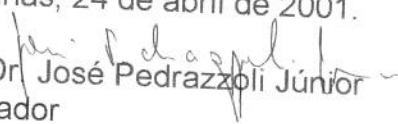


CHRISTINA DA CUNHA ECCLISSATO SALVATTI

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas, Área Medicina Interna da aluna **Christina da Cunha Ecclissatto Salvatti**

Campinas, 24 de abril de 2001.

Prof. Dr.  José Pedrazzoli Júnior
Orientador

***AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA PRIMÁRIA A
ANTIMICROBIANOS EM LINHAGENS DE
Helicobacter pylori, ISOLADAS DE PACIENTES DA
REGIÃO DE BRAGANÇA PAULISTA***

CAMPINAS

2001

i
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

CHRISTINA DA CUNHA ECCLISSATO SALVATTI

***AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA PRIMÁRIA A
ANTIMICROBIANOS EM LINHAGENS DE
Helicobacter pylori, ISOLADAS DE PACIENTES DA
REGIÃO DE BRAGANÇA PAULISTA***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas, área de Medicina Interna.*

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ PEDRAZZOLI JÚNIOR

CAMPINAS

2001

UNIDADE 80
Nº CHAMADA T/UNICAMP
Sa38a
V _____ EX _____
TOMBO BCI 50497
PROC 16-837/02
C _____ DX _____
PREÇO R\$ 11,00
DATA 21/08/02
Nº CPD _____

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM00172425-6

BIB ID 252366

Sa38a

Salvatti Christina da Cunha Ecclissato

Avaliação da resistência primária a antimicrobianos em linhagens de *Helicobacter pylori*, isoladas de pacientes da região de Bragança Paulista / Christina da Cunha Ecclissato Salvatti. Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : José Pedrazzoli Júnior

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Helicobacter. 2. Resistência. 3. Antibióticos. 4. Tratamento.
I. José Pedrazzoli Júnior. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. José Pedrazzoli Júnior

Membros:

1. Prof. Dr. Luiz Gonzaga V. Coelho -

2. Prof. Dr. José Murilo R. Zeitune -

3. Prof. Dr. José Pedrazzoli Jr -

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração em Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 24.04.2001

200238610

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo, Luiz Guilherme, pelo carinho, compreensão, paciência e apoio.

Aos meus pais, Jair e Ermê, e ao meu irmão, Ernest, pelo incentivo.

Ao Professor, Dr José Pedrazzoli Júnior, meu orientador, pelo apoio, amizade e confiança.

A todos, que direta ou indiretamente, tornaram possível a conclusão desta etapa, pelo apoio, confiança, e, principalmente, pela paciência. Meus sinceros agradecimentos.

À Enfermeira Maristela Deguer Funke, da UNIFAG, pela dedicação, amizade, carinho, paciência e pela participação na coleta das biópsias.

À bióloga Anita de Paula Ortiz Camargo, pela amizade, pelas valiosas dicas e pela realização da cultura das linhagens de *Helicobacter pylori*.

Ao Professor Dr Sérgio de Mendonça, pelas críticas, sugestões e pela participação no desenvolvimento das culturas e método de resistência.

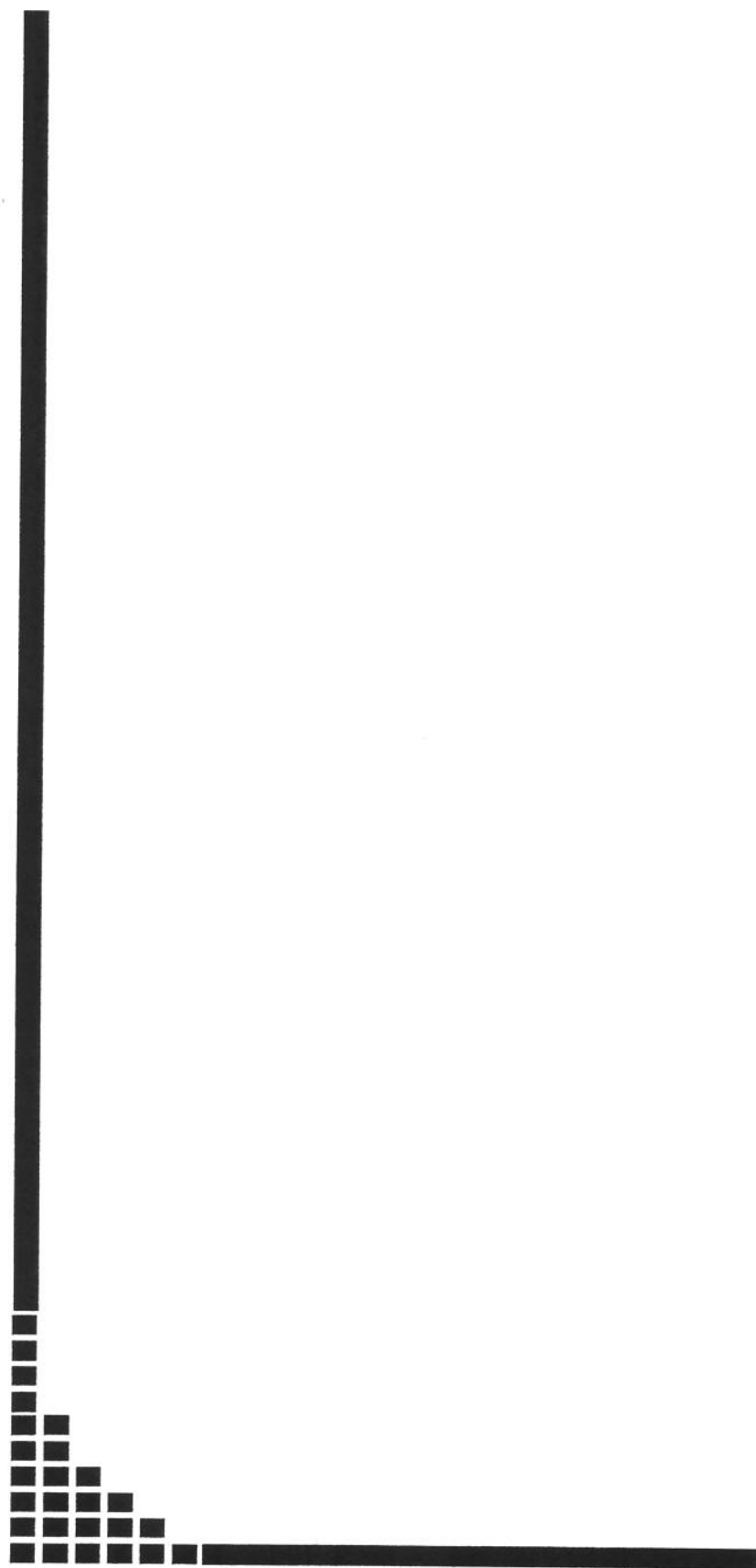
Ao Dr Marco Antônio Maya Marchioreto pela amizade, compreensão e companherismo durante o desenvolvimento do estudo.

Aos pacientes que tornaram possível a realização do estudo.

Às inúmeras outras pessoas que, no convívio diário, apoiaram e colaboraram para a realização deste estudo.

	PÁG.
RESUMO.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1. <i>Helicobacter pylori</i>	11
1.1.1. Epidemiologia.....	12
1.1.2. Patogênese e virulência.....	13
1.1.3. Doenças associadas.....	17
1.1.3.1. Gastrite crônica não atrófica.....	17
1.1.3.2. Doença ulcerosa péptica.....	19
1.1.3.3. Gastrite crônica atrófica.....	19
1.1.3.4. Câncer gástrico.....	20
1.1.3.5. Linfoma MALT.....	21
1.1.3.6. Dispepsia não ulcerosa.....	21
1.1.4. Métodos diagnósticos.....	22
1.1.4.1. Endoscópicos.....	22
1.1.4.2. Não endoscópicos.....	24
1.1.5. Tratamento.....	25
1.1.5.1. Indicações.....	25
1.1.5.2. Esquemas propostos.....	26
1.1.5.3. Falência de tratamento.....	26
1.1.6. Testes de susceptibilidade a antimicrobianos.....	27
1.1.6.1. Teste de diluição em ágar.....	28

1.1.6.2. Teste de diluição em meio líquido.....	28
1.1.6.3. Teste de difusão em disco.....	28
1.1.6.4. Teste epsilométrico (E-test).....	29
1.1.7. Mecanismos de ação dos antimicrobianos.....	29
1.1.8. Mecanismos de resistência.....	30
1.1.8.1. Resistência a macrolídeos.....	31
1.1.8.2. Resistência a nitroimidazóis.....	32
1.1.8.3. Resistência a floroquinolonas.....	33
2. OBJETIVOS.....	34
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	36
3.1. Pacientes.....	37
3.2. Critérios de inclusão no estudo.....	37
3.3. Cultura bacteriana.....	40
3.4. Identificação.....	41
3.5. Teste de susceptibilidade a antimicrobianos.....	41
4. RESULTADOS.....	43
5. DISCUSSÃO.....	46
6. SUMMARY.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52



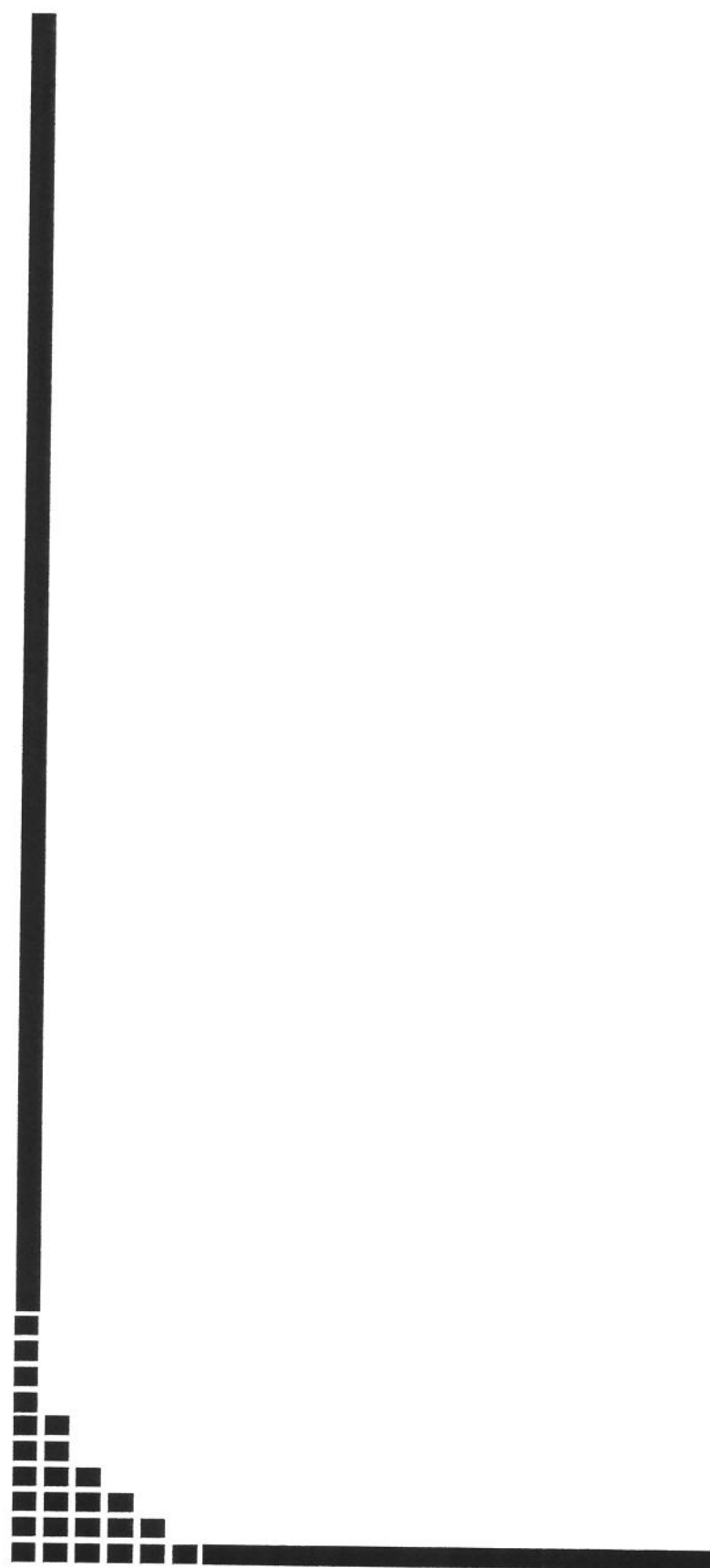
RESUMO

A infecção pelo *Helicobacter pylori* é associada com uma variedade de doenças digestivas e apresenta alta prevalência em países em desenvolvimento, apesar de poucos dados sobre a susceptibilidade da bactéria aos antimicrobianos comumente usados nos esquemas de erradicação nesses países. O objetivo do presente estudo foi avaliar a resistência do *Helicobacter pylori* ao metronidazol, claritromicina, amoxicilina, tetraciclina e furazolidona em pacientes dispépticos no Brasil.

Noventa pacientes dispépticos foram avaliados. A resistência foi avaliada pelo teste de diluição em ágar.

A resistência ao metronidazol foi detectada em 38 pacientes (42%); a amoxicilina em 26 indivíduos (29%); a claritromicina em 6 pacientes (7%); a tetraciclina em 6 pacientes (7%); e à furazolidona em 4 indivíduos (4%). Treze culturas foram resistentes a 2 agentes antimicrobianos, e oito foram resistentes a três agentes.

Os resultados encontrados confirmam a necessidade da realização de cultura e teste de susceptibilidade para a definição dos padrões de resistência em determinadas áreas geográficas para o uso generalizado de um esquema de erradicação da infecção pelo *Helicobacter pylori*.



1. INTRODUÇÃO

1.1 *HELICOBACTER PYLORI*

A descoberta da associação entre a infecção pelo *Helicobacter pylori* e a doença ulcerosa péptica por Robin Warren e Barry Marshall em 1983, representou um marco histórico na ciência médica neste século (MARSHALL, 1983; WARREN, 1983).

Inicialmente denominado *Campylobacter pyloridis*, seu nome foi posteriormente atualizado para *Helicobacter pylori* quando a caracterização bioquímica e genética do organismo mostrou que o mesmo era diferente de outras espécies do gênero *Campylobacter* (HEATLEY, 1995).

A úlcera péptica era universalmente aceita como sendo causada por uma ação agressiva de ácido e pepsina. De fato, o sucesso das terapias que reduzem a secreção ácida, como os receptores de H₂ ou os inibidores da bomba protônica, confirmavam a importância do ácido na fisiopatologia das ulcerações pépticas. O ditado “sem ácido, sem úlcera” era aceito como verdade universal (LEE, 1993).

A sugestão de Marshall de que uma bactéria poderia, de alguma maneira, estar envolvida no processo, e ser um agente etiológico nas ulcerações pépticas foi recebida com ceticismo pela comunidade científica. Somente após diversos estudos comprovarem que a erradicação do microrganismo da mucosa gástrica de pacientes com úlcera duodenal impedia sua recorrência, a bactéria gram-negativa *Helicobacter pylori* foi considerada como o principal agente etiológico envolvido na gastrite crônica e na úlcera péptica, além de estar associada também ao desenvolvimento de câncer gástrico (BLASER, 1990; 1993; COVER & BLASER, 1995; HU *et al.*, 1994; MARSHALL, 1994).

O *Helicobacter pylori* é uma espiroqueta gram negativa, não esporulada, microaeróbica, móvel, flagelada, de crescimento lento que se encontra na mucosa e nas criptas gástricas do estômago humano de pessoas infectadas, tendo como maior característica uma alta produção de urease. É atualmente bem descrito tanto em microscopia óptica com em microscopia eletrônica, medindo 0,5µm de largura e 3,0µm de comprimento, apresentando uma superfície lisa com 4 ou 6 flagelos unipolares, prosperando bem em atmosferas com baixos índices de oxigênio, aproximadamente entre 5 a 15% (MARSHALL, 1983; WARREN, 1983).

1.1.1. Epidemiologia

A prevalência mundial do *Helicobacter pylori* em indivíduos saudáveis, depende da idade e do país de origem. A infecção é tipicamente adquirida na infância. Em países em desenvolvimento a maioria das crianças já é infectada com 10 anos de idade, enquanto em países desenvolvidos há uma clara relação entre aumento de idade e da prevalência (MÉGRAUD, 1993; GRAHAM, ADAM, REDDY, 1991). Em países desenvolvidos como os Estados Unidos, a prevalência varia entre os diferentes grupos étnicos e padrões sócioeconômicos (CULLEN, COLLINS, CHRISTIANSEN, 1993). Fatores ambientais e genéticos também contribuem para estas diferenças.

A infecção pelo *Helicobacter pylori* ocorre primariamente durante a infância; apenas 0,3 a 0,5% dos adultos adquirem a infecção por ano (PARSONNET, BLASER, PEREZ-PEREZ, 1992). O maior fator de risco para a infecção é a condição sócioeconômica da família durante a infância, refletido pelo número de pessoas que dividem a mesma moradia (ou o mesmo leito), e condições sanitárias precárias (MALATY & GRAHAM, 1994; WEBB, KNIGHT, GREAVES, 1994). Quanto melhores as condições sanitárias, menor a prevalência em indivíduos jovens (HARUMA, KAWAGUSHI, KOHMOTO, 1994). No mundo desenvolvido, a infecção é relativamente rara entre crianças, e é adquirida numa taxa muito constante atingindo a prevalência de 20-40-% na população adulta. Nos países em desenvolvimento, o *H. pylori* é adquirido rapidamente durante a primeira infância, encontrando-se taxas de 70-90% de infecção na população com mais de 20 anos de idade (VAN DER MEER *et al.*, ROLLAN, 2000).

As diferenças epidemiológicas podem influenciar o resultado da infecção pelo *Helicobacter pylori*. Crianças infectadas apresentam maior chance de desenvolver úlcera ou câncer gástrico, enquanto que a infecção ocorrida nos anos iniciais da vida adulta, parece estar associada com o desenvolvimento de úlcera duodenal (HANSSON *et al.*, 1996; PARSONNET, 1996)

As vias de transmissão descritas da infecção pelo *Helicobacter pylori* incluem via fecal-oral, oral-oral, iatrogênica (pelo uso inadvertido de “probes” de pHmetria e endoscópios não estéreis), além da infecção por insetos vetores. A preponderância de cada

via depende principalmente de fatores locais (CULLEN *et al.*, 1993). A contaminação pela via fecal-oral seria dominante em populações com alta prevalência da infecção na infância e baixo nível sócio econômico (THOMAS *et al.*, 1992).

Dados que sustentam a transmissão por via oral-oral foram derivados de uma variedade de observações realizadas como a cultura de *Helicobacter pylori* na saliva e placa dentária, além de colonização temporária da boca de pacientes com Doença do Refluxo Gastro-Esofágico (CHENG *et al.*, 1996; GILL, 1994). Outros dados substanciais sobre a transmissão oral-oral descrevem maior prevalência de *H. pylori* em gastroenterologistas em relação ao controle, notadamente os mais antigos que praticavam exames de seus pacientes sem os cuidados dispensados atualmente, como o uso de luvas descartáveis (MITCHELL, LEE, CARRICK, 1986). Enfermeiras de unidades de endoscopia foram comparadas com enfermeiras generalistas, observando-se também nesta primeira classe uma maior prevalência (WILHOITE *et al.*, 1993).

A via iatrogênica é representada principalmente pelos procedimentos usados em gastroenterologia para diagnóstico de patologias, incluindo-se a endoscopia digestiva alta e a pHmetria pela introdução de aparelhos contaminados pela bactéria (GRAHAM *et al.*, 1995; RAMSEY *et al.*,), o que pode ser evitado pela correta desinfecção dos aparelhos (FANTRY, ZHENG, JAMES, 1995).

A mosca doméstica demonstra potencial para transmissão do *Helicobacter pylori*, principalmente em regiões com condições sanitárias precárias (HANDT *et al.*, 1995). Através da aquisição em fezes de indivíduos infectados, a mosca carregaria mecanicamente a bactéria até depositá-la em alimentos ou até mesmo na mucosa oral de crianças (GRUBEL *et al.*, 1997).

1.1.2. Patogênese e virulência

Os fatores de virulência do *Helicobacter pylori* são divididos em fatores de colonização e fatores responsáveis pelo dano tecidual.

Os fatores de colonização são aqueles que possibilitam que a bactéria se estabeleça no organismo, entre eles incluímos a motilidade que através da forma espiral e presença de flagelos possibilita que o *Helicobacter pylori* se movimente rapidamente da luz do estômago onde o pH é muito baixo através do lago mucoso para uma área onde o pH esteja próximo do neutro permitindo condições favoráveis para o seu crescimento (EATON, MORGAN, KRAKOWKA, 1989)

O *Helicobacter pylori* é a bactéria que mais produz urease. A urease é uma enzima essencial para a colonização da bactéria, seu papel em hidrolizar a uréia da mucosa gástrica, transformando-a em dióxido de carbono e amônia, a qual tampona a acidez gástrica e otimiza o pH ao redor da bactéria permitindo o seu crescimento (MCGOWAN, COVER, BLASER, 1994). A transformação da uréia em amônia também funciona com fonte de nitrogênio para a síntese de proteínas necessárias para aderência bacteriana (EATON *et al.*, 1995).

A produção de lipase e protease leva à degradação do muco gástrico, diminuindo o papel protetor de mucosa do mesmo (SLOMIANY *et al.*, 1992).

A aderência do *H. pylori* à superfície da célula epitelial protege a bactéria impedindo-a de ser removida por mecanismos não específicos de defesa do hospedeiro, incluindo peristaltismo, atividade ciliar, “turnover” das células epiteliais e o lago mucoso. Estudos *in vitro* mostraram que a adesão do *H. pylori* às células epiteliais gástricas altera o citoesqueleto celular que é observado em associação com formação de pedestais de aderência. A aderência é importante também ao possibilitar a transferência de toxinas bacterianas à célula hospedeira. A secreção de Interleucina-8 pelas células epiteliais gástricas associadas à exposição por *H. pylori* é significativamente maior quando a bactéria está em contato direto com as células epiteliais gástricas, ao contrário de quando ambas estão separadas por uma membrana semi-permeável (SMOOT *et al.*, 1993; SEGAL *et al.*, 1996).

Além das enzimas descritas acima, o *Helicobacter pylori*, tal como outras bactérias patogênicas, também causa danos aos tecidos através da liberação de toxinas. Foi descrita uma citotoxina, em uma grande variedade de células cultivadas, com capacidade de

produzir vacúolos (VacA) (LUPETTI *et al.*, 1996). O gene vacA que codifica a citotoxina vacuolizante tem estrutura em mosaico que consiste em um de três tipos de sequência de sinais(s1a, s1b e s2) e um de dois tipos da região média(m1 e m2). Cepas do tipo s1 são significativamente mais comuns que as do tipo s2, em pacientes com história pregressa ou atual de úlcera duodenal. Além disso, as cepas do tipo s1a são associadas a uma maior densidade de neutrófilos que as do tipo s1b e s2. Os tipos de VacA de região média não parecem estar associados com úlcera duodenal, com a inflamação ou com a densidade bacteriana (ATHERTON *et al.*, 1995). Infectado pela bactéria, o indivíduo desenvolve uma intensa resposta inflamatória.

Já foi demonstrado que a gastrite pode ocorrer na ausência de linfócitos B e T depois da infecção pelo *H. pylori*. Isso sugere que pelo menos uma das alterações em pacientes infectados pelo *H. pylori* resulte de resposta inflamatória inespecífica (BLANCHARD *et al.*, 1995).

É possível que a ativação de neutrófilos através do estímulo de Il-8 pelo epitélio infectado resulte em lesão epitelial através da produção de oxidantes ou como consequência da migração transepitelial; além disso, a aderência do neutrófilo ao endotélio do tecido gástrico pode levar à quebra proteica e resultar em dano microvascular (KUROSE *et al.*, 1994).

A primeira sugestão, de que o *H. pylori* causaria uma resposta auto-imune, foi baseada na evidência de da presença de Ac monoclonal contra *H. pylori* reconhecida em epitélio gástrico de humanos, sendo que a administração destes Ac resulta em gastrite e formação de erosões. Estes Ac produzidos por linfócitos B da mucosa gástrica, também, reconhecem células do epitélio gástrico levando à doença mediada por imune-complexos com danos diretos ao epitélio (NEGRINI *et al.*, 1991).

Com a progressão da inflamação e acúmulo significativo de linfócitos Th1, há estímulo da produção de Il-2 e IFN- α , que juntos promovem imunidade celular. A barreira epitelial, que visa impedir que o ácido luminal e enzimas causem danos epiteliais, com a infecção mostra-se frágil e sofre ação destas citocinas, assim como da interação com Fas Fas ligante (MADARA & STAFFOD, 1989).

A resposta do hospedeiro, combinada à bactéria aumenta a resposta celular e leva à morte celular via apoptose. A consequência no aumento da morte celular inclui reparo aberrante do epitélio levando à atrofia ou metaplasia. O tecido anormal não consegue manter mecanismos citoprotetores, aumentando o risco de ulceração péptica (MOSS *et al.*, 1996; MANNICK *et al.*, 1996). Tanto a resposta inflamatória celular, como a resposta imune humoral contribuem para o desenvolvimento do padrão da gastrite crônica associada ao *H. pylori* (CRABTREE *et al.*, 1991; NOACH *et al.*, 1994; ERNST *et al.*, 1994; MOSS *et al.*, 1996; JONES *et al.*, 1996).

A infecção crônica por *H. pylori* também causa alterações na secreção ácida gástrica. Em indivíduos não infectados pela bactéria a gastrina é liberada pelas células G do antro gástrico e duodeno e atua via circulatória para estimular a secreção ácida pelas células parietais do antro e pela estimulação da liberação de histamina pelas células enterocromafins (ECL). O controle das células parietais, células G e células enterocromafins é realizado pelo efeito inibitório da somatostatina (SMS) secretada pelas células D do corpo e do antro (WALSH, 1994).

Em indivíduos infectados, tem sido associado o aumento de concentração de gastrina plasmática. Isto ocorre também no jejum, após refeições e durante a infusão do peptídeo liberador de gastrina (GRP). O excesso de gastrina durante a estimulação pelo GRP ou alimentos é predominantemente de gastrina 17, que é a menor forma dentre as formas de gastrina e é a forma predominante no antro gástrico onde a infecção é mais abundante, além disso, o *H. pylori* aumenta a clivagem de gastrina 34 produzindo gastrina 17. A erradicação do *H. pylori* leva ao controle da liberação da gastrina. Sugere-se que os picos de secreção de ácido, basal e estimulado pelo GRP e pentagastrina, são significativamente mais altos em pacientes *H. pylori*-positivos com UD que em indivíduos saudáveis *H. pylori*-negativos (EL-OMAR *et al.*, 1993).

Os efeitos da infecção pelo *Helicobacter pylori* na secreção ácida dependem de algumas variáveis. Diferenças entre pacientes são importantes; por exemplo, a infecção pelo *H. pylori* eleva a secreção ácida em pacientes com úlcera duodenal mas a mesma diminui em pacientes com câncer gástrico. Pacientes com úlcera duodenal tendem a apresentar gastrite restrita ao antro, onde o principal efeito do *H. pylori* na secreção ácida é

devido à estimulação mediada pela gastrina (SIPPONEM, 1992). Por outro lado, observa-se em pacientes com câncer gástrico a presença de pangastrite onde as células parietais são influenciadas pelo efeito inibitório de produtos do *H. pylori* e citocinas inflamatórias (SIPPONEM, 1992).

1.1.3. Doenças associadas

1.1.3.1. Gastrite crônica não atrófica

A mucosa gástrica normal contém escassas células mononucleadas. Foliculos linfóides e polimorfonucleados estão ausentes (PRICE, 1991).

O padrão histológico descrito é alterado imediatamente após o indivíduo ser infectado pelo *H. pylori*. Apesar de haver poucos relatos sobre a fase aguda da infecção (GLEDHILL *et al.*, 1985) é descrito um notável padrão de diminuição de produção ácida e inflamação ativa na mucosa de antro e corpo gástrico. Um padrão similar também foi demonstrado em animais (FOX *et al.*, 1995).

A fase aguda da infecção, geralmente acompanhada de sintomas dispépticos (MATYSIAK *et al.*, 1995), pode levar várias semanas até a produção ácida ser restaurada e a gastrite crônica ser estabelecida.

A fase crônica da infecção pelo *Helicobacter pylori* é caracterizada por um padrão predominante antral de colonização pela bactéria e inflamação. Além disso, bactérias e inflamação associadas também são encontradas no corpo gástrico (STOLTE, EIDT, OHNSMAN, 1990). Foliculos linfóides também são vistos, principalmente se vários fragmentos de biópsia forem coletados (STOLTE, EIDT, 1989).

Outro achados histopatológicos que comumente acompanham a infecção pelo *H. pylori* são a redução do lago mucoso e erosões na superfície epitelial (CHAN *et al.*, 1992).

A literatura sobre gastrite era confusa, devido a um passado de classificações e definições. Esta confusão era sustentada pelo desconhecimento da bactéria *H. pylori* que hoje sabemos ser o principal agente das gastrites (WHITEHEAD, 1995).

A introdução do Sistema de Sydney, que classifica as gastrites, possibilitou uma uniformidade, levando a maior entendimento de estudos a serem realizados. Este sistema implica na coleta de 2 fragmentos de biópsia do Antro, que são obtidos na pequena e grande curvatura e 2 fragmentos de Corpo da parede anterior e posterior (PRICE, 1991; TYTGAT, 1991).

Tanto o infiltrado celular mononuclear, quanto o número de granulócitos são analisados separadamente em um score como inflamação crônica e aguda, respectivamente em uma escala de 4 graus (ausente, leve, moderada, severa). Uma diferença importante entre o sistema de Sydney e os sistemas previamente utilizados para classificação de gastrites (STRICKLAND, MACKAY, 1973; FABER, 1927; KEKKI, SIURALA, VARIZ, 1987) é o fato de que a distribuição de células inflamatórias afeta somente o score de inflamação, não afetando o score de atrofia (TYTGAT, 1991).

Apesar do sistema de Sydney ser mais adaptado, foi criticado em Houston, 1994, por não designar a coleta de fragmentos de biópsia da Incisura Angularis, local onde há severa inflamação e atrofia. Então, somou-se aos 4 fragmentos de biópsia já descritos acima um fragmento de biópsia da região em questão (DIXON, GENTA, YARDLEY, 1996).

Os fragmentos de biópsias obtidos são processados rotineiramente, corados por Hematoxilina- Eosina e analisados por histopatologista que então classifica a gastrite. Colorações especiais, como Giemsa, são utilizadas quando a identificação da bactéria torna-se difícil (DELTENRE *et al.*, 1989).

Através da classificação original de Sydney, a gastrite é então dividida em três categorias: aguda, crônica e forma especial. A gastrite crônica então é subdividida em atrófica e não atrófica (DIXON, GENTA, YARDLEY, 1996).

1.1.3.2. Doença ulcerosa péptica

Uma vez o paciente infectado pelo *Helicobacter pylori*, e a gastrite instalada, surge o risco de complicações secundárias. O primeiro risco é o desenvolvimento de úlcera péptica (KUIPERS, 1997). A relação entre o *H. pylori* e as úlceras gastro-duodenais foi exaustivamente discutido (KUIPERS, THIJS, FESTEN, 1995), concluindo-se que aproximadamente 95% dos pacientes com úlcera duodenal e 80% dos pacientes com úlcera gástrica em todo o mundo são infectados pelo *H. pylori*. O risco estimado para doença ulcerosa péptica em indivíduos infectados pelo *H. pylori* é aproximadamente 15% (VALLE et al, 1996). O risco de ulceração péptica está relacionado à quantidade de inflamação gerada pela cepa de *H. pylori*, com maior risco se a bactéria obtiver o gene Cag A que codifica a proteína associada à produção da citotoxina vacuolizante ou Vac A (FIGURA, 1996; WEEL, 1996).

1.1.3.3. Gastrite crônica atrófica

Se o *H. pylori* não é erradicado, a infecção e a gastrite associada persistem indefinidamente, usualmente até o fim da vida. Isto pode eventualmente levar à perda das glândulas gástricas e ao desenvolvimento de gastrite atrófica multifocal, a qual é muitas vezes associada à metaplasia intestinal (KUIPERS, 1997). Um constante aumento na prevalência da atrofia e metaplasia é observado com o aumento da idade. Na Holanda, aproximadamente 50% da população com mais de 65 anos infectada pelo *H. pylori* apresenta atrofia de mucosa gástrica e focos de metaplasia intestinal (CRAANEN et al., 1992). Nos países em desenvolvimento, onde a infecção é adquirida precocemente, a prevalência aumenta muito chegando a 90% em indivíduos com mais de 50 anos de idade (VILLAKO, KEKKI, MAAROOS, 1991).

A gastrite atrófica consiste na perda do tecido glandular. Como as glândulas são mais densas e regulares no corpo gástrico é neste local onde a atrofia é mais facilmente reconhecida. A metaplasia intestinal muitas vezes acompanha a atrofia apesar de em algumas condições, aparecer separadamente (GENTA, 1996).

1.1.3.4. Câncer Gástrico

Durante décadas, a gastrite crônica tem sido associada a um aumento no risco de câncer gástrico através do desenvolvimento da gastrite atrófica (CORREA et al, 1975). Com o reconhecimento do *H. pylori* como causador das gastrites, também se imaginou ser a bactéria a possível causa do câncer. Em 1994, A agência Internacional para o Estudo do Câncer concluiu que na literatura avaliada havia suficientes evidências que a infecção pelo *H. pylori* aumenta o risco de câncer (IARC, 1994). Esta conclusão foi baseada nos resultados obtidos em 3 estudos, que demonstraram um risco aumentado de câncer gástrico em pacientes infectados pelo *H. pylori* (FORMAN, NEWEL, FULLERTON, 1991; NOMURA, STEMMERMANN, CHYOU, 1991; PARSONNET, FRIEDMAN, VANDERSTEEN, 1991). Em uma meta-análise destes resultados a infecção pelo *H. pylori* aumenta o risco de câncer gástrico em nove vezes (FORMAN et al., 1994).

Como a infecção pelo *H. pylori* tende a desaparecer com o desenvolvimento da atrofia, o envolvimento da bactéria na carcinogênese gástrica, ocorre em um primeiro estágio dos vários necessários para o surgimento do câncer (WATANABE et al., 1996). Os dados também sugerem que o risco de câncer na presença de *H. pylori* depende de outros fatores que também influenciam a severidade da gastrite e o risco de gastrite atrófica. Infecção com cepas CagA-positivas podem aumentar o risco de câncer em duas a três vezes comparados a cepas CagA-negativas (BLASER et al., 1995; PARSONNET et al., 1996; PONZETTO et al., 1996).

Hansson e colaboradores apresentaram dados que sustentam a hipótese que o risco de câncer gástrico também está associado à produção de ácido. Foram analisados 57.936 pacientes com doença ulcerosa péptica e demonstrado que os pacientes com úlcera gástrica possuem três vezes mais chance de desenvolver câncer gástrico em relação aos pacientes com úlcera duodenal (HANSSON, NYREN, HSING, 1996). Sabe-se que os pacientes com úlcera gástrica apresentam gastrite atrófica de corpo e portanto menor quantidade de ácido em detrimento aos pacientes com úlcera duodenal que apresentam gastrite não atrófica predominante em antro.

Outros fatores como a ingestão de alimentos nitrosaminados, refluxo duodeno-gástrico, ingestão de sal além de fatores hereditários, em conjunto com *H. pylori*, estão envolvidos no desenvolvimento do carcinoma gástrico (KUIPERS, 1997).

1.1.3.5. Linfoma MALT

Linfomas gastrointestinais são os mais frequentes linfomas extra-nodais. Linfomas gástricos, que são os tipos mais comuns de linfomas gastrointestinais, são usualmente indolentes e de curso prolongado, e em contraste com os linfomas nodais tendem a persistir de forma localizada por um longo período (HAYES, DUNN, 1989). Ao contrário do carcinoma gástrico, o linfoma gástrico primário está aumentando sua incidência (SEVERSON, DAVIS, 1990).

O estômago adulto não possui folículos linfóides, porém variável número de folículos linfóides é encontrado em pacientes infectados pelo *H. pylori*. Estudos sugerem que os linfoma MALT (tecido linfóide associado à mucosa) se desenvolvem depois do aparecimento de folículos linfóides em resposta à estimulação antigênica da mucosa gástrica pelo *H. pylori*. O tipo de neoplasia gerada varia de uma forma de crescimento lento e indolente (baixo grau) até uma forma agressiva, indiferenciada (alto grau) (HAAL *et al.*, 1988; ISAACSON *et al.*, 1988).

A evidência da importância da infecção pelo *Helicobacter pylori* na patogênese do linfoma gástrico tipo MALT baixo grau é advinda de estudos clínicos que mostraram que a cura da infecção da bactéria é acompanhada da remissão completa deste tipo de tumor (HUSSEL *et al.*, 1993).

1.1.3.6. Dispepsia não ulcerosa

Em contraste com a doença ulcerosa péptica, adenocarcinoma gástrico e linfoma gástrico, o *H. pylori* não foi estabelecido em exercer um papel definido em pacientes dispépticos (BECHI *et al.*, 1992).

Apesar da suspeita de que a inflamação induzida pelo *Helicobacter pylori* na mucosa gástrica poderia afetar a motilidade gástrica, nenhum dado consistente sobre aumento ou diminuição na intensidade da motilidade foi bem documentado (MINOCHA *et al.*, 1994; PIERAMICO, DISTCHUNEIT, MALFERTHEINER, 1993; MEARIN, DE RIBOT, BALBOA, 1995).

Em 1995, Mearin e colaboradores, publicaram estudo em que 3 grupos de pacientes foram avaliados: *H. pylori* positivos com dispepsia não ulcerosa; *H. pylori* negativos com dispepsia não ulcerosa e controles *H. pylori* negativos. Nenhuma diferença foi encontrada na severidade de sintomas avaliados (MEARIN, DE RIBOT, BALBOA, 1995). Estudo do mesmo autor através da estimulação com balão intragástrico para avaliação de desconforto abdominal em pacientes dispépticos não ulcerosos, também não evidenciou diferenças entre os grupos *H. pylori* positivos e negativos (MEARIN *et al.*, 1992).

Veldhuzen van Zanten e Sherman obtiveram a mesma conclusão analisando em 1994, toda a literatura relevante sobre o assunto (VELDHUZEN, SHERMAN, 1994).

1.1.4. Métodos diagnósticos

1.1.4.1. Endoscópicos

1.1.4.1.1. Histologia

Biópsias endoscópicas realizadas em antro ou corpo gástrico, ou ambos, são fixadas em formalina, processadas e coradas por Hematoxilina-Eosina, Warthin-Starry, Genta ou Giemsa (LAINE, 1997). Foi demonstrado que esse método é sensível (90%) e específico (90%) para a identificação do *H. pylori*, mas depende da disponibilidade de um patologista experiente. É rotina para o endoscopista obter biópsias da mucosa durante o procedimento endoscópico. A histologia também proporciona informações relativas à intensidade da gastrite e à possível presença de alterações pré-malignas, tais como metaplasia intestinal ou displasia da mucosa gástrica (CHRISTENSEN *et al.*, 1992).

1.1.4.1.2. Cultura bacteriana

A cultura bacteriana é outro método baseado em biópsias endoscópicas utilizado para identificação do *H. pylori*. Além de método diagnóstico da bactéria a cultura também tem importante papel no manuseio da infecção através da identificação da sensibilidade das cepas a determinados antibióticos (COHEN & LAINE, 1997).

Após coletadas, as biópsias são colocadas em um meio de transporte Stuart resfriado, em caldo de Brucella ou em solução salina estéril e, em 24 horas, meios seletivos e não seletivos são inoculados. As placas são incubadas usando-se condições microaerófilas (5% de O₂) e hipercápnicas (5%-10% de CO₂) a 37°C por até dez dias. A sensibilidade e especificidade desse exame são 95% e 80%-90%, respectivamente. O *H. pylori* não é fácil de cultivar, e esse método é demorado e de custo elevado. Mesmo em laboratórios exclusivos, observa-se uma incidência considerável (20%) de casos em que o organismo não cresce. Esse método é indicado quando for necessário determinar a sensibilidade da bactéria a antibióticos como, por exemplo, após um curso fracassado de terapia de erradicação (DELTENRE *et al.*, 1989).

1.1.4.1.3. Teste rápido da urease

Esse teste, também através de biópsias endoscópicas, depende da potente enzima urease produzida pelo *H. pylori* que hidroliza a uréia em amônia (YOUNG, SHARMA, CUTLER, 1996).

Para o diagnóstico do *H. pylori* na prática clínica, o teste de urease é um teste barato, rápido e fácil de realizar, porém sem maiores dados sobre a intensidade da inflamação (MÉGRAUD, 1997). Este teste apresenta alta especificidade, porém não sensibilidade. Um único fragmento de mucosa gástrica é colhido e colocado no recipiente contendo uréia. O resultado positivo é indicado por mudança no indicador de pH de amarelo para rosa em uma hora. Podem ocorrer resultados falso-positivos devido à presença de outros organismos produtores de urease. Kits “caseiros” para esse exame podem ser feitos com facilidade pelo laboratório local de patologia. Tal exame proporciona

resultado instantâneo que pode então ser comunicado ao médico no momento em que for apresentado o relatório endoscópico (ROGGE, WAGNER, CARRICO, 1996; YOUNG, SHARMA, CUTLER, 1996).

1.1.4.2. Não endoscópicos

1.1.4.2.1. Teste respiratório com uréia marcada

Os testes respiratórios com uréia marcada utilizam radioisótopos C13 (não radioativos) ou C14 (radioativos) e são fáceis de realizar, seguros, altamente sensíveis (95%) e específicos(100%) (GRAHAM, KLEIN, EVANS, 1987; BELL, WEIL, HARRISON, 1987).

O exame envolve a coleta de uma amostra de ar expirado antes e trinta minutos após a ingestão de uma solução contendo uréia marcada. Se o *H. pylori* estiver presente, sua enzima hidrolizará a uréia em CO₂, que é eliminado pela expiração (GRAHAM, KLEIN, EVANS, 1987; BELL, WEIL, HARRISON, 1987).

Resultados falso-negativos podem ocorrer se o exame for feito até uma semana após o uso de IBPs, bismuto ou antibióticos, ou após cirurgia gástrica. O teste respiratório com uréia marcada é o método de escolha para confirmar a erradicação do *H. pylori*; deve ser realizado pelo menos um mês após o final do tratamento. Como os materiais do exame não são radioativos, seu uso não tem contra-indicação e não há limite para o número de testes que podem ser realizados em um mesmo indivíduo (RAJU *et al.*, 1994).

1.1.4.2.2. Sorologia

Esse exame baseia-se na detecção de anticorpos imunoglobulina G(IgG) específicos contra o *H. pylori* em amostras de soro. Estão disponíveis vários kits comerciais de ELISA/IgG para *H. pylori*, particularmente úteis para triagem de pacientes infectados pelo *H. pylori*. Resultados falso-negativos podem ocorrer em crianças, idosos, indivíduos

imunodeprimidos que não desenvolveram reação imunológica contra a infecção (ALEHAMOHAMMAD, 1993). A sorologia tem papel limitado na confirmação da erradicação do *H. pylori*, pois na maioria dos pacientes são necessários de 6 a 12 meses para que o título de IgG caia a 50%, ou menos dos valores anteriores ao tratamento (PRASAD, 1995). Todos os kits sorológicos devem ser avaliados independentemente da população a ser estudada, por comparação com um painel de soros bem definido, pois os limites de valores dados pelos fabricantes com frequência não são válidos. Os exames de saliva para detecção de IgA não são tão sensíveis, nem tão específicos, quanto os exames sorológicos, e ainda precisam de uma validação mais completa (HIRSCHL *et al.*, 1990; GRAHAM *et al.*, 1996).

1.1.5. Tratamento

1.1.5.1. Indicações

As diretrizes do National Institutes of Health (NIH) em relação às indicações para a erradicação do *H. pylori* continuam válidas; os pacientes com úlceras gastro-duodenais não associadas a anti-inflamatórios, devem receber terapia de erradicação (NIH Consensus Conference, 1994).

Posteriormente, em 1997, o Núcleo Europeu de Estudo do *Helicobacter pylori* (EHPSG) em Maastricht, à qual compareceram gastroenterologistas da maioria dos países europeus, proporcionou maiores orientações sobre regimes e indicações para terapia de erradicação, dividindo-as em fortemente recomendável, que inclui doença ulcerosa péptica, linfoma MALT, gastrite com anormalidades severas, e após ressecção de tumores gástricos precoces; aconselhável, que inclui terapêutica continuada com IBP em Doença de Refluxo Gastro-esofágico, após cirurgia de úlcera péptica, dispepsia não ulcerosa, história familiar de câncer gástrico, terapia com anti-inflamatório, e por vontade do paciente; e incerta, que inclui prevenção do câncer gástrico, indivíduos assintomáticos e doenças extra-intestinais (The European *Helicobacter pylori* Study Group, 1997).

Está claro que as indicações para o tratamento do *H. pylori* estão sendo ampliadas, e as diretrizes endossam a prática atual.

1.1.5.2. Esquemas propostos

Em 1992 foi proposto pelo comitê organizador da Primeira Semana Européia de Gastroenterologia em Atenas, a utilização de três esquemas terapêuticos para a erradicação do *H. pylori*; terapia tripla com bismuto, metronidazol e tetraciclina; terapia tripla com bismuto, metronidazol e amoxicilina e terapia dupla com omeprazol e amoxicilina (LEE, 1993).

Nos Estados Unidos, os esquemas aprovados pelo FDA, incluem terapia tripla com subsalicilato de bismuto, metronidazol e tetraciclina; terapia tripla com lansoprazol, amoxicilina e claritromicina e terapia tripla com omeprazol, amoxicilina e claritromicina (Evaluating clinical studies of antimicrobials in the Division of Anti-Infective Drug Products: Indication # 25 *Helicobacter pylori*).

No Brasil, o Núcleo Brasileiro Para o Estudo do *Helicobacter pylori* recomendou à classe médica brasileira em 1997, dois esquemas terapêuticos iniciais para a erradicação da bactéria; terapia tripla com omeprazol, claritromicina e amoxicilina e uma opção mais econômica com subcitrato de bismuto, tetraciclina e furazolidona. Além disso, o Núcleo sugeriu 3 esquemas para retratamento, utilizando inibidor de bomba protônica, sal de bismuto e antibióticos com amoxicilina, claritromicina, azitromicina, tetraciclina e quimioterápicos como metronidazol, tinidazol em combinações variadas (CARVALHAES, 1997).

1.1.5.3. Falência do tratamento

A principal razão do fracasso de terapias utilizadas para erradicação do *H. pylori* deve-se à resistência observada a alguns antimicrobianos utilizados (MÉGRAUD, 1997).

O estudo da resistência do *H. pylori* aos antimicrobianos mais utilizados em cada região é, portanto, de fundamental importância na previsão da probabilidade de sucesso do tratamento com um determinado agente antimicrobiano (MÉGRAUD, 1997).

Para isso, a concentração inibitória mínima (CIM) é a ferramenta mais utilizada, sendo definida como a menor concentração de antibiótico capaz de inibir o crescimento da bactéria.

A concentração bactericida mínima (CBM), isto é, a menor concentração de antibiótico capaz de eliminar mais de 99% das bactérias, também pode ser utilizada em algumas situações (MÉGRAUD, 1997).

Duas definições de resistência foram propostas pela Organização Mundial de Saúde em 1961. A primeira é uma definição essencialmente bacteriológica onde uma linhagem é considerada resistente quando a concentração de antimicrobiano tolerada é significativamente maior que a concentração inibitória de crescimento de outras linhagens da mesma espécie. Esta definição baseia-se no fato de linhagens da mesma espécie não serem homogêneas, pois algumas podem possuir mecanismos especiais de resistência. Esta ocorrência é comum em alguns casos, por exemplo, em uma distribuição bimodal de CIM ou em uma distribuição multimodal, quando muitos mecanismos de resistência coexistem (MÉGRAUD, 1997).

A Segunda definição é uma definição farmacológica onde uma linhagem é considerada resistente quando a concentração de antimicrobiano tolerada é maior que a concentração encontrada *in vivo* no local da infecção. Em termos práticos, porém, como a concentração no local da infecção geralmente não é conhecida, é considerada a concentração do antimicrobiano encontrada no soro. Como última consideração, pode-se também utilizar uma definição clínica para resistência, onde uma linhagem será considerada resistente quando a probabilidade de erradicação frente a um determinado tratamento for relativamente baixa (MÉGRAUD, 1997).

1.1.6. Testes de suscetibilidade a antimicrobianos

Os testes de suscetibilidade podem ser classificados em testes de difusão e testes de diluição.

Atualmente não há um teste de referência proposto para analisar a suscetibilidade do *H. pylori* frente a antibióticos. Entretanto existem discussões sugerindo o teste de diluição em ágar como padrão (MÉGRAUD, 1997).

1.1.6.1. Teste de diluição em ágar

Este é um teste que consome tempo, porém é geralmente utilizado como método de referência para a avaliação da precisão de outros métodos. O método consiste na preparação de placas com meio adequado, acrescidas de agentes antimicrobianos em diluições sucessivas, possuindo cada placa a metade da concentração da placa anterior. As linhagens são inoculadas em todas as placas através de um replicador, podendo se analisar as suscetibilidades de várias colônias simultaneamente. Existe a necessidade de uma padronização de algumas condições como meio apropriado, a suplementação, o tamanho do inóculo, a atmosfera de incubação e o tempo apropriado para a leitura das placas (MÉGRAUD, 1997).

1.1.6.2. Teste de diluição em meio líquido

A princípio, este método não é usado devido à dificuldade de crescimento do *H. pylori* em meio líquido (MÉGRAUD, 1997).

1.1.6.3. Teste de difusão em disco

Este é um método mais fácil e de menor custo para se testar a suscetibilidade a antimicrobianos em geral. Discos impregnados com quantidade definidas de agentes antimicrobianos são colocados na superfície do meio sólido apropriado, já com a bactéria homogeneamente inoculada. O agente antimicrobiano se difunde no meio e um gradiente de concentração é estabelecido. A bactéria irá crescer a uma certa distância do disco a qual é inversamente proporcional ao CIM da linhagem. Esta técnica ainda necessita de uma padronização quanto à correlação entre os CIMs e o diâmetro dos discos, utilizando um grupo de linhagens relevantes. Devido a isto, esta técnica tem sido evitada por diversos pesquisadores (MÉGRAUD, 1997).

1.1.6.4. Teste epsilométrico (E- test)

O teste epsilométrico é uma tentativa de obter o CIM da linhagem diretamente pela observação do método de difusão. Uma fita de plástico contendo um gradiente de agente antimicrobiano de interesse em um lado e uma escala de outro é colocado sobre uma placa com a bactéria homogeneamente inoculada, da mesma maneira que no teste de difusão em disco. A leitura é realizada ao ponto da elipse onde o crescimento da bactéria foi inicialmente inibido. Estudos realizados para se comparar a precisão deste método em relação ao método de diluição em ágar tem demonstrado resultados significativos (MÉGRAUD, 1997).

1.1.7. Mecanismos de ação dos antimicrobianos

Os agentes antimicrobianos podem agir em diferentes alvos nos microrganismos.

A parede celular é um envelope encontrado exclusivamente em bactérias, portanto é um importante alvo para a classe de antibióticos betalactâmicos. Destes, a amoxicilina tem sido utilizada quase que exclusivamente para se tratar infecções por *H. pylori*, possivelmente devido ao seu CIM atraente (CIM90 em torno de 0,06 mg/ml). O mecanismo de ação dos betalactâmicos é bem conhecido. Eles possuem a habilidade de se ligar irreversivelmente com a transpeptidase, uma das 15 enzimas envolvidas na síntese da parede celular. Isto é possível devido à analogia estrutural entre o anel betalactâmico e o dipeptídeo D alanil – D alanina normalmente transportado e incorporado ao peptideoglicano, o principal componente da parede celular. Em consequência, ocorre a formação de parede celular defeituosa com surgimento de formas anormais de bactéria, levando finalmente à morte celular (MÉGRAUD, 1997).

O ribossomo é também um importante alvo de antibióticos atuando ainda de forma seletiva para ribossomos de procariotos. Drogas que atuam no ribossomo devem penetrar na célula bacteriana para serem efetivas. Elas normalmente possuem uma região hidrofóbica que promove a entrada por difusão através da membrana lipídica. Este não é o caso dos aminoglicosídeos, que são altamente polares e requerem lesão na membrana como pré-requisito para sua penetração. Uma vez nas células, os grupos catiônicos e os anéis

destes compostos promovem uma interação com o RNA ribossômico. A ligação ao ribossomo influencia a flexibilidade conformacional, bloqueando a síntese proteica pela inibição da elongação da cadeia polipeptídica emergente. Atualmente, os únicos antibióticos utilizados contra o *H. pylori* que agem em ribossomos são certos macrolídeos com CIMs baixos, como claritromicina e tetraciclina (MÉGRAUD, 1997).

Um outro importante alvo dos antibióticos é a síntese de DNA. Fluoroquinolonas inibem seletivamente a DNA girase bacteriana, uma enzima necessária na modificação estrutural do DNA para a replicação. Fluoroquinolonas tem sido utilizadas no tratamento do *H. pylori*, porém em casos mais severos. O mecanismo de atuação dos nitroimidazóis e nitrofuranos não está muito bem definido (MÉGRAUD, 1997).

1.1.8. Mecanismos de resistência

Ao nível bioquímico existem quatro mecanismos principais de resistência a agentes microbianos (Tabela 1)

Tabela 1: Mecanismos de resistência.

Mecanismo	Antibióticos afetados
Perda da penetração	Pode afetar todos antibióticos
Modificação do alvo	Macrolídeos
	Fluoroquinolonas
	Aminoglicosídeos
	Betalactâmicos
	Rifampicinas
Inativação enzimática do antibiótico	Tetraciclina
	Betalactâmicos
	Aminoglicosídeos
Efluxo ativo da droga	Tetraciclina

A resistência a uma certa classe de antibióticos pode envolver diferentes mecanismos. Por exemplo, a perda da penetração da droga parece ocorrer com todos os compostos, porém, o nível de resistência é normalmente baixo e pode ser superado pelo aumento da dosagem. Inativação enzimática dos antibióticos ocorrem principalmente com os betalactâmicos e aminoglicosídeos. Por exemplo, certas bactérias podem produzir enzimas extra celulares que são capazes de hidrolizar o anel betalactâmico de diferentes compostos antes da molécula penetrar na célula bacteriana. O principal mecanismo de resistência do *H. pylori* a macrolídeos e fluoroquinolonas é a modificação do alvo e será discutidas posteriormente (MÉGRAUD, 1997).

Resistência a antimicrobianos pode ocorrer com toda as linhagens de uma determinada espécie e é conhecida como resistência natural ou intrínseca. Neste caso, o suporte genético da resistência é sempre cromossômico e o composto nunca deve ser utilizado para o tratamento da bactéria em particular. Entretanto, espécies bacterianas que são normalmente suscetíveis podem se tornar resistentes a um determinado antibiótico. Este mecanismo é conhecido como resistência adquirida e pode acontecer por dois mecanismos genéticos diferentes: mutação nos genes cromossômicos ou aquisição de DNA exógeno principalmente plasmídios. Com relação ao *H. pylori*, o mecanismo genético essencial parece ser o da mutação cromossômica. Mutações pontuais tem sido encontradas para resistência a macrolídeos e fluoroquinolonas, enquanto plasmídios apesar da sua presença na maior parte das linhagens de *H. pylori*, aparentemente não estão envolvidos. Entretanto, devido à possibilidade de transformação do *H. pylori*, a possibilidade de obtenção de DNA exógeno e, portanto, de genes mutados pode ocorrer (MÉGRAUD, 1997).

1.1.8.1. Resistência a macrolídeos

Entre os macrolídeos, a claritromicina é o mais amplamente utilizado devido ao seu baixo CIM contra *H. pylori* e às suas propriedades farmacocinéticas. Esta alta potência é explicada pelo aumento das propriedades hidrofóbicas do fármaco em relação aos outros macrolídeos (GOLDMAN *et al.*, 1994). A roxitromicina, azitromicina, diritromicina, espiramicina e eritromicina têm sido utilizadas também em alguns ensaios.

A frequência de resistência aos macrolídeos apresenta variação entre diferentes regiões e parece haver uma relação quanto a sua utilização no passado, principalmente no tratamento de infecções do trato respiratório.

Os macrolídeos atuam através da ligação com o ribossomo. Entretanto, não existe evidência da função das proteínas ribossômicas no mecanismo de resistência em isolados clínicos. Dados recentes sugerem que uma mutação pontual no gene do RNA 23 s é realmente o componente mais significativo de resistência a macrolídeos (WEISBLUM, 1995).

1.1.8.2. Resistência aos Nitroimidazóis

Existem essencialmente dois compostos nitroimidazóis usados no tratamento de *H. pylori*: o metronidazol e o tinidazol. Uma diferença significativa tem sido encontrada nas taxas de resistência aos nitroimidazóis nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. As diferenças devem estar relacionadas ao seu uso generalizado. Nos países desenvolvidos, a taxa de resistência varia de 10 a 50% como apresentado num estudo europeu em 1991 (GLUPCZYNSKI, 1991). A causa dessa resistência deve estar relacionada a utilização destes compostos para o tratamento de infecções urogenitais e, de fato, linhagens isoladas de mulheres apresentam maior resistência que aquelas isoladas de homens. Os países em desenvolvimento estão localizados principalmente na região tropical onde estas drogas são normalmente utilizadas no tratamento de infecções parasitárias. As taxas de resistência encontradas tem sido na ordem de 80 a 90% (GLUPCZYNSKI, 1991).

Para ser ativo, o metronidazol deve penetrar na bactéria e ter seu produto reduzido do anel de imidazol, danificando assim o DNA e levando a morte celular. O mecanismo exato de resistência ainda não é bem conhecido, entretanto, estudos têm demonstrado que a resistência ao metronidazol "in vivo" pode desaparecer quando as linhagens resistentes são incubadas em anaerobiose por algumas horas antes do crescimento. A ativação de uma via metabólica de anaerobiose que não funciona bem em condições de microaerofilia pode ser a causa, e explicaria a aparente instabilidade da resistência (CEDERBRANT *et al.*, 1992; SMITH & EDWARDS, 1995; VAN ZWET *et al.*, 1995).

1.1.8.3. Resistência a fluoroquinolonas

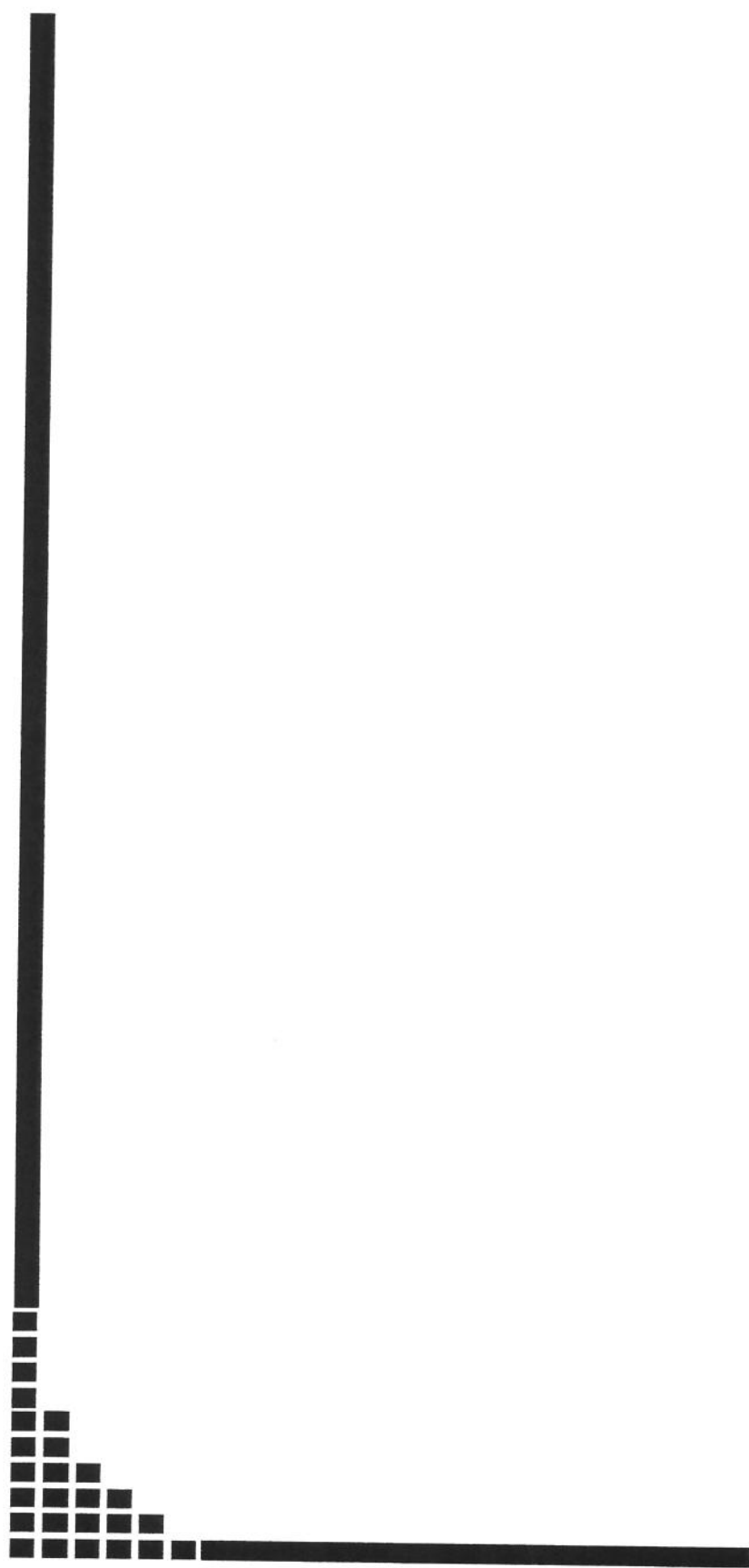
As fluoroquinolonas tem sido usadas, principalmente, no tratamento de infecções severas em hospitais e não na comunidade, como no caso dos macrolídeos. Devido a isso, a taxa de seleção de mutantes resistentes parece ser mais baixa que para o metronidazol ou qualquer outro macrolídeo (HAAS *et al.*, 1990). As fluoroquinolonas inibem a subunidade A da enzima DNA girase. Esta enzima é um tetrâmero que consiste de duas subunidades A e B codificadas pelos genes *gyrA* e *gyrB*, respectivamente. A principal função desta enzima é "relaxar" o DNA para permitir a replicação (MÉGRAUD, 1997). Quando fluoroquinolonas foram utilizadas como único agente antimicrobiano contra *H. pylori* uma alta taxa de resistência secundária foi observada (CEDERBRANT *et al.*, 1993).

Resistência à tetraciclina foi detectada em uma linhagem de *H. pylori* isolada de um paciente na Austrália que recebeu uma terapia tripla convencional e não foi curado. Nada é conhecido a respeito do mecanismo de resistência a este agente (MIDOLO, 1996).

Resistência à amoxicilina, um composto de grande interesse não foi formalmente descrito. Algumas linhagens com CIM mais alto que o usual foram encontradas algumas vezes. O mecanismo não foi muito bem estudado, mas pode corresponder a uma diminuição da permeabilidade ou a uma alteração nas proteínas da ligação da pencilina (MÉGRAUD, 1997).

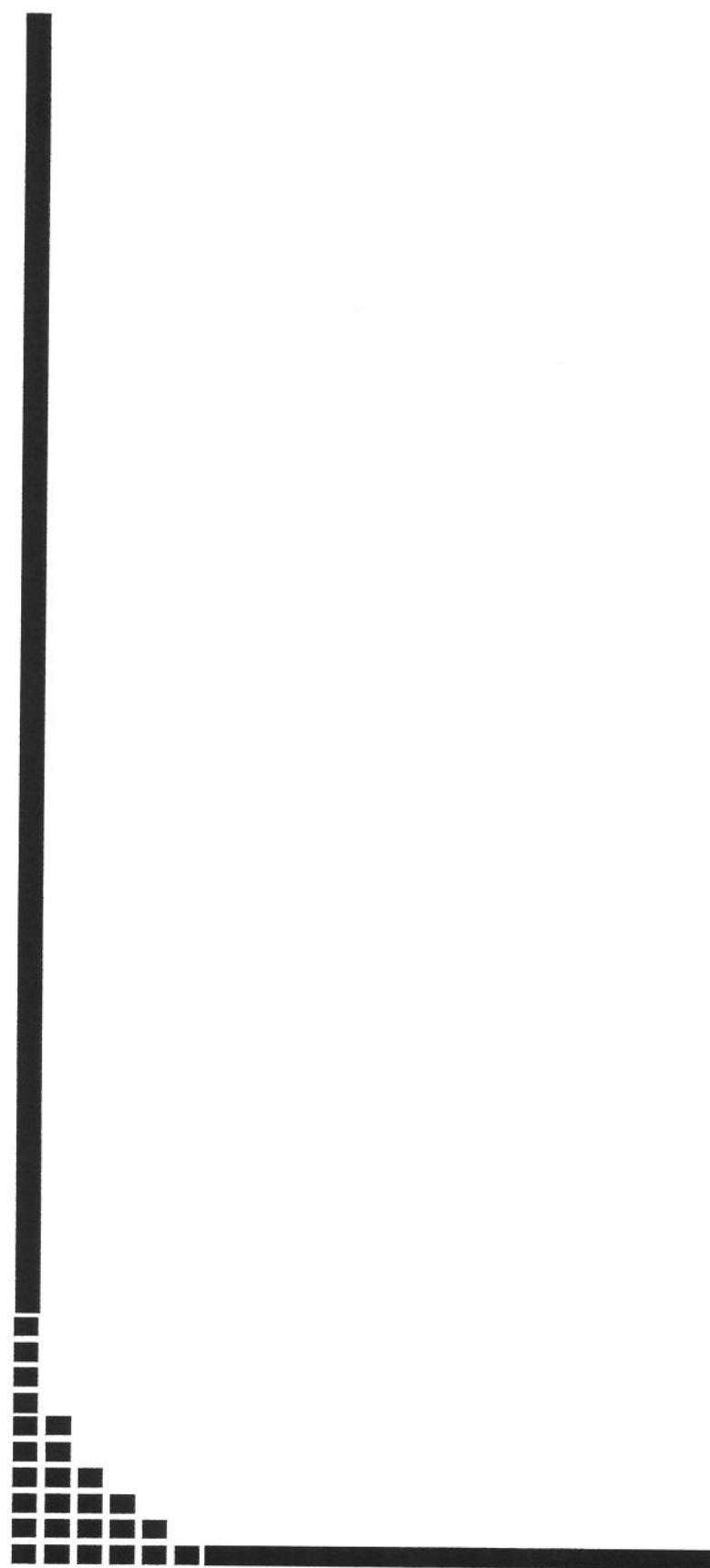
A principal razão da baixa eficácia de erradicação do *H. pylori* obtida por algumas terapêuticas utilizadas deve-se, principalmente, a resistência da bactéria observada a alguns dos antibióticos utilizados (MÉGRAUD, 1997). O estudo da resistência do *H. pylori* aos antibióticos mais utilizados em cada região é, portanto, de fundamental importância na previsão da probabilidade de sucesso do tratamento com determinado agente antimicrobiano. Estudos para avaliação da eficácia e tolerância terapêutica foram recomendados pelo Núcleo Brasileiro para o Estudo do *H. pylori*.

A construção e manutenção de um banco de linhagens de *H. pylori* irá permitir o acompanhamento da evolução da resistência bacteriana dentro da população no decorrer do tempo, bem como avaliar os mecanismos de patogenicidade presentes, inclusive ao nível molecular.



2. OBJETIVOS

Avaliar a resistência primária das linhagens de *H. pylori* isoladas de pacientes da região de Bragança Paulista, quanto aos antimicrobianos tetraciclina, metronidazol, amoxicilina, claritromicina e furazolidona geralmente utilizados no tratamento da infecção.



3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. PACIENTES

Foram selecionados 90 pacientes, 48 homens e 42 mulheres com idade de 18 a 78 anos com média de $44 \pm 16,7$, apresentando queixas dispépticas acompanhados no Ambulatório Geral de Gastroenterologia da Universidade São Francisco.

Os noventa pacientes escolhidos foram submetidos à endoscopia digestiva alta na Unidade Integrada de Farmacologia e Gastroenterologia (UNIFAG) com videoendoscópio Pentax EC-380 LP. Vinte e um pacientes obtiveram diagnóstico endoscópico de doença ulcerosa, quatorze de esofagite péptica, e sessenta e cinco de gastrite e/ou duodenite.

As biópsias foram colhidas durante a endoscopia digestiva alta. Foram obtidos fragmentos de Antro para teste rápido de urease colhido; de Corpo e Antro para exame histológico com coloração de Hematoxilina-eosina e de Corpo e Antro para cultura.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade São Francisco.

3.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO ESTUDO

1. Idade maior que 18 anos.
2. Ausência de antecedente de tratamento para erradicação do *Helicobacter pylori*.
3. Ausência de tratamento com inibidores da secreção ácida, ou bloqueadores da bomba de prótons nas últimas 4 semanas.
4. Ausência de tratamento com antimicrobianos por qualquer motivo há pelo menos 30 dias.

Tabela 2: Pacientes

PACIENTE	IDADE	SEXO	ENDOSCOPIA
AO	54	M	ÚLCERA
SSG	50	F	GASTRITE
AMVC	60	F	GASTRITE
JET	53	M	GASTRITE
MAPF	23	F	GASTRITE
JBS	58	M	GASTRITE
MAO	63	F	GASTRITE
AG	69	F	GASTRITE
MFR	41	F	ÚLCERA
JCF	42	M	GASTRITE
JBL	40	M	GASTRITE
CSB	78	M	ESOFAGITE
AFS	75	M	ÚLCERA
AA	18	M	ESOFAGITE
OPT	81	M	ESOFAGITE
LUM	31	M	NORMAL
ASB	47	F	GASTRITE
BS	67	F	ÚLCERA
RR	29	M	GASTRITE
MWA	24	M	GASTRITE
JCC	31	M	GASTRITE
ED	29	M	GASTRITE
DSB	24	F	NORMAL
AMC	75	M	ESOFAGITE
RLM	84	F	ÚLCERA
SG	20	M	NORMAL
MCS	24	F	NORMAL
MLE	51	F	GASTRITE
SAS	28	M	NORMAL
ASGM	36	M	GASTRITE
DA	70	M	ESOFAGITE
ASGM	36	M	GASTRITE
CVS	23	M	NORMAL

NQ	29	F	GASTRITE
RRS	36	F	GASTRITE
LSM	29	F	GASTRITE
EAC	62	M	ESOFAGITE
CM	76	F	NORMAL
AJ	46	F	ÚLCERA
MCS	24	F	NORMAL
LRS	21	F	ESOFAGITE
JBO	48	F	NORMAL
PBC	27	M	GASTRITE
AMO	45	F	ÚLCERA
MRS	25	M	GASTRITE
MACS	32	F	GASTRITE
LNR	61	G	ÚLCERA
EAS	41	F	NORMAL
IP	52	F	NORMAL
BP	49	M	ÚLCERA
RF	79	M	DUODENITE
ROS	63	F	GASTRITE
JSB	55	M	ÚLCERA
PSS	30	M	ÚLCERA
RA	33	M	ÚLCERA
OOB	45	M	GASTRITE
RCG	24	F	GASTRITE
JCSS	56	F	GASTRITE
DJV	44	M	ÚLCERA
RMS	25	F	NORMAL
MERS	39	F	GASTRITE
MID	27	F	GASTRITE
JLS	27	M	NORMAL
DC	49	M	ESOFAGITE
MAR	43	M	GASTRITE
GAR	43	M	GASTRITE
MNM	37	F	GASTRITE
MACT	54	F	GASTRITE
JFR	24	M	ESOFAGITE

MAP	26	M	ÚLCERA
MSB	40	F	ESOFAITE
JSO	66	F	ÚLCERA
IRS	35	F	GASTRITE
ANR	35	M	GASTRITE
LAR	50	F	GASTRITE
LD	67	M	HÉRNIA HIATAL
AA	32	M	GASTRITE
JG	55	M	DUODENITE
MLA	46	F	GASTRITE
CAP	43	F	GASTRITE
FZ	51	M	ÚLCERA
ZCB	56	F	ÚLCERA
AB	60	M	ÚLCERA
AR	49	M	ÚLCERA
EAC	31	F	GASTRITE
AL	57	M	GASTRITE
EBSR	51	F	GASTRITE
MAS	32	F	NORMAL
MMB	53	F	ÚLCERA

3.3. CULTURA BACTERIANA

Os fragmentos para cultura, logo após a coleta foram imediatamente encaminhados para nosso laboratório de microbiologia em meio de transporte (meio líquido BHI com 10% de glicerol). As biópsias foram homogeneizadas mecanicamente por aproximadamente 1 minuto. O homogeneizado foi distribuído em placas de Petri com meio seletivo BHM ágar contendo 10% de sangue de carneiro 6mg/dL de vancomicina, 20 mg/dL de ácido nalidíxico, 2 mg/dL de anfotericina B, 40 mg/dL de cloreto de rifenil-tetrazolium (TTC) (QUEIROZ *et al.*, 1997).

As placas são incubadas em jarras de anaerobiose (anaerojar AG25 – OXOID) com sachês CampyGen (OXOID) que criam uma atmosfera microaerofílica (5-6% O₂, 8-10% CO₂,80-85% N₂) com uma umidade relativa de pelo menos 95%. As placas são

inspecionadas a partir do 3º dia de incubação. As linhagens identificadas com *H. pylori* positivo foram armazenadas em meio de estoque (meio Brucella líquido – OXOID com 25% de glicerol) a -70° C(GOODWIN, 1997).

3.4. IDENTIFICAÇÃO

As colônias obtidas em cultura que apresentaram morfologia característica para *H. pylori* foram analisadas quanto à produção de urease, oxidase e catalase.

Para o teste de urease, foi feito um inóculo do crescimento em 3ml de meio de uréia (uréia 2%, vermelho fenol 0,05%, azida sódica 0,002%) incubado a 37°C.

A atividade da catalase foi analisada pela transferência de colônias para uma lâmina de vidro, acrescida da adição de H₂O₂ 3%(GOODWIN, 1997).

A reação de oxidase foi avaliada pela transferência de colônias a uma papel de filtro e posteriormente submetidas ao reagente de oxidase (dihidroclorito de N, N, N',N', tetrametil-p-fenilediamina 1%).

A morfologia característica de *H. pylori* foi observada ao microscópio óptico após coloração de Gram.

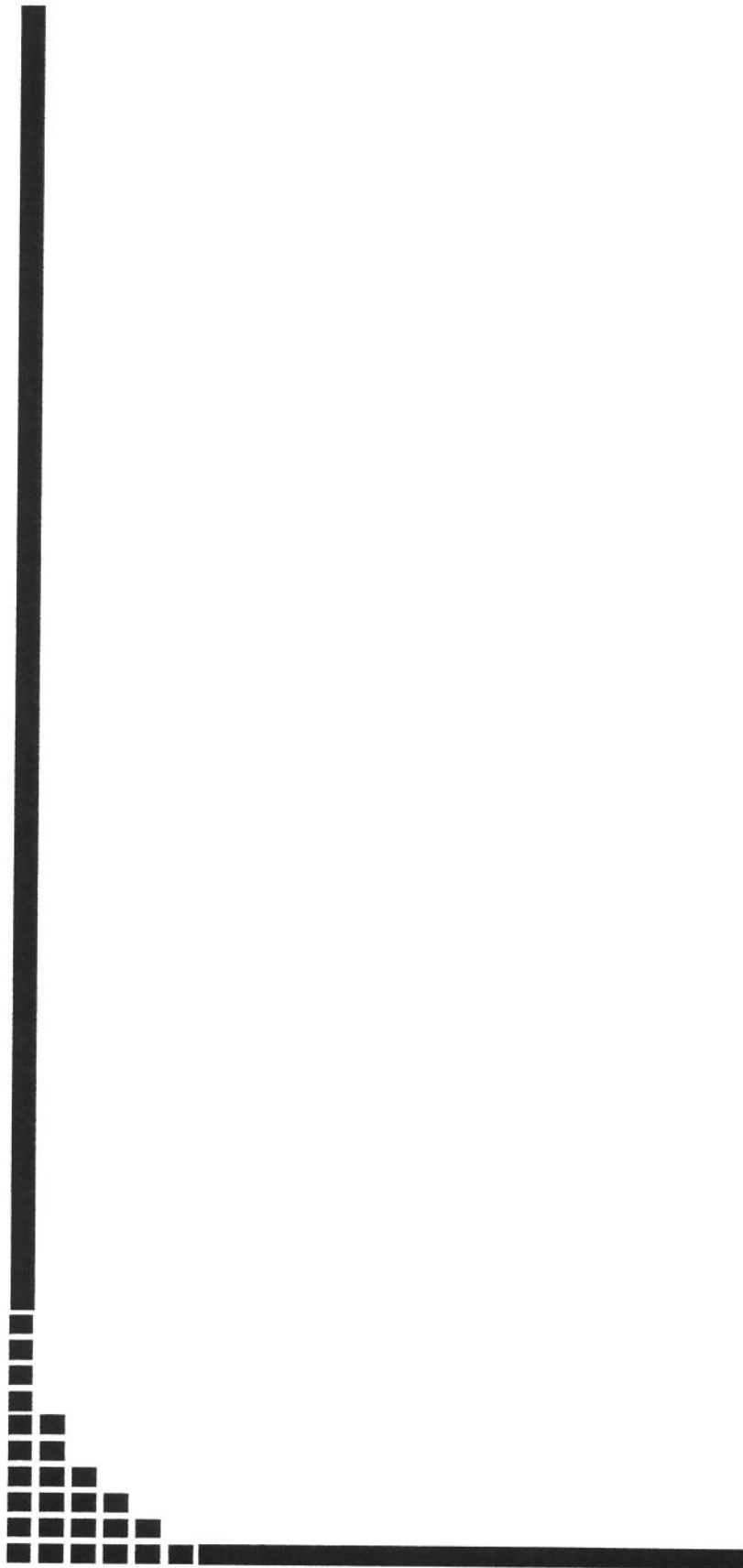
As linhagens identificadas como *Helicobacter pylori* foram conservadas em meio contendo 75% de Brucella líquida e 25% de glicerol e foram armazenadas a -70°C. Assim foi obtido o banco de linhagens.

3.5. TESTE DE SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

As culturas armazenadas de *H. pylori* foram submetidas ao teste de suscetibilidade a antimicrobiano de diluição em ágar. Inicialmente iríamos utilizar também o teste epsilométrico, mas devido a dificuldades de elaboração e variabilidade de resultados do método, optamos por um único teste de suscetibilidade.

Para o teste de diluição em ágar, placas de meio ágar sangue são preparadas com diversas concentrações dos antimicrobianos (metronidazol, claritromicina, amoxicilina, furazolidona, ou tetraciclina), possuindo cada placa a metade da concentração da placa anterior. As amostras foram inoculadas a partir do estoque em placas com meio ágar sangue. O crescimento a partir do 3º dia foi coletado e a densidade corrigida para aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia (CFU)/ ml através da comparação com o padrão 0,5 da escala de McFarland e análise da viabilidade por plaqueamento. Cerca de 1µl desta suspensão foi então inoculado nas placas do ensaio através de uma pipeta automática ou de um replicador (Boeckel) e incubadas em atmosfera de microaerofilia durante no mínimo 3 dias. A linhagem foi considerada resistente até a concentração da placa a partir da qual o crescimento da bactéria foi inicialmente inibido (HAAS *et al.*, 1990).

As linhagens isoladas consideradas resistentes quando a CIM foi maior que 8µg/ml para o metronidazol e para a amoxicilina, maior que 2 µg/ml para a tetraciclina, claritromicina e furazolidona.



4. RESULTADOS

Dos noventa pacientes estudados, foi encontrada resistência ao metronidazol em 38 pacientes (42%), à amoxicilina em 26 indivíduos (29%), à claritromicina em 6 pacientes (7%), à tetraciclina também em 6 pacientes (7%), e à furazolidona em 4 indivíduos (4%). Treze colônias demonstraram resistência a 2 antibióticos e oito colônias foram resistentes a 3 antimicrobianos. Nenhuma colônia apresentou resistência a quatro ou cinco antibióticos.

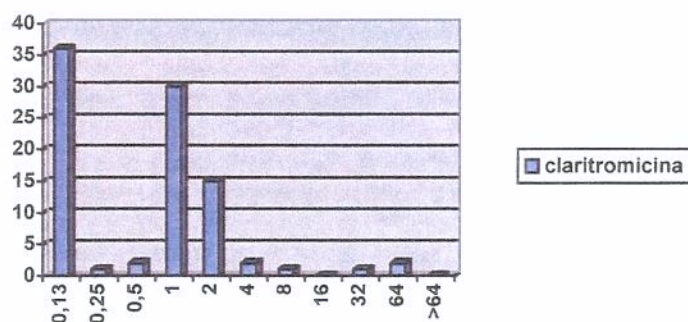


Figura 1: Gráfico de resistência à claritromicina

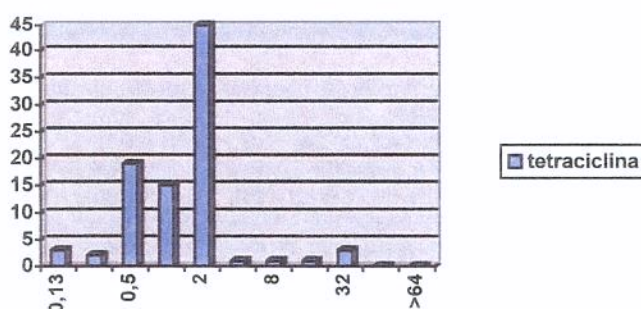


Figura 2: Gráfico de resistência à tetraciclina e metronidazol

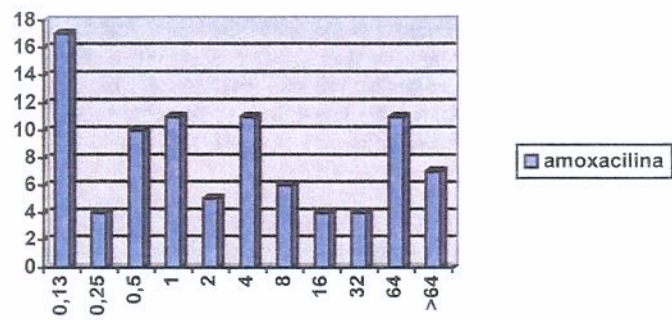


Figura 3: Gráfico de resistência à amoxicilina

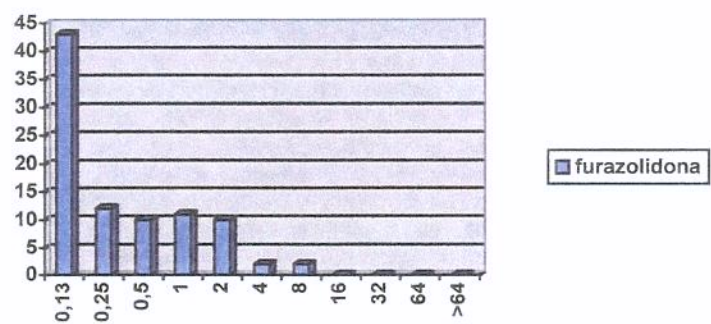


Figura 4: Gráfico de resistência à furazolidona



5. DISCUSSÃO

A infecção pelo *H. pylori* é uma doença transmissível que induz a uma lesão progressiva do estômago e representa uma problema de saúde pública visto que mais da metade da população mundial é infectada, e, uma vez diagnosticada a infecção não deve ser ignorada (GRAHAM, 1997).

O sucesso da terapia de erradicação da infecção requer o uso de 2 ou mais drogas e a procura por um melhor tratamento combinando várias drogas tem resultado em um melhor índice de erradicação (PENSTON & MCCOLL, 1997).

A seleção de uma terapia adequada para a erradicação do *H. pylori* deve considerar seus aspectos quanto a simplicidade do tratamento, efeitos colaterais, custo da medicação e presença de linhagens resistentes (GO & VAKIL, 1999). Em relação à presença de linhagens resistentes, cultura e testes de sensibilidade devem ser realizados regularmente para avaliar a resistência do *H. pylori* ou pelo menos capacitar o profissional médico a escolher a terapia de acordo com os padrões de resistência em determinadas áreas geográficas (HARTZEN *ET AL.*, 1997). A não aderência ao tratamento implica no possível surgimento de resistência, onde o antimicrobiano diminui sua concentração no local da infecção, em um modelo semelhante ao observado na resistência *in vitro*.

A infecção pelo *H. pylori* é muito mais comum em países de terceiro mundo onde mais de 85 % da população de 60 anos de idade é infectada. Isto explica a alta prevalência de úlcera péptica e câncer gástrico nesses países (CAVE, 1997). Em 1997 o Núcleo Brasileiro para o estudo do *Helicobacter Pylori* sugeriu dois esquemas de tratamento inicial para a infecção em pacientes do referido país: a associação de inibidor de bomba de prótons, amoxicilina e claritromicina ou a clássica terapia tripla com subcitrato de bismuto, tetraciclina e furazolidona (CARVALHAES *et al.*, 1997). Entretanto dados sobre a resistência e suscetibilidade e resistência a antimicrobianos no Brasil não foram considerados. Os dados apresentados nesse trabalho tem como objetivo avaliar a suscetibilidade do *Helicobacter pylori* a antibióticos comumente usados em esquemas de erradicação no Brasil.

Em recente revisão para o tratamento do *Helicobacter pylori*, a prevalência local de resistência à claritromicina e ao metronidazol foi eleita como fator determinante para a indicação do esquema terapêutico. A resistência à claritromicina ainda apresenta valores menores que 10% na maioria das populações mundiais, dados que fazem com que o tratamento de primeira escolha seja baseado na terapia tripla com inibidor de bomba de prótons/ citrato de bismuto ranitidina com amoxicilina e claritromicina ou terapia dupla com citrato de bismuto ranitidina com claritromicina. O tratamento de segunda escolha baseia-se no uso de terapia quádrupla com inibidor de bomba de prótons com bismuto, tetraciclina e metronidazol. Já o tratamento de terceira escolha depende da avaliação da resistência antimicrobiana (BOER & TYTGAT, 2000).

Existem várias dificuldades descritas para testar suscetibilidade do *H. pylori*, incluindo coleta de amostra e transporte e a qualidade do meio de cultura. Atualmente, não há nenhum método padrão ouro para testar a suscetibilidade do *H. pylori*. Os métodos mais comuns envolvem diluição (agar) e difusão (em disco ou E-test). O método de diluição é mais fácil de ser reproduzido e é usado como referência para a avaliação da acurácia de outros métodos (MÉGRAUD, 1997; GODDARD & LOGAN, 1996).

Os dados disponíveis sobre a resistência ao metronidazol em brasileiros foram baseados no E test (QUEIROZ, COIMBRA, MENDES, 1993; MENDONÇA *ET AL.*, 1999), e nossos resultados confirmaram os relatos prévios de alta prevalência de resistência ao mesmo.

A porcentagem de resistência a claritromicina (7%) observada em linhagens brasileiras é baixa se comparada aos resultados obtidos na Irlanda, Alemanha, Japão, Espanha e Portugal (XIAI, 1996); SIEHOFF, 1997; GOTOH, 1997; BARTOLOMÉ, 1998; ROSÁRIO, 1998), mas é maior que os índices obtidos no Canadá e Noruega (LOO *et al.*, 1997; DEBTS- OSSEMKOPP *et al.*, 1999). A resistência adquirida à claritromicina é uma séria impicção clínica (HUANG & HUNT, 1993; HOUBEN *ET AL.*, 1999; GRAHAM *et al.*, 1996; DORE *et al.*, 2000). O mecanismo de resistência à claritromicina leva à perda completa de qualquer efeito anti- *H. pylori*, levando-nos à obrigatoriedade do uso de outros esquemas terapêuticos.

A furazolidona tem sido recentemente usada em substituição ao metronidazol devido a alta resistência ao mesmo (MAGALHÃES *et al.*, 1998; XIAO *et al.*, 1999; LIU *et al.*, 1999). Resistência à furazolidona não é descrita. Em nosso estudo, a resistência a furazolidona foi baixa (4%) assim como a resistência à tetraciclina (7%).

Até recentemente, a resistência à amoxicilina era considerada ausente ou muito rara (MÉGRAUD, 1998; VAN ZWET *ET AL.*, 1998). Dore e colaboradores descreveram uma porcentagem de 31% em pacientes do sul da Itália. Também encontramos uma inesperada proporção de pacientes resistentes a este antibiótico (29%).

Apesar de não haver informação sobre o uso de drogas antimicrobianas pela população geral brasileira, nossos resultados da resistência do *H pylori* a furazolidona, metronidazol, tetraciclina e amoxicilina podem ser parcialmente explicados pela alta prevalência da infecção pelo *H pylori* na nossa população (ECCLISSATO *ET AL.*, 1999) e pelo fato destes antibióticos serem largamente utilizados para infecções parasitárias do trato gastro intestinal em infecções do trato respiratório, levando então a um aumento na possibilidade de resistência do *H pylori* a estas drogas.

Nossos resultados sustentam a necessidade da realização de culturas e teste de suscetibilidade para definição de padrões de resistência do *H pylori* em determinadas áreas geográficas antes do uso generalizado de padrões de erradicação. Também sugerem a possibilidade de resistência a antibióticos como a tetraciclina e amoxicilina em áreas onde há alta prevalência da infecção pelo *H pylori*.



6. SUMMARY

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

Helicobacter pylori infection is associated with a wide range of digestive diseases and is very prevalent in developing countries, although few data exist on the susceptibility of *H. pylori* to antimicrobials commonly used in eradication schedules in these countries. The aim of this study was to evaluate the resistance of *h. pylori* to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, tetracyclin, and furazolidone in dyspeptic Brazilian patients.

Ninety consecutive *H. pylori*-positive patients was enrolled. Resistance was evaluated by an agar dilution test.

Resistance to metronidazole was detected in 38 patients (42%); to amoxicillin in 26 individuals (29%); to clarithromycin in 6 patients (7%); to tetracycline in 6 patients (7%); and to furazolidone in 4 individuals (4%). Thirteen strains were resistant to two agents, and eight strains were resistant to three antimicrobials.

These results confirm the need for culture and susceptibility testing to define *H. pylori* resistance patterns in particular geographical areas before the general use of an eradication schedule. They also suggest the possibility of resistance to such antimicrobials as amoxicillin or tetracycline in geographical areas with a high prevalence of *H. pylori* and still not fully evaluated for antimicrobial susceptibility.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEMOAHAMMAD, M.M.; FOLEY, T. J.; COHEN, H.- Detection of immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* by a enzyme immuneassay method. J Clin Microbiol 1993;31:2174-2177.
- ATHERTON, J.C.; COA, P.; PEEK, R. M. Jr; TUMMURU, M.K.R.; BLASER, M.J.; COVER, T.L.- Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*, association os specific vacA ttypes with cytotoxin production and peptic ulceration. J Biol Chem 1995;270:17771-17777.
- BARTOLOMÉ, O.L.; VASALLO, A.M.; ARMENGOL. J.A.R.; DE LA GARZA, J.J.P.- Diagnóstico microbiológico de *Helicobacter pylori* y su resistencia a los antimicrobianos. Rev Clin Esp 1998;7:420-423.
- BECHI, P.; DEL, R.; AMOROSI, A.; MARCUZZO, G.; CORTESINI, C.- *Helicobacter pylori* and luminal gastric pH. Relationships in nonulcer dyspepsia. Dig Dis Sci 1992;37:378-384.
- BELL, G.D.; WEIL, J.; HARRISON, G-*. C14 urea-breath analysis, a non-invasive test for *Campylobacter pylori* in the stomach. Lancet 1987;i: 1367- 1368.
- BLANCHARD, T.G.; CZINN, S.J.; NEDRUDU, J.G.; REDLINE, R.W.- *Helicobacter pylori* associated gastritis in SCID mice. Infect Immun 1995;63:1113-1115.
- BLASER, M.J.; PÉREZ-PÉREZ, G.I.,;KLENATHOUS, H.- Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res 1995; 55:2111-2115.
- BLASER, M.J.- *Helicobacter pylori*. Microbiology of a “solw” bacterial infection. Trends microbiol. 1993;255-260.
- CARVALHAES, A.; MAGALHÃES, A.F.N.; CORDEIRO, F.;Terapêutica e epidemiologia da infecção por H. pylori: recomendações do primeiro seminário promovido pelo “ Núcleo Brasileiro para o Estudo do *Helicobacter pylori*”. Gastroenterol Endosc Dig 1997;16:99-100.

- CAVE, R.D.-How is *Helicobacter pylori* is transmitted? Gastroenterology 1997;113:9-14.
- CEDERBRANDT, G.; KAHLMETER, G.; LJUNGH, A.- Proposed mechanism for metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. J Antimicrob Chemother 1992;29:115-120.
- CEDERBRANDT, G.; KALHMETER, G.; LJUNGH, A.- The E test for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. J Antimicrob Chemother 1993;31:65-71.
- CHAN, W.Y.; HUI, P.K.; LEUNG, K.M.; THOMAS, T.M.M.- Modes of *Helicobacter pylori* colonization and gastric epithelial damage. Histopathology 1992;21:521-528.
- CHENG, L.H.; WEBBERLEY, M.; EVANS, M.; HANSON, N.; BROWN, R.- *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric mucosa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.1996;81:421-423.
- CHRISTENSEN, A.H.; GJORUP, T.; HILDEN, J.; FENDER, C.; HENRIKSEN, B.; VYBERG, M.; OSTERGAARD, K.; HANSEN, B.F.- Observer homogeneity in the histologic diagnosis of *Helicobacter pylori*. Latent class analysis, Kappa coefficient, and repeat frequency. Scand J Gastroenterol 1992;27:933-939.
- COHEN, H.; LAINE, L.-Endoscopic methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther 1997;11(Suppl.1):3-9.
- CORREA, P.; HAENZEL W.; CUELLO, C.; Gastric precancerous process in a high risk population: cross-sectional studies. Cancer Res 1990;50:4731-4736.
- COVER, T.L., BLASER, M.J.- *Helicobacter pylori*: A bacterial of gastrite, peptic ulcer disease, and gastric cancer. Am Soc Microbiol News. 1995; 61:21-26.

- CRAANEM, M.E.; DEKKER, W.; BLOK, P.; FERWERDA, J.; TYTGAT, G.N.J.- Intestinal metaplasia and *Helicobacter pylori*: an endoscopic bioptic study of the gastric antrum. Gut 1992;33:16-20.
- CRABTREE, J.E.; SHALCROSS, T.M.; HETALEY, R.V.; WYATT, J.I.- Mucosal tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. Gut 1991;32:1473-1477.
- CULLEN, D.J.E.; COLLINS, B.J.; CHRISTIANSEN, K.J. - When is *H. pylori* infection acquired? Gut:1993;34:1681-1682.
- DEBETS-OSENKOPP, Y.J.; HERSCHEID, G.J.; KUIPERS, E.J.; KUSTERS, J.G.; VANDERBROUCKE-GRAULS, M.J.E.- Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxycillin, tetracycline, and trovafloxacin in the Netherlands. JAC 1999;43:511-515.
- DELTENRE, M.; GLUPCZYNSKI, Y.; DE PREZ, C.; NYST, J.F.; BURETTE, A.; LABBÉ, M.; JONAS, C.; DEKOSTER, E.- The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. Scand J Gastroenterol 1989;24(Suppl):19-24.
- DIXON, M.F.; GENTA, R.M.; YARDLEY, J.; CORREA, P.- Classification and grading gastritis. The up-date Sydney System. Am J Surg Pathol 1996;20:1161-1181.
- DORE, M.P.; PIANA, A.; CARTA, M.- Amoxycillin resistance is one reason for failure of amoxycillin-omeprazole treatment of *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther 1998;12:635-49.
- EATON, K.A.; MORGAN, D.R.; KRAKOWA, S.- *Campylobacter pylori* virulence factors in gnotobiotic piglets. Infec Immun 1989;57:1119-1125.
- EATON, K.A.; KRAKOWKA, S.- Avirulent urease-deficient *Helicobacter pylori* colonises gastric epithelial explants ex vivo. Scand J Gastroenterol 1995;30:434-437.

- ECCLISSATO, C.; CARVALHO, A.F.; MENDONÇA, S.; PIOVESANA, H.; PEDRAZZOLI, J.J.- *Helicobacter pylori* infection and reflux esophagitis in Brazil. Gastroenterology 1999;116:A153.
- EL- OMAR, E.; PENMAN, I.; DORRIAN, C.A.; ARDILL, J.E.; MCCOLL, K.E.- Eradicating *Helicobacter pylori* infection lowers gastrin mediated acid secretion by two thirds in patients with duodenal ulcer. Gut 1993;34:1060-1065.
- ERNST, P.B.; JIN, Y.; NAVARRO, J.; REYES, V.E.; CROWE, S.E.- Overview of the immune response to *H. pylori*: basic mechanisms to clinical cure. Lancaster, England:Kluwer Academic, 1994;29:7-10.
- Evaluating clinical studies of antimicrobials in the Division of Anti-Infective Drug Products: Indication #25 *Helicobacter pylori* proposed. <http://www.fda.gov/cder/guidance.htm>
- FABER, K.- Chronic gastritis in relation to achlorhydria and ulcer. Lancet 1927;i:901.
- FANTRY, G.T.; ZGHENG, Q.X.; JAMES, S.P.; Conventional cleaning and disinfection techniques eliminate the risk of endoscopic transmission of *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1995;90:227-232.
- FIGURA, N.- *Helicobacter pylori* exotoxins and gastroduodenal diseases associated with cytotoxic strain infection. Aliment Pharmacol Ther 1996;10(Suppl 1):79-96.
- FORMAN, D.; WEBB, P.; PARSONNET, J.- *Helicobacter pylori* and gastric cancer. Lancet 1994; 343:243-244.
- FORMAN, D.; NEWELL, D.G.; FULLERTON, F.; ET AL.- Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence for a prospective investigation. Br Med J 1991;302:1302-1305.
- FOX, J.G.; OTTO, G.; TAYLOR, N.S.; ROSENBLAD, W.; MURPHY, J.C.- *Helicobacter mustelae*-induced gastritis and elevated gastric pH in the ferret(*Mustelae putorius furi*). Infect Immun 1991;59:1875-1880.

- GENTA, R.M.- Recognizing atrophy: another step toward a classification of gastritis. Am J Surg pathol 1996;20(Suppl.1): 23-30.
- GILL, H.H.; SHANKARAN, K.; DESAI, H.G.- *Helicobacter Pylori* in dental plaque of children and their family members. J Assos Physicians India 1994;42:719-721.
- GLEDHILL, T.; LEICESTER, R.J.; ADDIS, B.; ET AL.- Epidemic hypochlorhydria. Br Med J 1985;290:1383-1386.
- GLUPCZYNSKI, Y.- European Multicentre Study Group on antibiotic susceptibility in 1991 of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992;11:777-781.
- GODDARD, A.F.; LOGAN, R.P.H.- Antimicrobial resistance and *Helicobacter pylori*. J Antimicrob Chemother 1996;37:639-643.
- GOLDMAN, R.C.; ZAKULA, D.; FLAMM, R.; BEYER, J.; CAPOBIANCO, C.- Tight binding of clarithromycin, its 14-(R)-hydroxy metabolite, and erythromycin to *Helicobacter pylori* ribosomes. Anticarb Agents Chemother 1994;38:1496-1500.
- GOODWIN, S.- Helicobacter pylori protocols: Detection of *H. pylori* infection by biopsy urease, histology and culture. Totowa, NJ. Humana Press Inc., 1997.
- GOTOH, A.; KAWAKAMI, Y.; AKAHANE, T.; ET AL.- Susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates against agents commonly administered for eradication therapy and efficacy of chemotherapy. Microbiol Immunol 1997;41:7-12.
- GRAHAM, D.Y.; ADAM, E.; REDDY, G.T.; ET AL.- Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India: Comparison of developing and developed countries. Dig Dis. Sci. 1991;36:1084-1088.
- GRAHAM, D.Y.; ALPERT, L.C.; LACEY SMITH, J.; YOSHIMURA, H.H.- Iatrogenic *Campylobacter pylori* infection is a cause of epidemic achlorhydria. Am J Gastroenterol 1995;90:227-232.

- GRAHAM, D.Y.; KLEIN, P.D.; EVANS, D.J.; ET AL.- *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the C13-urea breath test. Lancet 1987;i:1174-1177.
- GRAHAM, D.Y.; EVANS, D.J.; PEACOCK, J.; BAKER, J.T.; SCHRIER, W.H.- Comparison of rapid serological tests (Flexure HP and Quickvue) with conventional ELISA for detection of *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol 1996;110:A246.
- GRUBEL, P.; HOFFMAN, J.S.; CHONG, F.K.; BURSTEIN, N.A.; MEOANI, C.; CAVE, D.R.- Vector potential of houseflies(*Musca domestica*) for *Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1997;35:2232-2235.
- HAAS, C.E.; NIX, D.E.; SCHENTAG, J.J.- In vitro selection of resistant *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:1637-1641.
- HALL, P.A.; ET AL.- Classification of primary gut lymphomas. Lancet II.1988:1985.
- HANDT, L.K.; FOX, J.G.; STALIS, I.H.; RUFO, R.; LEE, G.; LINN, J.; LI, X.; KLEANTHOUS, H.- Characterization of feline *Helicobacter pylori* astrains and associated gastritis in a colony of domestic cats. J Clin Microbiol 1995;33:2280-2289.
- HANSSON, L.E.; NYREN, O.; HSING, A.W.; ET AL. -The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. N Eng J Med. 1996;335:242-249.
- HARTZEN, S.H.; ANDERSEN, L.P.; BREMMELGAARD, A.; COLDING, H.; ET AL.- Antimicrobial susceptibility testing of 230 *Helicobacter pylori* strains: Importance of medium, inoculum, and incubation time. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2634-2639.
- HARUMA, K.; KAWAGUSHI, H.; KOHMOTO, K. ET AL.- Reduced incidence of *Helicobacter pylori* in Japan during the last 10 years (Abstract).Gastroenterology. 1996;106: A91.
- HAYES, J.; DUNN, E.- Has the incidence of primary gastric lymphoma increased? Cancer 1989;63:2073-2076.

- HEATLEY, R.V.- The *Helicobacter pylori* handbook. 1 Ed Osney Mead; Blackwell Science, 1995.
- HIRSCHL, A.M.; BRANDSTATTER, G.; DRAGOSICS, B. ET AL.- Kinetics of specific IgG antibodies for monitoring the effect of anti *Helicobacter pylori* chemotherapy. J Infect Dis 1993;168:763-766.
- HOUBEN, M.H.; BEEK, D.V.; HENSEN, E.F.; CRAEN, A.J.; RAUWS, E.A.; TYTGAT, G.N.J -A system.at ic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy- the impact of antimicrobial resistance on eradication rates. Alim Pharmacol Ther 1999;13:1047-1055.
- HOWDEN, C.W.; HUNT, R.H.- Guidelines for rhe management of *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 1998;93:2330-2338.
- HU, P.J.; MITHELL, H.M.; LI, Y.Y.; ZHOU, M.H.; HAZELL, S.L.- Association of *Helicobacter pylori* with gastric cancer and observations on the detection of this bacterium in gastric cancer cases. Am J Gastroentrol. 1994;89:1806-1810.
- HUANG, J.; HUNG, R.H.- The importance of clarithromycin dose in the management of *Helicobacter pylori* infection: a meta-analysis of triple therapies with a proton bumb inhibitor, clarithromycin and amoxacyllin or metronidazole. Alim Pharmacol Ther 1999;13:719-729.
- HUSSEL, T.; ISAACSON, P.G.; CRABTREE, J.E.; SPENCER, J.- The response of cells from low grade B-cell gastric lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. Lancet 1993;342:571-574.
- International Agency for Reserach on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol 61, Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* . Lyon:1994.
- ISAACSON, P.; SPENCER, J.; WRIGH, D.H.- Classifying primary gut lymphomas . Lancet II. 1988:1148-1154.

- JONES, N.L.; YEGER, H.; CUTZ, E.; SHERMAN, P.M.- *Helicobacter pylori* induces apoptosis of gastric antral epithelial cells in vivo (abstr). Gastroenterology 1996;110(Suppl):A933.
- KEKKI, M.; SIURALA, M.; VARIS, K.; ET AL.- Classification principles and genetics of chronic gastritis. Scand J Gastroenterol 1987;22(Suppl.141):1-28.
- KUIPERS, E.J.- *Helicobacter pylori* and the risk and management of associated diseases: gastritis, ulcer disease, atrophic gastritis and gastric cancer. Alim Pharmacol Ther 1997;11(Suppl):71-88.
- KUROSE, I.; GRANGER, D.N.; EVANS, D.J.J.; EVANS, D.G.; GRAHAM, D.Y.; MIYASAKA, M.; ET AL.- *Helicobacter pylori*-induced microvascular protein leakage in rats: role of neutrophils, mast cells and platelets. Gastroenterology 1994;107:70-79.
- LAINE, L.; LEWIN, D.N.; NARITOKU, W.; ET AL.- Prospective comparison of HE, giemsa, and genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. Gastrointest Endosc 1997;45:463-467.
- LEE, A.- The evangelism of *Helicobacter pylori*; How to convince the non-believers and curb the believers. Zbl Bakt V. 1983;280: 7-10.
- LIU, Z.W.; XIAO, S.D.; SHI, Y.; ET AL.- Furazolidone-containing short-term triple therapies are effective in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. Alim Pharmacol Ther 1999;13:317-322.
- LOO, V.G.; FALLONE, C.A.; DE SOUZA, E.D.; LAVALÉE, J.; BARKUN, N.A.- In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to ampicillin, clarithromycin, metronidazole and omeprazole. JAC1997;40:881-883.

- LUPPETI, P.; HEUSER, J.E.; MANETTI, R.; MASSARI, P.; LANZAVECCHIA, S.; BELLON, P.L.; ET AL.-Oligomeric and subunit structure of the *Helicobacter pylori* vacuoliting cytotoxin. J Cell Biol 1996;133:801-807.
- MADARA, J.L.; STAFFORD, J.- Interferon γ directly affects barrier function of cultured intestinal ephitelial monolayers. J Clin Invest 1989;83:724-727.
- MAGALHÃES, A.F.N.; MACEDO, C.; HAUCK, J.R.; ET AL.- Acid suppression with ranitidina plus oral triple therapy improve ulcer healing but not *Helicobacter pylori* eradication. Hepatogastroenterology 1998;45:2161-2164.
- MALATY, H.M.; GRAHAM, D.Y. -Effect of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. Gut.1994;35:742-745
- MANNICK, E.E.; BRAVO, L.E.; ZARAMA, G.; REALPE, J.L.; ZHANG, X.J.; RUIZ, B.; ET AL.- Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis:effect of antibiotics and oxidants. Cancer Research 1996;56:3238-3243.
- MARSHALL, B.J.-*Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol. 1994;89:116-128.
- MARSHALL, B.J.- Unidentified curved bacilli on gastric ephitelium in active chronic gastritis. Lancet 1983; i:1273-1275.
- MATYSIAK-BUDNIK, T.; BRIET, F.; HEYMAN, M.; MÉGRAUD, F.- Laboratory-acquired *Helicobacter pylori* infection. Lancet 1995;346:1489-1490.
- MCGOWAN, C.C.; COVER, T.L.; BLASER, M.J.- The proton bumb inhibitor omeprazol inhibits acid survival of *Helicobacter pylori* by a urease-independent mechanism Gastroenterology 1994;107:1573-1578.
- MEARIN, F.; DE RIBOT, X.; BALBOA, A.- Does *H. pylori* infection increase gastric sensivity in functional dyspepsia? Gut 1995;37:47-51.

- MEARIN, F.; CUCALA, M.; AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J.R.- The origin of symptoms on the brain-gut axis in functional dyspepsia. Gastroenterology 1991;101:999-1006.
- MÉGRAUD, F.- Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* infection. Br Med Bull 1998;54:207-215.
- MÉGRAUD, F.- Diagnosis and candidates for treatment of *Helicobacter pylori* infection: How should *Helicobacter pylori* infection be diagnosed? Gastroenterology 1997;113:93-98.
- MÉGRAUD, F.- Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol Clin. North Am. 1993; 22:73-88.
- MÉGRAUD, F.- Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics. Alim Pharmacol Ther 1997;11(Suppl.1):43-53.
- MENDONÇA, S.; SARTORI, M.S.; GODOY, A.P.O.; GUERZONI, R.A.; PEDRAZZOLI, J.J.- Susceptibility of *Helicobacter pylori* to metronidazole in Brazil. Gastroenterology, 1999; 116:A250.
- MIDOLO, P.D.; KORMAN, M.G.; TURNBRIDGE, J.D.; LAMBERT, J.R.; *Helicobacter pylori* resistance to tetracycline. Lancet 1996;347:1194-1995.
- MINOCHA, A.; MOKSHAGUNDAM, S. ; GALLO, S. H. ; RAHAL , P.S.- Alterations in upper gastrointestinal motility in *H. pylori* non-ulcer Dyspepsia. Am J Gastroenterol 1994;89:1797-1800.
- MITCHELL, H.M.; LEE, A.; CARRICK, J.- Increased incidence of *Campylobacter pylori* infection in gastroenterologists: further evidence to support person to person transmission. Scand J Gastroenterol 1989;24:396-400.
- MOSS, S.F.; CALAM, J.; AGARWAL, B.; WANG, S.; HOLT, P.G.- Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. Gut 1996;38:498-501.

- NEGRINI, R.; LISATO, L.; ZANELLA, I.; CAVAZZINI, L.; GULLINI, S.; VILLANACCI, V.; ET AL.- *Helicobacter pylori* infection induces antibodies cross-reacting with human gastric mucosa. Gastroenterology 1991;101:437-445.
- NIH Consensus Conference . *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. J Am Med Assoc 1994;272:65-69.
- NOACH, L.A.; BOSNA, N.B.; JANSEN, J.; HOEK, F.J.; VAN-DEVENTER, S.J.; TYTGAT, G.N.- Mucosal tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori*. Scand J Gastroenterol 1994;29:425-429.
- NOMURA, A.; STEMMERMANN, G.N.; CHYOU, P.- ET AL. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. New Engl J Med 1991;325:1132-1136.
- Organisation Mondiale de la Santé. Série de rapports techniques n° 210. Deuxième rapport du comité d'expert des antibiotiques. Genève:OMS ed 1961.1-25.
- PARSONNET, J.; BLASER, M.J.; PEREZ-PEREZ, G.I.- Symptons and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of epidemiologists. Gastroenterol. 1992;102:41-46.
- PARSONNET, J.; FRIEDMAN, G.D.; ORENTEICH, N.; VOGELMAN, J.H.- Infection with the type I phenotype of *H. pylori* increases the risk for gastric cancer independent of corpus atrophy. Gastroenterology 1996;110:A221.
- PARSONNET, J.- *Helicobacter pylori* in the stomach-a paradox unmasked. N Eng J Med. 1996;335:278-280.
- PENSTON, J.G.; MCCOLL, K.E.L.- Eradication of *Helicobacter pylori*: A objective assesment of current therapies. Br J Clin Pharmacol 1997;43:223-243.

- PIERAMICO, O.; DISTCHUNEIT, H.; Malferttheiner, P.- Gastrointestinal motility in patients with non-ulcer dyspepsia. A role for *Helicobacter pylori* infection? Am J Gastroenterol 1993;88:364-368.
- PONZETTO, A.; DEGIULI, M.; SANSAVERINO, P.; SOLDATI, T.; BAZZOLI, F.- *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. J Natl Cancer Inst 1996; 88:465-466.
- PRASAD, V.M.; SANTOGADE, P.; CUTLER, A.F.- *Helicobacter pylori* IgG Serology following sucessfull eradication-4 years follow up. Gastroenterology 1995;108:A195.
- PRICE, A.B.- The Sydney System: histological division. J Gastroenterol Hepatol 1991;6:209-222.
- QUEIROZ, D.M.M.; COIMBRA, R.S.; MENDES, E.N.; ET AL.- Metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* in a developing country. Am j Gastroenterol 1993;88:322-333.
- RAJU, G.S.; SMITH, M.J.; MORTON, D.; BARDHAN, K.D.- Mini-dose (1-MU-CI) C14 urea breath test for the detection *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol 1994;89:1027-1031
- RAMSEY, E.J.; CAREY, K.V.; PETERSON, W.L.; JACKSON, J.J.; MURPHY, F.K.; READ, N.W.; ET AL.- Epidemic gastritis with hipochlorhydria. Gastroenterology 1979;76:1449-1457.
- ROGGE, J.D.; WAGNER, D.R.; CARRICO, R.J.; GLOWINSKEA, R.; MAHONEY, S.J.; BOGULASKI, R.C.; ET AL.- Evaluation of a new urease strip for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. Am J Gastroenterol 1995;90:19650-1968.
- ROLLAN, A.; GIANCASPERO, R.; DUARTE, I.; ET AL. The long-term reinfection rate and the course of duodenal ulcer disease after eradication of *Helicobacter pylori* in a developing country. Am J Gastroenterol. 2000;50-56.

- ROSÁRIO, M.; CAETANO, J.M.; PESSANHA, M.A.; MAROTE, G.; DA SILVA, J.Á.; CAETANO, J.A.M.- Perfil de resistência aos macrolídeos imidazóis do *Helicobacter pylori* numa amostra da população portuguesa. Acta Med Port 1998;11:1089-1092.
- SEGAL, E.D.; FALKOW, S.; TOMPKINS, L.S.- *Helicobacter pylori* attachment to gastric cells induces cytoskeletal rearrangement and tyrosine phosphorylation of host cell proteins. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:1259-1263.
- SEVERSO, R.K.; DAVIS, S.- Increasing incidence of primary gastric lymphoma. Cancer 1990;66:1283-1287.
- SIEHOFF, T.B.; PIETZ, S.B.; BOERSCH, U.; LABENZ, J.- *Helicobacter pylori*: Praetherapeutische resistenzlage in Deutschland(Ruhrgebiet). Z. Gastroenterologie 1997;35:165-169.
- SIPPONEN, P.- Natural history of gastritis and its relationship to peptic ulcer disease. Digestion 1992; 51(Suppl 1):70-75.
- SIPPONEN, P.; SEPPALA, K.; Gastric Carcinoma: failed adaptation to *Helicobacter pylori*. Scand J Gastroenterol Suppl 1992;193:33-38.
- SLOMIANY, B.L.; SLOMIANY, A.- Mechanism of *Helicobacter pylori* pathogenesis: focus on mucus. J Clin Gastroenterol 1992;14(Suppl 1): 114-121.
- SMITH, M.A.; EDWARDS, D.I.- The influence of microaerophilia and anaerobiosis on metronidazole uptake in *Helicobacter pylori*. J Antimicrob Chemother 1995;36:453-461.
- SMOOT, D.T.; RESAU, J.H.; NAAB, T.; DESBORDES, B.C.; GILLIAN, T.; BULL-HENRY, K.; ET AL.- Adherence of *Helicobacter pylori* to cultured human gastric epithelial cells. Infect Immun 1993;61:350-355.
- STOLTE, M.; EIDT, S.; OHNSMAN, A.- Differences in expression of *Helicobacter pylori* in the antrum and body of the stomach. Z Gastroenterol 1990;28:229-233.

- STOLTE, M.; EIDT, S.- Lymphoid follicles in antral mucosa: immune response to *Campylobacter pylori*? J Clin Pathol 1989;42:1269-1271.
- STRICKLAND, R.G.; MACKAY, I.R.- A reappraisal of the nature and significance of chronic atrophic gastritis. Am J Dig Dis 1973;18:426-440.
- The European Helicobacter Study Group (EHPSG). Current European concepts in the management of *H. pylori* infection: Maastricht Consensus Report. Gut 1997;41:8-13.
- THOMAS, J.E.; GIBSON, G.R.; DARBOE, M.K.; DALE, A.; WEAVER, L.T.- Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. Lancet 1992;240:1194-1195.
- TYTGAT, G.N.J.; BOER, W.A.- Treatment of *Helicobacter pylori* infection. BMJ 2000;320:31-34.
- TYTGAT, G.N.J.- The Sydney system : endoscopic division. Endoscopic appearance in gastritis/duodenitis. J Gastroenterol Hepatol 1991; 6:223-234.
- VALLE, J.; KEKKI, M.; SIPPONEN, P.; IHAMAKI, T.; SIURALA, M.- Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis. Scand J Gastroenterol 1996;31:546-550.
- VAN DE MEER, S.B.; FORGET, P.P.; ARENDS, J.W.; ET AL.- The prevalence of *Helicobacter pylori* serum antibodies in children with recurrent abdominal pain. Eur J Pediatr. 1992;151:799-801.
- VAN ZWET, A.A.; THIJS, J.C.; DE GRAAF, B.- Explanations for high rates of eradication with triple therapy using metronidazole in patients harboring metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* strains. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:250-252.
- VAN ZWET, A.A.; VANDENBROUKE-GRAULS, C.M.J.E.; THIJS, J.C.; VANDER WOUNDEN, E.J.; GERRITS, M.M.; JUSTERS, J.G.- Stable amoxycillin resistance in *Helicobacter pylori*. Lancet 1998;3352:1595.

- VELDHUZEN VAN ZANTEN, S.J.; SHERMAN, P.M.- *Helicobacter pylori* infection as a cause of gastritis, duodenal ulcer, gastric cancer, and non-ulcer dyspepsia: a systematic overview. Can med Assoc J 1994;150:177-185.
- VILLAKO, K.; KEKKI, M.; MAAROS, H.I.; ET AL.- Chronic gastritis progression of inflammation and atrophy in a six-year endoscopic follow-up of a random sample of 142 Estonian urban subjects. Scand J gastroenterol 1991;26(Suppl. 186):135-141.
- WALSH, J.H.; WALSH, J.H.; DOCKRAY, G.J.- Gut peptides biochemistry and physiology. New York: Raven, 1994:75-121.
- WARREN, J.R.- Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1983; i:1273.
- WATANABE, Y.; MIZUNO, S.; INOKUCHI, H.; MIKI, K.; KAWAI, K.; *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: a nested case-control study in a rural area. Japan. Gastroenterology 1996;110:A293.
- WEBB, P.M.; KNIGHT, T.; GREAVES, S.; - Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood: Evidence for person-to-person transmission in early life. BMJ. 1994;308:750-753.
- WEEL, J.F.L.; VAN DE HULST, R.W.M.; GERRITS, Y.- The interrelationship between cytotoxin-associated gene A, vacuolizing cytotoxin, and *Helicobacter pylori*-related diseases. J Infect Dis 1996;173:1171-1175.
- WEISBLUM, B.- Erythromycin resistance by ribosome modification. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:577-585.
- WHITEHEAD, R.- The classification of chronic gastritis: current status. J Clin Gastroenterol 1995; 21(Suppl):131-134.
- WILHOITE, S.L.; FERGUSON, D.A.JR.; SOIKE, D.R.; KALBFLEISH, J.H.; THOMAS, E.- Increased prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies among nurses. Arch Intern Med 1993;153:708-712.

- XIA, H.X.; BUCKLEY, M.; KEANE, C.T.; O'MARIAN, C.A.- Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*: prevalence in untreated dyspeptic patients and stability in vitro. JAC 1996;37:473-481.
- XIAO, S.D.; LIU, W.Z.; HU, P.J.- High cure rate of *Helicobacter pylori* infection using tripotassium dicitrate bismuthate, furazolidone and clarithromycin triple therapy for 1 week. Alim Pharmacol Ther 1999;13:311-315.
- YOUNG, E.L.; SHARMA, T.K.; CUTLER, A.F.- Prospective evaluation of a new urea-membrane test for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric antral tissue. Gastrointest Endosc 1996;44:523-526.