



Volumen 9, Número 1, Mayo 2006

Resúmenes SIIC

CANDIDA ALBICANS PUEDE PERSISTIR EN CAVIDAD ORAL CUANDO EL SISTEMA INMUNOLOGICO SE RECUPERA

Taipei, Taiwán (Republica Nacionalista China)

El estudio a pequeña escala confirma la persistencia de la colonización oral de cepas de *Candida albicans* en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Asimismo, la cepa infectante primaria podría persistir en la cavidad oral después de la recuperación de la función inmunológica.

Epidemiology and Infection 134(2):265-269, Abr 2006

Autores:

Li S y colaboradores

Institución/es participante/s en la investigación:

Division of Laboratory Research and Development, Center for Disease Control

Título original:

Molecular Epidemiology of Long-Term Colonization of *Candida Albicans* Strains from HIV-Infected Patients

Título en castellano:

Epidemiología Molecular de la Colonización a Largo Plazo de Cepas de *Candida Albicans* de Pacientes Infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Candida albicans y otros hongos oportunistas colonizan habitualmente las membranas mucosas. Por lo general, en sujetos sin compromiso inmunológico son comensales inocuos pero pueden ocasionar infecciones leves (en recién nacidos o vaginitis); en cambio, en pacientes inmunocomprometidos, *C. albicans* es causa de infecciones sistémicas con elevado índice de mortalidad.

La epidemia de sida y el mejor abordaje terapéutico de estos pacientes se asociaron con un incremento notable de la población inmunocomprometida y, en consecuencia, con un aumento considerable del índice de infecciones por hongos. En los EE.UU. se estima que las infecciones por levaduras representan la cuarta causa de fungemias intrahospitalarias.

La candidiasis oral es una expresión precoz del compromiso inmunitario que se presenta en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y la candidiasis oral sin otra explicación se asume como un elemento clínico de valor predictivo de infección HIV/sida o de agravamiento de la inmunodeficiencia. Por su parte, la candidiasis orofaríngea resistente a fármacos representa un problema mayor en pacientes HIV+; además se demostró transmisión intrafamiliar horizontal de *C. albicans* resistente a múltiples drogas. Por lo tanto, la identificación de una cepa resistente en un paciente determinado puede obedecer a la transmisión horizontal o a mutaciones de cepas endógenas. Para poder distinguir entre ambas posibilidades, el autor y su grupo efectuaron un estudio de epidemiología molecular para establecer el patrón genético de cepas de *C. albicans* susceptibles y resistentes a fluconazol en un mismo paciente. Asimismo, evaluaron la estabilidad clonal de las cepas en el transcurso de 3 años en 3 pacientes infectados por HIV.

Los pacientes eran asistidos en el *National Taiwan University Hospital*, en Taipei, Taiwán; se tuvo en cuenta la edad, el recuento de linfocitos CD4+ y la terapia antirretroviral y antimicótica. Se obtuvieron muestras orales para cultivo de hongos: aquellas

obtenidas durante 1999 se cultivaron en dextrosa Sabouraud con cloranfenicol y gentamicina, mientras que las que se tomaron en 2001 y 2002 se colocaron en medio *Chromagar* para *Candida*. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de fluconazol para cada cepa y se aisló ADN para estudio genotípico. La CIM se conoció con microdilución, según las pautas establecidas por el *National Committee for Clinical Laboratory Standard*: fue la menor concentración del agente que redujo en un 50% la turbidez del caldo de cultivo después de 48 horas, a 35° C. Se consideró que las cepas con una CIM de 64 µg/ml o más fueron resistentes a fluconazol, aquellas con CIM de 8 µg/ml o inferior fueron sensibles, mientras que las que tuvieron una CIM de 16 a 32 µg/ml se consideraron con susceptibilidad dependiente de la dosis.

En el análisis de ADN se utilizó electroforesis en gel; se aplicó el coeficiente Jaccard para analizar las similitudes de los patrones de bandas. El método de pares con ligamiento promedio se utilizó para el análisis de grupos. Las cepas con más del 80% de relación (diferencia en menos de 6 bandas) se consideraron clonalmente cercanas.

Se aislaron 21 cepas de 3 pacientes de 37, 29 y 45 años, respectivamente. Cada uno de los sujetos mostró una mejoría en el recuento de linfocitos CD4 en el transcurso del estudio pero los 2 últimos pacientes tuvieron los recuentos más bajos en el momento del primer aislamiento de *C. albicans*. Todos fueron tratados con terapia antirretroviral pero el segundo paciente no comenzó con los antivirales hasta 2 años después del inicio de los síntomas y, posteriormente, sólo recibió un año de tratamiento. Dos pacientes mostraban manifestaciones de candidiasis clínica y fueron tratados con fluconazol y nistatina a pesar de lo cual el hongo persistió en la cavidad oral.

Las cepas del primer paciente fueron totalmente sensibles a fluconazol; se identificaron 2 tipos distintos de ADN. En el segundo sujeto, en cambio, las cepas variaron desde la resistencia completa hasta la susceptibilidad absoluta. Se constataron 3 perfiles diferentes de ADN pero las cepas del mismo clon tuvieron valores de CIM para fluconazol muy distintos. Por ejemplo, 3 cepas aisladas de este paciente mostraron una diferencia de 16 veces en la CIM a pesar de tener el mismo patrón de ADN. Se observó la misma situación con 3 cepas del tercer participante en 2001 (una variación en 100 veces en la susceptibilidad a fluconazol). Además, en 2002 se recuperaron 2 cepas en el tercer paciente, casi idénticas en términos de ADN, a pesar de que no presentaba lesiones de candidiasis. Se encontraban 80% iguales a la cepa obtenida originariamente, fenómeno que sugiere que las cepas aisladas más tardíamente no se distinguían de las recuperadas cuando el paciente presentaba candidiasis clínicamente manifiesta. Este hecho se repitió en otro de los pacientes que se mantuvo colonizado por la misma cepa de *C. albicans* a pesar de la desaparición de los síntomas clínicos.

Los autores señalan que en esta levadura pueden aparecer cambios cromosómicos con elevada frecuencia y que estas modificaciones pueden estar relacionadas con la duración de la exposición a drogas antimicóticas. Hasta la fecha se han identificado 2 mecanismos de resistencia a drogas en *C. albicans*: uno de ellos se asocia con la reducción de la acumulación de la droga al evitarse el pasaje del fármaco al interior de la célula y al activar su salida hacia el espacio extracelular, y el segundo se relaciona con la alteración del blanco de la droga. En el presente estudio se observó que las cepas aisladas de un mismo paciente en el transcurso de un año presentaron un patrón idéntico de ADN a pesar de diferencias marcadas en términos de susceptibilidad a fluconazol. Esta característica sugiere que las alteraciones en la sensibilidad al antimicótico no obedecen a cambios importantes en el ADN cromosómico, en coincidencia con lo establecido en relación con los mecanismos de resistencia farmacológica. Por su parte, en la presente investigación no se observaron indicios de una correlación entre la susceptibilidad a fluconazol y el patrón de ADN; además, se advirtió que las cepas sensibles y resistentes del mismo paciente retuvieron su relación clonal.

Se ha demostrado la transmisión horizontal de *C. albicans* resistente a múltiples drogas; sin embargo, los resultados del presente estudio apuntan más bien a que la persistencia de colonización oral con cepas de levaduras en pacientes con infección por HIV obedecería más a la reactivación endógena de la infección. De hecho, 2 de los 3 pacientes evaluados presentaron candidiasis en 1999 y 2001, respectivamente. En uno de ellos, las cepas infectantes en los 2 períodos estuvieron relacionadas aproximadamente en un 87%. Algo similar sucedió en el otro paciente, aun en ausencia de síntomas en el momento del segundo estudio. Los datos indican que las cepas que infectan y que colonizan pertenecen al mismo clon; las segundas surgirían como consecuencia de modificaciones cromosómicas menores en las primeras y viceversa, que no pueden manifestarse mediante los estudios genotípicos disponibles a la fecha.

Por último, los datos coinciden con las observaciones generales de que la inmunodeficiencia celular progresiva, con recuento de CD4+ por debajo de 200 células/mm³, es un factor de riesgo de

aparición de candidiasis. Los estudios futuros deberán establecer cuáles son los mecanismos que permiten que agentes comensales no patógenos modifiquen sus características y que les permitan permanecer como colonizantes cuando el sistema inmunológico se recupera.

Autoevaluación de Lectura

¿Qué mecanismos pueden asociarse con resistencia a fluconazol en pacientes infectados por *Candida albicans*?

- A. Transmisión horizontal de cepas resistentes.**
- B. Mutaciones en las cepas colonizantes.**
- C. Ambos mecanismos.**
- D. *Candida albicans* no suele ser resistente a fluconazol.**

Respuesta Correcta

EFICACIA DE LA CLARITROMICINA EN LA FARINGITIS ESTREPTOCÓCICA

Celaya, México

La claritromicina, en dosis de 15 mg/kg/d por 10 días, es una alternativa a la penicilina para el tratamiento de la faringitis estreptocócica en niños, con mejor evolución clínica y eficacia bacteriológica que la azitromicina por 3 días y la propicilina por 10 días.

Archivos de Investigación Pediátrica de México 8(1):5-11, Ene 2005

Autores:

Padilla-Raygoza N

Institución/es participante/s en la investigación:

Facultad de Enfermería y Obstetricia de Celaya, Universidad de Guanajuato

Título original:

Comparación entre Claritromicina, Azitromicina y Penicilina en el Manejo de la Faringoamigdalitis Aguda Estreptocócica en Niños

Título en castellano:

Comparación entre Claritromicina, Azitromicina y Penicilina en el Manejo de la Faringoamigdalitis Aguda Estreptocócica en Niños

Introducción

La faringitis es una de las enfermedades más diagnosticadas por los médicos de atención primaria. En Francia, el estreptococo betahemolítico del grupo A (EBHGA) causa entre 10% y 20% de los casos de faringitis en adultos y 50% de los casos en niños.

La faringoamigdalitis estreptocócica puede provocar fiebre reumática. La fiebre reumática aguda y la cardiopatía reumática constituían una de las principales causas de muerte en niños y adolescentes en EE.UU. y Europa a principios del siglo XX. En la década del '60 su frecuencia disminuyó, aunque volvió a aumentar entre los años '80 y '90.

La faringitis estreptocócica debe ser tratada durante 10 días con antibióticos como la penicilina para evitar las complicaciones no supurativas. El antibiótico de primera elección es la penicilina V, que tiene una eficacia del 80% al 88% contra el EBHGA.

La propicilina –una sal potásica de 1-fenoxipropilpenicilina– se administra junto con los alimentos y tiene mayor biodisponibilidad que la fenoximetilpenicilina (85% frente a 65%). Sin embargo, en

ciertos casos deben indicarse otros antibióticos: en niños alérgicos o con intolerancia a la penicilina, en caso de cepas bacterianas o flora oral resistentes a la droga.

La claritromicina es un macrólido derivado de la eritromicina que tiene elevada eficacia contra el EBHGA, con tasas de erradicación del 90% y evolución clínica favorable más temprana. Su metabolito activo, 14-hidroxi-claritromicina, tiene elevada penetración tisular y es resistente a la hidrólisis ácida.

La azitromicina, otro derivado de la eritromicina, penetra rápidamente en tejidos y células debido a sus propiedades lipofílicas. Tiene una vida media sérica de 3 días –en comparación con las 3 a 4 horas de la claritromicina– y una vida media tisular de 2 a 4 días. Su efectividad contra el EBHGA oscila entre 80% y 90%, de acuerdo con la dosis empleada. La dosis habitual es de 30 mg/kg dividida en 3 o en 5 días.

Los autores realizaron un estudio comparativo entre claritromicina, azitromicina y propicilina para evaluar su eficacia clínica y bacteriológica en la faringoamigdalitis por EBHGA. Los criterios principales de valoración fueron: tiempo de resolución de los signos y síntomas (disfagia, eritema y exudado faríngeo, ganglios linfáticos cervicales dolorosos y fiebre de 38°C o más), curación clínica y erradicación bacteriológica.

Materiales y métodos

El estudio realizado fue abierto, aleatorizado, prospectivo, longitudinal y comparativo, a ciego. Los participantes eran pacientes ambulatorios con edades entre 1 y 15 años que acudieron a la consulta externa en Celaya, Guanajuato, México. Los participantes tenían diagnóstico de faringitis o faringoamigdalitis aguda, de menos de 48 horas de evolución, con un puntaje de Breese > 28. Se tomaron muestras de exudado faríngeo para cultivo en ayunas y sin aseo oral previo. La identificación del microorganismo fue realizada de acuerdo con los criterios de Faklam (Centros para el Control de Enfermedades Infecciosas). Fueron incluidos los casos con aislamiento de EBHGA.

Los criterios de exclusión fueron: tratamiento antibiótico en los 15 días previos al estudio, antecedente de daño renal o hepático grave, alergia a la penicilina o a los macrólidos y aislamiento de otras bacterias diferentes de EBHGA en el cultivo.

Los pacientes fueron asignados al azar a recibir claritromicina 15 mg/kg/d dividida en 2 dosis diarias durante 10 días (grupo 1), azitromicina 10 mg/kg una vez por día 1 hora antes de algún alimento durante 3 días (grupo 2) y propicilina 25 000 U/kg/d divididas en 3 dosis diarias por 10 días (grupo 3).

Las evaluaciones clínicas incluyeron la presencia de disfagia, eritema y exudado faríngeo, adenopatías cervicales dolorosas e hipertermia en los 3, 5, 7, 9 y 11 días posteriores al inicio del tratamiento, así como la aparición de eventos adversos.

Luego de 3 días de finalizado el tratamiento se realizó un segundo cultivo de exudado faríngeo para confirmar la presencia o ausencia de EBHGA en la faringe de los pacientes.

El éxito clínico fue definido como la ausencia de los signos y síntomas informados en la primera visita después de completado el tratamiento. El éxito bacteriológico fue definido como la ausencia de EBHGA en el segundo cultivo.

La significación estadística se fijó en 0.05 y para todos los cálculos estadísticos se empleó el programa de computación EpiInfo 2002. Se realizó la prueba de chi cuadrado respecto del tiempo de desaparición de los signos y síntomas, eventos adversos y cura bacteriológica. Se diseñaron curvas de probabilidad para los signos y síntomas.

Resultados

Se reclutaron 273 pacientes con cultivo faríngeo positivo para EBHGA, los que fueron distribuidos en los 3 grupos de tratamiento: claritromicina, azitromicina y propicilina (91 pacientes por grupo). Los grupos fueron comparables en cuanto a sexo, edad, peso y talla ($p > 0.05$). No todos los pacientes presentaron todos los signos y síntomas de faringoamigdalitis aguda. Respecto de la evolución de los signos y síntomas a los 0, 3, 5, 7, 9 y 11 días, en las curvas de probabilidad de seguir presentándose se observó una diferencia estadísticamente significativa a favor de la claritromicina.

En cuanto a la eficacia clínica, se observaron diferencias estadísticamente significativas a favor de la claritromicina para el eritema faríngeo y la presencia de adenopatías cervicales dolorosas a los 10 días. No hubo diferencias en los otros datos clínicos entre azitromicina y propicilina.

Con referencia a la eficacia bacteriológica, se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p = 0.007$). Al emplear el grupo con propicilina como control, se observaron diferencias

significativas entre claritromicina y azitromicina y entre claritromicina y propicilina pero no entre azitromicina y propicilina.

Respecto de los efectos adversos, presentaron dolor abdominal 16.5% de los pacientes que recibieron claritromicina, 20.9% de los que recibieron azitromicina y 7.7% con propicilina; náuseas, 4.4% de los pacientes que recibieron claritromicina, 6.6% con azitromicina; diarrea, 1.09% con claritromicina y 4.4% con propicilina, y *rash* cutáneo 4 pacientes que recibieron propicilina.

Para la construcción del modelo de regresión logística se agruparon las variables de edad, peso y altura. Ni el sexo, ni la edad ni la estatura mejoraron el modelo. Con el ajuste por edad, peso, estatura y sexo, ninguna de dichas variables actuó como factor de confusión o modificó la relación entre el grupo de tratamiento y la eficacia bacteriológica ($p > 0.05$ en todos los casos).

Discusión

Como todos los pacientes completaron el seguimiento de 14 días, la posibilidad de sesgo por pérdida de seguimiento se minimizó. Para evitar el sesgo del observador, la persona que realizó las entrevistas de seguimiento desconocía el tratamiento administrado a cada paciente y el químico que realizó los cultivos de exudado faríngeo también desconocía el grupo al que pertenecía cada paciente. Al ser una muestra por conveniencia limita la generalización de los resultados.

En otro trabajo realizado por Padilla y col. se demostró que los pacientes con faringoamigdalitis estreptocócica aguda tratados con claritromicina presentaron una remisión clínica más rápida que con otros antibióticos. Esto fue confirmado en el presente estudio.

La eficacia bacteriológica observada en este estudio resultó similar a la informada en la literatura. Los autores señalan que la misma dosis de azitromicina dividida en 5 días podría incrementar la eficacia bacteriológica contra el EBHGA.

Conclusiones

En caso de no recibir el tratamiento antibiótico durante el tiempo indicado, los pacientes con faringoamigdalitis estreptocócica aguda pueden presentar complicaciones. Un objetivo del tratamiento antibiótico es la prevención de la fiebre reumática. Otros objetivos incluyen obtener una mejoría del cuadro clínico de la infección en forma más rápida, para reducir el período de contagio y prevenir las complicaciones supurativas. Para ello, deben hallarse otras opciones terapéuticas.

La claritromicina es una buena opción para el tratamiento de la faringoamigdalitis estreptocócica en niños en los casos en que no pueda administrarse penicilina, ya que esta droga presenta elevada eficacia clínica y eficacia bacteriológica y produce además una rápida remisión de los signos y síntomas clínicos. Los efectos adversos observados fueron dolor abdominal, diarrea y náuseas.

Los autores señalan que podría realizarse un estudio clínico controlado para comparar los resultados de la administración de azitromicina por 3 días y por 5 días para verificar si la eficacia bacteriológica antiestreptocócica es superior con la administración de azitromicina durante 5 días. Los autores concluyen que la claritromicina (15 mg/kg/d por 10 días) es una alternativa para el tratamiento de la faringoamigdalitis estreptocócica en niños de 1 a 17 años, con mejor evolución clínica y eficacia bacteriológica en comparación con azitromicina durante 3 días y propicilina por 10 días.

Autoevaluación de Lectura

Señale la opción correcta respecto del empleo de la claritromicina para el tratamiento de la faringoamigdalitis estreptocócica en niños:

- A. Constituye una buena opción terapéutica a la penicilina.**
- B. Tiene elevada eficacia clínica.**
- C. Tiene elevada eficacia bacteriológica contra el estreptococo betahemolítico del grupo A.**

D. Produce una rápida remisión de los signos y síntomas.

Respuesta Correcta

● PAPEL DE LAS CEPAS ENTERICAS DE HELICOBACTER EN ENFERMEDADES HEPATICAS CRONICAS

Tartu, Estonia

Los pacientes con enfermedades hepáticas crónicas presentan niveles de anticuerpos contra *Helicobacter hepaticus* y *H. bilis* significativamente superiores a los de otros grupos poblacionales, lo que sugiere un posible papel de estas especies entéricas de *Helicobacter* en la evolución de las enfermedades hepáticas crónicas.

Digestive and Liver Disease 38(3):171-176, Mar 2006

Autores:

Vorobjova T y colaboradores

Institución/es participante/s en la investigación:

Department of Immunology, Centre of Molecular and Clinical Medicine, Institute of General and Molecular Pathology, University of Tartu

Título original:

Serum Antibodies to Enterohepatic *Helicobacter* spp. in Patients with Chronic Liver Diseases and in a Population with High Prevalence of *H. pylori* Infection

Título en castellano:

Anticuerpos Séricos contra *Helicobacter* spp. Enterohepático en Pacientes con Enfermedades Hepáticas Crónicas y en una Población con Elevada Prevalencia de Infección por *H. pylori*

Introducción

Los agentes infecciosos pueden provocar trastornos hepáticos de tipo autoinmune. Por ejemplo, las especies entéricas de *Helicobacter* pueden ser un factor de riesgo para enfermedades hepatobiliares crónicas, como colecistitis crónica, colangitis esclerosante primaria (CEP), cirrosis biliar primaria (CBP) y hepatocarcinoma.

Los pacientes que presentan inflamación crónica de la vía biliar pueden evolucionar a enfermedad hepatobiliar maligna, por ejemplo colangiocarcinoma. Estos pacientes pueden presentar aumento de la proliferación de células epiteliales del tracto biliar junto con la presencia de ADN de *Helicobacter*.

A pesar de que se detectó ADN de *Helicobacter* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras hepáticas de pacientes con enfermedades hepáticas crónicas y hepatocarcinoma, el papel de esta bacteria en las enfermedades hepáticas de los seres humanos aún no ha podido ser probado.

Helicobacter hepaticus –la más estudiada de las especies enteropáticas de *Helicobacter*– ha sido aislada del hígado, muestras de ciego y de la mucosa colónica de ratones con hepatitis crónica activa. Recientemente se publicó el genoma completo de este microorganismo, que presenta gran homología con algunas especies entéricas de *Campylobacter*. Por otra parte, *H. bilis* infecta la vesícula biliar de seres humanos y provoca colecistitis crónica. En pacientes con gastroenteritis pudo aislarse *H. pullorum*, que fue analizado mediante pruebas bioquímicas, hibridación de ADN y secuenciación de ARNr 16s.

La PCR ultrarrápida es un método sumamente sensible para detectar ADN de *Helicobacter* localizado en el tracto biliar y en el hígado. Mediante métodos serológicos pueden diagnosticarse especies no gástricas de *Helicobacter*, si bien esto puede tener ciertas limitaciones debido a la reactividad cruzada entre *Helicobacter* y *Campylobacter*, que son especies estrechamente relacionadas. En pacientes con enfermedades hepáticas crónicas se comprobaron niveles elevados de anticuerpos séricos contra *H. hepaticus* y *H. bilis*. Sin embargo, poco se investigó respecto de la seroprevalencia de infecciones entéricas no gástricas por *Helicobacter* spp.

Por ello, los autores realizaron un estudio en la Universidad de Tartu, Estonia, para analizar los niveles séricos de anticuerpos contra 3 especies entéricas de *Helicobacter* en pacientes con diversas enfermedades hepatobiliares y comparar los resultados con los parámetros correspondientes a un grupo poblacional adulto con elevada prevalencia de infección por *H. pylori* y con dadores de sangre sanos, con el objetivo de explorar una posible asociación entre *Helicobacter* entérico y enfermedades hepáticas crónicas.

Materiales y métodos

En total se analizaron 329 muestras séricas pertenecientes a 90 pacientes con enfermedades hepatobiliares crónicas (38 hombres, 52 mujeres, 54.52 ± 14.16 años). Dieciocho de ellos con enfermedad hepática alcohólica (4 con hepatitis y 14 con cirrosis); 12 con cirrosis hepática (4 hepatitis C, 1 hepatitis B, 2 hepatitis autoinmune y 5 de causa desconocida); 6 con hepatitis C crónica; 7 con hepatitis B crónica; 13 con CBP; 9 con hepatitis autoinmune y 25 con litiasis biliar. Una cohorte de 121 personas de una población de adultos de Estonia (52 hombres, 69 mujeres; media de edad de 52.11 ± 15.19 años) con elevada prevalencia de infección por *H. pylori*, 50 pacientes pediátricos (18 varones, 32 niñas; media de edad de 7.46 ± 3.96 años) internados por 5 días en la Clínica Pediátrica de la Universidad de Tartu con diferentes diagnósticos y 68 dadores de sangre (21 hombres, 47 mujeres; media de edad de 37.02 ± 11.18 años) seleccionados al azar y negativos para los virus de la hepatitis C y B.

El suero, estudiado previamente para *H. pylori*, fue analizado para determinar anticuerpos de tipo IgG contra *H. hepaticus*, *H. bilis* y *H. pullorum*. En principio se empleó enzoinmunoanálisis por adsorción (ELISA) para tamizaje y exclusión de casos negativos. Posteriormente, las muestras séricas positivas por ELISA fueron estudiadas por inmunotransferencia.

Para minimizar la reactividad cruzada entre *H. pylori* y las otras 3 especies de *Helicobacter* se realizó un procedimiento de absorción de anticuerpos con células lisadas de *H. pylori* antes de las pruebas de ELISA y de inmunotransferencia.

Resultados

Análisis de la reactividad cruzada entre las especies de Helicobacter

Las pruebas de inmunotransferencia fueron realizadas con tiras que contenían proteínas separadas de las 4 especies de *Helicobacter*. Con el antígeno de *H. pylori*, el suero preabsorbido (positivo para *H. pullorum*, *H. bilis* y *H. hepaticus*) mostró reactividad fuerte a moderada con las proteínas correspondientes en tamaño a las proteínas del shock térmico (HSP 60) y a la proteína CagA. Las tiras con antígenos de *H. pullorum* y *H. bilis* incubadas con suero preabsorbido positivo para las especies respectivas no mostraron reactividad cruzada entre las especies. Se observó reactividad cruzada leve con los antígenos de *H. hepaticus* incubados en suero preabsorbido anti-*H. pullorum* y anti-*H. bilis*. No se observó reactividad cruzada con el suero anti-*H. pylori*. ELISA e inmunotransferencia

Se halló una elevada tasa de positividad con ELISA para las 3 especies de *Helicobacter* en todas las muestras analizadas, especialmente en relación con la muestra de la población adulta (41% a 52%), que fue significativamente superior en comparación con los demás grupos estudiados ($p < 0.05$). Los pacientes con enfermedades hepáticas y biliares crónicas presentaron mayor seroprevalencia contra *H. bilis* en comparación con los dadores de sangre ($p = 0.02$). De acuerdo con la prueba de ELISA, los pacientes con CBP mostraron la mayor seropositividad para *Helicobacter* spp biliar y una diferencia significativa en la respuesta a *H. hepaticus* en comparación con los pacientes con hepatitis autoinmune (6/13 en comparación con 0/9; $p = 0.02$). Ninguno de los 9 pacientes con hepatitis autoinmune respondió a especies biliares de *Helicobacter*.

Los pacientes pediátricos presentaron una seroprevalencia significativamente inferior de anticuerpos de tipo IgG contra cepas de *Helicobacter* spp biliares y *H. pylori* ($p < 0.01$). Cuando se empleó el método de inmunotransferencia, la reactividad de los anticuerpos contra los antígenos específicos de las especies entéricas de *Helicobacter* redujo el número de sueros positivos por ELISA en todos los grupos, especialmente en el grupo de población adulta (44% para *H. hepaticus*, 41% para *H. bilis*, 52% para *H. pullorum* por ELISA, en comparación con 5%, 8% y 14%, por inmunotransferencia, respectivamente; $p < 0.0001$).

El análisis visual de las tiras de inmunotransferencia mostró una elevada reactividad global con las bandas de proteínas con M_r s de 58-62 kDa, correspondientes en tamaño a HSP de *Helicobacter*, lo que indica resultados de ELISA no específicos. Como se considera que los anticuerpos contra HSP presentan elevada reactividad cruzada, los autores emplearon sólo los resultados de la inmunotransferencia para comparar los diferentes grupos.

Los resultados de la inmunotransferencia del suero de los pacientes con enfermedad hepática crónica mostraron una seropositividad significativamente mayor para *H. hepaticus* y *H. bilis*, en comparación con el suero de la población adulta y para *H. hepaticus* en comparación con los resultados de los donadores de sangre.

Ninguno de los donadores de sangre resultó positivo para *H. hepaticus* y *H. bilis* y 3/17 muestras séricas fueron positivas para *H. pullorum*. No se observaron diferencias significativas en la seropositividad contra las especies entéricas de *Helicobacter* dentro del grupo de pacientes con diversas enfermedades hepáticas crónicas de acuerdo con los resultados de la inmunotransferencia ($p > 0.05$). Cinco muestras séricas negativas por ELISA resultaron positivas por inmunotransferencia.

Discusión

La prueba de inmunotransferencia con la interpretación de la reactividad de anticuerpos contra antígenos específicos de las especies entéricas de *Helicobacter* redujo el número de muestras séricas positivas por ELISA en todos los grupos estudiados, especialmente en el grupo de población adulta. Esto indica una elevada tasa de reactividad cruzada entre las proteínas compartidas por estas especies de *Helicobacter*, como HSP, ureasa y proteínas flagelares. Las HSP son proteínas inmunogénicas muy conservadas, que presentaron escasa absorción por el método empleado en este estudio. Por lo tanto, deberían ser excluidas si la intención es revelar reacciones inmunes contra especies específicas.

Muchas especies de *Helicobacter* son difíciles de cultivar. El diagnóstico serológico de las infecciones por especies enteropáticas de *Helicobacter* es sencillo y rentable en comparación con las biopsias hepáticas y vesiculares para histología y PCR, que pueden estar acompañadas por un elevado riesgo de hemorragia.

Las mayores respuestas contra *H. hepaticus* y *H. bilis* en pacientes con enfermedades hepáticas crónicas en comparación con los donadores de sangre sanos y la población adulta concuerdan con los resultados de la investigación previa en que las respuestas de anticuerpos contra estas especies permanecieron altas luego del procedimiento de absorción. *H. hepaticus* aún no ha sido detectado en muestras humanas. La reactividad significativa contra esta especie en pacientes con enfermedad hepática podría reflejar reactividad cruzada con antígenos de otras especies de *Helicobacter* no analizadas en el presente estudio.

Entre los pacientes con enfermedades hepáticas crónicas, aquellos con CBP mostraron una reactividad de anticuerpos significativamente mayor contra *H. hepaticus* que los pacientes con hepatitis autoinmune.

Los autores sugieren una posible asociación entre las especies de *Helicobacter* y las enfermedades hepatobiliares crónicas en seres humanos. Sin embargo, señalan que las respuestas de anticuerpos contra estas 3 especies entéricas de *Helicobacter* no mostraron relaciones claras con un grupo específico de pacientes con enfermedades hepáticas crónicas, lo que podría atribuirse al pequeño número de muestras séricas estudiadas de cada grupo.

Conclusiones

La presencia de antígenos con reacción cruzada entre *H. pylori* y las especies entéricas de *Helicobacter* manifestó la dificultad de diseñar una prueba de ELISA con elevada especificidad si no se emplean proteínas específicas purificadas de las especies respectivas. Los autores sugieren que la prueba de inmunotransferencia para definir las respuestas de anticuerpos contra estas proteínas parece preferible para establecer un diagnóstico serológico de infección por estos patógenos.

Los pacientes con enfermedades hepáticas crónicas mostraron niveles de anticuerpos contra *H. hepaticus* y *H. bilis* significativamente superiores que la población adulta y de donadores de sangre sanos. Los autores señalan que este hallazgo apoya el posible papel de las especies entéricas de *Helicobacter* en la evolución de las enfermedades hepáticas crónicas.

Autoevaluación de Lectura

Señale cuáles son las especies entéricas de *Helicobacter*:

A. *H. bilis*.

B. H. pullorum.
C. H. hepaticus.
D. Todas son correctas.

Respuesta Correcta

● **ESCHERICHIA COLI PRODUCTORA DE BETA LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO**

Sevilla, España

Los aislamientos de *Escherichia coli* esporádicos, productores de beta lactamasas de espectro extendido del tipo CTX-M, coexistieron con los aislamientos epidémicos, multirresistentes, productores del tipo SHV-TEM.

Clinical Infectious Diseases 42(1):37-45, Ene 2006

Autores:

Rodríguez-Baño J y colaboradores

Institución/es participante/s en la investigación:

Sección de Enfermedades Infecciosas, Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario Virgen Macarena

Título original:

Clinical and Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia Coli* as a Cause of Nosocomial Infection or Colonization: Implications for Control

Título en castellano:

Epidemiología Clínica y Molecular de la *Escherichia coli* Productora de Beta Lactamasas de Espectro Extendido como Causa de Infecciones Nosocomiales o Colonización: Repercusiones para el Control

Introducción

Los plásmidos codifican las beta lactamasas de espectro extendido (BLEE) y confieren resistencia significativa a las penicilinas, cefalosporinas de espectro amplio y reducido y al aztreonam. Con frecuencia, los microorganismos que portan BLEE también son resistentes a los aminoglucósidos, trimetoprima-sulfametoxazol y las quinolonas. Los miembros de la familia de enterobacterias productoras de BLEE constituyen importantes patógenos nosocomiales. Las BLEE se clasificaron en diferentes tipos: en principio, los 2 tipos más frecuentes fueron TEM y SHV; recientemente, se detectó un tipo diferente, CTX-M (denominado así porque son principalmente cefotaximasas), en particular en la *Escherichia coli* productora de BLEE, que actualmente representa una causa emergente de infecciones en todo el mundo. La epidemiología de estos microorganismos como causas de infección intrahospitalaria no se dilucidó completamente. Los objetivos de este estudio consistieron en investigar la epidemiología clínica y molecular de la infección nosocomial o colonización debidas a *E. coli* productora de BLEE en pacientes internados, considerar los tipos específicos de estas beta lactamasas producidas e identificar los factores de riesgo de infección y colonización por estos patógenos.

Métodos

El ensayo se realizó en 2 hospitales de Sevilla, España: uno de atención terciaria de agudos y otro, principalmente, de atención de pacientes ancianos. Durante el período de estudio (enero de 2001 a mayo de 2002, inclusive) se identificaron todos los pacientes en los cuales se aisló *E. coli* productora de BLEE de cualquier muestra clínica mediante la revisión diaria de los informes microbiológicos, y se investigaron prospectivamente. Los individuos se incluyeron como casos cuando sus muestras se habían obtenido luego de 48 horas de internación y, si al momento de la internación, no presentaban signos o síntomas de infección potencialmente atribuibles a *E. coli* productora de BLEE. Se excluyeron los pacientes colonizados por *E. coli* productora de BLEE detectados sólo por muestras de vigilancia. Los casos se incluyeron sólo una vez. Se analizaron 2 grupos control: los participantes del primer grupo fueron seleccionados al azar entre los pacientes

internados en una unidad durante el mismo trimestre y que tuvieran una hospitalización previa al aislamiento de *E. coli* productora de BLEE al menos tan prolongada como la correspondiente a los casos. Los individuos incorporados en el grupo 2 también fueron seleccionados al azar entre los pacientes internados en una unidad durante el mismo trimestre y en los cuales se aisló *E. coli* no productora de BLEE de cualquier muestra clínica. El primer grupo incluyó 2 controles por cada caso; el segundo también, excepto en 9 casos para los cuales sólo se encontró un control. El tipo de infección se definió de acuerdo con los criterios de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. Los pacientes que no cumplieron los criterios de infección se consideraron colonizados. Se recogieron los siguientes datos: sexo, edad, enfermedades subyacentes, gravedad de las mismas, internaciones previas, residencia en geriátricos, hemodiálisis a largo plazo, antecedentes de administración de agentes antimicrobianos, procedimientos invasivos e internación en unidad de cuidados intensivos. El tiempo de riesgo se definió como aquel desde el ingreso hospitalario hasta la fecha en la cual se produjo el aislamiento de *E. coli* para los casos y pacientes del segundo grupo control, y como el tiempo desde el ingreso hospitalario hasta la fecha de alta o fallecimiento, en el caso de los pacientes en el primer grupo control. La terapia antimicrobiana fue considerada apropiada si al menos un antibiótico con actividad *in vitro* contra el microorganismo aislado se administró en la dosis habitual por al menos 24 horas. Todos los participantes se evaluaron hasta el alta o el fallecimiento. Respecto de los estudios microbiológicos, fue analizado el primer aislamiento bacteriano de cada paciente. Se identificó la producción de BLEE y la caracterización de las BLEE se realizó por foco isoeléctrico, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciamiento. Las relaciones clonales entre los aislamientos fueron determinadas por PCR palindrómica a extragenética repetitiva (REP [*repetitive extragenic palindromic*]-PC

R) y electroforesis en gel en campo pulsado. La actividad *in vitro* de los agentes antimicrobianos se estableció mediante un ensayo de microdilución.

En cuanto a la metodología estadística, las variables continuas se compararon mediante la prueba de la U de Mann Whitney. Las variables cualitativas fueron confrontadas con la prueba de chi cuadrado y exacta de Fisher según correspondiese; se calcularon los cocientes de posibilidades y los intervalos de confianza del 95%. Se realizó un análisis de regresión logística multivariado para determinar las variables que se asociaron independientemente con el riesgo de colonización o de infección con *E. coli* productora de BLEE. Fueron consideradas las interacciones potenciales entre las variables.

Resultados

Durante el período de estudio se aisló *E. coli* productora de BLEE en 96 pacientes, de los cuales 47 cumplieron los criterios de inclusión, mientras que los 49 restantes no fueron internados. Durante el período de estudio, el 4.1% de todos los aislamientos de *E. coli* de los individuos internados fueron productores de BLEE y sólo se detectaron 15 enterobacterias productoras de estas beta lactamasas en los pacientes hospitalizados. Veintinueve sujetos (62%) fueron internados en el hospital de agudos y 18 (38%) en el de atención de pacientes ancianos. La tasa de colonización o infección fue significativamente más elevada en el hospital de atención geriátrica (0.6 casos por 1 000 pacientes/días versus 0.06 casos por 1 000 pacientes/días; $p < 0.001$). El 32% de los casos se produjo durante la primera semana de hospitalización; 36 pacientes (77%) presentaron infección. Los distintos tipos de infección encontrados fueron: 15 infecciones urinarias (42%); 13 de partes blandas (36%); 4 respiratorias (11%); 3 bacteriemias primarias (8%); 3 bacteriemias secundarias y una infección intraabdominal (3%); en total, 6 pacientes (16%) presentaron bacteriemia. Sólo 13 participantes (36%) recibieron terapia antibiótica empírica apropiada. Catorce individuos fallecieron (tasa bruta de mortalidad, 30%); 5 debido a infección (tasa de mortalidad secundaria a infección, 14%). Respecto del tipo de BLEE, 29 aislamientos (62%) produjeron SHV (28 se identificaron por secuenciamiento como SHV-12 y 1 como SHV-2a); 27 (57%) presentaron el tipo CTX-M (26, CTX-M-14 y 1, CTX-M-9) y 18 (38%), un tipo no identificado de BLEE con un punto isoeléctrico de 6.5, que probablemente sea un tipo TEM, denominado TEM-Q en el presente estudio. Veinticuatro aislamientos (51 %) produjeron > 1 BLEE, la combinación más frecuente fue SHV-12 más TEM-Q (14 aislamientos). De las 23 cepas que produjeron sólo 1 BLEE, 16 presentaron CTX-M-14. Los aislamientos productores de TEM-Q se detectaron entre enero y julio de 2001 ($n = 14$) y entre diciembre de 2001 y marzo de 2002 ($n = 4$). Fueron identificados 25 genotipos diferentes por REP-PCR, inclusive 4 de grupos clonalmente relacionados (aislamientos epidémicos, 55%) y 21 de grupos no relacionados clonalmente (aislamientos esporádicos, 45%). En el caso de las primeras cepas, relacionadas clonalmente por REP-PCR, se estudiaron por

electroforesis en gel en campo pulsado, con resultados idénticos. El grupo clonal A comprendió 11 aislamientos, todos productores de SHV-12; 9 también produjeron TEM-Q y 5 además presentaron CTX-M-14. Cuatro de estos pacientes estuvieron internados en el hospital para pacientes ancianos y 7, en el hospital de agudos. Once aislamientos conformaron el grupo B: 9 produjeron SHV-12; 8, TEM-Q; 1, CTX-M-14; y 1, CT X-M-9. Ocho pacientes estuvieron internados en el hospital geriátrico y 3 en el de agudos. Entre los 6 individuos internados en unidades de cuidados intensivos incluidos en este estudio, 5 tuvieron un aislamiento de características epidémicas. Los otros 2 grupos clonales estuvieron constituidos por 2 aislamientos cada uno. Entre los 21 aislamientos esporádicos, 17 produjeron CTX-M. En comparación con los aislamientos no epidémicos, los aislamientos epidémicos presentaron más frecuentemente BLEE del tipo TEM y SHV (62% versus 10%, $p < 0.001$ y 85% versus 33%, $p < 0.001$, respectivamente) y produjeron los tipos CTX-M con menos frecuencia (39% versus 81%, $p = 0.003$). Para investigar la epidemiología de los diferentes tipos de BLEE se compararon 2 grupos homogéneos: 16 pacientes con aislamientos productores solamente de CTX-M-14 (grupo CTX-M) y 14 sujetos con aislamientos productores de SHV-12 y TEM-Q, pero no CTX-M-14 (grupo SHV-TEM). Todos los aislamientos, excepto 1 del grupo CTX-M, fueron esporádicos, mientras que todos los aislamientos del grupo SHV-TEM pertenecieron a clones epidémicos. Los pacientes en el grupo CTX-M fueron internados en unidades quirúrgicas con más frecuencia (37.5% versus 0%, $p = 0.01$), con menos asiduidad en el hospital de atención geriátrica (25% versus 78.5%, $p = 0.009$) y, por lo general, presentaron diabetes (56.3% versus 21.4%, $p = 0.05$), en comparación con aquellos en el grupo SHV-TEM. El uso previo de fluoroquinolonas fue menos frecuente entre los participantes del grupo CTX-M (25% versus 64.3%, $p = 0.03$), mientras que, si bien la utilización previa de cefotaxima fue más frecuente, no se observó una diferencia estadísticamente significativa (37.5% versus 21.4%, $p = 0.4$). La mediana de la duración de la internación fue más breve en los individuos del grupo CTX-M (14 días versus 21 días), pero la diferencia no fue estadísticamente significativa, debido a los rangos amplios (3 a > 99 en ambos grupos). Los aislamientos en el grupo CTX-M fueron sensibles con más frecuencia a amoxicilina-ácido clavulánico (81.3% versus 50%, $p = 0.07$), ciprofloxacina (25% versus 0%, $p = 0.04$), gentamicina (87.5% versus 42.9%, $p = 0.01$) y tobramicina (87.5% versus 7.1%, $p < 0.001$) que los aislamientos del grupo SHV-TEM. El cateterismo urinario fue un factor de riesgo tanto para los aislamientos productores de CTX-M como de SHV-TEM. En el análisis multivariado, el empleo previo de antibióticos oximino beta lactámicos (cefuroxima, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y aztreonam), la diabetes y las enfermedades subyacentes fueron factores de riesgo independientes para infección o colonización con aislamientos productores de CTX-M, mientras que la utilización previa de fluoroquinolonas se asoció con infección o colonización con aislamientos productores de SHV-TEM.

Discusión y conclusión

Según los autores, las cepas de *E. coli* productoras de BLEE constituyen una causa emergente de infecciones intrahospitalarias y las características epidemiológicas son complejas y diferentes según el tipo de BLEE producido. Los aislamientos de *E. coli* productores de BLEE del tipo CTX-M fueron clonalmente no relacionados y más frecuentemente sensibles a los antibióticos no oximino beta lactámicos. En cambio, los aislamientos productores de BLEE del tipo SHV y TEM fueron epidémicos y multirresistentes. El cateterismo urinario y la administración previa de oximino beta lactámicos o fluoroquinolonas fueron factores de riesgo independientes para la infección con cepas de *E. coli* productoras de BLEE. La resistencia a los oximino beta lactámicos, de los cuales la cefotaxima fue la utilizada con más frecuencia, se relacionó con los aislamientos productores de CTX-M, lo cual refleja la actividad de cefotaximasa, mientras que el empleo de fluoroquinolonas se asoció con los aislamientos productores de SHV-TEM resistentes a ciprofloxacina.

En conclusión, los aislamientos de *E. coli* esporádicos, productores de CTX-M, coexistieron con los aislamientos epidémicos, multirresistentes, productores de SHV-TEM. Estos datos deben considerarse en el diseño de medidas de control. Además, la *E. coli* productora de BLEE debe ser tomada en cuenta en la etiología de las infecciones nosocomiales de pacientes con factores de riesgo.

Autoevaluación de Lectura

¿Qué características suelen tener los aislamientos de *Escherichia coli* productores de beta lactamasas de espectro extendido del tipo CTX-M en pacientes internados con infecciones nosocomiales?

- A. Fueron aislamientos esporádicos con multirresistencia.*
- B. Fueron aislamientos epidémicos con resistencia a oximino betalactámicos.*
- C. Fueron aislamientos epidémicos con multirresistencia.*
- D. Fueron aislamientos esporádicos con resistencia a oximino betalactámicos.*

[Respuesta Correcta](#)

Trabajos Distinguidos, Serie Infectología , integra el Programa SIIC de Educación Médica
Continuada