

Bacterias espiraladas en el Estómago Humano: Helicobacter Gástrico

Andre Dubois, M.D., Ph.D.²

*Digestive Diseases Division, Department of Medicine,
Uniformed Services University of the Health Sciences Bethesda, Maryland, USA*

Durante la década pasada, el Helicobacter pylori llegó a ser reconocido como uno de los patógenos humanos más comunes, colonizador de la mucosa gástrica de casi todas las personas expuestas a condiciones higiénicas pobres desde la niñez. También se encuentra habitualmente, aunque con una frecuencia menor, en grupos de condición socio-económica alta. H. pylori ocasiona gastritis activa crónica y es un factor importante en la patogénesis de las úlceras duodenales y, en menor alcance, úlceras gástricas. Además, la presencia de esta bacteria se reconoce ahora como un factor de riesgo para el adenocarcinoma gástrico y el linfoma. No obstante, la mayoría de las infecciones aparecen sin consecuencias clínicas. En esta segunda década de investigación intensiva, es importante comprender por qué el H. pylori es a veces un patógeno peligroso, y para determinar como puede erradicarse en esos el riesgo altísimo de enfermedad severa.

Al final del siglo XIX, varios tipos de spirochaetas y espirilos se observaron por primera vez en el estómago de animales (1,2). Al principio del siglo XX, bacterias espirales similares se encontraron en especímenes de gastrectomías de pacientes con cáncer gástrico y enfermedad de úlcera péptica (3,4). Además, los gastroenterólogos y los cirujanos notaron pero no podían explicar la casi presencia universal de gastritis antral en pacientes con úlceras duodenales y la presencia frecuente de gastritis atrófica en pacientes con cáncer y úlcera gástrica. No obstante, la posibilidad que la enfermedad de úlcera péptica o el cáncer gástrico podría ser ocasionado por un agente infeccioso fue generalmente desatendida. La observación hecha en 1975 en que bacterias Gram negativas estuvieron presentes en el 80% de pacientes con úlcera gástrica (5) fue ignorada principalmente por la comunidad científica que, en ese momento, diligentemente desarrollaron potentes agentes antiulcerosos (6). El escepticismo prevaleció a la reacción abrumadora de los informes de 1983 que describen la asociación frecuente entre la gastritis antral y la presencia de bacterias Campylobacter-like (7), así como también de su cultivo y aislamiento de pacientes con gastritis (8). Una reacción similar siguió a la demostración subsiguiente que estas bacterias Campylobacter-like estaban presentes en casi todos los pacientes con úlceras gástricas y duodenal, y se asociaron generalmente con gastritis

antral (9). En la década pasada, sin embargo, un número de estudios ha confirmado y extendido estas observaciones iniciales. Un consenso que observa el importante papel de esta bacteria, ahora llamada *Helicobacter pylori*, en ocasionar ulceración gastroduodenal se presentó formalmente en 1994 (10). Además, en Junio de 1994, la International Agency for Research on Cancer Working Group afirmó, «*H. pylori* juega un papel causal en la cadena de sucesos que conducen al cáncer,» refiriendo al adenocarcinoma y al linfoma de estómago así como también a los más benignos tejidos linfoide asociados a la mucosa (MALT) (11-13).

Una consecuencia importante del considerable interés generada por estas observaciones clínicas es que estudios bacteriológicos y moleculares extensivos se han realizado en esta bacteria y organismos similares. El análisis de la secuencia del gen 16S rRNA ha revelado diferencias importantes entre el *H. pylori* y los géneros estrechamente conexos, *Campylobacter*, *Flexispira*, y *Wolinella*. Estas diferencias han necesitado la creación del género *Helicobacter*, que, hoy día, incluye ocho especies gástricas, tres intestinales, y dos hepáticas (14). Cada uno de estas especies de *Helicobacter* colonizan diferentes especies mamíferas o un espectro de éstas.

Esta revisión resume nuestro conocimiento actual de dos especies de *Helicobacter* que han sido observadas en el estómago humano e informadas extensamente en la literatura: *H. pylori*, la cepa de tipo, y *H. heilmannii*, también conocido como *Gastrosprillum hominis* (15,16).

²Dirección para correspondencia:

Andre Dubois, Department of Medicine, Uniformed Services University, 4301 Jones Bridge Road, Bethesda, MD 20814-4799, USA; fax: 301-295-3676 or -3557; e-mail dubois@usuhsb.usuhs

Características de los Helicobacter gástricos observados en humanos

H. pylori, una bacteria Gram negativa con forma curva, espiral, o en forma alargada, mide 2,5 a 3,5 μm de longitud y 0,5 a 1,0 μm de diámetro y tiene una periodicidad de 1 a 2 μm . Tiene superficie lisa, y uno a seis flagelos polares envueltos que emergen de uno de sus extremos redondeados. Desde que es morfológicamente parecido al *C. jejuni*, se lo llamó inicialmente «*Campylobacter* pilórico» y subsecuentemente *C. pyloridis* y *C. pylori* antes de ser finalmente nombrado *H. pylori*. Este organismo coloniza sólo la mucosa no secretora de ácido del estómago y no se encuentra en donde las células parietales son numerosas. Así, puede observarse en el antrum gástrico y el cardias, pero también en el corpus, cuando está presente la gastritis atrófica, y pegado a las células epiteliales gástricas encontradas en el duodeno, cuando está presente la metaplasia gástrica.

G. hominis (*H. heilmannii*) es finamente espiralado, y tiene 3,5 a 7,5 μm en longitud y 0,9 μm de diámetro; tiene una periodicidad de 0,8 a 1 μm y hasta 12 flagelos en cada polo. El rRNA de 16S indica que este organismo pertenece al género *Helicobacter*, y está más estrechamente relacionado al *Helicobacter* sp. aislado del estómago de gatos (*H. felis*) que a *H. pylori* (17). El nombre *H. heilmannii* se propuso en honor del patólogo Alemán Heilmann. Sin embargo, el examen subsiguiente del rRNA de diferentes aislamientos clínicos indica que hay heterogeneidad suficiente entre aislamientos tentativamente identificados como *H. heilmannii* que es prematuro para proponer un nombre oficial (17). Esta bacteria coloniza sólo el área parietal de la célula de la mucosa gástrica y puede encontrarse dentro de las células parietales (18,19).

Diagnóstico

La infección por *H. pylori* puede ser diagnosticada por obtención de muestras de biopsias gástricas durante la endoscopia, por cultivo y aislamiento de la bacteria bajo condiciones microaeróbicas (90% N_2 , 5% O_2 , y 5% CO_2), y caracterizando las enzimas (ureasa, catalasa, y oxidasa) que produce. La visualización de la bacteria por microscopía de luz sobre portaobjetos teñidos con hematoxilina y eosina, Gram, Giemsa, Genta, o Warthin-Starry es también de gran beneficio ya que permite el diagnóstico concurrente de la extensión de la gastritis crónica antral activa que causa *H. pylori*. Sin embargo, debido a que la colonización por *H. pylori* es focal, los resultados de una biopsia negativa no excluyen la posibilidad de infección en áreas no estudiadas. La infección también puede ser diagnosticada por los niveles de inmunoglobulinas (Ig G o IgA) determinantes en plasma y saliva por medio de en-

sayos inmuno enzimáticos (20,21). Esta última técnica específica y sensible es no invasiva, y se considera que refleja la inmunidad de la mucosa y sistémica inducida por la infección del *H. pylori*.

Otras dos pruebas, que se basan en la producción de ureasa, también pueden usarse para identificar el *H. pylori*. Uno es la prueba de CLO (del Inglés *Campylobacter*-like organisms), que se realiza colocando una muestra de biopsia de mucosa en el medio que contiene urea y un colorante sensible al pH que cambia de color ante la presencia de iones OH^- . La segunda prueba no invasiva es la del aliento ^{14}C o ^{13}C seguido de la administración oral de urea ^{14}C o ^{13}C . Ninguna de estas pruebas es específica para *H. pylori* ya que *G. hominis*, que genera ureasa, también da una reacción positiva. Hasta que estén ampliamente disponibles métodos específicos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de ampliación del rRNA 16S (17), el diagnóstico de la infección por *G. hominis* debe confiarse en las características morfológicas histológicas; la identificación histológica debe ser confirmada por microscopía electrónica de transmisión ya que otros organismos espirales, p. ej., *Flexispira rappini*, también pueden estar presente en el estómago de los humanos (22).

Epidemiología

La seroepidemiología del *H. pylori* ha sido estudiada extensivamente en los Estados Unidos y en otros países (23). La alta frecuencia de seropositividad (de hasta 100% en algunos grupos de edad en Albania) y la adquisición de la infección durante la infancia son características de grupos socio-económicos pobres que viven en condiciones higiénicas hacinados o pobres y parece ser independiente de género y el origen étnico. En adultos de grupos socio-económicos más altos, el valor de seroconversión se estima en 0,5% al año, aunque la frecuencia de seropositividad aumentó con la edad y puede ser tan alta como 40%. Un estudio longitudinal ha indicado que la alta frecuencia de seropositividad en adultos mayores puede ser debido a un valor más alto de infección *H. pylori* en países Occidentales en los años entre las dos guerras mundiales que durante años recientes (efecto de asociación o grupal) (24). Alternativamente, el aumento en la frecuencia de infección en adultos mayores podría ser debido a años de bajo riesgo pero de efecto acumulativo de infección. Aunque la ruta de transmisión para esta infección no se conoce, la contaminación de agua potable puede jugar un papel en ciertos países en desarrollo (25). En los Estados Unidos y en otras regiones, el contacto directo y/o el consumo de alimento o agua contaminada por saliva (26), contenidos gástricos, o excrementos (27) pueden ser factores importantes. La reciente observación que *H. pylori*

puede aislarse de gatos (28) sugiere que esa transmisión de animales al hombre (o de humanos a animales) es también posible.

La epidemiología y la ruta de transmisión de *G. hominis* son en gran parte desconocidas. La frecuencia de esta infección parece extenderse desde menos del 1% de la población en países industrializados (29) al 3% a 8% en países en desarrollo (30). Aunque la detección de espirilos en el estómago de gatos y perros sugiere la posible transmisión desde los animales, existen marcadas diferencias morfológicas entre este espirilo y los organismos encontrados en el estómago de humanos.

Patogenicidad

H. pylori se considera un patógeno porque su presencia se asocia siempre con gastritis activa crónica, y la erradicación de la bacteria es seguida siempre por la resolución de la gastritis. Además, casi todos los pacientes con enfermedad de úlcera duodenal tienen gastritis por *H. pylori*, y la recaída de la úlcera es excepcional después de la erradicación del *H. pylori*. Así, la presencia de *H. pylori* parece necesaria para la producción de úlcera duodenal, con la excepción de la úlcera atribuida al uso de agentes antiinflamatorios no esteroides o al síndrome de Zollinger-Ellison (10). La asociación con úlcera gástrica no es tan fuerte, aunque la infección por *H. pylori* está presente en el 80% de los pacientes con úlceras gástricas que no consumen agentes antiinflamatorios no esteroides (10). Sin embargo, la mayoría de las personas infectadas con *H. pylori* no presentan ningún síntoma clínico. Esto puede ser debido a que personas son colonizadas por cepas menos virulentas o porque se requiere otro huésped o cofactores bacteriológico para que se manifieste la enfermedad.

Además, tres estudios prospectivos de cohort (grupo) han demostrado que las personas infectadas con *H. pylori* tienen un riesgo aumentado de desarrollar un adenocarcinoma gástrico tipo intestinal, pero no indiferenciado (10). De hecho, la asociación del *H. pylori* con la úlcera gástrica o con el cáncer gástrico puede subestimarse en estos estudios: la gastritis atrófica que sigue a la infección a largo plazo hace el nicho gástrico menos hospitalario para la bacteria, que puede tanto eliminar al *H. pylori* o lo hace difícil de detectar. No obstante, la gastritis atrófica *per se* se cree debida a una lesión precancerosa que conduce a carcinogénesis sin la presencia del *H. pylori*.

La patogenicidad de *G. hominis* es incierta. El organismo ha sido asociado con desorden gastrointestinal superior, y al portarlo se acompaña generalmente de gastritis, aunque la inflamación y la atrofia gástrica son menos observadas con *H. pylori* (31,32). Además, *G. hominis*

fue observado en pacientes con cáncer gástrico (3) así como también en pacientes con sólo gastritis mínima (29). En este número relativamente pequeño de casos, la infección concurrente frecuente con *H. pylori* hace difícil interpretar el rol patogénico respectivo de las bacterias. Es probable que *G. hominis* resultará ser por lo menos algo patogénica, como produce ureasa y productos de la acción de la ureasa que han sido implicados en la inflamación.

Colonización y Factores de Virulencia

H. pylori se multiplica con gran eficiencia en el ambiente hostil del estómago pero sobrevive pobremente en el lumen gástrico; se encuentra principalmente donde los rangos de pH van entre 4 y 7, p. ej., debajo la capa mucosa y en la proximidad cercana, o aún adjunta, a las células epiteliales gástricas superficial. La virulencia y el nicho ecológico de *G. hominis* son desconocidos, aunque su presencia dentro de células parietales de pacientes con desórdenes gastrointestinales (18,19) sugiere que es aun más resistente al ácido que *H. pylori*.

La producción de ureasa fue el primer factor putativo de virulencia o colonización estudiado. La producción de esta enzima es compartida por los dos organismos, y puede explicar su extraordinaria capacidad para sobrevivir en un ambiente anteriormente considerado estéril a causa de la presencia de enzimas proteolíticas, así como también por el bajo pH de los contenidos gástricos. Debido a que los nichos ecológicos de estas bacterias son ricos en urea, la ureasa genera iones OH⁻ que neutralizan el ácido gástrico. Aunque la neutralización de los ácidos gástricos beneficia a las dos bacterias, la producción de iones hidróxidos también es tóxica para las células epiteliales gástricas *in vivo*, como está indicado por experimentaciones *in vitro* (33).

Los otros dos factores importantes de virulencia compartidos por *H. pylori* y *G. hominis* son su forma espiral y la motilidad de sus flagelos, que los torna resistentes al flujo peristáltico de los contenidos gástricos y les permite persistir en la capa mucosa. Debido a que *G. hominis* parece infectar a menos personas que *H. pylori*, un papel más importante podría ser atribuible a las características que son únicas a *H. pylori*; estas incluyen la producción de otras enzimas (catalasa, oxidasa, proteasa, y fosfolipasa), así como también a la síntesis de proteínas adhesinas específicas que les permiten adherirse a la mucosa y a las células epiteliales, ambos *in vivo* e *in vitro* (34-36).

El factor putativo de virulencia de *H. pylori* que ha comandado la mayor atención durante los pasado últimos años han sido su citotoxina vacuolizante (producto del gen *vacA*). La admi-

nistración intragástrica de la toxina a los ratones ocasiona algunos (pero no todos) de los daños de tejido vistos en las personas infectadas por *H. pylori* (37). Además, la producción de citotoxina se correlaciona altamente con la producción de una importante proteína antigénica de peso molecular alto (120 a 128 kilodaltons) que se llama proteína asociada a la citotoxina (cagA) y no es la toxina en sí misma (38).

La diversidad del *H. pylori*

Los aislamientos de *H. pylori* pueden diferir con respecto a cada uno de los factores de virulencia descritos arriba; esta diversidad probablemente es para contribuir a la variación en la colonización o la enfermedad. Por ejemplo, las cepas ureasa negativas han sido aisladas, y la citotoxina vacuolizante es producida por sólo un subconjunto de cepas de *H. pylori* (cepas vacA+ o tox+) (39-41). Esta observación es probable que sea clínicamente relevante porque la mayoría de todas las cepas de pacientes con úlceras duodenales, y muchas cepas de pacientes con cáncer gástricos, producen citotoxinas, mientras que sólo una fracción de las cepas de pacientes con gastritis sola producen citotoxina (42,43). Esta diversidad fenotípica se refleja en la gran diversidad a nivel del DNA. Así, sólo las cepas productoras de citotoxina contienen el gen para esta proteína asociada citotoxina (cagA) (38,42), aunque las pruebas genéticas han mostrado que la proteína cagA no es necesaria para la producción de toxina (44). Las cepas que no producen la proteína de 128-kDa cagA generalmente carece del gen cagA entero y de genes vecinos adicionales. Aunque la función de la región cagA es desconocida, su presencia o ausencia es marcada fácilmente por hibridación o PCR y así sirve como un marcador fácil para la producción probable de citotoxina y posible virulencia de cepas de *H. pylori*. Otros factores de virulencia probablemente están presentes. Por ejemplo, otra región recientemente descubierta constituye una del genoma de por lo menos 21 kilobases de *H. pylori* en experimentos de hibridación, y su presencia se correlaciona altamente con la presencia de cagA: 39 de 40 cepas que carecen de cagA también carece de esta región, y 50 de 52 cepas que contienen cagA poseía esta región. Esta región recientemente descubierta está siendo llamada cagII, y el esfuerzo a secuenciarla está casi completo (D. E. Berg, com. pers.). Las búsquedas preliminares han identificado varios marcos abiertos de lectura con fuerte homología a funciones de virulencia desde otros microbios (45).

Además de estos genes extensamente estudiados, la diversidad genética de varias cepas de *H. pylori* pueden ser demostradas por el uso de dos métodos sensibles, eficientes y confiables basados en PCR (46,47). Este enfoque es parti-

cularmente útil porque permite trazar estudios epidemiológicos de las cepas.

La infección y la Respuesta Inmune

Uno de los aspectos más confusos de la infección gástrica con *H. pylori* es su persistencia a pesar de la intensiva respuesta inmune local y sistémica. Estas respuestas inmunes son sumamente complejas y varían entre los humanos infectados. La respuesta sistémica está caracterizada por un aumento marcado en la IgG plasmática, que permanece presente por meses después que la infección se ha curado. La respuesta local incluye la producción de IgA, que se pega a la superficie antigénica de *H. pylori in vitro* y cubre a la bacteria *in vivo*. Además, la infección se asocia consistentemente con una respuesta inflamatoria intensa y la infiltración de células de la mucosa gástrica. Aunque las células polimorfonucleares están frecuentemente presentes, la mayoría de las células en tal infiltrado son células mononucleares. Ambas células B y T están presentes, y estudios recientes han indicado que la actividad de los linfocitos *natural killer* de la sangre periférica pueden estar aumentados por el *H. pylori*, posiblemente por su estimulación en la producción de interferón y otras citoquinas (48). Así, el portador de largo plazo de la infección puede estar relacionado a la capacidad de la bacteria para influir la respuesta de T-cell. La evidencia fragmentaria también sugiere que esta infección puede ser abortiva y curar espontáneamente sin el uso de antibióticos (A. Dubois y D. E. Berg, inédito).

Por otra parte, la respuesta de la mucosa puede promover la colonización, como lo indica la observación que los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) tienden a tener un valor inferior de infección que los sujetos ancianos-equiparados quienes son negativos para el virus de la inmunodeficiencia adquirida humana (49,50). El estudio posterior (50) también demostró que esos pacientes con SIDA tuvieron un modelo diferente de gastritis, caracterizado por una mayor respuesta de células mononucleares, menos folículos linfoides, y una preponderancia mayor de metaplasia intestinal. La respuesta inmune puede prevenir también la invasividad del *H. pylori*, como se sugiere por la observación anecdótica pero confusa de infección invasiva por *H. pylori* en un paciente con SIDA (51).

Tratamiento

Aunque el *H. pylori* es sensible a muchas drogas antimicrobianas *in vitro*, es difícil erradicarlo del estómago. Esto puede ser asociado a la falla del antibiótico por el ácido gástrico, la limpieza por vaciado gástrico, y la difícil penetración

de la capa mucosa en que la bacteria está radicada. La resistencia del *H. pylori* a antibióticos específicos, especialmente metronidazole, es frecuente también. Por lo tanto, se acepta generalmente que una combinación de por lo menos dos, y posiblemente tres, agentes antimicrobianos deberían darse por un mínimo de 1 semana. El régimen hallado como muy efectivo es la administración de amoxicilina (o tetraciclina) más metronidazole y subsalicilato de bismuto 2 a 4 veces por día por 2 a 3 semanas (52). El uso de un antibiótico asociado con un agente antisecretorio, tal como un antagonista del receptor de histamina H₂, ha dado resultados desilusionantes. En contraste, la combinación de un inhibidor de bomba de protones (antagonista de H⁺-K⁺ ATPasa) con amoxicilina o macrólidos ácido estables (claritromicina o roxitromicina) parece más prometedor; un número de estudios están siendo realizados para determinar la dosis óptima, la duración, terapia concomitante, y costo-eficacia de estos compuestos (53,54). Recientemente, se mostró que por lo menos un curso de 7 días de cualquiera de estos regímenes se requieren para obtener un alto (90%) valor de curación, pero que el tratamiento continuo por más de 10 días no mejora significativamente su eficacia. Finalmente, la terapia local por 1 h fue recientemente realizado con resultados óptimos, aunque en un solo centro en este momento (55). Este tratamiento involucra una administración por 2 días de un agente mucolítico para disolver la capa mucosa y de un inhibidor de bomba de protones. Sobre el tercer día, un balón es introducido en la segunda porción del duodeno debajo del control fluoroscópico, y una solución de pronasa, amoxicilina, metronidazole, y subsalicilato de bismuto se inyecta en el estómago, donde se deja por 1 h. La presencia del balón duodenal parece prevenir el vaciado de los antibióticos y del agente mucolítico, asegurando así la eficacia máxima de la terapia.

Investigación Futura

Los pasados 12 años han visto un progreso amplio en la investigación sobre *H. pylori* como una causa de gastritis activa crónica, enfermedad de úlcera duodenal, y cáncer gástrico. Esto ha sido principalmente debido a una colaboración inusitada entre gastroenterólogos, patólogos, genetistas moleculares, bacteriólogos, e inmunólogos. Sin embargo, nuestra comprensión de como *H. pylori* coloniza y ocasiona enfermedades está lejos de ser completa, y se beneficiará de los estudios desempeñados en modelos animales que pueden ser experimentalmente infectados con *H. pylori* (56-59). Además, ningún tratamiento administrado fácilmente que conduzca a la erradicación de esta bacteria en todos los pacientes está aún disponible, aunque un mejor

conocimiento de su fisiología puede conducir al desarrollo de una «bala de plata.» Los estudios en animales que no son infectados naturalmente con *H. pylori* sugieren las posibilidades para vacunas (56,57), y los ensayos en proceso en primates no humanos exploran la posibilidad de inmunizar huéspedes que pueden infectarse naturalmente con este organismo. Aunque la eliminación de la enfermedad úlcera péptica y de ciertas formas de cáncer gástrico requerirá esfuerzos semejantes y extensos de autoridades de salud pública, esta meta ahora parece estar dentro del alcance de la comunidad médica y científica.

Agradecimientos

El autor agradece a los Drs. P. Baker y D.E. Berg por sus útiles sugerencias y comentarios durante la preparación de esta revisión.

El Dr. Dubois es Profesor de medicina y cirugía (investigación), subdirector, Digestive Diseases Division, y jefe, Laboratory of Gastrointestinal and Liver Studies, F. Edward Herbert School of Medicine of the Uniformed Services University of the Health Sciences, Bethesda, Maryland. Estudia la fisiología y patofisiología de la secreción gástrica y vaciado gástrico así como también el papel de la infección gástrica con el H. pylori en enfermedades gastroduodenales.

Referencias

1. Rappin J. Contribution à l'étude de bactéries de la bouche à l'état normal. 1881. Quoted by Breed RS, Murray EGD, Hitchens AP, Bergey's manual of determinative bacteriology, 6th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1948;217.
2. Bizzozero G. Sulle ghiandole tubulari del tube gastroenterico e sui rapporti del loro coll'epitelio de rivestimento della mucosa. *Atti R Accad Sci Torino* 1892;28:233-51.
3. Krienitz W. Ueber das Auftreten von Spirochäten verschiedener Form im Mageninhalte bei Carcinoma ventriculi. *Dtsch Med Wochenschr* 1906;28:872-89.
4. Freedburg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. *Am J Dig Dis* 1940;7:443-5.
5. Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975;16:590-7.
6. Black JW, Duncan WAM, Durant CJ, Ganellin CR, Parson EM. Definition and antagonism of histamine H₂ receptors. *Nature* 1972;236:384-90.
7. Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;i:1273.
8. Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;i:1273-5.
9. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;i:1311-5.
10. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 1994;272:65-9.
11. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991;325:1127-31.
12. Nomura A, Stemmerman GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma in a population of Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991;325:1132-6.
13. Isaacson PG, Spencer J. Is gastric lymphoma an infectious disease? *Hum Pathol* 1993;24:569-70.
14. Fox JG, Yan LL, Dewhirst FE, et al. *Helicobacter bilis* sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers,

- and intestines of aged, inbred mice. *J Clin Microbiol* 1995;33:445-54.
15. Heilmann KL, Borchard F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: clinical, histological and ultrastructural findings. *Gut* 1991;32:137-40.
 16. McNulty CAM, Dent JC, Curry A, et al. New spiral bacterium in gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1989;42:585-91.
 17. Solnick JV, O'Rourke J, Lee A, Tompkins LS. Molecular analysis of urease genes from a newly identified uncultured species of *Helicobacter*. *J Infect Dis* 1993;168:379-83.
 18. Rollason TP, Stone J, Rhodes JM. Spiral organisms in endoscopic biopsies of the human stomach. *J Clin Pathol* 1984;37:23-6.
 19. Dye KR, Marshall BJ, Frierson HF, Guerrant RL, McCallum RW. Ultrastructure of another spiral organism associated with human gastritis. *Dig Dis Sci* 1989;34:1787-91.
 20. Perez-Perez GI, Dworkin BM, Chodos JE, Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988;109:11-7.
 21. Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman PM. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 1990;322:359-63.
 22. Archer JR, Romero S, Ritchie AE, et al. Characterization of an unclassified microaerophilic bacterium associated with gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 1988;26:101-5.
 23. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiol Rev* 1991;13:42-59.
 24. Cullen DJE, Collins BJ, Christiansen BJ, et al. When is *Helicobacter pylori* infection acquired? *Gut* 1993;34:1681-2.
 25. Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith EO. Gastrointestinal Physiology Working Group. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet* 1991;337:1503-6.
 26. Ferguson DA, Li C, Patel NR, Mayberry WR, Chi DS, Thomas E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. *J Clin Microbiol* 1993;31:2802-4.
 27. Thomas JE, Gibson CR, Darboe MK, Dale A, Weaver LT. Isolation of *H. pylori* from human faeces. *Lancet* 1992;340:1194-5.
 28. Handt LK, Fox JO, Dewhirst FE, et al. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infect Immun* 1994;62:2367-74.
 29. Mazzuchelli L, Wilder-Smith CH, Ruchti C, Meyer-Wyss B, Merki HS. *Gastrospirillum hominis* in asymptomatic, healthy individuals. *Dig Dis Sci* 1993;38:2087-9.
 30. Chen Z, Wang B, Xu H, et al. Spiral shaped bacteria in the human gastric biopsy. *Hua-Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* 1993;24:392-4.
 31. Logan RPH, Karim QN, Polson RJ, Walker MM, Baron JH. *Gastrospirillum hominis* infection of the stomach. *Lancet* 1989;ii:672.
 32. Morris A, Ali MR, Thomsen L, Hollis B. Tightly spiral shaped bacteria in the human stomach: another cause of active chronic gastritis? *Gut* 1990;31:134-8.
 33. Smoot DT, Mobley HLT, Chippendale GR, Lewison JF, Resau JH. *Helicobacter pylori* urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 1991;59:1992-4.
 34. Boren T, Falk P, Roth KA, Larson G, Normark S. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993;262:1892-5.
 35. Fauchere J, Blaser MJ. Adherence of *Helicobacter pylori* cells and their surface components to HeLa cell membranes. *Microb Pathol* 1990;9:427-39.
 36. Hemalatha SG, Drumm B, Sherman PJ. Adherence of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelial cells in vitro. *Med Microbiol Immunol* 1991;35:197-202.
 37. Telford JL, Ghiara P, Dell'Orco M, et al. Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. *J Exp Med* 1994;179:1653-8.
 38. Tummuru MK, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun* 1993;61:1799-809.
 39. Figura N, Gugliemetti P, Rossolini, et al. Cytotoxin production by *Campylobacter pylori* strains isolated from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. *J Clin Microbiol* 1989;27:225-6.
 40. Cover TL, Dooley CP, Blaser MJ. Characterization of and human serologic response to proteins in *Helicobacter pylori* broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. *Infect Immun* 1990;58:603-10.
 41. Cover TL, Blaser MJ. Purification and characterization of the vacuolating toxin from *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1992;267:10570-5.
 42. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:5791-5.
 43. Cover TL, Glupczynski Y, Lage AP, et al. Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Microbiol* 1995;33:1496-500.
 44. Tummuru MK, Cover T, Blaser M. Mutation of the cytotoxin-associated cagA gene does not affect the vacuolating cytotoxin activity of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1993;62:2609-13.
 45. Akopyants NS, Kersulyte D, Berg DE. cagII, a new multigenic locus only present in the most virulent *Helicobacter pylori* strains. Abstracts of the 95th General Meeting of the American Society for Microbiology. Washington, DC, 1995:181, Abstract B-90.
 46. Akopyanz N, Bukanov NO, Westblom TU, Kresovich S, Berg DE. DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based rapid fingerprinting. *Nucleic Acid Res* 1992;20:5137-42.
 47. Akopyanz N, Bukanov NO, Westblom TU, Berg DE. PCR-based RFLP analysis of DNA sequence diversity in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res* 1992;20:6221-5.
 48. Tarkkanen J, Kosunen TU, Saksela E. Contact of lymphocytes with *Helicobacter pylori* augments natural killer cell activity and induces production of interferon. *Infect Immun* 1993;61:3012-6.
 49. Edwards PD, Carrick J, Turner J, Lee A, Mitchell H, Cooper DA. *Helicobacter pylori*-associated gastritis is rare in AIDS: antibiotic effect or a consequence of immunodeficiency? *Am J Gastroenterol* 1991;86:1761-4.
 50. Steephen A, Rajman I, Schwarz P, et al. The spectrum of gastritis in Zambian patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology* 1995;108:A921.
 51. Meiselman MS, Miller-Catchpole R, Christ M, Randall E. *Campylobacter pylori* gastritis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology* 1988;95:209-12.
 52. Chiba N, Rao BV, Rademaker JW, Hunt RH. Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1992;87:1716-27.
 53. Logan RPH, Gummert PA, Schaufelberger HD, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* with clarithromycin and omeprazole. *Gut* 1994;35:323-6.
 54. Graham DY, Opekun AR, Klein PD. Clarithromycin for the eradication of *H. pylori*. *J Clin Gastroenterol* 1993;16:292-4.
 55. Kimura K, Ido K, Saifuku K, et al. A 1-h topical therapy for the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 1995;90:60-3.
 56. Michetti P, Corthésy-Theulaz I, Davin C, et al. Immunization of BALB/c mice against *Helicobacter felis* infection with *Helicobacter pylori* urease. *Gastroenterology* 1994;107:1002-11.
 57. Marchetti M, Arico B, Burrioni D, Figura N, Rappuoli R, Ghiara P. Development of a mouse model of *Helicobacter pylori* infection that mimics human disease. *Science* 1995;267:1655-8.
 58. Krakowka S, Morgan DR, Kraft WG, Leunk RD. Establishment of gastric *Campylobacter pylori* infection in the neonatal gnotobiotic piglet. *Infect Immun* 1987;55:2789-96.
 59. Dubois A, Fiala N, Heman-Ackah LM, et al. Natural gastric infection with *Helicobacter pylori* in monkeys. A model for human infection with spiral bacteria. *Gastroenterology* 1994;106:1405-17.