

## Editorial

# Infección por *Helicobacter pylori*. Prevalencia, investigación y repercusión de la resistencia antibiótica

La resistencia a los antibióticos es probablemente la principal causa del fracaso del tratamiento de las enfermedades infecciosas y, en concreto, de la infección por *Helicobacter pylori*. Desde el descubrimiento de la gran trascendencia de la infección por *H. pylori* en la patogenia de la enfermedad péptica gastroduodenal y de las neoplasias gástricas se ha investigado la eficacia en su tratamiento de numerosos antibióticos y esquemas terapéuticos (1). *H. pylori* es intrínsecamente resistente a glucopéptidos, cefsulodin, polimixinas, ácido nalidíxico, trimetoprim, sulfonamidas, nistatina, anfotericina B, y cicloheximida, mientras que las cepas salvajes son susceptibles a  $\beta$ -lactámicos (excepto cefsulodin), fosfomicina, macrólidos, aminoglucósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, rifampicina, fluoroquinolonas, 5-nitroimidazoles y nitrofuranos (2). La denominada cuádruple terapia, asociando un inhibidor de la bomba de protones (IBP), bismuto, tetraciclinas y metronidazol y, especialmente, la triple terapia, asociando un IBP, con claritromicina y amoxicilina o metronidazol, son los tratamientos que han tenido mayor aceptación y sobre los que se tiene mayor experiencia. El *European Helicobacter Study Group* (EHSg), publicó en 1997 las conclusiones de la 1ª Conferencia de Consenso de Maastricht y recomendó la triple terapia como tratamiento de primera elección de la infección por *H. pylori*, reservándose la cuádruple terapia para los posibles fallos del primer tratamiento (3). La triple terapia se ha mantenido como el tratamiento de primera elección en la última década, siendo recomendando por la mayoría de las reuniones de consenso y asociaciones científicas europeas y americanas (4-8). La eficacia inicial de este tratamiento, aproximadamente del 80-90%, ha disminuido de forma progresiva y en los últimos años es inferior al 80-70%, planteándose nuevos esquemas terapéuticos (9-19). Se considera que la resistencia adquirida a los antibióticos habitualmente utilizados, especialmente a la claritromicina y metronidazol, es la principal causa del fracaso del tratamiento, debiéndose admitir otras causas como son el incumplimiento terapéutico o la indicación de tratamientos con dosis o duración inadecuadas (20-22).

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

Durante los años 1999-2003 se publicaron numerosos estudios sobre la prevalencia de la resistencia antibiótica primaria de *H. pylori*, observándose variaciones significativas entre distintos países e incluso entre distintas regiones o grupos étnicos de un mismo país. En Europa se comunicó una prevalencia baja de resistencia a la claritromicina en Holanda, en Alemania y en Suecia (1,7-2,9%), y más elevada en España, Francia y Portugal (12-22%) (22-27). Es destacable que en el norte de Italia era del 1,8% y en el centro de Italia del 23,4% (28,29). En Estados Unidos era del 10-12%, en México del 25%, en Brasil del 9,8%, en Japón del 11-13% y en Korea

## Editorial

del 5-6% (30-37). La prevalencia de la resistencia al metronidazol era del 15-40% en Europa, del 20-35% en Estados Unidos, del 76% en México, del 53% en Brasil, del 9-12% en Japón y del 40% en Korea, mientras que para la amoxicilina y tetraciclinas era inferior al 1% (22-37). En Estados Unidos mediante un meta-análisis de 20 ensayos clínicos se constata un incremento de la prevalencia de resistencia a la claritromicina, desde un 4,9% en 1993-95 a un 10,1% en 1995-99 (38). En un estudio multicéntrico realizado en Europa durante 1998, con la participación de 22 países y con una metodología homogénea, se observó una prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina del 9,9%, al metronidazol del 33,1%, y a la amoxicilina del 0,8%. La resistencia a la claritromicina era más habitual en niños que en adultos y en países del sur (18%) que en países del centro (9,3%) y del norte de Europa (4,2%). La resistencia simultánea a claritromicina y metronidazol era también más frecuente en países del sur de Europa (39).

Durante los años 1999-2002 se realizó un estudio multicéntrico europeo con participación de 14 países para estudiar la resistencia a los antibióticos de *H. pylori* en la población pediátrica. Se detectó una prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina del 20%, siendo superior en niños de menor edad (< 6 vs. > 12 años), y residentes en el sur de Europa, siendo para el metronidazol del 23%, simultánea para claritromicina y metronidazol del 5,3% y para la amoxicilina del 0,6% (40).

En España durante los años 1999-2004 se publicaron varios estudios sobre la resistencia antibiótica primaria de *H. pylori* y se observó que la prevalencia de la resistencia a claritromicina oscilaba entre el 8,7 y el 13% y a metronidazol entre el 13,8 y el 42% (26,41-44). En Sevilla, en nuestra área sanitaria, durante los años 1996-8, observamos una prevalencia para la claritromicina del 10% y para el metronidazol del 28,6%, acordes con los datos previamente referidos (45).

En publicaciones más recientes (2006-09) se muestra que, en la última década, hay en unos casos estabilidad y en otros casos incremento de la resistencia primaria a la claritromicina que justificarían el descenso progresivo de la efectividad de la triple terapia. Zullo y cols., en Italia durante 2004-06, detectan una prevalencia de resistencia primaria a claritromicina del 16,9%, siendo más frecuente en pacientes con dispepsia no ulcerosa (19,1%) (46). Boyanova y cols., en Bulgaria, observan una prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina del 10% durante los años 1996-99 y del 17,9% durante los años 2005-07 (47), observándose este incremento también en otros estudios procedentes de Gran Bretaña, Korea y Japón (48-50). Storskurubb y cols., en Suecia, observan una baja prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina (1,5%) y al metronidazol (16,2%), que relacionan con un bajo consumo de estos fármacos por una política antibiótica restrictiva (51). Aboderin y cols. comunican la situación contraria en Nigeria al detectar en 32 casos estudiados una resistencia a la claritromicina, ampicilina y metronidazol del 100%, relacionándolo con el consumo incontrolado de estos antibióticos (52). Agudo y cols., en Madrid (España) durante los años 2002-06, detectan en niños una elevada resistencia primaria y secundaria a la claritromicina (49,2 y 70,6%), superior a la observada para el metronidazol (32,8 y 41,2%) y una doble resistencia a claritromicina y metronidazol, primaria y secundaria, en el 15,4 y 26,5% de los casos respectivamente, resaltando los autores el gran efecto negativo de esta alta prevalencia en la eficacia de la triple terapia en la erradicación de *H. pylori* (53). Kalach, en Francia durante los años 1999-2005, detectan también en niños una prevalencia de resistencia primaria a la claritromicina elevada (23,2%), aunque menor que en España, que se mantenía estable respecto a la observada en los años 1994-98 (22,1%) (54). La resistencia a los antibióticos y su negativa influencia en la efectividad de los trata-

## Editorial

mientos erradicadores de *H. pylori* constituyó un tema de máxima relevancia en la III Conferencia de Consenso de Maastrich (6). Se admite el incremento de la resistencia a la claritromicina, en relación a su mayor consumo y se recomienda la triple terapia con un IBP, amoxicilina o metronidazol y claritromicina en poblaciones con una prevalencia de resistencia a este antibiótico menor del 15-20%, no debiendo ser utilizada la claritromicina en la situación contraria. La cuádruple terapia con un IBP, bismuto, tetraciclinas y metronidazol podría ser una alternativa a la triple terapia como tratamiento de primera elección. La repercusión sobre la efectividad de la triple terapia es mayor en los casos de resistencia a claritromicina que en los casos de resistencia metronidazol (21,55). En la revisión realizada por Megraud, publicada en 2004 (21), se observa que la eficacia de la triple terapia con un IBP, amoxicilina y claritromicina disminuye desde un 87,8 a un 18,3%, según exista sensibilidad o resistencia a este último antibiótico, con una pérdida de eficacia de prácticamente el 70%. En el mismo estudio se observa que la eficacia de la triple terapia con un IBP, amoxicilina y metronidazol, según exista sensibilidad o resistencia a este último antibiótico, disminuye desde un 89,4 a un 64,4%, con una pérdida de eficacia de un 25%, y que la eficacia de la triple terapia con un IBP, claritromicina y metronidazol disminuye desde un 97, a un 0%, según exista sensibilidad o resistencia a ambos antibióticos, siendo la eficacia del 72,6% en casos de sensibilidad a claritromicina y resistencia a metronidazol y del 50% en la situación contraria. Se considera que un tratamiento para la infección por *H. pylori* debe recomendarse cuando presenta una eficacia superior al 80% por intención de tratar y superior al 85% por protocolo (3,11,56). La eficacia actual de la triple terapia, como tratamiento de primera elección es habitualmente inferior al 80% y en algunos estudios inferior al 70% (9-12), no siendo por tanto una opción terapéutica recomendable.

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

Las evidencias indican que los mecanismos de resistencia antimicrobiana en *H. pylori* son esencialmente debidos a mutaciones cromosómicas (22,57), que son adquiridas fundamentalmente por transmisión desde un microorganismo a otro en forma vertical. Las mutaciones cromosómicas aparecerán en la descendencia y, como consecuencia, se producirá un progresivo incremento de la prevalencia de la resistencia antimicrobiana. La transferencia horizontal genética de una cepa bacteriana resistente a una susceptible, presentes simultáneamente en el estómago, no puede ser excluida.

La claritromicina es un antibiótico bacteriostático, derivado semisintético de la eritromicina, pertenece al grupo de los macrólidos y es el fármaco más potente frente a *H. pylori*. Actúa a nivel de los ribosomas bloqueando la síntesis proteica bacteriana. La resistencia a la claritromicina es el resultado de mutaciones puntuales que se presentan en el gen 23S rRNA que modifican la estructura de los ribosomas, afectando a su unión con el antibiótico. Las mutaciones más frecuentes son la sustitución de la adenina por una citosina o guanina en la posición 2142 (A2142C, A2142G) o por una guanina en la posición 2143 (A2143G) y menos frecuentemente A2115G y G2141A. Estas mutaciones provocan que las cepas resistentes toleren concentraciones crecientes del antibiótico que van desde 1 hasta 64 µg/ml (58,59).

La amoxicilina es un antibiótico bactericida que inhibe la síntesis de la pared bacteriana. La prevalencia de resistencia de *H. pylori* a la amoxicilina es muy baja y para que este antibiótico cumpla su función es necesaria la presencia de las proteí-

## Editorial

nas de unión a penicilina (PBP, del inglés *penicillin binding proteins*). El mecanismo de resistencia creado por *H. pylori* consiste en mutaciones en el gen *pbp* que dan origen a la síntesis de PBP alteradas, que tienen menor afinidad con el antibiótico. En las cepas resistentes no se forma el complejo amoxicilina-PBP y se evita la acción bactericida del antibiótico (57).

Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos que actúan a nivel de los ribosomas bloqueando la síntesis proteica bacteriana. La prevalencia de resistencia a las tetraciclinas de *H. pylori* es muy baja, y se adquiere por mutaciones en el gen 16S rRNA, fundamentalmente en el triplete de bases adenina, guanina y adenina de las posiciones 926 a la 928 (AGA 926-928), pudiéndose producir simples, dobles o hasta triples sustituciones. La triple sustitución de las bases AGA926-928 por timina, timina y citosina, respectivamente (AGA926-928 → TTC), en el gen 16S rRNA permite que las cepas toleren concentraciones del antibiótico de hasta 64 µg/ml, las dobles mutaciones permiten tolerar concentraciones de hasta 8 µg/ml y la simple sustitución de una de estas bases permite tolerar concentraciones de 2 µg/ml (60,61). En los últimos años se ha debatido la existencia de otros posibles mecanismos de resistencia, bien por la acción de la proteína de eflujo TetA (62) o por la existencia de un mecanismo de reducción de la permeabilidad de la membrana.

El metronidazol es un antibiótico bactericida, perteneciente al grupo de los nitroimidazoles, que ha sido muy utilizado en el tratamiento de diversas infecciones, de forma indiscriminada, condicionando que la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a este antibiótico sea elevada. Los nitroimidazoles, al penetrar en las células diana, son activados por un proceso de reducción mediado por la enzima NADPH nitrorreductasa, ocasionando daño al ADN y estructuras bacterianas. Los mecanismos de resistencia conocidos radican en mutaciones en los genes *rdxA* y *frxA* que impedirían el proceso de activación celular de los nitroimidazoles.

Levofloxacino y ciprofloxacino son antibióticos bactericidas, pertenecientes al grupo de las quinolonas, con mecanismo de acción similar que consiste en bloquear la replicación del ADN bacteriano por su unión con la enzima ADN girasa, codificada por los genes *gyrA* y *gyrB*. La resistencia de *H. pylori* a estos antibióticos está condicionada por mutaciones en el QRDR (*quinolone resistance-determining region*) del *gyrA* (63).

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

Disponemos de diversos métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica de *H. pylori* que pueden clasificarse en métodos fenotípicos, más utilizados y basados en el cultivo de biopsias gástricas, como son la dilución en agar y el E-test (método del epsilómetro), y métodos genotípicos como la hibridación fluorescente *in situ*, la PCR (*polymerasa chain reaction*) convencional y con secuenciación, la PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) y la PCR en tiempo-real, que permite detectar las mutaciones cromosómicas directamente en las biopsias gástricas y en heces. El *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), anteriormente *National Commitee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) recomienda el método de dilución en agar como el método de referencia o *gold standard* para el estudio de la sensibilidad de *H. pylori* a los antibióticos y, en concreto, para el cálculo de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y establece puntos de corte para la claritromicina (64). La *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) recomienda, en cambio, la difusión con E-test que presenta muy buena correlación con

## Editorial

el método de dilución en agar. El E-test tiene la ventaja de ser un método cuantitativo con una expresión directa de las CMI, y además, se adapta a las bacterias de crecimiento lento, como *H. pylori* (65). Otros métodos de estudio disponibles son la dilución en caldo y la difusión en disco (66,67). Los puntos de corte propuestos para la claritromicina son: para las cepas sensibles de  $\leq 0,25$   $\mu\text{g/ml}$ , para las cepas resistentes de  $\geq 1$   $\mu\text{g/ml}$  y para las cepas intermedias de  $0,5$   $\mu\text{g/ml}$ . Con estos puntos de corte se han obtenido excelentes valores predictivos en el éxito de la triple terapia con un IBP, claritromicina y amoxicilina. No existen criterios estandarizados para otros antibióticos como la amoxicilina, tetraciclinas, rifabutina y levofloxacino. Sin embargo, la dilución en agar puede ser aplicada y, se utilizan puntos de corte aceptados por la bibliografía (47,68). El metronidazol es un caso especial porque la mayoría de los estudios han demostrado una ausencia de reproducibilidad inter- e intralaboratorio, sin conocerse bien los motivos (2). La falta de correlación entre los resultados de sensibilidad de *H. pylori* y el resultado del tratamiento erradicador es también un hecho. Las cepas de *H. pylori* con una CMI alta pueden ser erradicadas, debido posiblemente a un potencial redox variable dentro del estómago. El punto de corte utilizado habitualmente para definir la resistencia a metronidazol es  $\geq 8$   $\mu\text{g/ml}$ . El EHSG en la III Conferencia de Consenso de Maastrich desaconseja, por la falta de correlación clínico-bacteriológica, el uso en práctica clínica de pruebas de sensibilidad a metronidazol (6).

Los métodos genotípicos son utilizados sobre todo para estudiar la resistencia a la claritromicina, aunque también pueden ser empleados para otros antibióticos. Las mutaciones cromosómicas, responsables de la resistencia antibiótica, pueden ser fácilmente detectadas con pruebas moleculares basadas en la hibridación fluorescente *in situ* (69) o en la amplificación genómica sobre todo con técnicas de PCR (22). La ventaja de estas pruebas moleculares es el menor tiempo para la obtención de resultados y la excelente correlación con la sensibilidad obtenida por métodos fenotípicos. La principal desventaja es que se requiere disponibilidad de un laboratorio de microbiología molecular. El primer método genotípico utilizado fue la PCR-RFLP. En este ensayo, se amplifica la región que contiene las mutaciones y luego los fragmentos sintetizados son tratados con endonucleasas de restricción que reconocen sitios específicos creados por las mutaciones. El tamaño de los fragmentos resultantes indica la presencia o ausencia de la mutación (22). La PCR-RFLP es un método simple, pero tiene la desventaja de utilizar una PCR convencional, respecto a la demora en la obtención de resultados y la necesidad de manipular los amplicones obtenidos, por el riesgo de contaminaciones. El método de PCR y posterior secuenciación de los fragmentos amplificados ha sido utilizado sobre bacterias y biopsias gástricas para la resistencia a claritromicina y quinolonas. Pero puede ser aplicado para otros antibióticos como amoxicilina. Es una tecnología algo compleja, aunque la automatización ha permitido su desarrollo (22). Por último se ha utilizado con éxito la PCR en tiempo-real (22,70) que permite detectar cualquier tipo de mutación en la región amplificada y el método representa un progreso importante, porque el resultado puede ser obtenido en 2 horas. Ha sido utilizada para detectar *H. pylori* directamente en muestras de biopsia y heces, así como en bacterias cultivadas. La PCR en tiempo-real en heces se ha convertido en una de las técnicas diagnósticas más prometedoras porque es un método rápido, no invasivo, que permite una detección directa de la bacteria y valorar la sensibilidad a la claritromicina. Un mayor grado de normalización o estandarización de esta técnica debe terminar con la disponibilidad de un kit comercial con buena sensibilidad y especificidad.

## Editorial

En el estudio de Torres Debat y cols., incluido en este número de la *Revista Española de Enfermedades Digestivas* (71), se aporta por primera vez información sobre la prevalencia de resistencia antibiótica de *H. pylori* en Uruguay y asimismo se investigan, mediante PCR, los mecanismos moleculares de resistencia a la claritromicina. Los autores investigan la prevalencia de resistencia a los antibióticos, mediante E-test, en dos periodos de tiempo y en dos poblaciones de edad adulta, con cultivo de biopsia gástrica positivo para *H. pylori*, y distintas en sus orígenes étnicos. En el año 2001 se estudian 19 pacientes representativos de la población general y en el año 2006 se estudian 31 pacientes descendientes de africanos. La prevalencia de resistencia a metronidazol resultó respectivamente del 36,8 y 35,5%, a claritromicina del 0 y 19,4%, a levofloxacin del 5,2 y 3,2%, y a la amoxicilina y tetraciclinas del 0%, en ambos grupos. Es destacable la variable prevalencia a la claritromicina en los dos periodos de tiempo y/o en los dos grupos de población estudiados. Es conocido que la prevalencia de resistencia a los antibióticos, y en concreto a la claritromicina, varía entre distintos países y, en un determinado país, entre distintas regiones, grupos sociales o grupos étnicos. No disponemos de suficiente información sobre prevalencia de resistencia a los antibióticos en poblaciones de origen africano o en países latino-americanos. En México, durante los años 1995-97, se comunicó una prevalencia de resistencia a la claritromicina del 25% (32) y recientemente en Paraguay se detectó una prevalencia de resistencia a este antibiótico del 2% (72). Aboderin, durante los años 2002-06 en Nigeria, detectó una prevalencia de resistencia a la claritromicina del 100%, siendo también muy elevada para otros antibióticos (52). Los datos existentes son, en cualquier caso, insuficientes para obtener conclusiones. La prevalencia de resistencia a la claritromicina durante el año 2006 aportada en el estudio de Torres Debat y cols. en Uruguay es alta y, como también opinan los autores, no se puede aclarar si refleja la situación actual de la población general, con un rápido incremento en los últimos años, o como puede sospecharse refleja la situación actual de un determinado grupo étnico de Uruguay, siendo esto último posiblemente apoyado por la detección en todos los casos de una única mutación genética en la posición 2143 (71). La elevada prevalencia de resistencia a metronidazol es más bien similar a la observada actualmente en algunos países desarrollados y no, como refieren los autores, similar a la existente en países en vías de desarrollo (39).

Se admite, como se ha comentado previamente, que con una prevalencia de resistencia a la claritromicina mayor al 15-20%, presente en el estudio que comentamos y en otros previamente referidos, no debería utilizarse la triple terapia, incluyendo este antibiótico de forma empírica en el tratamiento de la infección por *H. pylori*, debiéndose considerar otras alternativas terapéuticas. Sería deseable poder disponer de una información fiable y actualizada periódicamente sobre la prevalencia de las resistencias antibióticas de *H. pylori*, en concreto a la claritromicina, en los distintos países, regiones o áreas sanitarias, pudiéndose valorar en cada caso el tratamiento erradicador potencialmente más efectivo. La investigación de la resistencia antibiótica es especialmente necesaria cuando detectemos una baja efectividad de la triple terapia en la erradicación de *H. pylori* y, en pacientes concretos, tras fracaso del primer y, sobre todo, segundo tratamiento erradicador.

M. Castro Fernández y J. Vargas Romero<sup>1</sup>

*Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Digestivas y <sup>1</sup>Unidad de Gestión Clínica de Microbiología. CIBERehd. Hospital Universitario de Valme. Sevilla*