

# Susceptibilidad antibacteriana y diagnóstico molecular de cepas de *Helicobacter pylori* en pacientes con gastropatías crónicas

**Autor** Juneidy Aguilera<sup>1</sup>, Diana Ortiz-Princz<sup>2</sup> , Guillermo Veitia<sup>3</sup> , Juan Carlos Otero<sup>4</sup>, María Eugenia Cavazza<sup>5</sup>

**Afiliación** 1 Servicio de Bacteriología Clínica, Hospital Vargas. Caracas-Venezuela.  
 2 Doctora en Ciencias de la Salud. Coordinadora Laboratorio de Microbiología Molecular. Servicio Autónomo Instituto de Biomedicina "Dr. Jacinto Convit", y Cátedra de Inmunología. Escuela José María Vargas. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela. Correo electrónico: [dprincz@gmail.com](mailto:dprincz@gmail.com) ORCID: [0000-0002-5722-1942](https://orcid.org/0000-0002-5722-1942)  
 3 Presidente de la Sociedad Venezolana de Gastroenterología. Gastroenterólogo. Hospital Dr. José María Vargas. Caracas, Venezuela. Correo electrónico: [gveitia@gmail.com](mailto:gveitia@gmail.com) ORCID: [0000-0003-4843-6797](https://orcid.org/0000-0003-4843-6797)  
 4 Servicio de Gastroenterología, Hospital Vargas. Caracas-Venezuela.  
 5 Cátedra de Bioquímica. Escuela José María Vargas. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela.

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2019; 73(4): 117-124.

© Sociedad Venezolana de Gastroenterología. Caracas, Venezuela- ISSN 2477-975X.

**Fecha de recepción:** 18/07/2019

**Fecha de revisión:** 03/09/2019

**Fecha de Aprobación:** 11/09/2019

## Resumen

**Introducción:** *H. pylori* es de alta prevalencia en Venezuela y el mundo, sus genes *vacA* y *cagA* son un factor de riesgo para el desarrollo de patologías gástricas severas. La resistencia y los esquemas de tratamiento deben ser evaluados. **Objetivo:** Evaluar el perfil de susceptibilidad antibacteriana y realizar detección molecular de *H. pylori* a partir de aislados de pacientes con gastropatías crónicas. **Pacientes y Métodos:** Se evaluaron 124 pacientes en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Vargas, Caracas-Venezuela. Se realizó endoscopia digestiva, toma de biopsias de antro, pruebas de susceptibilidad a Claritromicina, Amoxicilina y Levofloxacina (E-test) y detección molecular de genes *vacA*, *cagA* y mutaciones A2142G / A2143G. **Resultados:** Solo 7% de los cultivos fueron positivos. Por PCR se detectó 65% de infección y 54% del gen *cagA*, en cuanto a *vacA*: s1 30%, s1/m1 22%, s2 21%, s2/m2 7%, s1/m2 5% y 20% de infección mixta. Se detectó 55,5% de resistencia a Claritromicina y 11,1% a Levofloxacina. El 3% presentó la mutación A2143G. **Conclusión:** Se evidenció resistencia a claritromicina y a levofloxacina en menor proporción. Las técnicas moleculares para el diagnóstico y evaluación de la resistencia son importantes herramientas a considerar para la evaluación de la infección.

**Palabras clave:** Susceptibilidad antibacteriana, PCR, *H. pylori*, patogenicidad, *cagA*, *vacA*.

## ANTIBACTERIAL SUSCEPTIBILITY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS IN ISOLATED *Helicobacter pylori* FROM VENEZUELAN PATIENTS WITH CHRONIC STOMACH DISEASES

### Summary

**Introduction:** *H. pylori* is of high prevalence in Venezuela and the world, its *vacA* and *cagA* genes are a risk factor for the development of severe gastric pathologies. Resistance and treatment should be evaluated. **Objective:** To evaluate the profile of antibacterial susceptibility and perform the molecular detection of *H. pylori* from the symptoms of patients with chronic gastric disease. **Patients and Methods:** 124 patients were evaluated in the Gastroenterology Service of Vargas Hospital, Caracas-Venezuela. Digestive endoscopy, antrum biopsy, susceptibility tests to Clarithromycin, Amoxicillin and Levofloxacin (E-test) and molecular detection of *vacA*, *cagA* genes and A2142G / A2143G mutations were performed. **Results:** Only 7% of the crops were positive. PCR, 65% of infection and 54% of the *cagA* gene were detected, in *vacA*: s1 30%, s1 / m1 22%, s2 21%, s2 / m2 7%, s1 / m2 5% and 20% infection mixed. 55.5% resistance to Clarithromycin and 11.1% to Levofloxacin was detected. 3% presented the A2143G mutation. **Conclusion:** Resistance to clarithromycin and levofloxacin is evidenced. The molecular techniques for the

diagnosis and evaluation of resistance are important tools to be consider the evaluation of the infection.

**Key words:** Antibacterial susceptibility, PCR, *H. pylori*, pathogenicity, *cagA*, *vacA*.

## Introducción

Se estima que más del 50% de la población mundial está infectada con *H. pylori*, en países en vías de desarrollo la tasa de infección en la población sobrepasa el 80%<sup>1</sup>. La persistencia de la infección con *H. pylori* puede ocasionar el desarrollo de diversas patologías como gastritis, úlcera gástrica o duodenal, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT) y adenocarcinoma gástrico; por lo que es considerado el primer agente etiológico para la mayoría de los desórdenes gastroduodenales siendo declarado como agente carcinógeno humano tipo I en 1994, por la Organización Mundial de la Salud y la Agencia Internacional del Cáncer<sup>2</sup>. La infección por *H. pylori* induce un proceso inflamatorio que produce gastritis crónica, la cual puede permanecer asintomática durante años o evolucionar desde una gastritis no atrófica a patologías gástricas severas<sup>3,4</sup>, es por ello que existe consenso a nivel mundial sobre la importancia de su erradicación, la cual ha sido planteada como estrategia para la prevención de cáncer gástrico en el mundo<sup>5,9</sup>. Sin embargo, el incremento paulatino de la resistencia a nivel mundial a los antibacterianos de elección como primera línea para el tratamiento de la infección por *H. pylori*, es un tema de gran preocupación, siendo que en el presente, la eficacia de las terapias triples ha disminuido, encontrándose en un rango que va del 60 al 70%, mientras que años atrás cubrían alrededor del 90 %<sup>5-8</sup>.

Claritromicina, Metronidazol, Amoxicilina y Levofloxacina son los antibióticos más frecuentemente empleados en la terapia de primera y segunda línea en la erradicación de *H. pylori*, quien ha desarrollado resistencia a estos antibióticos por medio de mecanismos de mutaciones puntuales disminuyendo la efectividad de su eliminación<sup>9</sup>.

Pocos estudios se han realizado en Venezuela sobre resistencia antimicrobiana de *Helicobacter pylori*. Urrestarazu et al (2003), reportaron en Caracas que la resistencia a Metronidazol fue de 67%, a Claritromicina de 7%, a Tetraciclina de 7% y no se reportó resistencia a amoxicilina<sup>10</sup>, Cavazza et al (2017) reportaron igualmente en Caracas en pacientes con úlcera duodenal, resistencia de 67% a metronidazol, 5,2% a Claritromicina y Eritromicina y 7,8% a Tetraciclina sin encontrar resistencia a amoxicilina<sup>11</sup>. Granda et al (2009) en Barquisimeto, reportaron resistencia a Metronidazol de 75% y a Claritromicina de 15%<sup>12</sup>.

La resistencia varía de acuerdo a los países y sus regiones, por lo tanto, es necesario contar con datos sobre la susceptibilidad de *H. pylori* frente a los diferentes antibacterianos de uso frecuente en el tratamiento de la infección, siendo que en

Venezuela existe una alta prevalencia de *H. pylori*, de cepas virulentas<sup>11-18</sup> y además un alta de prevalencia de cáncer gástrico sobre todo en la zona Andina, donde alcanza una tasa de 16,4% por cada 1000 habitantes<sup>19</sup>. El objetivo de este trabajo fue evaluar el perfil de susceptibilidad antibacteriana de las cepas *H. pylori* aisladas de pacientes con gastropatías crónicas que asistieron a la consulta de gastroenterología del Hospital Vargas de Caracas y determinar sus características genéticas asociadas a patogenicidad.

## Pacientes y Métodos

Se evaluaron 124 pacientes con gastropatías y presencia sugestiva de *H. pylori* tratados o no con terapia antimicrobiana, que por criterio medico requirieron someterse a estudio endoscópico de las vías digestivas superiores en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Vargas de Caracas (Febrero-Agosto 2016).

Se excluyeron: pacientes que habían consumido antibióticos durante los últimos seis meses e inhibidores de la bomba protones dos semanas previas a la intervención, pacientes con cáncer gástrico, úlceras sangrantes y/o cuadros de anemias.

Bajo criterio médico y previo consentimiento informado de cada paciente, se realizó toma de biopsias de antro gástrico a cada paciente, destinadas a: cultivo de *H. pylori*, diagnóstico de *H. pylori* por biología molecular utilizando la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa convencional (PCR) y evaluación histopatológica. Fueron tomadas de último las biopsias destinadas a anatomía patológica para evitar el contacto con formol de las muestras para cultivo y PCR, realizando la adecuada desinfección de la pinza entre cada paciente para evitar la infección cruzada.

### Cultivo de *H. pylori*

Identificar al ingreso la severidad de la enfermedad es trascendental para determinar si el paciente ingresa a cuidados intermedios o intensivo y decidir la terapia oportuna y efectiva para minimizar la morbimortalidad<sup>10</sup>. Existen innumerables escalas: Criterios de Ranson, APACHE II y APACHE 0, Criterios de Glasgow modificado (Imrie), BALI score, PANC 2 score, BISAP, HAPS, POP, Determinación basada en sistemas, Índice de Severidad por Tomografía Computarizada Contrastada TCC, Clasificación de Atlanta, EPIC<sup>11-13</sup>.

### Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

Se estudió la sensibilidad a Claritromicina, Amoxicilina y Levofloxacina (OXOID) en los cultivos de *H. pylori* obtenidos a partir de las biopsias gástricas de los pacientes. La determinación de sensibilidad antibiótica se realizó por el método E-test, determinando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para Amoxicilina y Levofloxacina y por el

método de difusión en disco para Claritromicina. Se utilizaron placas de agar sangre, que fueron inoculadas con torunda como césped, posteriormente se colocó una tira E-test por cada placa en el caso de Amoxicilina y Levofloxacina y para Claritromicina un disco de 15 µg. Se incubaron las placas a 37 °C con 5-10 % de CO<sub>2</sub>. A los tres días de incubación se realizó una primera lectura y a los cinco días la lectura definitiva, bajo protocolo previamente estandarizado en el Laboratorio de Microbiología SAIBJC.

Se utilizaron los puntos de corte establecidos por la CLSI (CLSI 2015). Las cepas fueron consideradas resistentes si tuvieron una CMI >2mg/L para amoxicilina y una CMI >4mg/L para Levofloxacina. En el caso de la Claritromicina fueron consideradas resistentes cepas con un halo de inhibición mayor o igual a 18 mm<sup>20</sup>.

**PCR para la identificación de genes de *H. pylori***

El ADN genómico a partir de biopsias gástricas fue obtenido utilizando el método de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico. Los cebadores utilizados para cada gen identificado en este estudio fueron los siguientes:

ureC 5'GGATAAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGG3,5'GCT TACTTTCTAACACTAACGCGC3' (294 pb)<sup>21</sup>, vacA s1/s2 5'ATGGAAATACAACAAACACAC3', 5'CTGCTTGAATGCGCCAAAC3'(259/286 pb)(5),vacA m1/m2 5'CAATCTGTCCAATCAAGCGAG3', 5'GCGTCAAATAATTCCAAGG3' (567/642 pb)<sup>22</sup>, cagA3' 5'ACCCTAGTCGGTAATGGGTTA3', 5'GTAATTGTCTAGTTTCGC3' (642 tipo A, 756 tipo B y D, 810 tipo C)<sup>23</sup>.

La mezcla de reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl: 2,5 µl de buffer 10X, 0,2 mmol de cada deoxinucleotido trifosfato, 25 pmol de cada cebador, 4 mmol de cloruro de magnesio, 1,25 U de Taq DNA polimerasa, 100 ng de la muestra de ADN y 10,35 µl de agua desionizada estéril. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en 35 ciclos. La visualización de los productos amplificados se realizó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio.

**Detección de la presencia de mutaciones A2142G y A2143G en el gen 23S ARNr**

Se realizó la determinación cualitativa por PCR convencional de las mutaciones A2142G y A2143G en el gen 23S ARNr utilizando el estuche comercial: ClaR-*H. pylori* ACE Detection (Segeene), siguiendo las indicaciones del fabricante.

**Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos fueron representados como frecuencias absolutas, porcentajes y promedios. La comparación de

proporciones se realizó utilizando la prueba exacta de Fisher y Chi cuadrado.

**Resultados**

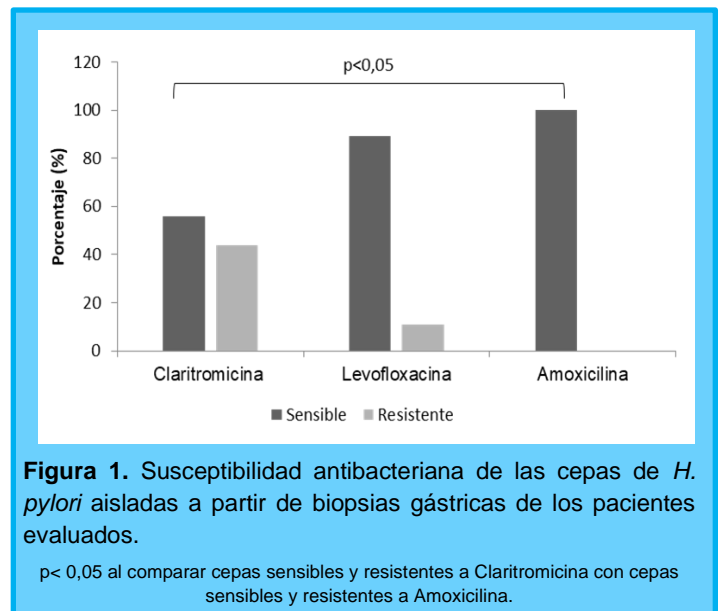
**Cultivos de *H. pylori* a partir de biopsias gástricas**

Se evaluaron 124 muestras de biopsias gástricas obtenidas de pacientes con gastropatías crónicas; 64% (79/124) mujeres y 36% (45/124) hombres (p< 0,0001) (54 ± 13,5 años).

Se aisló *H. pylori* en el 7% de las muestras (9/124), en el 62% (77/124) de las muestras no se observó crecimiento bacteriano y 31% (38/124) se reportaron como contaminadas ya que mostraron crecimiento de otras bacterias que forman parte del microbiota acompañante del tracto gastrointestinal.

**Evaluación de la susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *H. pylori***

Se determinó la susceptibilidad por E-test y difusión en disco en las 9 cepas de *H. pylori* aisladas; 56% (5/9) resultaron resistentes a Claritromicina, 11% (1/9) resistente a Levofloxacina y ninguna mostró resistencia a amoxicilina. (Figura 1).



**Figura 1.** Susceptibilidad antibacteriana de las cepas de *H. pylori* aisladas a partir de biopsias gástricas de los pacientes evaluados.

p< 0,05 al comparar cepas sensibles y resistentes a Claritromicina con cepas sensibles y resistentes a Amoxicilina.

**Detección de los genes *ureC*, *vacA* y *cagA* por PCR**

En 60% (74/124) de los ADN extraídos de las biopsias de los pacientes, se detectó el gen *ureC* y en 65 % (81/124) se detectó alguna de las variantes alélicas s/m del gen *vacA*. 54 % (37/81) de las muestras positivas para *H. pylori* presentaron el gen *cagA* (Tabla 1).

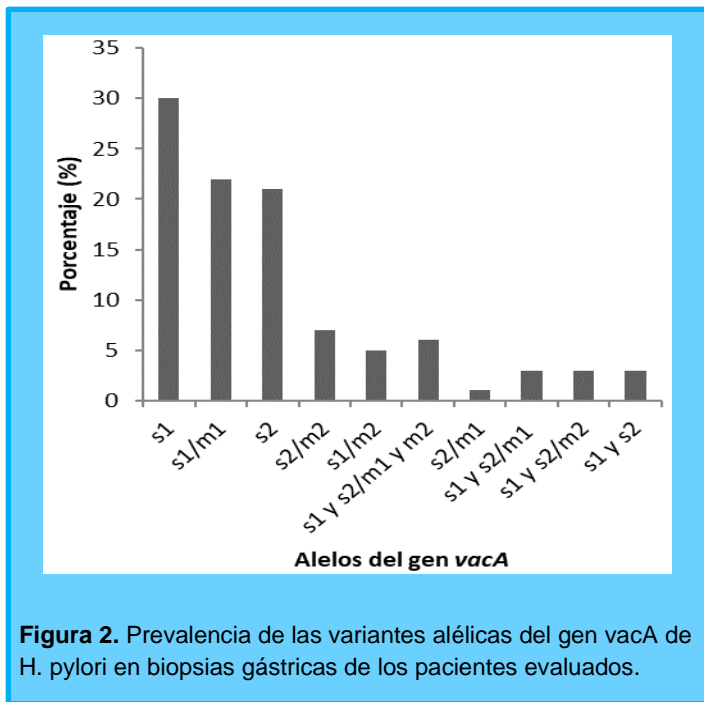
**Tabla 1.** Prevalencia de genes de *H. pylori* detectados por PCR en biopsias gástricas de los pacientes evaluados.

Gen	Positivos	Negativos
<i>ureC</i>	60%* (74/124)	40% (50/124)
<i>vacA</i>	65%* (81/124)	35% (43/124)
<i>cagA</i>	54% (44/81)	46% (37/81)

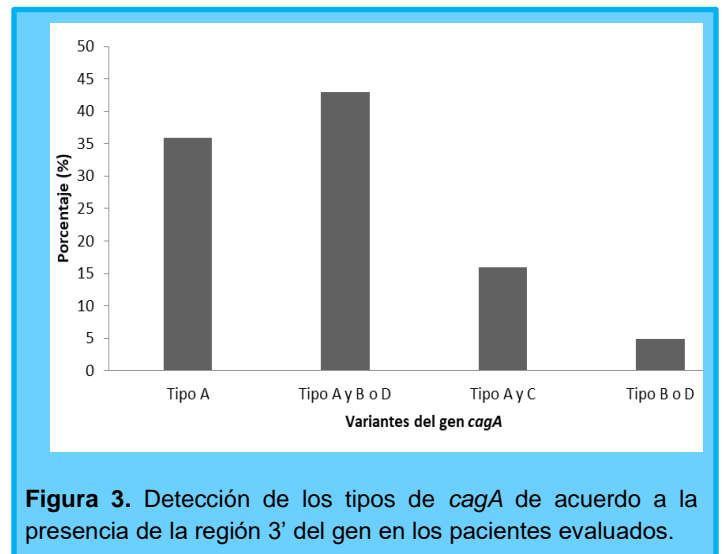
\*p<0,0001 al comparar positivos y negativos para *ureC* y *vacA*.

evidenció infección mixta detectándose en 43% (19/44) tipo A y B o D, y en 16% (7/44) tipo A y C (Figura 3).

Se observó mayor frecuencia de la variante s1 del gen *vacA* sin detección de la región m en un 30% (24/81), seguida de la variante alélica s1/m1 con un 22% (18/81) de frecuencia y s2 sin detección de la región m en un 21% (17/81). El menor índice de frecuencia fue representado por s2/m2 en un 7% (6/81) y s1/m2 5% (4/81). Se observó la presencia de infección mixta detectándose: 6% (5/81) de muestras s1/m1 y s2/m2, s1s2/m1, 6% (8/81) s1s2/m2, 2% (2/81) s1s2 sin detección de m y 1% (1/81) s2/m1 (Figura 2).



**Figura 2.** Prevalencia de las variantes alélicas del gen *vacA* de *H. pylori* en biopsias gástricas de los pacientes evaluados.



**Figura 3.** Detección de los tipos de *cagA* de acuerdo a la presencia de la región 3' del gen en los pacientes evaluados.

Se identificaron los tipos A, B, C o D de la región 3' del gen *cagA*. 54% (44/81) de las muestras resultaron positivas para la región 3' de *cagA*, de las cuales el 36% (16/44) fueron del tipo A, 5% (2/44) tipo B o D y en 59% (26/44) de las muestras se

La combinación s1/m1 fue la más frecuente en las muestras *cagA* positivas presentándose esta combinación en un 34% (15/44), seguido de un 25% (11/44) de cepas s1 sin detección de la región m. Las muestras *cagA* negativas presentaron mayor frecuencia del alelo s1 sin detección de la región m en un 35% (13/37) seguido de cepas s2 en un 30% (11/37) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Prevalencia de genes de *H. pylori* detectados por PCR en biopsias gástricas de los pacientes evaluados.

Gen	s1/m1	s1	s2	s1/m2	s2/m2	s1 s2	s2/m1	s1 s2/m1m2	s1 s2/m1	s1 s2/m2
<i>cagA</i> + n= 44	34%* (15/44)	25% (11/44)	13% (6/44)	7% (3/44)	5% (2/44)	2% (1/44)	-	7% (3/44)	5% (2/44)	2% (1/44)
<i>cagA</i> - n= 37	8%* (3/37)	35% (13/37)	30% (11/37)	3% (1/37)	11% (4/37)	3% (1/37)	3% (1/37)	4% (2/37)	-	3% (1/37)
Total <i>Hp</i> + n= 81	23% (18/81)	31% (24/81)	21% (17/81)	5% (4/81)	7% (6/81)	2% (2/81)	1% (1/81)	6% (5/81)	2% (2/81)	2% (2/81)

\* p < 0,005 al comparar s1m1 con s1m2 en cepas *cagA* negativas y s1m1 en cepas *cagA* negativas y positivas.

Presencia de mutaciones A2142G y A2143G

Debido al bajo número de cultivos positivos que permitieron realizar las pruebas de susceptibilidad y con el objeto de obtener más datos en cuanto a la resistencia de *H. pylori* frente a los antibióticos, se seleccionaron al azar 30 muestras positivas para *H. pylori*; 15 *cagA* positivas y 15 *cagA* negativas, de las 81 muestras evaluadas por cultivo y confirmadas por PCR, para detectar la presencia de las mutaciones A2142G y A2143G en el gen 23S ARNr responsable de la resistencia de *H. pylori* a Claritromicina, utilizando la técnica de PCR. Se detectó la mutación A2142G en el 3% (1/30) de las muestras evaluadas y en ninguna se identificó la mutación A2143G.

Resistencia de las cepas aisladas y la presencia de genes de virulencia

De las cepas resistentes solo a Claritromicina 50% (2/4) fueron *cagA* positivas; una s1m1 y la otra s2 sin detección de la región m, del otro 50% restantes *cagA* negativas; una fue s1m2 y la otra s1 sin detección de la región m. La cepa resistente a Claritromicina y Levofloxacina fue *cagA* positiva, s2 sin detección de la región m de *vacA*. Del 55,5% (5/9) de las cepas que fueron sensibles a Claritromicina, 40% (2/5) fueron *cagA* positivas (Figuras 4 y 5).

Discusión

*H. pylori* es un microorganismo de difícil cultivo tanto por su exigencia en cuanto a requerimientos nutricionales y alta tasa de contaminación, así como por la laboriosidad del método<sup>24,25</sup>, lo que hace que sea considerado un método de baja sensibilidad; sin embargo, cuando es posible su obtención, éste representa 100% de especificidad<sup>24</sup>.

En este estudio, se encontró un 7% de positividad para *H. pylori* por cultivo, sin embargo, 65% de las muestras fueron positivas al ser evaluadas por PCR. El bajo rendimiento del cultivo particularmente en este trabajo pudo deberse a la posible baja densidad de bacterias en la muestra, a lo cual pudo haber contribuido que algunos pacientes no recordaran el tiempo exacto de consumo de antibióticos previo por alguna otra patología diferente a las gástricas o que tomaran inhibidor de la bomba de protones asociado a otro tipo de tratamiento y no lo reportaron cuando fueron evaluados. Además, por razones técnicas solo fueron tomadas muestras en antro y no en cuerpo y fundus como es recomendado, lo cual pudo disminuir la posibilidad de aislamiento tomando en cuenta que *H. pylori* coloniza en parches<sup>5,24</sup>.

Trabajos previos a nivel nacional, Ortiz<sup>26</sup> reportaron 79% de positividad de *H. pylori* por PCR y baja sensibilidad para el cultivo; en Caracas. Arismendi *et al.*, al comparar los métodos de diagnósticos de cultivo y PCR refirieron que el cultivo es un método menos sensible que el método de PCR el cual varía notablemente entre laboratorios<sup>16,17</sup>.

La susceptibilidad *in vitro* de las cepas de *H. pylori* mostró 44% (4/9) de resistencia a Claritromicina. Trabajos previos han reportado 7% y 5,2% de resistencia a Claritromicina en Caracas en el año 2003 y período 2009-2011 respectivamente<sup>10,11</sup>, en 2009 la resistencia a Claritromicina fue del 15% en Barquisimeto<sup>12,13</sup>. En 2013 se reportó 33% de falla terapéutica en la erradicación con el uso de Claritromicina en Caracas<sup>28</sup>. Observándose una tendencia al aumento de la resistencia y/o a la falla terapéutica con el uso de la Claritromicina, lo que podría indicar que la resistencia a este antibiótico ha incrementado. Se observó 11% (1/9) de cepas resistentes a Levofloxacina, no reportándose resistencia a Amoxicilina lo cual concuerda con trabajos previos<sup>10,11</sup>. Es importante conocer las tasas de

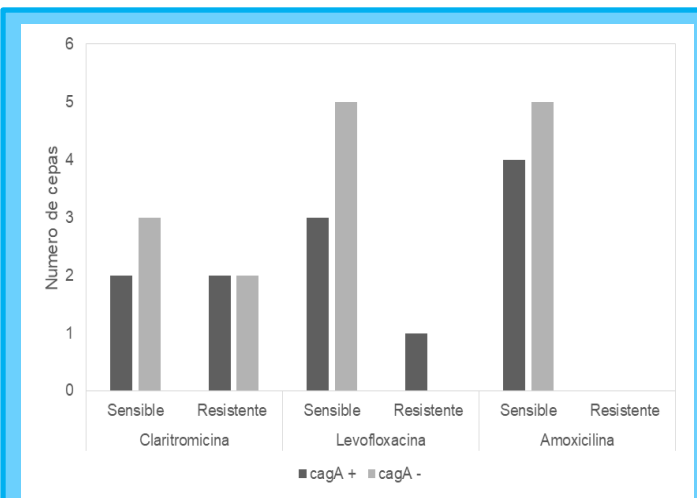


Figura 4. Perfil de susceptibilidad antibacteriana de cepas de *Helicobacter pylori* y la presencia de la región 3' del gen *cagA*.

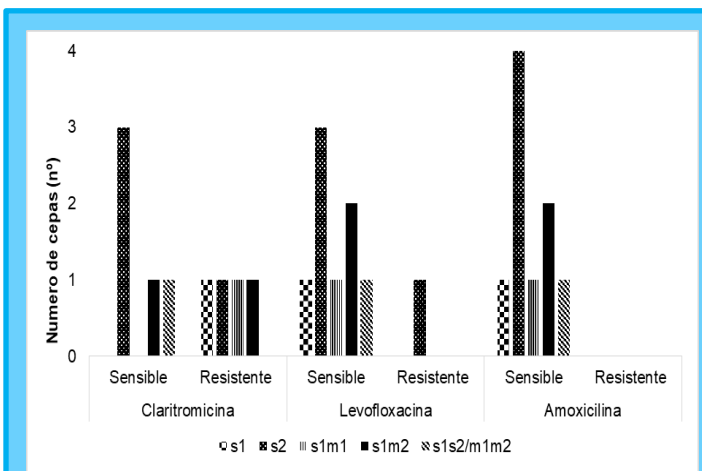


Figura 5. Perfil de susceptibilidad antibacteriana de cepas de *Helicobacter pylori* y sus respectivas variantes alélicas del gen *vacA*.

resistencia primaria en cepas de *H. pylori* frente a estos antibióticos, especialmente en zonas con elevada prevalencia.

Se detectó el gen *ureC* en el 60 % (74/124) de las muestras evaluadas y el gen *vacA* en el 65% (81/124), detectándose los alelos s1/m1 del gen *vacA* en 22% de las muestras, 30% fue s1 sin detección de la región m del alelo, 21% fue s2 sin detección de la región m. Esto podría sugerir la existencia de subfamilias adicionales de las formas alélicas m, que no son reconocidas por los iniciadores disponibles en la actualidad<sup>29</sup>. 7% fueron s2/m2 (6/81), s1/m2 5% (4/81), 1% (1/81) de s2/m1 y se observaron varios casos de infección mixta en el 12% (6/81) de las muestras, lo cual puede ocurrir por competencia selectiva de colonización de la mucosa gástrica, además distintos genotipos podrían conferir diferentes ventajas que permitan que las cepas sobrevivieran en nichos ecológicos diferentes dentro de la mucosa gástrica y aumentar la posibilidad de recidivas pos tratamiento<sup>30,31</sup>.

El alelo s1 de *vacA* fue más frecuentemente que el alelo s2, y la prevalencia del alelo m1 fue mayor que la del m2. Se ha reportado que las variantes s1m1 están estrechamente asociadas con un mayor nivel de actividad de *VacA in vitro*, induciendo mayor vacuolización y daño epitelial comparadas con otras combinaciones alélicas<sup>30</sup>. 12% de los pacientes coinfección para *vacA*; está descrito que el riesgo de coinfección con múltiples cepas es más alto en países con alta prevalencia de infección por *H. pylori*<sup>13,30-32</sup>.

Se encontró 54% de positividad del gen *cagA*, similar a lo reportado en estudios previos con 49% de positividad del gen *cagA* en pacientes de la zona Metropolitana de Caracas<sup>26</sup>. *cagA* aumenta el riesgo de desarrollar patologías gástricas severas incluyendo cáncer gástrico, codifica para una proteína (CagA) y se ubica en el extremo 3' la isla de patogenicidad (*cagPAI*) cuyos genes codifican para proteínas del sistema de secreción tipo IV (T4SS), a través del cual *H. pylori* introduce la proteína CagA en el citoplasma de las células epiteliales<sup>33</sup>.

Existen variantes de estos motivos según los aminoácidos que los flanquean y sus niveles de fosforilación: en este trabajo el tipo más prevalente fue A; 36% tipo A, 43% tipo A junto con el tipo B o D, 16% tipo A junto con el tipo C y solo el 5% tipo C. EPIYA-C es típicamente encontrado en cepas de países de Europa, América del Norte y Australia además es un indicador de riesgo para cáncer gástrico, EPIYA-D es encontrado en cepas del este Asiático<sup>34,35</sup>.

La prevalencia de las mutaciones puntuales varía por áreas geográficas; se ha descrito que las mutaciones A2143G/A2142G juegan un papel fundamental, siendo que al presentar al menos una de las dos es suficiente para conferir resistencia a Claritromicina<sup>5,36</sup>, Colombia ha reportado hasta un 38% de prevalencia de las mismas<sup>36</sup>. En este estudio se encontró que solo el 3% (1/30) tenía presente la mutación A2142G. Es importante realizar más estudios con mayor número de pacientes y en distintas áreas geográficas para poder realizar predicciones a este respecto.

50% (2/4) de las cepas eran resistentes a Claritromicina tenían la presencia del gen *cagA* tipo A, una de estas s2 y la otra s1m1

para el gen *vacA*, siendo de gran importancia que esta última presentó resistencia a Claritromicina, *cagA* tipo A y variante alélica s1m1 para *vacA*, lo cual la define como una cepa virulenta con alto riesgo de provocar patologías gástricas más severas. La cepa con variante alélica s2 *cagA* positiva fue resistente a Claritromicina y a Levofloxacina. El otro 50% de las cepas resistentes a Claritromicina carecían de la presencia del gen *cagA*, una era s1m2 y la otra s2 sin presencia de la región m. En cinco de las cepas evaluadas no se encontró resistencia a ninguno de los antibióticos evaluados (Claritromicina, Amoxicilina y Levofloxacina), y el 40% (2/5) fueron *cagA* positivas. Son pocos los trabajos que relacionan la presencia de los genes *cagA* y *vacA* con la susceptibilidad de *H. pylori*. En España, reportaron que pacientes con anticuerpos anti-CagA tuvieron porcentajes más altos de cepas sensibles a metronidazol (65,1%) y a Claritromicina (98,4%)<sup>35</sup>.

Las pautas de tratamiento sugieren que Levofloxacina no debe ser utilizada para la terapia de primera línea cuando la resistencia a la Claritromicina es menor del 15%, debiendo utilizarse solo cuando se conoce que existe resistencia a Claritromicina o cuando ha habido falla terapéutica de la misma en la primera línea, ya que levofloxacina tiene un amplio espectro de actividad antibacteriana y la resistencia a este agente puede evolucionar rápidamente<sup>5,36</sup>. En Latinoamérica, la resistencia a Metronidazol supera el 40%, registrándose porcentajes de resistencia a Claritromicina de más 40% y Levofloxacina de 20%<sup>5,37</sup>, circunstancias en las cuales sería importante hacer uso de estrategias de optimización de los antibióticos y concientizar los criterios para la selección de los esquemas de tratamientos<sup>37</sup>. Es posible que el uso de macrólidos en nuestro país en el tratamiento de las infecciones del tracto respiratorio superior, pudiera tener un papel importante en el aumento de la resistencia a Claritromicina, el Metronidazol es ampliamente utilizado en infecciones gastrointestinales y genitourinarias.

Es de gran importancia conocer la resistencia local y los diversos aspectos relacionados con la infección por *H. pylori* altamente prevalente en Venezuela. Estudios enfocados en evaluar la susceptibilidad, presencia de genes de virulencia y mutaciones específicas responsables de resistencia a antibióticos utilizados en el tratamiento de *H. pylori* son de gran interés epidemiológico y contribuyen a la prevención de patologías gástricas severas, la adecuada selección de los esquemas de tratamiento, la disminución de la falla terapéutica y a la disminución del aumento de la resistencia.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

#### Financiamiento:

Proyecto PEI 2012000815, agradecemos la colaboración del Laboratorio de Microbiología SAIB-JC, Servicios de Gastroenterología y Anatomía Patológica del Hospital Vargas de Caracas.

## Referencias

- Zamani M, Ebrahimitabar V, Zamani W, Miller R, Alizadeh-Navaei J, Shokri-Shirvani M, et al. Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47:868–876.
- Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; 347:1175-1186.
- Burkitt, MD, Duckworth CA, Williams JM, Pritchard DM. *Dis Model Mech* 2017; 10(2): 89–104.
- Correa P. Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa. *Rev Colomb Cir* 2011; 26:111-117.
- Malfetheriner P, Megraud F, O' Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection the Maastricht IV/Florence Consensus Report *Gut* 2017; 66:6-30.
- Malfetheriner P, Selgrad M. *Helicobacter pylori*. *Curr Opin Gastroenterol* 2014;30(6):589-95.
- Gisbert JP, McNicholl AG. Optimization strategies aimed to increase the efficacy of *H. pylori* eradication therapies. *Helicobacter* 2017;22(4):e12392.
- Gisbert JP, Molina-Infante J, Amador J, Bermejo F, Bujanda L, Calvet X, et al. IV conferencia española de consenso sobre el tratamiento de la infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 2016;39(10):697-721.
- Romero-Gallo J, Harris E, Krishna U, Washington M, Perez G, Peek R: Effect of *Helicobacter pylori* Eradication on Gastric Carcinogenesis. *Lab Invest* 2008; 88(3):328-336.
- Urrestarazu MI, Serrano N, Piñero R, Cavazza ME. Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori*. *Rev Soc Ven Microbiol* 2003; 23 (1):14-15.
- Cavazza ME, Urrestarazu MI, Serrano N, Ortiz-Princz D. Antibiotic susceptibility in *Helicobacter pylori* strains isolated from Venezuelan patients with duodenal ulcer. *Rev Soc Ven Microbiol* 2017; 37(2):75-77
- Granda N, Bohórquez JA, Chiurillo M, Valderrama E, Moran Y, Armanie E et al. Eficacia de la triple cura y su relación con el genotipo de *Helicobacter pylori* Pacientes con dispepsia de la region centroccidental de Venezuela. *GEN* 2011; 65(4):341-348,
- Bohórquez AE, Chiurillo J, Valderrama JM, Martínez E, Granda J, Bohórquez N, et al. Hallazgos clínicos, endoscópicos e histológicos asociados a la infección por *Helicobacter pylori* considerando los genotipos *cagA* y *vacA* en pacientes con dispepsia. Servicio de Gastroenterología. Hospital central Universitario "Antonio María Pineda". Barquisimeto Estado Lara. *GEN* 2010; 64(2):76-81.
- Ortiz-Princz D, Daoud G, Salgado-Sabel A, Cavazza ME. *Helicobacter pylori* infection in children: Should it be carefully assessed? *European Review for Medical and Pharmacological Science* 2016;20(9):1798-813.
- Cavazza ME, Correnti M, Ortiz D, Perrone M, Daoud G, Urrestarazu MI, et al. Evaluación de los niveles de IgA secretora anti-*Helicobacter pylori* en población infantil venezolana. *Rev Soc Ven Microbiol* 2006; 25:22-26.
- Ortiz-Princz D, Villalta B, Urrestarazu MI, Serrano N, Cavazza ME. Detección de genes de *Helicobacter pylori* en niños venezolanos con dolor abdominal recurrente: una infección para vigilar de cerca. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2013; 33(1): 322-327.
- Rodríguez S, Otero P, Peralta D, Fernández M, Pastran C. Prevalencia de infección por *Helicobacter pylori* en una población del Estado Nueva Esparta: Correlación Clínica, endoscópica y anatomopatológica. *GEN* 2008; 62(4):290-293
- Gutierrez B, Cavazza ME, Ortiz D, Correnti M, Vidal T, Mégraud, et al. Seroprevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en pacientes con Gastritis Crónica, Úlcera Duodenal y Gástrica: Primer estudio de corte retrospectivo. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2008; 27(2).
- Rivera Y, Dorsant L, Hechavarría E, Rivera M, Mora D. Intervención educativa sobre cáncer gástrico en pacientes de Táchira, Venezuela *Rev Inf Cient* 2014; 86(4):661-670.
- McNulty C, Owen R, Tompkins D, Hawtin P, McColl K, Price A, et al. *Helicobacter* Working Group. *Helicobacter pylori* susceptibility testing by disc diffusion. *J Antimicrob Chemther* 2002; 49:601-609.
- Tomasini ML, Zanussi S, Sozzi M, Tedeschi R, Basaglia G, De Paoli P. Heterogeneity of *cag* genotypes in *Helicobacter pylori* isolates from human biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 2003; 41(3):976-80.
- Atherton J, Cao P, Peek R, Murali K, Tummuru R, Blaser M, et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J Biol Chem* 1995; 270(30):17771-17777.
- Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY, Sepulveda AR. Variants of the 3' region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases. *J Clin Microbiol* 1998; (8):2258-2263.
- Patel SK, Pratap Ch, Jain AK, Gulati AK, Gopal N. Diagnosis of *Helicobacter pylori* What should be the gold standard?. *World J Gastroenterol* 2014; 20(36): 12847-12859.
- Sabbagh P, Javanian M, Koppolu V, Vasigala VR, Ebrahimpour S. *Helicobacter pylori* infection in children: an overview of diagnostic methods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019; 38(6):1035-1045.
- Ortiz D. Perfil inmunológico, genotipo bacteriano y patologías gastroduodenales asociadas a la infección por *Helicobacter pylori* en individuos venezolanos [Tesis doctoral]. Caracas: Universidad central de Venezuela. Facultad de Medicina 2015.
- Arismendi-Morillo G, Hernandez I, Mengual E, Fuenmayor A, Romero G, Lazarábal M. Comparison of three methods based on endoscopic gastric biopsies for diagnosis of

- Helicobacter pylori* active infection in a clinical setting. Arq Gastroenterol 2011; 3: (48).
28. Did J, Alvarez B, Mendez L and Cruz ME. Efficacy of PPI, levofloxacin and amoxicillin in the eradication of *Helicobacter pylori* compared to conventional triple therapy at a Venezuelan hospital. Arab Journal of Gastroenterol 2013; 14:123-25.
29. Perrone M, Gonzalez-Valencia G, Camorlinga M, Correnti M, Cavazza ME, Torres J. Genotipos vacA de *Helicobacter pylori* en una población venezolana. Rev Soc Ven Microbiol 2009; 29:39-43
30. Ghose CI, Perez-Perez GI, van Doorn LJ, Dominguez-Bello MG, Blaser MJ. High frequency of gastric colonization with multiple *Helicobacter pylori* strains in Venezuelan subjects. J Clin Microbiol 2005; 43(6):2635-2641.
31. Wada A, Yamasaki E, Hirayama T. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA, is responsible for gastric ulceration. J Biochem 2004; 136:741-746.
32. Berroterán A, Perrone M, Correnti M, Cavazza M, Tombazzi C, Goncalvez R, Lecuna V. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the oral cavity and gastroduodenal system of a Venezuelan population. J Med Microbiol 2002; 51:764-770.
33. Wroblewski LE, Peek RM Jr. *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis: mechanisms. Gastroenterol Clin North Am 2013; 42: 285-298.
34. Molnar B, Galamb O, SiposF, Leiszter K, Tulassay Z. Molecular pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection: the role of bacterial virulence factors. Dig Sis 2010; 28:604-608.
35. Toro C, Garcia J, Alarcon T, Baquero M. Association among anti-cagA antibody detection, antibiotic susceptibility, and peptic ulcer in patients with *Helicobacter pylori* infection. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 21(3):137-141.
36. Arévalo-Jaimes BV, Rojas-Rengifo DF, Jaramillo CA, de Molano BM, Vera-Chamorro JF, Del Pilar Delgado M. Genotypic determination of resistance and heteroresistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori* isolates from antrum and corpus of Colombian symptomatic patients. BMC Infect Dis 2019;19(1):546
37. Otero W, Gómez M, Otero L, Trespalacios A. *Helicobacter pylori*: ¿cómo se trata en el 2018? Rev Gastroenterol Peru 2018;38(1):54-63.