones y para combatir las se ha usado, mal usado y abusado de los antibióticos. Este hecho podría ser una de las explicaciones a la resistencia de las cepas de *H. pylori* de la población de Costa Rica y otros países tropicales. Por otra parte, debe tenerse en cuenta la complejidad del tratamiento: varios fármacos, varias veces al día, durante un período relativamente largo y con algunos efectos secundarios. Esas condiciones requieren mucha disciplina y compromiso por parte de los pacientes.

En Costa Rica y otros países tropicales, las tasas de incidencia y mortalidad por cáncer gástrico son altas. Se podría pensar en la erradicación de *H. pylori* como un medio para disminuir el riesgo de cáncer gástrico<sup>35</sup>. Sin embargo, la presencia de cepas resistentes a los antibióticos, la alta prevalencia de infección, la fácil reinfección y el costo cuestionan la utilización de cualquier tratamiento que no sea eficiente y duradero, en la erradicación de *H. pylori*. Se hace necesaria la búsqueda de soluciones eficientes y factibles para estas poblaciones. Las acciones deberán dirigirse a conocer las vías de transmisión para prevenir la infección, así como a buscar una vacuna.

## Abstract

**Objective:** To eradicate *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients from a population at high-risk of gastric cancer.

**Background:** *H. pylori* causes chronic gastritis and peptic ulcers and is considered a risk factor for gastric cancer. Treatment is very controversial due to the presence of resistant strains particularly in developing countries. Costa Rica has a high prevalence *H. pylori* infection and has the highest mortality rates for gastric cancer.

**Methods:** 180 dyspeptic patients from a high-risk area for gastric cancer in Costa Rica were tested for *H. pylori* infection, using a culture, stain and rapid urease test on the biopsies. Those found to be infected were assigned randomly to one of two treatment groups: cimetidine or a combination of amoxicillin and bismuth subcitrate to eradicate the bacteria. The rate of eradication of *H. pylori* infection was determined one month after treatment in both groups.

**Results:** The bacteria was present in 88.6% of the patients and an overlap was seen in the frequency distributions of IgG and

IgA antibody levels from the infected and non-infected groups. *H. pylori* infection was eliminated in only 28.9% of the patients who received treatment for the bacteria.

**Conclusion:** Due to resistance to antibiotics, and the high probability of infection and reinfection in tropical countries, treatment for *H. pylori* infection needs to be reconsidered despite having proved successful in other populations. Research efforts should be directed towards the ecology and transmission routes of this bacteria in order to prevent infection and to the search for a vaccine.

## Reconocimientos

Este estudio ha sido posible gracias al apoyo financiero de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, las Compañías Farmacéuticas CEFA y Newport de Costa Rica y al apoyo e infraestructura del Hospital Max Peralta y a la colaboración de la técnica de gastroenterología Dña. Luz Solano. Agradecemos también las sugerencias de los Dres. Rolando Herrero y Bruno Lomonte al manuscrito.

## Referencias

1. Forman D, Newell DGH, Fullerton F, et al., Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *Brit Med J* 1991; 302:1302-5.
2. Blaser JM. *Helicobacter pylori*: Its role in Disease. *Clinical Infectious Diseases*, 1992; 1:386-9.
3. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res*, 1992; 52:6735-6740.
4. Dunn B.E., H. Cohen and M.J. Blaser. *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997; 10 (4):720-741.
5. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiol Rev*. 1991; 13:42-59.
6. Misiewicz JJ. *Helicobacter pylori*: Past, Present and Future. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 Suppl 194:25-29.
7. Glupczynski Y. Diagnóstico microbiológico de la infección por *Helicobacter pylori*. En: López-Brea M. ed. *Helicobacter pylori*. Microbiología, clínica y tratamiento. Madrid: Mosby/Doyma Libros, 1995:54-72.
8. Lee A., Megraud F. *Helicobacter pylori*: techniques for clinical diagnosis & basic research. Ed. W.B Saunders Company Ltd. London, England, 1996.
9. Fauchère J.L. Evaluation of the anti-*Helicobacter pylori* serum antibody response. In: Lee A. and Mégraud F. ed. *Helicobacter pylori*: techniques for clinical diagnosis basic research. London: W.B. Saunders Company Ltd, 1996: 50-69.
10. National Institutes of Health (NIH). Consensus conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*, 1994; 272: 65-69.

11. Blaser J. M. The bacteria behind Ulcers. Scientific American, 1996, February 103:104-107.
12. Glupczynski Y., Burette A., De Koster E., et al., Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. The Lancet, 1990; 335:976-977.
13. Buiatti E, Muñoz N, Vivas J et al., Difficulty in eradicating *Helicobacter pylori* in a population at high risk for stomach cancer in Venezuela. Cancer Causes Control 1994; 5: 249-254.
14. De Boer WA and Tytgat GNJ, How to treat *Helicobacter pylori* infection - should treatment strategies be based on testing bacterial susceptibility? A personal viewpoint. Review. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 1996; 8:709-716.
15. Hwang H., Dwyer J. and Russell R.M. Diet, *Helicobacter pylori* infection, Food Preservation and Gastric Cancer Risk: Are There New Roles for preventive Factors?. Nutrition Reviews, 1994; 52:75-83.
16. Muñoz N. and Pisani, P. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. European Journal of Gastroenterology and Hepatology 1994; 6:1097-1103.
17. Tytgat G.N. Long-Term Consequences of the Eradication. Scand J Gastroenterol, 1994; 29 Suppl 205:38-44.
18. Sierra R., Barrantes R., Epidemiology and ecology of gastric cancer in Costa Rica. Bull Pan Am Health Organ 1983; 17 (4):343-354.
19. Sierra R., Parkin M.; Muñoz G; Bieber C. Cancer in Costa Rica. Cancer Research, 1989; 49: 717-724.
20. Sierra R., Rosero-Bixby L. et al. Cáncer en Costa Rica. Epidemiología descriptiva. Editorial de la Universidad de Costa Rica, 1995. Costa Rica.
21. Sierra R., Muñoz N., Peña S., Biemond I., Van Puigjn et al. Antibodies to *Helicobacter pylori* and pepsinogen levels in children from two populations at different risk for stomach cancer in Costa Rica. Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 1992; 1:449-454.
22. Weil J., Bell GD., Jones P.H: Gant P, Trowell JE., Harrison G. "Eradication" of *Campylobacter pylori*: Are we being misled?. Lancet, 1988; 1245.
23. Raws E.A.S., Tytgat G.N.S. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *H. pylori*. Lancet 1990; 335:123-125.
24. Skirrow M.G. *Campylobacter ententis* a new disease. Britis Medical Journal, 1977; 2:9.
25. Garvey W., Fathi A., Bigelow F. Modified Steiner for the demonstration of spirochetes. J. Histotech. 1985; 8(1):15-17.
26. McMullen L., Walker MM. Bain LA. Histological identification of *Campylobacter* using Gimenez technique in gastric antral mucosa. J. Clin . Pathol. 1987; 40:464-465.
27. Peña AS., Endtz HP, OfferhausGJA., Hoogenboom A., van Duijin W., et al., Value of Serology (Elisa and Immunoblotting) for the Diagnosis of *Campylobacter pylori* Infection. Digestion, 1989; 44:131-141.
28. Sigarán M.F., F.Hernández, P.Rivera, J.Miranda, M.Aguilar y O. Rodríguez. Incidencia de *Helicobacter pylori* en la consulta endoscópica de un hospital costarricense. Patología , 1992; 30: 15-19.
29. Morera B., Sierra R., Barrantes R., et al., *Helicobacter pylori* in a Costa Rican dyspeptic patient population. European Journal of clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1994; 13:253-258.
30. Bartels G, Herrera A, Salas P, Sierra R, Lomonte B. Antibodies to *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients, asymptomatic adults, and children from Costa Rica. APMIS 1995; 103:1-5.
31. Muñoz N. Is *Helicobacter pylori* a Cause of Gastric Cancer?. An Appraisal of the Seroepidemiological Evidence. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 1994; 3:445-451.
32. Fennerty MB. *Helicobacter pylori*. Arch. Intern Med, 1994; 154:721-727.
33. Sanjosé de S., Muñoz N., Sobala G. Antioxidants, *Helicobacter pylori* and stomach cancer in Venezuela. European Journal of Cancer Prevention, 1996; 5:57-62.
34. Mera S.L. Peptic ulcers and gastric cancer. Br J Biomrd Sci, 1995; 52:271-281.
35. Parsonnet J., Vandersteen DP., Goates J., Sibley RK., Pritin J and Chang Y. *Helicobacter pylori* in intestinal-Diffuse-Type Gastric Adenocarcinomas. Journal of the National Cancer Inst, 1991; 83:640-643.