

# *Helicobacter pylori* numa população dispéptica no Algarve: prevalência e caracterização genética

## *Helicobacter pylori* prevalence and genetic characterization in a group of dyspeptic patients from Algarve

Hermano Santos<sup>2</sup>, Horácio Guerreiro<sup>2</sup>, Diamantino Sousa<sup>2</sup>, José Estevens<sup>3</sup>, Ana Prurito Gonçalves<sup>1</sup>, Ana Paula Carvalho<sup>1</sup>, Cristina Inácio<sup>2</sup>, Maria Leonor Faleiro<sup>1</sup>, Lídia Dionísio<sup>1</sup>

**RESUMO** | **INTRODUÇÃO:** Dado o papel nuclear do *Helicobacter pylori* (Hp) na etiopatogenia das doenças gastroduodenais, é fundamental conhecer a sua prevalência e as suas características em cada região. **OBJECTIVOS:** determinar, numa população dispéptica no Algarve, a prevalência da infecção por Hp, fazer a sua caracterização genética e correlacionar ambas com os diagnósticos endoscópicos. **MÉTODOS:** Selecionamos, aleatoriamente, 205 doentes dispépticos submetidos a endoscopia digestiva alta. Para detecção de Hp utilizámos teste rápido da urease, exame cultural e exame histológico, admitindo-se infecção quando pelo menos dois testes foram positivos. Usámos a técnica de PCR para caracterizar os genes *cagA*, *vacA*, *oipA* e *babA* em 22 das estirpes isoladas. Estatística: testes  $\chi^2$  e exacto de Fisher; IC - 95%. **RESULTADOS:** prevalência 44,9% (superior no sexo masculino e entre os 30 e os 59 anos); genes *cagA* + em 90,9%, *oipA* funcional em 78,9%, *babA* + em 50% e genótipo *s1m1* em 31,8% das estirpes. Associação da infecção apenas com úlcera duodenal. **CONCLUSÕES:** 1) Prevalência da infecção de 44,9%, decrescente após os 60 anos. 2) Associação da infecção apenas com úlcera duodenal. 3) Estirpes *cagA* + e *oipA* ON em proporção superior à esperada num país ocidental. *GE-J Port Gastroenterol* 2010;17:102-107.

**ABSTRACT** | **INTRODUCTION:** The role of *Helicobacter pylori* (Hp) in the etiology of several gastroduodenal diseases is well established; it is thus important to know its prevalence and characteristics in different geographical zones. **AIMS:** to evaluate the prevalence of Hp infection in a dyspeptic population, to identify its genetic characteristics and correlate them with endoscopic findings. **METHODS:** 205 dyspeptic patients submitted to endoscopy were included. *Helicobacter pylori* presence was evaluated by rapid urease test as well as bacteriology tests and histopathology; infection was admitted when at least two tests were positive. We used PCR to characterize the genes *cagA*, *vacA*, *oipA* and *babA* in 22 of the isolated strains. Statistical:  $\chi^2$  and exact Fisher's tests; CI - 95%. **RESULTS:** prevalence: 44,9% (higher between 30 and 59 years old); genes *cagA* + in 90,9%, *oipA* functional in 78,9%, *babA* + in 50% and genotype *s1m1* in 31,8% of the strains. Infection was only associated with duodenal ulcer. **CONCLUSIONS:** 1) Prevalence of the infection: 44,9 %, decreasing after 60 years of age. 2) Association of the infection only with duodenal ulcer. 3) rate of *cagA* + and *oipA* ON strains higher than expected in a western country. *GE-J Port Gastroenterol* 2010;17:102-107.

<sup>1</sup>Universidade do Algarve. Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais; <sup>2</sup>Serviço de Gastroenterologia, Hospital Central de Faro, EPE; <sup>3</sup>Serviço de Gastroenterologia, Hospital do Barlavento Algarvio; **Patrocínio:** Este estudo foi parcialmente financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia e pelo FEDER através do Projecto POCTI (POCTI/ESP/41217/2001); **Correspondência:** Hermano Santos, Serviço de Gastroenterologia - Hospital Central de Faro, Rua Leão Penedo, 8000 - Faro; **E-mail:** santos.hermano@gmail.com; **Tel.:** +351 965 329 507; **Fax:** +351 289 891 100; **Recebido para publicação:** 13/10/2008 e **Pronto para publicação:** 15/04/2010.

## INTRODUÇÃO

A infecção por Hp é reconhecida como uma das infecções crônicas mais comuns estimando-se que cerca de metade da população mundial esteja infectada<sup>1,2</sup>. É conhecido também que a sua prevalência varia consideravelmente com diversos factores sendo, geralmente, superior em meios sócio-económicos desfavorecidos<sup>3,4</sup> em que são comuns habitações com grandes aglomerados familiares e deficientes condições higieno-sanitárias – ambientes reconhecidos como propiciadores da transmissão da bactéria<sup>3,5</sup>. Dessa forma, o espectro de prevalências da infecção por Hp é muito amplo variando com o grau de desenvolvimento das regiões – a maioria dos países em desenvolvimento apresentam taxas superiores a 80% em contraste com os 20 a 40% dos países desenvolvidos<sup>3</sup>. Entre estes, Portugal é uma notável excepção apontando-se uma prevalência próxima dos 80% apesar da 26ª posição no *ranking* de desenvolvimento das Nações Unidas<sup>6</sup>.

Embora, na maioria dos casos, a infecção seja assintomática, a sua associação etiológica com a gastrite crónica, a úlcera péptica, o cancro gástrico e o linfoma MALT é universalmente aceite<sup>7-11</sup>. Contudo, a maioria dos doentes dispépticos não tem evidência de doença estrutural que claramente explique os sintomas<sup>12</sup>. Tem-se procurado implicar o Hp nestes doentes com resultados controversos. A sua prevalência na dispepsia não ulcerosa é sobreponível à da população geral<sup>13</sup>. Por outro lado, admite-se que a erradicação do Hp nestes doentes pode reduzir a incidência de úlcera péptica<sup>12</sup>, mas o seu efeito nos sintomas dispépticos é duvidoso<sup>14</sup>.

Desde as observações iniciais de *Warren e Marshall*, que a bactéria tem sido exaustivamente estudada, tendo sido já identificados vários mecanismos de virulência. Entre eles, os mais largamente estudados são a proteína imunodominante Cag A e a citotoxina vacuolizante Vac A. Relativamente à primeira, codificada pelo gene *cagA*, é produzida por cerca de 60% das estirpes ocidentais<sup>15</sup> e mais de 90% das asiáticas<sup>16</sup> e representa um factor de risco para o desenvolvimento de gastrite atrófica, neoplasia gástrica e úlcera péptica<sup>17-19</sup>. A citotoxina Vac A, produzida por cerca de 50% das estirpes, induz a formação de vacúolos em células eucarióticas. O gene *vacA* está presente em todas as estirpes, mas apresenta variações nas regiões sinal (tipos s1 ou s2), região média (tipos m1 ou m2) e intermédia (i1 ou i2). A combinação s1m1 confere elevada actividade citotóxica, s1m2 intermédia e s2m2 baixa actividade<sup>20</sup>. A proteína BabA, codificada pelo gene *babA2*, está igualmente implicada na patogenicidade da bactéria, ao permitir a sua adesão ao epitélio, e a sua presença associa-se ao desenvolvimento de adenocarcinoma, úlcera péptica e gastrite<sup>21-23</sup>. O gene *oipA*, presente em menos de metade das estirpes ocidentais, associa-se igualmente a maior inflamação da mucosa<sup>24</sup>.

Assim, pela importância etiológica do Hp e pela variabilidade da sua prevalência e da sua virulência, torna-se importante conhecer a realidade local. Neste estudo, estudámos a prevalência da infecção por Hp numa população de doentes dispépticos no Algarve submetidos a endoscopia digestiva alta, procurámos estabelecer a eficiência global dos testes de diagnóstico utilizados e caracterizar geneticamente as estirpes isoladas. Finalmente, tentámos correlacionar a infecção por Hp, e as suas características genéticas (genes *cagA*, *vacA*, *oipA* e *babA2*), com os achados endoscópicos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Seleccionámos, de modo aleatório, 205 doentes submetidos a endoscopia digestiva alta entre Janeiro de 2002 e Setembro de 2005, por queixas dispépticas. Todos deram o seu consentimento informado. Foram excluídos os doentes que realizaram terapêutica com antibiótico ou anti-ulceroso no ano antecedente. A todos foi efectuado um inquérito epidemiológico, registados os achados endoscópicos, realizado teste rápido da urease e colhidas 3 biópsias do antro e 3 do corpo gástrico para exames histológico, cultural e molecular de Hp. As biópsias para exame histológico foram colocadas em formol; as biópsias para exame molecular congeladas a seco e as biópsias para exame cultural foram colocadas em lactato de *Ringer*.

Para pesquisa da presença de Hp, usámos 3 métodos – teste rápido da urease, exame cultural e histopatológico – admitindo-se infecção na presença de pelo menos 2 testes positivos.

### Exame cultural

As biópsias foram manuseadas assepticamente, tendo sido trituradas num pequeno volume de Caldo *Mueller-Hinton* (OXOID). O homogeneizado foi inoculado, segundo os procedimentos descritos pelo «*National Committee for Clinical Laboratory Standards*» (NCLLS), em meio selectivo (*Columbia Agar*; OXOID) suplementado com 10 % de sangue desfibrinado de cavalo (OXOID) e suplemento selectivo para Hp (SR 147; OXOID) e meio não selectivo (*Columbia Agar*; OXOID) suplementado com 10 % de sangue desfibrinado de cavalo (OXOID). As placas foram incubadas a 36 ± 1°C, em condições de microaerofilia (Gás *Generating Kits* for *Campylobacter*; OXOID) com cerca de 6 % de oxigénio, 10 % de dióxido de carbono e uma humidade relativa superior a 98%, durante 3 a 4 dias. A partir do 3º dia, faz-se uma observação diária até 5 a 7 dias. No entanto, as placas foram mantidas a 36 ± 1°C em atmosfera de microaerofilia durante 12 dias antes de considerar a cultura negativa. A identificação foi feita através de observação da morfologia típica das colónias (colónias pequenas, brilhantes, convexas e de bordos regulares; não hemolíticas), citomorfologia

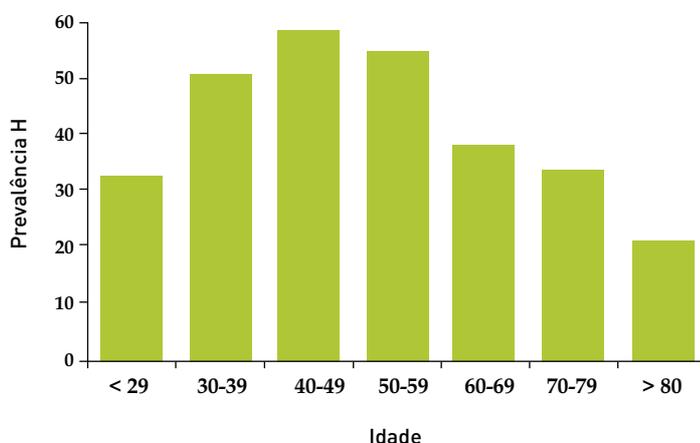


Fig. 1. Distribuição da prevalência da infecção por Hp por grupo etário.

característica com coloração de *Gram* (células *Gram*-, espiraladas ou encurvadas, com formas em U ou I), reacção positiva nos testes bioquímicos de urease (caldo ureia, com Suplemento SRO 20 K *Oxoid*).

#### Exame histológico

A pesquisa específica da presença de Hp foi realizada por 3 anatomopatologistas em amostras fixadas e coradas com hematoxilina-eosina.

#### Teste rápido da Urease

Foi testada a actividade da urease em 2 amostras do antro e 2 do corpo gástrico usando o *CLOtest*<sup>®</sup> (*Kimberly-Clark/Ballard Medical Products, USA*) de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, as amostras são colocadas num meio contendo ureia e um indicador de pH. A hidrólise da ureia em amónia e CO<sub>2</sub> na presença da urease altera o pH do meio com alteração da cor do indicador. A alteração da cor nas primeiras 24 horas foi interpretada como teste positivo.

#### Caracterização genotípica de factores de virulência de Hp

Em 22 das estirpes isoladas, realizámos a caracterização genotípica dos factores de virulência *cag A*, *vac A*, *oip A* e *bab A*. Para isso, foi efectuada a extracção de DNA cromossomal das estirpes isoladas a partir de biópsia gástrica, e pesquisada a presença do gene *cag A* e *bab A2* e foram caracterizadas as regiões média e sinal do gene *vac A* pela técnica de PCR (*Polymerase chain reaction*) com iniciadores específicos. A região sinal foi amplificada, utilizando iniciadores específicos. Os fragmentos do gene *oip A* foram purificados e sequenciados num sequenciador automático 3100 *Genetic Analyser* (*Abi-Prism*).

#### Análise estatística

A análise estatística foi feita com recurso ao programa SPSS versão 15. Foram utilizados o teste x-quadrado e o teste exacto de Fisher para comparação de variáveis categóricas. Considerou-se estatisticamente significativo um  $p < 0,05$ .

#### RESULTADOS

Determinámos a presença de Hp em 205 doentes - 110 homens e 95 mulheres com idade média de  $65,9 \pm 16,9$  anos (11 a 89). A prevalência da infecção foi 44,9% (92 doentes infectados), sendo superior no sexo masculino (49,1% vs 40%) sem, contudo, atingir significado estatístico ( $p=0,192$ ) - Quadro I. A idade associou-se de forma estatisticamente significativa à infecção por Hp, com prevalências superiores nos escalões etários entre os 30 e os 60 anos ( $p=0,044$ ) - Quadro 1 e Fig. 1.

Relativamente aos testes diagnósticos usados, a cultura, com acuidade global de 99%, mostrou-se superior ao teste rápido da urease e ao exame histológico, cujas acuidades globais foram de 93,7% e 68,8% respectivamente - Quadro 2.

Os achados endoscópicos estão descritos no Quadro 3. A infecção por Hp associou-se, como esperado, à presença de úlcera duodenal ( $p=0,039$ ), não se evidenciando associação com nenhuma das outras patologias. As endoscopias normais foram mais frequentes em doentes não infectados ( $p=0,002$ ).

Caracterizámos, com recurso à técnica PCR, os genes *cag A*, *vac A*, *bab A2* e *oip A* de 22 das estirpes isoladas. O gene *cag A* foi detectado em 20 das 22 das estirpes, 90,9%; relativamente ao gene *vac A*, 45,5% (10/22) das estirpes possuía o genótipo *s2/m2*, 22,7% (5/22) o genótipo *s1/m2* e 31,8% (7/22) o *s1/m1*. O gene *oip A* encontrou-se funcional (ON) em 78,9% (15/19) das estirpes e o gene *bab A2* foi detectado em 50% das 22 estirpes isoladas - Quadro 4.

Não se conseguiu estabelecer associação entre os vários perfis genéticos com qualquer das patologias diagnosticadas.

#### DISCUSSÃO

O valor calculado da prevalência da infecção por Hp - 44,9% - foi consideravelmente inferior ao estimado para a população geral portuguesa e próximo do de vários países desenvolvidos da Europa Ocidental. Contudo, tendo em conta que se trata duma população dispéptica e que a prevalência desta infecção em doentes dispépticos é superior à da população geral, com um "odds ratio" de 2,3<sup>25</sup>, o valor encontrado de 44,9% assume um valor relativo ainda mais baixo no contexto português. Neste sentido, poderemos dizer que estamos dentro dos valores habituais descritos para a Europa ocidental.

Quadro 1. Distribuição e prevalência da infecção por Hp por sexo e grupo etário.

Sexo	N	%	Hp +(N)	Hp - (N)	Prevalência Hp	p
Sexo Masc.	110	53,7	54	56	49,1%	0,192
Sexo Fem.	95	46,3	38	57	40%	
<b>Idade</b>						
≤ 29	17	8,3	6	11	35,3%	0,064
30 - 39	25	12,2	13	12	52,0%	
40 - 49	27	13,2	16	11	59,3%	
50 - 59	44	21,5	25	19	56,8%	
60 - 69	38	18,5	15	23	39,5%	
70 - 79	40	19,5	14	26	35,0%	
≥ 80	14	6,8	3	11	21,4%	

Ao olhar para a figura 1, torna-se evidente a redução progressiva da prevalência acima dos 60 anos. Outros trabalhos mostraram declínios da prevalência nestes grupos etários, apontando taxas de soroconversão que podem atingir os 7% anuais<sup>26,27</sup>. Este fenómeno pode ser devido à própria história natural da infecção por Hp, condicionada pelo surgimento da gastrite atrófica e consequente perda do nicho ecológico da bactéria<sup>28</sup> ou mesmo ocasionada por condições sócio-económicas particulares envolvendo a infância desses grupos etários<sup>29</sup>. Contudo, na nossa população, registámos apenas 10 casos de gastrite atrófica e sem associação com a idade e, além disso, não há conhecimento, no Algarve, de circunstâncias específicas que tivessem dificultado a infecção por Hp no período que pode corresponder à infância do grupo etário estudado. Não dispomos de explicação evidente para esta observação, que merece ser aprofundada no aspecto epidemiológico e demográfico. Já as taxas inferiores abaixo dos 30 anos nos parecem explicáveis pela melhor condição sócio-económica

a que se assistiu em Portugal nas últimas 2 - 3 décadas.

Relativamente aos meios de diagnóstico utilizados, a cultura, considerado por muitos autores, o “gold standard” no diagnóstico desta infecção, mostrou a melhor acuidade global classificando correctamente 99% dos doentes. Por sua vez, os resultados do exame histológico foram francamente desapontadores com sensibilidade de apenas 48%. O facto de ser muito operador-dependente, quer na colheita, quer na análise das amostras, de ter sido realizado por anatomopatologistas distintos tendo apenas sido usada uma coloração, pode justificar, em parte, estes resultados. Já o teste rápido da urease, com resultados de acordo com os habitualmente descritos, confirmou-se como um método eficaz, rápido e económico.

Estima-se que cerca de 80% dos doentes com úlcera duodenal e mais de 60% daqueles com úlcera gástrica estão infectados com Hp<sup>30</sup>. Na nossa população, no caso da úlcera duodenal, essa percentagem foi inferior - 67% - mas manteve-se a associação com significado estatístico.

Quadro 2. Métodos de diagnóstico da infecção por Hp utilizados.

Teste	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Eficiência global
Cultura	98	100	100	98,3	99
T Urease	98	90	89,3	98	93,7
Histologia	48	83	70,3	65,2	68,8

Quadro 3. Distribuição dos diagnósticos endoscópicos e correlação com infecção por Hp.

Diagnóstico endoscópico	N	Hp +(N)	Hp - (N)	p
Esofagite péptica	16	7	9	0,81
Gastrite erosiva	37	20	17	0,250
Úlcera gástrica	8	5	3	0,326
Duodenite erosiva	10	6	4	0,347
Úlcera duodenal	36	24	12	0,039
Outros	13	7	6	
Normal	85	23	62	0,002

No caso da úlcera gástrica e da duodenite erosiva, apesar de ambas mais frequentes nos doentes infectados, julgamos que a ausência de associação significativa se ficou a dever à insuficiência dos números de ambas as patologias. Todavia, a associação mais estreita verificou-se entre as endoscopias normais e a não infecção o que, de forma indirecta, atesta igualmente o papel etiopatogénico da bactéria.

Relativamente aos factores de virulência, pelo reduzido

número das estirpes caracterizadas, não foi possível estabelecer associação com as patologias encontradas. Todavia, é notória a presença marcada de genótipos ditos virulentos. Relativamente às estirpes comuns nos países ocidentais, constatámos, na nossa amostra, significativamente maior presença do gene *cagA* (90,9%) e estado ON do gene *oipA* (78,9%); além disso, quase dois terços – 63,6% – das estirpes reuniram pelo menos 3 dos quatro genótipos reconhecidamente mais virulentos<sup>31</sup>. A fazer

Quadro 4. Caracterização genética das estirpes isoladas.

Estirpe	Diagnóstico	<i>cagA</i>	<i>vacA</i>	<i>babA2</i>	<i>oipA</i>
1	Normal	+	s1/m2	+	ON
2	Úlcera duodenal	+	s2/m2	-	ON
3	Úlcera duodenal	+	s1/m2	+	ON
4	Gastrite erosiva	+	s1/m1	+	ON
5	Duodenite erosiva	+	s2/m2	-	OFF
6	Gastrite erosiva	+	s1/m1	-	ON
7	Úlcera duodenal	+	s1/m2	-	ON
8	Úlcera duodenal	+	s2/m2	-	OFF
9	Úlcera duodenal	+	s2/m2	+	ON
10	Neoplasia gástrica	+	s1/m2	-	OFF
11	Normal	+	s1/m1	+	ON
12	Úlcera duodenal	+	s2/m2	+	ON
13	Úlcera duodenal	+	s2/m2	-	ON
14	Úlcera duodenal	+	s1/m1	-	ON
15	Gastrite erosiva	+	s1/m1	+	
16	Duodenite erosiva	+	s2/m2	+	OFF
17	Úlcera gástrica	+	s1/m2	+	ON
18	Úlcera gástrica	+	s1/m1	+	ON
19	Normal	+	s1/m1	+	ON
20	Úlcera duodenal	-	s2/m2	-	ON
21	Úlcera duodenal	+	s2/m2	-	
22	Gastrite erosiva	+	s2/m2	-	

fé na nossa pequena amostra, cremos que as estirpes da nossa região têm elevado potencial patogénico, mas será necessário reunir um maior número de doentes e avaliar também indivíduos assintomáticos para melhor esclarecer estes dados.

## REFERÊNCIAS

- Cave DR. Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Am J Med* 1996;100:12-17.
- Cave DR. How is *Helicobacter pylori* transmitted? *Gastroenterology* 1997;113(6 Suppl):9-14.
- Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev* 2000;22:283-297.
- Malaty HM, Graham DY, Wattigney WA, et al. Natural history of *Helicobacter pylori* infection in childhood: 12-year follow-up cohort study in a biracial community. *Clin Infect Dis* 1999;28:279-282.
- Lin SK, Lambert JR, Nicholson L, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* in a representative Anglo-Celtic population of urban Melbourne. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13:505-510.
- Fukuda-Parr S. Human development report 2004: Cultural liberty in today's diverse world. United Nations Development Programme, New York.
- Mapstone NP, Lynch DA, Lewis FA, et al. Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. *J Clin Pathol* 1993;46:540-543.
- Ebert MP, Schandl L, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* infection and molecular changes in gastric carcinogenesis. *J Gastroenterol* 2002;37:45-49.
- Axon A. Review article: gastric cancer and *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;4:83-88.
- Zhang C, Yamada N, Wu YL, et al. *Helicobacter pylori* infection, glandular atrophy and intestinal metaplasia in superficial gastritis, gastric erosion, erosive gastritis, gastric ulcer and early gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2005;11:791-796.
- Shirin H, Leja M, Niv Y. *Helicobacter pylori* and non-malignant diseases. *Helicobacter* 2008;13 Suppl 1:23-27.
- Hsu PI, Lai KH, Tseng HH, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* prevents ulcer development in patients with ulcer-like functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:195-201.
- Delaney BC, Wilson S, Roalfe A, et al. Cost effectiveness of initial endoscopy for dyspepsia in patients over age 50 years: a randomised controlled trial in primary care. *Lancet* 2000;356:1965-1969.
- Moayyedi P, Soo S, Deeks J, et al. Systematic review and economic evaluation of *Helicobacter pylori* eradication treatment for non-ulcer dyspepsia. *Dyspepsia Review Group. BMJ* 2000;321:659-664.
- Crabtree JE, Covacci A, Farmery SM, et al. *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with CagA positive phenotype. *J Clin Pathol* 1995;48:41-45.
- Xiang Z, Censini S, Bayeli PF, et al. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. *Infect Immun* 1995;63:94-98.
- Blaser MJ. Role of vacA and the cagA locus of *Helicobacter pylori* in human disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10 Suppl 1:73-77.
- Kuipers EJ, Pérez-Pérez GI, Meuwissen SG, et al. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the cagA status. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:1777-1780.
- Rokkas T, Liatsos C, Karameris A, et al. Serologic detection of CagA positive *Helicobacter pylori* strains predicts the presence of peptic ulcer in young dyspeptic patients. *Gastrointest Endosc* 1999;50:511-515.
- Soltermann A, Koetzer S, Eigenmann F, et al. Correlation of *Helicobacter pylori* virulence genotypes vacA and cagA with histological parameters of gastritis and patient's age. *Mod Pathol* 2007;20:878-883.
- Yamaoka Y. Roles of *Helicobacter pylori* BabA in gastroduodenal pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2008;14:4265-4272.
- Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, et al. Clinical relevance of the babA2 genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39:2463-2465.
- Rad R, Gerhard M, Lang R, et al. The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol* 2002;168:3033-3041.
- Yamaoka Y, Kwon DH, Graham DY. AM(r) 34.000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7533-7538.
- Armstrong D. *Helicobacter pylori* infection and dyspepsia. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:38-47.
- Potasman I, Yitzhak A. *Helicobacter pylori* serostatus in backpackers following travel to tropical countries. *Am J Trop Med Hyg* 1998;58:305-308.
- Taylor DN, Sanchez JL, Smoak BL, et al. *Helicobacter pylori* infection in Desert Storm troops. *Clin Infect Dis* 1997;25:979-982.
- Kodaira MS, Escobar AM, Grisi S. Epidemiological aspects of *Helicobacter pylori* infection in childhood and adolescence. *Rev Saúde Pública* 2002;36:356-369.
- Asaka M. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Japan. *Nippon Rinsho* 2003;61:19-24.
- Feldman M, Lawrence SF, Lawrence JB. *Sleisenger and Fordt's Gastrointestinal and Liver Disease*. Philadelphia: Elsevier, 2006, 1094.
- Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, et al. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol* 2004;42:1648-1651.