



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**“Resistencia a antibióticos en**  
***Helicobacter pylori*”**

Autor: Herráez López, Ángela  
Tutor: Jiménez Cid, Víctor  
Convocatoria: Junio 2018

## ÍNDICE

<b>1. Resumen.....</b>	<b>3</b>
<b>2. Introducción y antecedentes.....</b>	<b>3</b>
2.1. Mecanismos de patogénesis.....	4
2.2. Epidemiología y prevalencia.....	5
2.3. Diagnóstico.....	6
2.4. Tratamiento.....	6
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>7</b>
<b>4. Metodología.....</b>	<b>8</b>
<b>5. Resultados y discusión.....</b>	<b>8</b>
5.1. Detección de resistencia a antibióticos.....	8
5.2. Resistencia a claritromicina.....	9
5.3. Resistencia a metronidazol.....	10
5.4. Resistencia a quinolonas.....	11
5.5. Resistencia a amoxicilina.....	12
5.6. Resistencia a tetracilinas.....	13
5.7. Resistencia a rifabutina.....	14
5.8. Resistencia a furazolidona.....	14
5.9. Epidemiología y prevalencia de la aparición de resistencias.....	15
5.10. Tratamientos eficaces en la actualidad.....	16
5.11. Posibles alternativas en el tratamiento.....	17
<b>6. Conclusiones.....</b>	<b>18</b>
<b>7. Bibliografía.....</b>	<b>19</b>

## 1. RESUMEN

*Helicobacter pylori* es una bacteria con capacidad para sobrevivir en el medio ácido estomacal de los seres humanos. Su presencia se ha relacionado con la aparición de otros procesos, como gastritis, úlcera péptica o carcinoma gástrico. Por lo tanto, su erradicación es esencial. Para ello se emplean terapias basadas en combinaciones de dos o más antibióticos junto con otros fármacos adyuvantes en el tratamiento, como inhibidores de la bomba de protones (IBP) o bismuto. El régimen de tratamiento se debe elegir de forma adecuada, puesto que existen cepas que presentan resistencia a uno o varios de los antibióticos empleados. Los más destacados son la claritromicina, el metronidazol y la amoxicilina, ya que son los más utilizados en las primeras líneas de tratamiento. De forma general, la resistencia se adquiere por mutaciones puntuales en los genes que codifican para proteínas que son diana de los fármacos, pero también existen otros mecanismos. Es importante la identificación de cepas resistentes, con el objetivo de elegir un régimen adecuado y conseguir la erradicación completa; además, también se recomienda la confirmación de la eliminación de la bacteria, para comprobar que el tratamiento ha resultado eficaz.

## 2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

*Helicobacter pylori* es un patógeno humano cuyo nicho es el estómago; se trata de una bacteria gram-negativa, flagelada y microaerófila.<sup>1</sup> Aproximadamente la mitad de la población mundial es portadora de la bacteria. Su presencia se asocia con patologías como gastritis crónica, úlcera péptica, linfoma de tejido linfoide asociado a la mucosa gástrica (MALT) y cáncer gástrico (tanto por vías directas, como modulación de proteínas, mutación de genes o desregulación de vías de señalización; como por vías indirectas, como la inducción de respuesta inflamatoria en la mucosa gástrica).<sup>2</sup> La eliminación de *H. pylori* puede disminuir rápidamente los procesos de inflamación activa en la mucosa gástrica, así como prevenir la progresión hacia lesiones precancerosas y revertir la atrofia gástrica antes del desarrollo de metaplasia intestinal. Por ello, está recomendada la erradicación de la bacteria.<sup>1</sup>

A principio de la década de 1990, la tasa de erradicación mediante la administración de la terapia triple estándar – consistente en claritromicina + amoxicilina + inhibidor de la bomba de protones (IBP) – se consideraba aceptable. En la actualidad este régimen no es el elegido como primera línea de tratamiento. Hay varios factores que influyen en el fallo de la erradicación de *H. pylori*: elección inadecuada del tratamiento, baja adherencia terapéutica del paciente, carga bacteriana muy elevada, penetración de la bacteria en las paredes estomacales, elevada acidez gástrica, polimorfismos genéticos (en IL-1B y CYP2C19), formación del biofilms, o la más importante, la resistencia a los antibióticos.<sup>1</sup>

### 2.1. Mecanismos de patogénesis

Su patogenicidad se debe a diferentes factores: producción de ureasa (que le permite sobrevivir en el pH ácido), su movilidad, que le facilita la penetración en la capa de moco gástrico; la existencia de adhesinas en su superficie, y la producción de otras enzimas (proteasas, lipasas) y citotoxinas que lesionan las células epiteliales gástricas.<sup>3</sup>

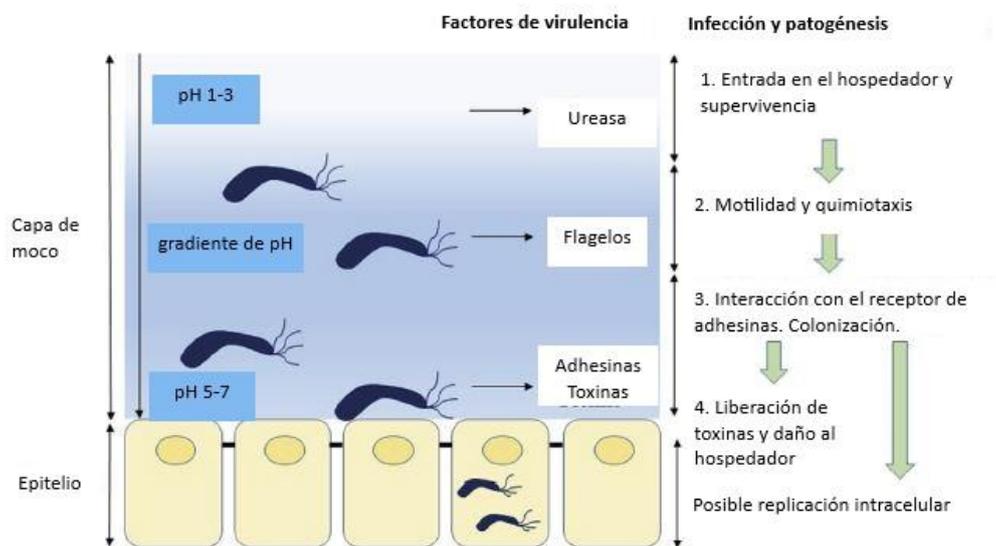


Figura 1. Diagrama esquemático del proceso de infección y patogénesis de *Helicobacter pylori*.<sup>4</sup>

La ureasa es una enzima que neutraliza la acidez y permite el desarrollo de la bacteria. Existen dos tipos: la ureasa A y la ureasa B (la cual puede estar tanto en el citoplasma como en la membrana externa). Entre las funciones de la ureasa también se encuentra facilitar la motilidad, la defensa frente a radicales nitro y la inhibición de la depuración fagocítica de la bacteria.<sup>2</sup>

Los flagelos son esenciales para que *H. pylori* pueda atravesar la mucosa gástrica. Además, la proteína reguladora de hierro Fur (Ferric Uptake Regulator), también es importante en la colonización, ya que regula positivamente el motor flagelar. El hierro es un micronutriente esencial para la supervivencia, crecimiento y expresión de factores de virulencia en *H. pylori*. Existen once proteínas implicadas en el transporte del hierro y dos proteínas implicadas en su almacenamiento.<sup>2</sup> Además, el balance de aporte de níquel y su incorporación en metaloenzimas es esencial en la colonización gástrica.<sup>5</sup>

Después de la colonización, el daño al tejido del hospedador está asociado a la presencia de una isla de patogenicidad *cag* (*cagPAI*), que codifica para un T4SS (sistema de secreción tipo IV, que se encarga de transmitir factores de virulencia a las células del hospedador)<sup>6</sup>, y con *cagA* (cytotoxin-associated gene A), una proteína relacionada con el linfoma MALT.<sup>5</sup>

## 2.2. Epidemiología y prevalencia

La prevalencia global de *H. pylori* es de 44,3% (IC<sub>95%</sub>: 40,9-47,7).<sup>7</sup>

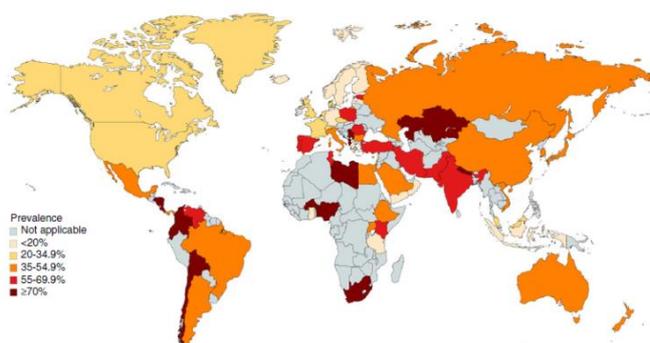


Figura 2. Representación gráfica de la prevalencia mundial de infección por *H. pylori*.<sup>7</sup>

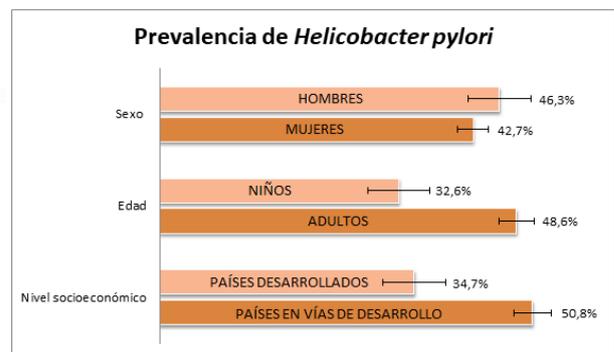


Figura 3. Prevalencia de *H. pylori* en función de la edad, sexo y nivel socioeconómico a nivel mundial.<sup>7</sup>

De forma general, se podría decir que la infección es menos frecuente en niños, mujeres y en zonas con unas condiciones higiénico-sanitarias aceptables y un buen nivel económico.<sup>7</sup> La recurrencia de la enfermedad varía en función de la edad, nivel educativo, proporción de familiares infectados con *H. pylori* y estatus socioeconómico.<sup>1</sup>

### 2.3. Diagnóstico

El diagnóstico puede realizarse con métodos microbiológicos, histológicos o bioquímicos, todos ellos, con alto índice de sensibilidad y especificidad.<sup>3</sup>

Las recomendaciones incluyen la prueba del aliento con urea o una prueba a partir de heces (en el caso de que el paciente no haya estado tomando ni IBP (inhibidores de la bomba de protones) durante dos semanas, ni bismuto y antibióticos durante cuatro semanas antes de la prueba). Ambos métodos se pueden utilizar también para confirmar la erradicación.<sup>8</sup>

En casos donde está indicada la endoscopia, la prueba de la ureasa rápida da resultados inmediatos para poder comenzar el tratamiento (pero no para confirmar la erradicación). La prueba de susceptibilidad a antibióticos está recomendada para guiar la terapia.<sup>8</sup>

### 2.4. Tratamiento

La erradicación está recomendada en personas que consumen AINEs a largo plazo, antiagregantes plaquetarios, o en casos de anemia o trombocitopenia idiopáticas, con el objetivo de mejorar el pronóstico del paciente.<sup>9</sup>

Existen varias posibilidades en cuanto al tratamiento. Todas ellas combinan dos o más antibióticos con IBP o bismuto. Los resultados obtenidos son mejores si se realiza el tratamiento durante 10-14 días en lugar de 7 días. Los antibióticos se pueden pautar de forma secuencial, comenzando con uno de ellos y después sustituyéndolo por los otros dos; o de forma concomitante, administrando todos ellos a la vez. Si el paciente ha estado expuesto anteriormente a antibióticos por algún otro motivo (como una infección genitourinaria) se incrementa la probabilidad de que *H. pylori* resulte resistente a ellos. Además, se debe evitar utilizar el mismo régimen de tratamiento si ya ha resultado ineficaz.<sup>10</sup>

Se recomienda emplear elevadas dosis de inhibidores de la bomba de protones (IBP), puesto que aumenta la eficacia del tratamiento antimicrobiano, por varios motivos:

- Al inhibir la bomba de protones se aumentan los valores de pH intragástricos, lo que disminuye tanto la carga bacteriana como la concentración mínima inhibitoria (CMI) del antibiótico.<sup>10</sup>

→ Elevadas dosis de IBP pueden incrementar la eficacia de erradicación de *H. pylori* en metabolizadores rápidos de IBP. Hay evidencias de que polimorfismos en CYP2C19 pueden afectar a la eficacia del tratamiento en relación a la capacidad de metabolización de IBP. En Europa y América del Norte más de la mitad de los sujetos son metabolizadores rápidos de IBP.<sup>10</sup>

En otros regímenes se emplea la sal de bismuto, que contribuye a la inhibición del crecimiento bacteriano. Hasta el momento no se ha reportado ninguna resistencia al bismuto.<sup>11</sup>

El porcentaje de curación para que un tratamiento se considere aceptable debe ser de al menos el 90%. Un porcentaje superior al 95% es excelente.<sup>11</sup>

Es recomendable confirmar la erradicación de la bacteria para comprobar si el tratamiento ha sido eficaz, mediante la prueba del aliento para la detección de ureasa o la prueba de antígeno en heces. Se debe hacer cuatro semanas después de finalizar la terapia, con el fin de evitar falsos negativos. La confirmación de la erradicación es obligatoria en el caso de la presencia de úlcera péptica sangrante, linfoma MALT y tras la resección endoscópica de la mucosa en cáncer gástrico temprano.<sup>12</sup>

### 3. OBJETIVOS

- Exponer el mecanismo de acción de los antibióticos empleados en la terapia contra *H. pylori*.
- Conocer los principales mecanismos de resistencia a los antibióticos utilizados en el tratamiento de *H. pylori*.
- Establecer, si se conocen, las posibles causas de la aparición de dichas resistencias.
- Determinar cuáles son las estrategias terapéuticas para la erradicación de *H. pylori* eficaces en la actualidad.
- Plantear alternativas que puedan resultar más eficaces en un futuro.

## 4. METODOLOGÍA

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica de varios artículos encontrados en la base de datos biomédica PubMed. Principalmente, se seleccionaron aquellos que incluían información acerca de la resistencia a claritromicina y metronidazol. La búsqueda se realizó principalmente en inglés, puesto que los estudios más recientes – y que por tanto, incluyen los últimos datos conseguidos – se redactaron en este idioma. Las palabras clave utilizadas fueron “*Helicobacter pylori*”, “*resistance*”, “*antibiotics*”, “*clarithromycin*”, “*metronidazol*”, “*levofloxacin*”, “*tetracycline*”, “*amoxicillin*”, “*rifabutin*” y “*furazolidone*”. Se emplearon los conectores “AND”, “OR” y “NOT” junto con las palabras clave.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Detección de resistencia a antibióticos

Las pruebas de susceptibilidad a antibióticos son importantes para la erradicación de *H. pylori*. Los métodos utilizados son fenotípicos o genotípicos. Los métodos fenotípicos incluyen pruebas de dilución en agar, antibiogramas de difusión en disco (método Kirby-Bauer), y pruebas de epsilometría (E-test). Mediante estas pruebas se puede detectar un rango amplio de antibióticos a los que la bacteria es susceptible, a partir de cepas aisladas obtenidas de biopsias gástricas de los pacientes. No obstante, tienen algunas desventajas: el paciente no debe haber tomado ningún antibiótico antes de la biopsia, el cultivo requiere condiciones estrictas y el tiempo para su realización es elevado (al menos son necesarios 10 días para llevar a cabo todo el proceso, desde la toma de la muestra hasta la obtención de resultados).<sup>13</sup>

Los métodos genotípicos han permitido conocer las mutaciones que estaban directamente relacionadas con la aparición de la resistencia a determinados antibióticos. Mediante el desarrollo de técnicas basadas en la PCR se ha podido completar la detección directa desde muestras de biopsias gástricas o de heces, en un solo paso, sin ser necesario el cultivo.<sup>13</sup>

## 5.2. Resistencia a claritromicina

La claritromicina es un antibiótico perteneciente al grupo de los macrólidos. Los macrólidos interaccionan con el RNA ribosómico, en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano; de esta forma, impiden la translocación del tRNA unido al péptido en síntesis del sitio A del ribosoma al sitio P. La claritromicina posee mayor estabilidad en medio ácido que otros antibióticos de su grupo, como la eritromicina, al carecer de las estructuras de  $\gamma$ -hidroxicetona, que generan hemiacetales y acetales inactivos en presencia de altas concentraciones de protones.<sup>1</sup>

Mutaciones puntuales en el dominio V del RNA ribosómico 23S pueden disminuir la afinidad entre la claritromicina y la peptidil transferasa, lo que contribuye a la resistencia frente al fármaco. Las más frecuentes –responsables del 80-90% de casos de resistencia frente a claritromicina– son las mutaciones en A2143G (69,8%), A2142G (11,7%) y A2142C (2,6%)<sup>14</sup>, aunque también se conocen otras, como A2144T, T2717C y C2694A.<sup>15</sup>

Las bombas de eflujo también intervienen en la resistencia frente a claritromicina. Los inhibidores de dichas bombas (como Phe-Arg- $\beta$ -naftilamida) disminuyen la CMI de los antibióticos. Los IBP tienen similitud estructural con los inhibidores de las bombas de eflujo; de esta manera, ayudan a disminuir la cantidad de antibiótico expulsado, haciendo a las bacterias más susceptibles a su acción.<sup>1</sup>

Otros factores que están relacionados con la resistencia a claritromicina son las alteraciones de las proteínas de la membrana externa (OMP). Las cepas de *H. pylori* resistentes a claritromicina tenían sobreexpresadas algunas proteínas como HopT, HofC y OMP31. En cambio, en estas mismas cepas resistentes existe un descenso en la expresión de la proteína de membrana regulada por hierro, la ureasa B, el factor de elongación termoestable (EF-Tu) y una posible OMP.<sup>2</sup>

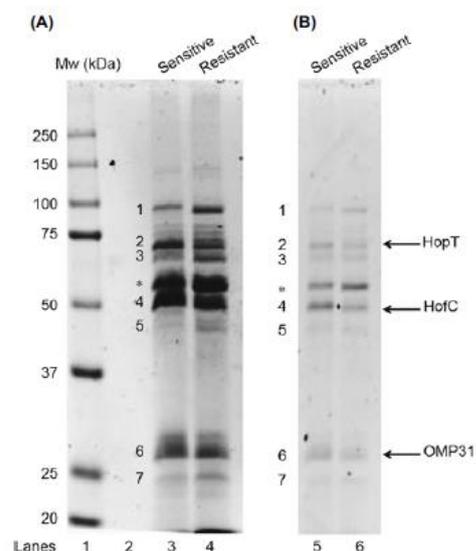


Figura 4. Perfiles proteicos de cepas de *H. pylori* sensibles y resistentes a claritromicina. 1: proteína de la membrana externa regulada por hierro; 2: HopT/BabB; 3: ureasa B; 4: HofC; 5: EF-Tu; 6: OMP31; 7: posible OMP. La muestra (B) se realizó a partir de una dilución de la muestra (A).<sup>2</sup>

Las proteínas Hop participan en la adhesión de *H. pylori* a las células epiteliales gástricas, por lo que se asocian con un daño mayor en la mucosa gastrointestinal. La mayor expresión de HopT (también denominada BabB) explica, por lo tanto, unos peores resultados clínicos. Además, en algunas cepas se observa la sustitución del gen de BabA por el de HopT/BabB. BabA es una adhesina muy bien caracterizada, que facilita la colonización e induce la inflamación de la mucosa. Teniendo en cuenta que HopT/BabB es un gen homólogo al de BabA, se podría estudiar la proteína HopT como un marcador para el desarrollo de fármacos o vacunas.<sup>2</sup>

En la mayoría de los casos, la infección es mixta, es decir, se produce por parte de cepas sensibles y resistentes a claritromicina. De forma general, la mayor parte de la carga bacteriana es sensible a claritromicina. Esto indica que la resistencia se produce de forma espontánea; las cepas resistentes permanecen en concentraciones bajas, y es tras la administración del antibiótico cuando se seleccionan las bacterias resistentes y aumentan su población.<sup>14</sup>

### 5.3. Resistencia a metronidazol

El metronidazol es un nitroimidazol sintético. Se activa mediante un mecanismo de transferencia de electrones, que genera radicales nitro y superóxido, nitrosoderivados e hidroxilamina, responsables de la destrucción del DNA. Las mutaciones en el gen que codifica una NADPH nitrorreductasa independiente de oxígeno (*rdxA*) son la principal causa de resistencia al metronidazol. También mutaciones en otros genes, como *fdxA* (que codifica para la NADPH flavinoxidorreductasa) o *fdxB* (que codifica para la *ferredoxin-like protein*) pueden inducir resistencia. La aparición de estas mutaciones en las enzimas con actividad reductasa impediría la activación del metronidazol, evitando así la formación de los radicales responsables de la acción bactericida del fármaco.<sup>1</sup>

Todas estas mutaciones que otorgan resistencia a las cepas de *H. pylori* son mutaciones *de novo*, en lugar de adquisición de alelos mutantes de *rdxA* de otras cepas de *H. pylori* resistentes al metronidazol, en contraste con los mecanismos comunes de resistencia a antibióticos en otras bacterias.<sup>16</sup>

Strain Mtz		Deduced Amino Acid Sequence of Rdx	
		1	110
26695	S	MKFLDQEKRRQLLNERHSCMKMFDSHYEFSSSTEEETAEIARLSPSSYNTQPHWFVMVTDKDLKQIAAHSYFNEEMIKSASALMVVCSLRPSELLPHGHYMQNLYPESYK	
HP500	S	.....E.....N.....V.....	
HP439	R	.....N.V.N..T.....S.....	
HP1107	R	.....N.V.N..T.....S.....	
HP1134	S	.....E.....P.....N.....K...S.....	
HP950	S	.E.....K.....N.....K.....	
HP1043	R	....H.....H.....AN.....	
		111	210
26695	S	VRVIPSFAQMLGVRFNHSMQRLESYILEQCYIAVGQICMGVSLMGLDSCIIGGFDPKLVGEVLEERINKPKIACLIALGKRVAEASQSRKSKVDAITWL	
HP500	S	.....*	
HP439	R	.....K.....I.Q.....*	
HP1107	R	.....K.....I.Q.....*	
HP1134	S	.....K.....I..KLGCD*	
HP950	S	.....T.....P.IQ.....*	
HP1043	R	.....L.SKCLA*	

Figura 5. Secuencia de aminoácidos de la enzima que codifica *rdxA* y cambios en los aminoácidos como consecuencia de las mutaciones en cada una de las cepas del estudio, algunas de las cuales son resistentes (R) y otras sensibles (S) al metronidazol.<sup>16</sup>

Además, las concentraciones excesivas de metronidazol incrementan la expresión de genes responsables de la síntesis de proteínas de la membrana externa (TolC), homólogas a las bombas de eflujo, específicamente las RND (*resistance nodulation cell division*). Esta podría ser la causa de resistencia al metronidazol en algunas cepas de *H. pylori* aisladas.<sup>1</sup>

Otros mecanismos por los que se puede originar resistencia al metronidazol son el aumento en la actividad del sistema Scavenger que reduce los radicales de oxígeno, y el incremento de la actividad de enzimas reparadoras del DNA.<sup>15</sup>

Tanto el metronidazol como la claritromicina son los dos antibióticos más utilizados en la erradicación de *H. pylori* (junto con la amoxicilina). Es posible la aparición de cepas que tengan resistencia a ambos antibióticos; de forma primaria, es poco frecuente, pero las probabilidades aumentan (hasta en un 50%) tras el fracaso de terapias que contengan metronidazol y claritromicina.<sup>14</sup>

#### 5.4. Resistencia a quinolonas

Los antibióticos pertenecientes a este grupo que se emplean en el tratamiento de *H. pylori* son el levofloxacin y el ciprofloxacino. Su mecanismo de acción se basa en la interacción con la DNA girasa bacteriana (codificada por los genes *gyrA* y *gyrB*). Mutaciones puntuales en estos genes son la causa de la resistencia a las fluoroquinolonas en *H. pylori*. Las más frecuentes son las mutaciones en las posiciones 87, 88, 91 y 97 de *gyrA*, y también en la posición 463 de *gyrB*.<sup>1</sup>

Strain	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup> of:								Substitution(s) <sup>f</sup> in GyrA
	CIP	LEV	MOX	GAT	TRO	GAR	GEM	CLI	
Clinical strains									
321S	0.25	0.5	0.5	0.12	0.25	0.25	0.12	0.03	0
322S	0.25	0.5	1	0.12	0.25	0.25	0.12	0.06	0
323S	0.5	1	2	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	0
325S	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25	0.25	0.06	0.06	0
326S	0.25	0.5	0.5	0.12	0.25	0.12	0.06	0.03	0
327S	0.5	0.5	1	0.25	0.25	0.25	0.12	0.06	0
329S	1	0.5	2	0.25	0.25	0.25	0.25	0.06	0
330S	1	1	2	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	0
331S	0.5	1	2	0.5	0.5	0.25	0.25	0.12	0
328R	16	32	64	32	8	8	8	8	Asp91Gly
361R	16	32	64	32	8	8	8	8	Asp91Gly
H14R	16	8	16	4	4	2	4	1	Asp91Asn
H23R	16	8	16	4	4	1	4	1	Asn87Lys
H67R	8	8	8	2	4	1	2	0.5	Asp91Gly
HboR	16	8	8	2	4	1	1	1	Asp91Asn

Figura 6. Sustituciones de aminoácidos en GyrA en diferentes cepas de *H. pylori* sensibles (S) y resistentes (R) a distintas fluoroquinolonas. CIP: ciprofloxacino; LEV: levofloxacino; MOX: moxifloxacino; GAT: gatifloxacino; TRO: trovafloxacino; GAR: garenoxacino; GEM: gemfloxacino; CLI: clinafloxacino. MIC: minimal inhibitory concentration.<sup>17</sup>

En la figura 6 se puede observar que las CMI de los antibióticos son mayores en las cepas resistentes. También se puede comprobar que las fluoroquinolonas más nuevas (clinafloxacino, gemifloxacino y garenoxacino) son notablemente más activas que el levofloxacino y el ciprofloxacino en las cepas sensibles, y en algunas de las cepas mutadas en *gyrA*. La mutación más frecuente es en Asp91. Puede haber mutaciones en *gyrA* no implicadas en la aparición de resistencias.<sup>17</sup>

### 5.5. Resistencia a amoxicilina

La amoxicilina es un antibiótico  $\beta$ -lactámico; su mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis de la pared bacteriana mediante la interacción con PBPs (*penicillin-binding-proteins*). A día de hoy, se conoce la expresión de múltiples PBPs en *H. pylori*. El mecanismo de resistencia más frecuente es debido a mutaciones en el gen *pbp1A*, aunque también se conocen otras implicadas en la resistencia de *H. pylori* en los genes *pbp2*, *pbp3*, *hefC*, *hopC* y *hofH*.<sup>1</sup>

Strain	Amoxicillin susceptibility	Amino acid at position								
		69	414	464+	484	541	556 <sup>a</sup>	562	593	600
HPA116	resistant	V	S	E	Y	T	S	Y	A	P
HPO1	resistant	V	S	E	Y	T	S	Y	A	P
HPK5	susceptible	A	S	-	Y	T	T	N	T	P
26695	susceptible	A	S	-	Y	T	T	N	T	P
J99	susceptible	A	S	-	Y	T	T	N	T	P
69A	susceptible	A	S	-	Y	T	T	N	T	P
69A/AMX <sup>c</sup>	resistant	A	R	-	C	I	T	N	T	T

Figura 7. Sustituciones de aminoácidos en cepas de *H. pylori* sensibles y resistentes a amoxicilina. V: valina; A: alanina; S: serina; R: arginina; E: ácido glutámico; Y: tirosina; C: cisteína; T: treonina; N: asparagina; P: prolina.<sup>18</sup>

En la figura 7 se pueden observar los aminoácidos mutados en algunas cepas resistentes a amoxicilina, en las posiciones 69, 464+, 556 y 593 de PBP1. El dominio transpeptidasa de la PBP1 de *H. pylori* tiene un centro catalítico en el cual existen tres motivos conservados; el motivo 3 contiene la secuencia KTG en 555-557. La mutación en la posición 556, que da lugar a la sustitución de la secuencia KTG por KSG, podría ser la responsable de la aparición de la resistencia a amoxicilina, ya que la secuencia KTG se ha mantenido invariable en todas las PBP1 secuenciadas hasta el momento.<sup>18</sup>

Otros estudios demuestran que la producción de  $\beta$ -lactamasas también se relaciona con unos niveles altos de resistencia a amoxicilina. Por otro lado, factores que afecten a las bombas de eflujo y disminuyan la permeabilidad de la membrana bacteriana a la amoxicilina podrían ser nuevos mecanismos de alta resistencia a este antibiótico.<sup>1</sup>

### 5.6. Resistencia a tetraciclinas

Las tetraciclinas son un grupo de antibióticos pertenecientes a la familia de los macrólidos, de alto espectro. Se unen a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, bloqueando la unión del aminoacil-tRNA e interrumpiendo así la síntesis proteica.<sup>19</sup>

La resistencia a estos antibióticos viene dada principalmente por mutaciones puntuales en *tet-1* en el rRNA 16S. En función del número de mutaciones en las bases AGA<sub>926-928</sub> la resistencia adquirida será mayor o menor. Si la mutación ocurre en las tres bases AGA<sub>926-928</sub>  $\rightarrow$  TTC en las dos copias del rRNA 16S, el grado de resistencia a tetraciclinas será elevado. En cambio, si la mutación ocurre en una o en dos de las bases, la resistencia es menor. Esta resistencia aparece tras un proceso que conlleva varios pasos, que dependen tanto de la duración de la exposición como de la dosis empleada de tetraciclinas.<sup>20</sup>

También se ha demostrado que la presencia de carbonilcianuro m-clorofenilhidrazona (CCCP), una sustancia inhibidora del gradiente de protones a través de la membrana, disminuye la concentración mínima inhibitoria de tetraciclinas. Por lo tanto, algunos mecanismos de eflujo dependientes de la fuerza motriz de protones podrían estar relacionados con la aparición de resistencias a tetraciclinas, aunque se desconocen las características exactas por las que se desarrolla resistencia a este antibiótico por este mecanismo.<sup>19</sup>

### 5.7. Resistencia a rifabutina

La rifabutina ejerce su acción bactericida mediante la interacción con la RNA polimerasa dependiente de DNA, que conlleva la inhibición del proceso de transcripción. La resistencia de *H. pylori* a la rifabutina se ha explicado por mutaciones puntuales en *rpoB*, una subunidad codificadora de la RNA polimerasa.<sup>21</sup>

Nucleotide sequence (5' to 3')	Position in the <i>rpoB</i> gene (bp)
CCCAACAGATTTAGAAGT	54-71 (sense)
GATCCCTTTGATGACAGAAC	387-406 (sense)
TACCATAACAGGCTCAGC	916-899 (antisense)
AAATGATCACAAGCACCATC	1530-1549 (sense)
ACCTTGCCATCCACAACC	1839-1822 (antisense)
ATGTGCCTGATTACATCAGCAC	1271-1292 (sense)
TTGGCGTGCATGTTAGTCC	2106-2087 (antisense)
CTTCTCCGGGTCGATGTCGTTG	294-315 (sense)
CGCGCTTGTGACGCTCAAACCTC	658-637 (antisense)
CAGACGTTGATCAACATCCG	1243-1262 (sense)
TACGGCGTTTCGATGAAC	1547-1530 (antisense)

Figura 8. Secuencias de nucleótidos mutadas ubicadas en el gen de *rpoB* que confieren resistencia a *H. pylori* frente a la rifabutina.<sup>21</sup>

### 5.8. Resistencia a furazolidona

La furazolidona es un antibiótico con estructura de nitrofurano, que interfiere con la actividad oxidorreductasa de la bacteria, bloqueando el metabolismo. El espectro de actividad y el mecanismo de acción dependen del potencial redox de los cinco grupos nitro que contiene el fármaco. Mutaciones en los genes *porD* y *oorD* de *H. pylori*, que codifican para enzimas nitrorreductasas, se asociaron con la resistencia a furazolidona. Aunque *H. pylori* posee otras nitrorreductasas (RdxA, FrxA y FrxB), sólo las codificadas por los genes *porD* y *oorD* son necesarias para su supervivencia, y además, son las únicas capaces de desoxidar la furazolidona. Por lo tanto, las mutaciones en estos genes serían la causa principal de la resistencia a este antibiótico.<sup>22</sup>

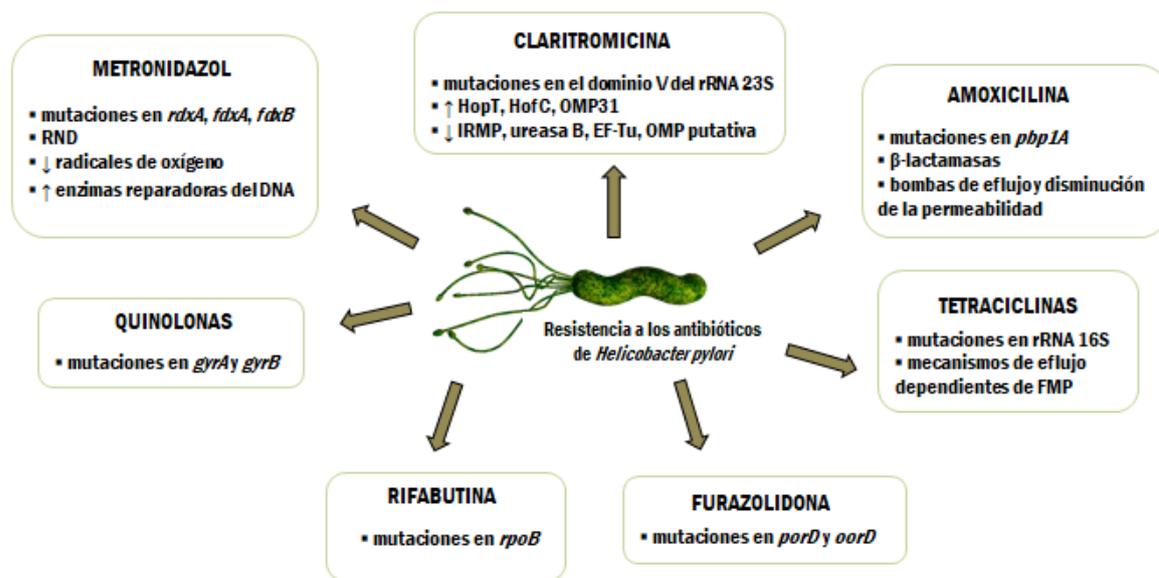


Figura 9. Resumen de los principales mecanismos moleculares de resistencia a los antibióticos en *H. pylori*.

## 5.9. Epidemiología y prevalencia de la aparición de resistencias

En la siguiente tabla se muestran las distintas tasas de resistencia a los antibióticos en diferentes regiones del mundo, así como la prevalencia total. Destacadamente, claritromicina y metronidazol presentan mayores tasas de resistencia que el resto de antibióticos.

Región (n)	Cla (%)	Met (%)	Amo (%)	Tet (%)	Levo (%)	Rif (%)	Fur (%)
Asia (23.748)	27,46	46,57	23,61	7,38	25,28	12,45	23,00
Sudamérica (587)	12,88	52,85	6,56	0	21,23	NR	0
Norteamérica (818)	30,80	30,50	2,00	0	19,00	NR	NR
Europa (26.024)	22,11	31,19	0,35	1,15	14,19	1,00	NR
África (831)	5,46	75,02	40,87	50,00	15,00	NR	NR
Total (52.008)	<b>19,74</b> (5,46-30,8)	<b>47,22</b> (30,5-75)	<b>14,67</b> (2-40,87)	<b>11,70</b> (0-50)	<b>18,94</b> (14,2-25,3)	<b>6,75</b> (1-12,4)	<b>11,5</b> (0-23)

Figura 10. Cla: claritromicina; Met: metronidazol; Amo: amoxicilina; Tet: tetraciclinas; Levo: levofloxacin; Rif: Rifabutina; Fur: Furazolidona. NR: no registrado.<sup>23</sup>

Los datos correspondientes a la tabla anterior se representan en el siguiente gráfico:

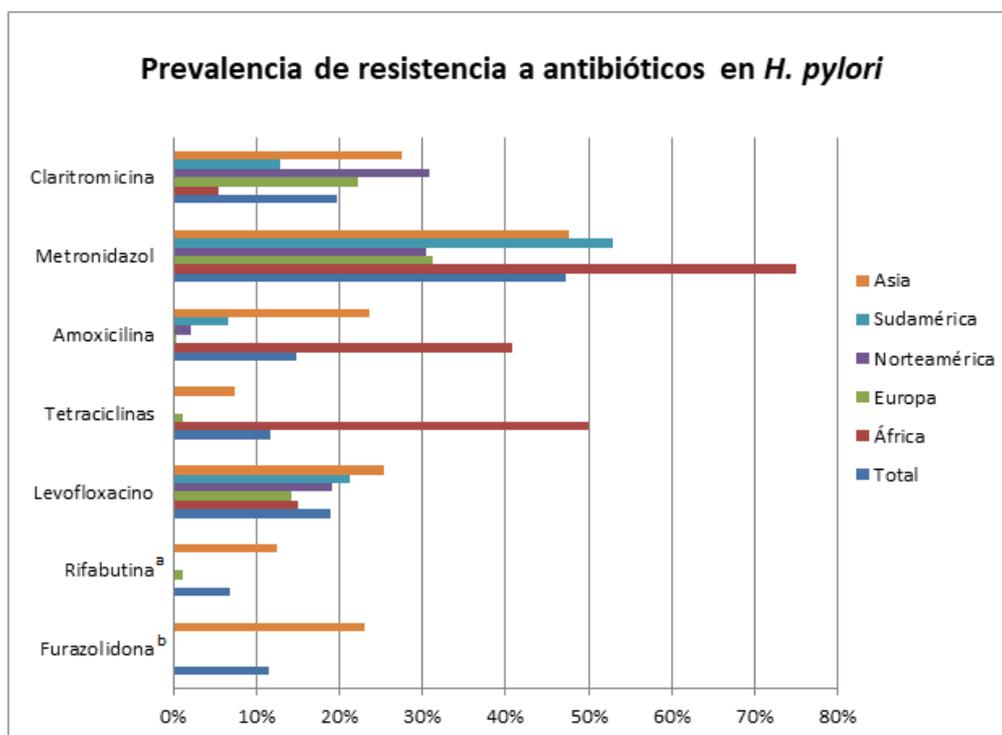


Figura 11. Prevalencia de resistencia a diferentes antibióticos en *H. pylori* en diferentes continentes.<sup>23</sup>

<sup>a</sup> Sin datos en Sudamérica, Norteamérica y África

<sup>b</sup> Sin datos en Norteamérica, Europa y África

## 5.10. Tratamientos eficaces en la actualidad

Actualmente, los tratamientos de primera línea se establecen en función de la prevalencia de resistencia a claritromicina encontrada en un área determinada, y de la exposición individual a tratamientos con macrólidos. No obstante, la obtención de datos acerca de la frecuencia de aparición de resistencia a antibióticos de *H. pylori* no es sencilla en todas las zonas. Por ello, la elección del tratamiento de primera línea no es siempre fácil, y en estas áreas se debe hacer en función de la eficacia local de los diferentes regímenes y en base a la exposición previa de cada paciente a antibióticos.<sup>10</sup>

Los regímenes de tercera línea suelen basarse en pruebas de susceptibilidad realizadas en cultivos o en la determinación molecular del genotipo resistente. No obstante, estas opciones no siempre son posibles de realizar, por lo que se recomienda el uso de un tratamiento de tercera línea empírico, que no debe ser una de las terapias empleadas anteriormente.<sup>10</sup>

PRIMERA LÍNEA		
>15% resistencia a claritromicina	Resistencia claritromicina + metronidazol	<15% resistencia a claritromicina
sal de bismuto + IBP + tetraciclina + metronidazol	sal de bismuto + IBP + tetraciclina + metronidazol	IBP + claritromicina + metronidazol
IBP + claritromicina + amoxicilina + metronidazol		
SEGUNDA LÍNEA		
Sal de bismuto + IBP + tetraciclina + metronidazol		
Levofloxacino + IBP + amoxicilina*		
TERCERA LÍNEA		
Pruebas de susceptibilidad		
Régimen no utilizado como primera o segunda línea		
Terapia cuádruple con bismuto y levofloxacino		
Rifabutina + IBP + amoxicilina		

\*Tras el fallo de la terapia con bismuto.

Figura 12. Resumen de las principales combinaciones de fármacos empleadas como primera, segunda y tercera línea en el tratamiento de *H. pylori*.<sup>10</sup>

### 5.11. Posibles alternativas en el tratamiento

Un fármaco que puede ser incluido en un futuro en la terapia de erradicación de *H. pylori* es el vonoprazan. El vonoprazan es un inhibidor reversible de la bomba ATPasa  $H^+/K^+$ ; por lo tanto, actuaría disminuyendo el nivel de ácido en el estómago –lo que contribuye a la disminución de la carga bacteriana y aumenta la eficacia de la terapia antibiótica, como se ha explicado anteriormente.<sup>1,12</sup>

Otra forma de poder combatir la enfermedad sería mediante la administración de vacunas. En el año 2015, un estudio realizado en China mostró buenos resultados; tras la administración de tres dosis orales de una ureasa de *H. pylori* fusionada con un adyuvante a una población adolescente, se obtuvo una prevención de más del 70% de las infecciones esperadas en un año. Si la vacuna resultase eficaz, podría resolver el problema de la resistencia bacteriana y eliminar la enfermedad asociada a *H. pylori* de forma completa.<sup>12</sup>

En los últimos años también se está considerando la posibilidad de incluir probióticos en las terapias de erradicación de *H. pylori*. Algunos, como *Bifidobacterium bifidum* o varias especies del género *Lactobacillus*, han demostrado tener efectos inhibitorios directos en la colonización gástrica de *H. pylori*, además de impedir la adhesión a las células del epitelio gástrico, reducir la inflamación al reestablecer la barrera de la mucosa gástrica y la producción de ácido y modular la respuesta inmune del hospedador, que conlleva la muerte de *H. pylori* por secretasas antimicrobianas. Además, tienen un efecto adyuvante en el tratamiento al contribuir a la regeneración de la microbiota intestinal, que puede haber sido destruida por los antibióticos. No obstante, son necesarios más estudios para determinar cuáles son los beneficios reales al emplear probióticos en el tratamiento de erradicación de *H. pylori*.<sup>24</sup>

## 6. CONCLUSIONES

- El mecanismo de acción de los antibióticos más empleados en el tratamiento de *H. pylori* se basa en la inhibición de la síntesis de proteínas, en la interacción con enzimas relacionadas con el DNA o en el daño directo al DNA.
- La aparición de resistencias se atribuye principalmente a mutaciones puntuales en los genes que codifican para enzimas o proteínas que actúan como diana de los antibióticos.
- Existen otros mecanismos que contribuyen a la resistencia: bombas que expulsan el antibiótico, alteraciones en las proteínas de membrana externa o alteraciones en la permeabilidad de la membrana.
- Es posible la aparición de resistencia a más de un antibiótico en *H. pylori*, sobre todo tras el fracaso de alguna terapia, ya que se seleccionan las cepas más resistentes.
- Para garantizar la erradicación se debería ajustar el régimen de tratamiento en cada persona, mediante pruebas de susceptibilidad a antibióticos a partir de muestras individuales, o bien con los datos epidemiológicos acerca de la prevalencia de la resistencia a cada antibiótico en su área de residencia.
- Son más eficaces las terapias dirigidas en base a los datos obtenidos en la prueba de susceptibilidad y polimorfismos del gen CYP2C19, que afecta al metabolismo de los IBP.
- El diagnóstico adecuado, la adhesión al tratamiento y la elección correcta del régimen de antibióticos son hoy en día los puntos fundamentales para lograr el éxito en la erradicación de *H. pylori*.
- En un futuro, la inclusión en el tratamiento de otros fármacos antisecretores, de probióticos o el desarrollo de vacunas pueden ser alternativas que resulten eficaces.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Hu Y, Zhu Y, Lu N-H. Novel and Effective Therapeutic Regimens for *Helicobacter pylori* in an Era of Increasing Antibiotic Resistance. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017;**7**:168.
2. Smiley R, Bailey J, Sethuraman M, Posecion N, Showkat Ali M. Comparative proteomics analysis of sarcosine insoluble outer membrane proteins from clarithromycin resistant and sensitive strains of *Helicobacter pylori*. *Journal of Microbiology.* 2013;**51**(5):612-18.
3. Muñoz J, Iglesias H, Fidalgo L. *Helicobacter pylori* y patología gastroduodenal: patogenia, diagnóstico y pautas terapéuticas. *Elsevier.* 2018;**19**(7):377-82.
4. Kao C-Y, Sheu B-S, Wu J-J. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal.* 2016;**39**(1):14-23.
5. Camilo V, Sugiyama T, Touati E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2017;**22**(1):e12405.
6. Backert S, Tegtmeyer N, Fischer W. Composition, structure and function of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island encoded type IV secretion system. *Future Microbiol.* 2015;**10**(6):955-65.
7. Zamani M, Ebrahimitabar F, Zamani V, Miller WH, Alizadeh-Navaei R, Shokri-Shirvani J. Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2018;**47**(7):868-76.
8. Bjorkman DJ, Steenblik M. Best Practice Recommendations for Diagnosis and Management of *Helicobacter pylori*—Synthesizing the Guidelines. *Current Treatment Options in Gastroenterology.* 2017;**15**(4):648-59.
9. Yeo YH, Shiu S-I, Ho HJ, Zou B, Lin J-T, Wu M-S. First-line *Helicobacter pylori* eradication therapies in countries with high and low clarithromycin resistance: a systematic review and network meta-analysis. *Gut.* 2017;**67**(1):20-7.
10. Zagari RM, Rabitti S, Eusebi LH, Bazzoli F. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: A clinical practice update. *Eur. J. Clin. Invest.* 2018;**48**(1):e12857.
11. Gisbert JP, McNicholl AG. Optimization strategies aimed to increase the efficacy of *H. pylori* eradication therapies. *Helicobacter.* 2017;**22**(4):e12392.
12. Siddique O, Ovalle A, Siddique AS, Moss SF. *Helicobacter pylori* Infection: An Update for the Internist in the Age of Increasing Global Antibiotic Resistance. *The American Journal of Medicine.* 2018;**131**(5):473-9.
13. Wang Y, Li Z, Wang L, Zhu-ge L, Zhao R, Wu S. A systematic review and meta-analysis of genotypic methods for detecting antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 2018;**23**(2):e12467.
14. Megraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut.* 2004;**53**(9):1374-84.
15. Alba C, Blanco A, Alarcón T. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Current Opinion in Infectious Diseases.* 2017;**30**(5):489-97.
16. Goodwin A, Kersulyte D, Sisson G, Veldhuyzen van Zanten SJO, Berg DE, Hoffman PS. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* is due to null mutations in a gene (*rdxA*) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Molecular Microbiology.* 1998;**28**(2):383-93.

17. Tankovic J, Lascols C, Sculo Q, Petit J-C, Soussy C-J. Single and Double Mutations in *gyrA* but Not in *gyrB* Are Associated with Low- and High-Level Fluoroquinolone Resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003;**47**(12):3942-4.
18. Okamoto T, Yoshiyama H, Nakazawa T, Park I-D, Chang M-W, Yanai H, et al. A change in PBP1 is involved in amoxicillin resistance of clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2002;**50**(6):849-56.
19. Anoushiravani M, Falsafi T, Niknam V. Proton motive force-dependent efflux of tetracycline in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of Medical Microbiology*. 2009;**58**(10):1309-13.
20. Gerrits MM, Berning M, Van Vliet AHM, Kuipers EJ, Kusters JG. Effects of 16S rRNA Gene Mutations on Tetracycline Resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003;**47**(9):2984-6.
21. Heep M, Rieger U, Beck D, Lehn N. Mutations in the Beginning of the *rpoB* Gene Can Induce Resistance to Rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000;**44**(4):1075-7.
22. Su Z, Xu H, Zhang C, Shao S, Li L, Wang H, et al. Mutations in *Helicobacter pylori* *porD* and *oorD* Genes May Contribute to Furazolidone Resistance. *Croat Med J*. 2006;**47**(1):410-15.
23. Ghotaslou R, Leylabadlo HE, Asl YM. Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: A recent literature review. *World Journal of Methodology*. 2015;**5**(3):164-74.
24. Zhu XY, Liu F. Probiotics as an adjuvant treatment in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Journal of Digestive Diseases*. 2017;**18**(4):195-202.