

Resistencia primaria a la claritromicina en aislamientos de *Helicobacter pylori*

Primary resistance to Clarithromycin in *Helicobacter pylori* isolates

Sandra Consuelo Henao Riveros,¹ Andrés Quiroga,² Julián David Martínez Marín,³
William Otero Regino.³

RESUMEN

En un estudio con 63 pacientes adultos, sometidos a endoscopia digestiva alta por síntomas dispépticos, se tomaron biopsias de mucosa gástrica para realizar: la prueba rápida de ureasa, histología convencional, cultivo selectivo para *H. pylori* y determinación de la susceptibilidad de los aislamientos bacterianos a la claritromicina mediante la técnica de difusión en disco (Kirby-Bauer).

El porcentaje de recuperación del *H. pylori* (cultivo positivo) fue del 73%, se determinaron para el cultivo una sensibilidad de 66% y una especificidad del 100%.

Se observó una prevalencia de la resistencia primaria a la claritromicina del 15%.

No se observaron diferencias significativas por género, edad, diagnóstico endoscópico o histológico entre los pacientes con aislamientos sensibles o resistentes al antibiótico.

Palabras clave

Clarithromycin, *Helicobacter pylori*, resistencia.

SUMMARY

In a study of 63 adult patients, subjected to upper gastrointestinal endoscopy due to gastrointestinal disorders or indigestion, gastric mucous biopsies were taken in order to realize a rapid urease test, conventional histology, selective culture for *H. pylori* and to determine susceptibility of bacterial isolates to clarithromycin using Kirby-Bauer disk diffusion technique.

The percentage of *H. pylori* recuperation (positive culture) was 73%. A sensitivity of 66% was determined for the culture, and a specificity of 100% was also determined.

A prevalent primary resistance to clarithromycin of 15% was observed.

Significant differences were not observed due to gender, age, endoscopic or histological diagnoses among the patients with sensitive isolates or resistance to antibiotics.

Key Words

Clarithromycin, *Helicobacter pylori*, resistance.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es un bacilo gram negativo, curvo, con forma de espiral, microaerófilo, que coloniza y permanece en la mucosa gástrica humana y desencadena una importante respuesta inflamatoria. La infección se adquiere principalmente en la infancia, persiste por años y la presencia de la bacteria en la mucosa gástrica se asocia con

enfermedades digestivas, tales como diferentes tipos de gastritis crónica, con úlceras pépticas y con tumores malignos como linfomas de tipo MALT (de su sigla en inglés Mucosal Associated Lymphoid Tissue) y con adenocarcinomas (1).

El principal reservorio de la bacteria es el estómago humano y se cree que la forma de transmisión es gástrica-oral, oral-oral, fecal-oral (2).

¹ Profesora Asociada. Departamento de Microbiología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia. E-mail: schenaor@unal.edu.co

² Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D.C., Colombia.

³ Profesor Asociado. Departamento de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia.

Fecha recibido: 11-03-09/ Fecha aceptado: 26-03-09

Se estima que más del 60% de la población mundial esta infectada por el *H. pylori*, convirtiéndose en la infección bacteriana crónica más común de los humanos (3, 4). En Colombia se ha reportado que cerca del 70% de los adultos sometidos a estudios endoscópicos presentan la infección (5, 6).

El “gold standard” teórico para el diagnóstico de la infección es el aislamiento bacteriológico del microorganismo en medios de cultivo selectivos; sin embargo, las tasas de recuperación son muy variables (entre el 30% a 73%). Los fracasos son secundarios a errores en la toma de las biopsias mucosas, métodos inadecuados de transporte o de cultivo y tiempos cortos de incubación (7).

Informes internacionales han demostrado que la prueba de ureasa rápida en gel o medio líquido es una herramienta altamente sensible y económica para la tamización de pacientes infectados por *H. pylori* (8).

Junto a la falta de adherencia a los tratamientos, la resistencia bacteriana a los antibióticos se considera como la principal causa del fracaso en la erradicación del *H. pylori*. Cifras crecientes de resistencia primaria a la claritromicina se reportan en todo el mundo, los reportes internacionales varían dependiendo del sitio geográfico; y muestran prevalencias de resistencia para la claritromicina entre el 1% y el 58% de los aislamientos de *H. pylori* (9, 10).

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de resistencia a la claritromicina en una muestra de pacientes colombianos remitidos para endoscopia digestiva.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes: durante el 1 de abril y el 31 de octubre de 2007, se estudiaron pacientes remitidos por síntomas dispépticos, a la Clínica Fundadores y al Centro Médico Endocentro Ltda. de Bogotá D.C. para realización de una endoscopia de vías digestivas altas y, previa explicación del objetivo del estudio, consintieron por escrito su participación voluntaria. Los criterios de exclusión fueron: pacientes menores de edad, el haber recibido por cualquier causa tra-

tamiento con antibióticos dentro de los doce meses previos al estudio, haber recibido medicamentos inhibidores de la bomba de protones o antagonistas histamínicos tipo 2 en doce meses previos al estudio, haber recibido o estar recibiendo terapia con esteroides, radioterapia y/o quimioterapia, tener VIH/SIDA, tener cáncer en cualquier localización.

Biopsias gástricas: se tomaron cinco biopsias antrales a dos centímetros del píloro y se distribuyeron así: durante la endoscopia, una se utilizó para la prueba de la ureasa rápida, dos se colocaron en medio de transporte (caldo Brucella) para su cultivo y dos se enviaron para estudio histopatológico.

Cultivo de H. pylori: las biopsias del medio de transporte fueron maceradas y sembradas en medio de cultivo selectivo (con antibióticos vancomicina, trimetropin, cefsulodin y anfotericina B) y suplementado con suero de caballo al 7% e Isovitalax (Oxoid); todas las biopsias fueron cultivadas por duplicado y colocadas en incubadora de CO₂ en condiciones de microaerofilia, humedad y temperatura adecuadas para su crecimiento. Se revisaron los cultivos a los tres, siete y diez días, cuando se encontraba crecimiento suficiente en las cajas de petri, y se procedía inmediatamente a la realización de la prueba de susceptibilidad a la claritromicina (11).

La identificación de *H. pylori* por el laboratorio se realizó observando el crecimiento de colonias pequeñas, translúcidas brillantes, realizando la tinción de Gram, y las pruebas de ureasa, catalasa y oxidasa. Todos los aislamientos obtenidos se volvieron a cultivar en medio enriquecido (suero de caballo 7% e Isovitalax) pero sin antibióticos; se recogió el crecimiento bacteriano y se guardó a -70°C en caldo Brucella más 20% de glicerol v/v (12, 13).

Prueba de susceptibilidad a claritromicina: se preparó un inóculo de la bacteria en caldo BHI (Caldo infusión cerebro, corazón-oxoid) ajustándose a una turbidez igual al tubo No. 3 de la escala de MacFarland (10⁸ UFC). Esta suspensión se sembró con un hisopo en forma de rejilla sobre cajas de petri con medio de cultivo Muller Hinton suplementado con suero de caballo al 7% e Isovitalax. Luego se

colocó el disco de claritromicina (15 µg) y se incubó en las condiciones anteriormente descritas. Se utilizó como cepa control la cepa NCTC 11637 que es sensible a claritromicina. Con la técnica de difusión en disco (Kirby-Bauer) se considera el aislamiento de *H. pylori* resistente a claritromicina con un diámetro menor a 22 mm (11, 13).

RESULTADOS

Sesenta y tres (n = 63) pacientes con síntomas dis pépticos remitidos para la realización de una endoscopia de vías digestivas altas fueron enrolados en el estudio. La totalidad presentó una prueba de ureasa rápida positiva.

Se obtuvieron 46 (73%) cultivos positivos para *H. pylori*; (22 mujeres y 24 hombres), con un rango de edad entre 18 y 80 años y promedio de 46,3.

Se determinó para el cultivo bacteriano una sensibilidad del 66% y una especificidad del 100 %.

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana a la claritromicina mostró una prevalencia de la resistencia del 15% (7 aislamientos).

Los restantes 39 (85%) aislamientos fueron sensibles al antibiótico.

No se observaron diferencias significativas por género, edad o de diagnóstico endoscópico, entre los pacientes con *H. pylori* resistentes o sensibles a la claritromicina.

DISCUSIÓN

In vitro el *Helicobacter pylori* es sensible a un amplio número de antibióticos (amoxicilina, tetraciclinas, macrólidos, quinolonas, imidazoles; sin embargo todos ellos fracasan al ser utilizados en los humanos como monoterapia.

Resultados similares a las monoterapias, se reportan con terapias duales (antibiótico más medicamento inhibidor de la bomba de protones); mientras que el tratamiento durante 14 días con omeprazol y claritromicina logra una tasa de erradicación cercana al 40% (14, 15).

En la actualidad, se recomienda para la erradicación del *H. pylori* utilizar las denominadas terapias triples y/o cuádruples, las cuales incluyen medicamentos inhibidores de la bomba de protones (omeprazol, lansoprazol, esomeprazol, etc.) con diferentes antibióticos (amoxicilina, imidazoles, macrólidos, quinolonas, tetraciclinas), con duraciones entre 7 y 14 días, las cuales han alcanzando tasas de erradicación de la infección entre el 80 y 90% de los casos (16). Sin embargo cualquiera de ellos puede fallar, debido entre otras causas a la falta de cumplimiento terapéutico por parte del paciente, a la aparición de efectos secundarios y al desarrollo de resistencia a los antibióticos (10, 11).

Cuando los aislamientos del *H. pylori* son sensibles a claritromicina, se informan tasas de erradicación del cercanas al 87,8%, pero esta cifra desciende abruptamente hasta el 18,3% cuando los aislamientos bacterianos son resistentes a este antibiótico (17, 18). La resistencia a la claritromicina es considerada como el principal factor para los fracasos terapéuticos con la intención de erradicar al *H. pylori*. Cuando en una región la prevalencia de la resistencia se ubica entre el 15 y 20% o cuando los pacientes han recibido tratamientos previos con macrólidos, no es recomendable utilizar la claritromicina dentro de las triples terapias para erradicar el *H. pylori* (15).

Las causas de esta situación pueden ser atribuidas a los pacientes, como el uso previo de la claritromicina o de otros macrólidos como la eritromicina, la azitromicina, la josamicina para tratamiento de infecciones respiratorias; por otra parte, diferentes polimorfismos genéticos del CYP2C19 (citocromo P450 2C19) y/o del microorganismo, como la presencia de cepas de *H. pylori* con mutaciones puntuales cromosómicas en la región codificante de la subunidad ribosomal 23S del ARNr como las A2142G, A2142C, A2143G, y la T2717C (10, 11, 19).

La prevalencia de la resistencia primaria a la claritromicina varía en diferentes partes del mundo; recientes estudios han confirmado que la resistencia a la claritromicina está en aumento. Las resistencias primarias a la claritromicina en aislamientos de *H. pylori*, se informan en el 12,9% en USA; del 2,3% a

23,4% en Europa; 27,7 en Japón; 4,5% a 12,9% en Asia y Oceanía respectivamente (10, 19, 20).

En las Américas, durante la última década, se han publicado estudios que informan prevalencias de la resistencia primaria a claritromicina que fluctúan en un amplio rango, del 2% al 60%. La tasa de mayor resistencia, 60%, se reportó en Colombia por Yepes y cols en un grupo de 87 pacientes (21) y la más baja en Paraguay por Fariña y cols con el 2% (12). Prevalencias intermedias entre las anteriores se han reportado en Chile 20% (22), Estados Unidos 12,9% (19), Brasil 9,8% (23), Jamaica 8% (24), México 24% (25), Venezuela 7% (26), Costa Rica 6% (27) y Barbados 4,7% (28).

En un mismo país se observan, por regiones, diferencias significativas de la resistencia como es el caso de Chile, con una tasa del 2% en la VIII región (sur de país) y del 20% en el área metropolitana de Santiago (22, 29). En Venezuela se observa una situación similar; en el año 2001 Anayanssi y cols no informan resistencia alguna y dos años después, Urrestarazu reporta una tasa del 7% (26, 30). Estas claras diferencias no pueden ser atribuidas a las técnicas de laboratorios empleadas, porque los cuatro estudios mencionados utilizaron la técnica de difusión en agar; más bien podrían indicar diferencias en las poblaciones (urbanas vs. rurales, previamente expuestas a terapias con antibióticos).

El presente estudio encontró una resistencia a claritromicina en el 15% de los aislados de *H. pylori* en pacientes adultos con patología gastroduodenal, cifra que concuerda con otros informes internacionales, pero bastante inferior a la informada en Colombia por Yepes y cols (21). Las diferencias de resultados no son claras, pues los dos estudios se realizaron en la misma área geográfica (Bogotá, D.C.), en centros de referencia para la práctica de estudios endoscópicos, en pacientes mayores de edad y que negaron el consumo previo de antibióticos por cualquier causa, en especial con la intención de erradicar el *H. pylori* o cualquier medicamento que alterara la presencia de la bacteria en la mucosa gástrica. Tampoco hubo diferencias en la recuperación del microorganismo (positividad del 73% en los cultivos en ambos estu-

dios) y la técnica empleada para determinar la resistencia a la claritromicina fue la misma.

Así pues, estamos antes dos estudios con poblaciones y metodologías similares pero que presentan resultados muy dispares; esto sugiere que un gran porcentaje de las cepas de *H. pylori* de pacientes colombianos presentan mutaciones cromosómicas que les confiere resistencia a la claritromicina.

Con estos resultados, los médicos colombianos deberán evaluar atentamente el empleo de la claritromicina con la intención de erradicar al *H. pylori* y evaluar la posibilidad de reemplazarlo por otro medicamento en terapias cuádruples basados en nuevos fármacos.

REFERENCIAS

1. Makola D, Peura DA, Crowe SE. *Helicobacter pylori* infection and related gastrointestinal diseases. J Clin Gastroenterol 2007; 41: 548-558.
2. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16(Suppl 1): 3-15.
3. International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Schistosomes, Liver Flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon IARC 1994; 61: 177-200.
4. Cover TL, Blazer MJ. *Helicobacter pylori*, a paradigm for chronic mucosa inflammation: Pathogenesis and implication for eradication and prevention. Adv Int Med 1996; 41: 85-117.
5. Bedoya A, Arcos M, Sansón F, del Castillo G. *Helicobacter pylori* y cambios histológicos de la mucosa gástrica en menores de diez años. Pasto, 1999. Rev Colomb Gastroenterol 2002; 17: 36-42.
6. Martínez JD, Henao SC, Granados C. La gastritis crónica atrófica y la edad. Rev Colomb Gastroenterol 2007; 22: 17-22.
7. Grove DI, Koutsouridis G, Cummins AG. Comparison of culture, histopathology and urease testing for diagnosis of *Helicobacter pylori* gastritis and susceptibility to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole and tetracycline. Pathology 1998; 30: 183-187.

8. Ozcay F, Kocak N, Temizel IN, Demir OH, Ozen H, Yuce A et al. *Helicobacter pylori* infection in Turkish children: comparison of diagnosis test, evaluation of eradication rate, and change symptoms after eradication. *Helicobacter* 2004; 9: 242-248.
9. Van Doorn LJ, Schneeberger PM, Nouhan N, Plaisier AP, Quint WGV, de Boer AW. Importance of *Helicobacter pylori* *vacA* and *cagA* status for the efficacy antibiotic treatment. *Gut* 2000; 46: 321-326.
10. Mégraud F. *H pylori* Antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 2004; 53: 1374-1384.
11. Megraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Reviews*. 2007; 20(2): 280-322.
12. Fariña N, Kasamatsu E, Samudio M, Morán M, Sanabria R, Laspina F. Susceptibilidad a antibióticos de cepas paraguayas de *Helicobacter pylori* aisladas de pacientes con enfermedad gastroduodenal. *Rev Med Chile* 2007; 135:1009-1014.
13. Díaz-Regañón J, Alarcón T, Domingo F, López Brea M. Sensibilidad de 36 aislamientos de *Helicobacter pylori* a cuatro antibióticos de primera línea y características de virulencia. *Rev Esp Quimioterap* 2008; 19: 34-38.
14. Osato MS. Antimicrobial Susceptibility Testing for *Helicobacter pylori*: Sensitivity Test Results and Their Clinical Relevance. *Current Pharmaceutical Design* 2000; 6: 1545-1555.
15. Fuccio L, Laterza L, Zagari RM, Cennamo V, Grilli D, Bazzoli F. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 2008; 337: 746-750.
16. Bytzer P, O'Morain C. Treatment of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2005; 10(Suppl. 1): 40-46.
17. Grove DI, Koutsouridis G. Increasing resistance of *Helicobacter pylori* to Clarithromycin: is the horse bolting? *Pathology* 2002; 34: 71-73.
18. Pajares García JM, Pajares-Villarroya R, Gisbert JP. *Helicobacter pylori* infection: antibiotic resistance. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 63-70.
19. Duck WM, Sobel J, Bruckner JM. Antimicrobial resistance, incidence and risk factors among *Helicobacter pylori*-infected persons, in the United States. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1088-94.
20. Kobayashi I, Murakami K, Kato M, Kato S, Azuma T, Takahashi S, et al. Changing Antimicrobial Susceptibility Epidemiology of *Helicobacter pylori* Strains in Japan between 2002 and 2005. *J of Clin Microbiol* 2007; 45: 4006-4010.
21. Yepes CA, Rodríguez A, Ruiz A, Ariza B. Resistencia antibiótica del *Helicobacter pylori* en el Hospital Universitario San Ignacio de Bogotá. *Acta Médica Colombiana* 2008; 33: 11-14.
22. Vallejos C, Garrido L, Dante-Cáceres L, Madrid AM, De Filippi C, Toledo H. Prevalencia de la resistencia a metronidazol, claritromicina y tetraciclina en *Helicobacter pylori* aislado a pacientes de la región metropolitana. *Rev Med Chile* 2007; 135: 287-293.
23. Mendoca S, Ecclissato C, Sartori MS, Ortiz AP, Degger M, Pedrazzoli J, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, Clarithromycin, Amoxicillin, tetracycline and furazolidone in Brazil. *Helicobacter* 2000; 5: 79-83.
24. Lee MG, Arthurs M, Smikle MF, Dowe G, Leny V, Barton EN. Antibiotic sensibility of *Helicobacter pylori* in Jamaica. *West Indian Med J* 2004; 53: 374-377.
25. Torres J, Carmorlinga-Ponce M, Pérez-Pérez G, Madrazo A, Dehesa M, González G, et al. Increasing multidrug resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from children and adults in Mexico. *J of Clin Microbiol* 2001; 39: 2677-2680.
26. Urrestarazu M, Serrano N, Piñero R, Cavazza M. Susceptibilidad del *Helicobacter pylori* a los antimicrobianos. *Rev Soc Venez Microbiol* 2003; 23: 14-15.
27. Riva F, Rivera P, Hernández F, Hevia F, Guillen F, Ricamayo G. Antibioticosensibilidad del *Helicobacter pylori* mediante microdilución. *Rev Med Panamá* 2000; 25: 19-23.
28. Douglin E, Charles G, Levett P. Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in Barbados. *West Indian Med J* 2000; 49(Suppl 2): 36.
29. González C, García A, Daroch F, Kawaguchi F, Solar H, Rivera N, et al. Susceptibilidad in vitro de cepas de *Helicobacter pylori*: aislamiento de cepas resistentes a claritromicina. *Rev Med Chile* 2001; 129: 643-646.
30. Anayanssi A, Rivera P, Hevia F, Guillen F, Hernández F. *Helicobacter pylori*, la necesidad de estandarizar las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos. *GEN* 2001, 55: 17-21.