

# PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS MACRÓLIDOS IMIDAZOIS DO HELICOBACTER PYLORI numa amostra da população portuguesa

MANUEL ROSÁRIO, J. MACHADO CAETANO,  
M<sup>a</sup> ANA PESSANHA, GRAÇA MAROTE, J. ALVES DA SILVA,  
J. A. MACHADO CAETANO

Serviço de Gastroenterologia. Serviço de Patologia Clínica. Serviço de Imunologia.  
Instituto Clínico e Imunológico de Lisboa. Lisboa.

## RESUMO

Foram estudadas as sensibilidades à claritromicina e metronidazol bem como sensibilidade e especificidades da cultura do *H. pylori*, teste da urease e histologia num grupo de 166 doentes. Observamos taxas de resistência de 5,8% para a claritromicina e 60% para o metronidazol. As sensibilidade e especificidade para os diferentes técnicas foram respectivamente: cultura 98% e 100%, teste da urease 98% e 91% e para histologia 50% e 95%.

## SUMMARY

### *Helicobacter Pylori* Sensitivity to Macrolide and Imidazol Antibiotics in a Sample of the Portuguese Population

We studied the sensitivity of *H. pylori* to clarithromycin and metronidazol, as well as the sensitivity and specificity of *H. pylori* culture, urease test and histology on a sample of 166 Portuguese patients. We observed a prevalence of 5,8% resistance to clarithromycin and 60% resistance to metronidazol. The sensitivity and specificity for the diagnostic tests were: culture 98% and 100%, urease test 98% and 91%, histology 50% and 95%, respectively.

## INTRODUÇÃO

Os regimes anti-*Helicobacter pylori* têm eficácias variáveis quando aplicados em contextos diferentes<sup>1,2</sup>. Existem múltiplas explicações para as diferenças observadas. Um factor importante na variabilidade dos resultados é o perfil de resistência aos antibióticos nas populações estudadas<sup>3</sup>. Têm sido notadas marcadas diferenças regionais nas prevalências da resistência do *H. pylori*<sup>3</sup>.

O objectivo primário do nosso estudo foi investigar a prevalência da resistência aos macrólidos (claritromicina) e aos imidazóis (metronidazol) na população que assistimos.

Como objectivos secundários propusemo-nos também estudar as sensibilidades e especificidades do teste da urease e da análise histológica para detecção do *H. pylori* quando realizados em condições de prática clínica de rotina. Avaliamos também a exequibilidade das culturas de *H. pylori* quando executadas num laboratório de bacteriologia com os recursos técnicos correntes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Num grupo de doentes referidos a um dos autores (MR) para realização de endoscopia digestiva alta foi proposta a colheita de dois fragmentos adicionais de biopsia para cultura e teste de sensibilidade aos antimicrobianos.

crobianos (TSA). Não constitui critério de exclusão a terapêutica prévia com antissecretóres.

**Endoscopia alta** - A endoscopia alta foi executada com endoscópios Olympus XQ30 e XQ10 (Olympus Corp.) sob sedação endovenosa com midazolam e suplemento de O<sub>2</sub> via Oxyguard (TriMed Inc.). A esterilização dos endoscópios e pinças de biópsia foi efectuada com imersão total dos aparelhos em glutaraldeído a 2% durante 20m, precedida de lavagem manual com um soluto proteolítico. Monitorização com oxímetro Criticare 503 (Criticare Systems Inc). Foram colhidas biópsias para: cultura (2 amostras do antro), teste da urease (1 amostra do antro e 1 amostra do corpo) e histologia (2 amostras do antro + 2 amostras do corpo).

**Histologia** - Fixação dos fragmentos de biópsia em formol a 10%, coloração com hematoxilina eosina. Leitura e classificação pelo sistema de Sidney/Houston<sup>4</sup>.

**Teste da urease** - Colocação de dois fragmentos de biópsia gástrica nas placas CLOtest (Delta West Pty) com imersão total no gel e leitura às 24 horas de acordo com as instruções do fabricante.

**Cultura e TSA** - Colocação dos fragmentos de biópsia em meio de transporte Portagerm *pylori* (Biomerieux SA). Maceração dos fragmentos de biópsia no laboratório de bacteriologia do ICIL até às 24 horas após a colheita e colocação dos fragmentos em placas de cultura para *H. pylori Pylori G* (Biomerieux SA) com incubação em estufa a 37° em meio de microaerofilia conseguido com saquetas Generbag (Biomerieux SA) até 7 dias. Confirmação da presença de colónias de *H. pylori* com os testes da catalase, oxidase e urease. Execução do TSA em placas de chocolate agar Chocolate Polivitex (Biomerieux SA) semeadas com uma turvação de 3 na escala de Mc Farland com discos de eritromicina, claritromicina e metronidazol (Oxoid) e E-test (AB Biodisk) para claritromicina e metronidazol em microaerofilia (conseguida com saquetas)<sup>5</sup>. Halos de inibição lidos às 48 horas.

As estirpes isoladas foram consideradas sensíveis à claritromicina se o MIC < 1mg/L e sensíveis ao metronidazol se o MIC < 4mg/l.

Para efeitos de análise neste protocolo os doentes foram considerados *H. pylori* positivos se a cultura fosse positiva ou se o CLOtest e a histologia fossem positivos.

## RESULTADOS

No período compreendido entre 8/96 e 7/97 foram analisados 166 doentes. 124 eram originários da área urbana de Lisboa e 42 da área urbana de Santarém.

Nove doentes (5,4%) tinham sido previamente sub-

metidos a terapêutica anti *H. pylori* com diversos regimes.

Os achados endoscópicos foram: 14 úlceras duodenais, quatro úlceras gástricas, 28 doentes apresentaram esofagite e em 150 doentes o diagnóstico endoscópico foi gastrite.

Foi efectuada análise histológica em 160 doentes, em sete doentes não foi efectuada colheita de biópsias para histologia por razões técnicas.

Os achados histológicos neste grupo de doentes foram gastrite do antro 92 casos, gastrite do antro e corpo 34 casos. Existia atrofia da mucosa do antro em 72 casos e presença de metaplasia intestinal em sete casos. Em 28 casos não foi confirmada histologicamente a impressão endoscópica de gastrite.

Cento e três doentes tiveram culturas positivas (62,0%) e sessenta e três doentes tiveram culturas negativas (37,9%). Houve dois casos de culturas positivas em doentes com CLOtest negativo e histologia negativa para *H. pylori*.

Detectámos seis casos de resistência à claritromicina (5,8%) e 54 casos de resistência ao metronidazol (60%). Todas as estirpes resistentes à claritromicina foram também resistentes ao metronidazol.

No grupo de doentes que tinham anteriormente sido submetidos a terapêutica anti-*Helicobacter pylori*, quatro tiveram culturas negativas e cinco tiveram culturas positivas. No grupo de doentes previamente submetidos a terapêutica anti-*Helicobacter pylori* com culturas positivas detectámos apenas um caso de resistência à claritromicina. Como tal, a percentagem de resistência primária à claritromicina foi de 4,8%.

A cultura teve uma sensibilidade de 98% e um valor predictivo negativo de 96%. O CLOtest teve uma sensibilidade de 98% e uma especificidade de 91%. O valor predictivo positivo para o CLOtest foi de 95% e o valor predictivo negativo foi de 96%. A histologia teve uma sensibilidade de 50% e uma especificidade de 95%. O valor predictivo positivo para a análise histológica para detecção do *Helicobacter pylori* foi de 94% e o valor predictivo negativo foi de 53%.

## DISCUSSÃO

Cerca de treze anos após a descrição inicial do *Helicobacter pylori* por Marshall e Warren<sup>5</sup> não existe ainda um consenso universal sobre o regime ideal de terapêutica<sup>1,2,7-9</sup>. Revisões extensas sobre o problema têm sido efectuadas e delas ressalta uma variabilidade apreciável na eficácia do mesmo regime quando aplicado por investigadores diferentes<sup>1,2</sup>.

Várias explicações podem ser avançadas para este

facto: critérios, metodologia e *timing* com a qual a erradicação do *Helicobacter pylori* é documentada, diferentes níveis de compliance por parte dos doentes, que tem a ver com o contexto no qual os ensaios são realizados<sup>1</sup>. Um factor importante nesta disparidade de resultados é também o perfil de sensibilidade aos antibióticos do *Helicobacter pylori*<sup>3</sup>.

No que se refere ao perfil de sensibilidade aos antibióticos têm sido documentadas tanto variações regionais importantes<sup>10,11</sup> bem como também variações temporais numa mesma população quando é estudada em anos sucessivos<sup>12-14</sup>. Estes fenómenos têm sido descritos tanto para os macrólidos como para os imidazois não tendo sido observados, até agora, no grupo das tetraciclina e para a amoxicilina. Tanto os macrólidos como os imidazois são componentes importantes dos regimes anti *H. pylori* com maior popularidade<sup>1,2,7,8,9</sup>. Por estas razões pareceu-nos importante conhecer o perfil da sensibilidade à claritromicina e metronidazol do *Helicobacter pylori* na população que assistimos.

Os resultados obtidos, mostram uma elevada taxa de resistência *in vitro* ao metronidazol (60%), e uma baixa resistência primária à claritromicina (4,8%) e estão de acordo com resultados obtidos anteriormente<sup>15,16</sup>. A correlação exacta entre os resultados dos testes de sensibilidade ao metronidazol e os resultados obtidos após terapêutica é neste momento objecto de controvérsia<sup>17,18,19,20,21,22</sup>. Para a claritromicina existe uma boa correlação entre os resultados *in vitro* e a eficácia dos regimes terapêuticos<sup>17</sup>.

A maior parte dos centros em Portugal não têm efectuado por rotina cultura e TSA do *Helicobacter pylori*. Existe uma impressão generalizada, contrariada pela literatura mais recente<sup>23</sup>, de que a cultura do *H. pylori* é de difícil execução e por isso é sujeita a muitos insucessos técnicos. Tentamos também, neste trabalho, avaliar a exequibilidade das culturas e testes de sensibilidade aos antibióticos num laboratório de bacteriologia com os meios técnicos correntes, utilizando apenas material comercialmente disponível. Os resultados do nosso ensaio demonstram que a cultura do *H. pylori*, desde que realizada com uma metodologia correcta, é uma técnica de diagnóstico com alta sensibilidade (98%), exingindo meios relativamente modestos e com uma baixa percentagem (1,2%) de falsos negativos. A cultura tem para além da vertente puramente diagnóstica a potencialidade de fornecer dados importantes para o planeamento da terapêutica

Pensamos também ser importante quantificar prospectivamente a sensibilidade e especificidade dos métodos de

diagnóstico do *Helicobacter pylori* usados em prática clínica corrente nomeadamente o CLOtest e a histologia. O CLOtest teve uma sensibilidade de 98% e uma especificidade de 91%. O valor predictivo positivo para o CLOtest foi de 95% e o valor predictivo negativo foi de 96%. A histologia realizada apenas com coloração de hematoxilina eosina teve uma sensibilidade baixa (50%) mas uma especificidade elevada (95%). Em consequência a histologia apresentou um alto valor (94%) predictivo positivo e um baixo valor (53%) predictivo negativo. A utilização de colorações especiais tais com o Giemsa modificado, Warthin-Starry e Genta permite obter sensibilidades mais elevadas<sup>23</sup>.

Pensamos que o CLOtest pela sua eficácia diagnóstica (elevada sensibilidade e especificidade), baixo custo e simplicidade deve ser o meio de eleição de diagnóstico do *H. pylori* a empregar em prática clínica.

A cultura com TSA do *H. pylori* é um auxiliar imprescindível na avaliação dos doentes que tenham anteriormente falhado cursos terapêuticos anti *H. pylori* e actualmente faz parte da maior parte dos protocolos prospectivos de avaliação de esquemas terapêuticos.

A avaliação das mudanças dos perfis de sensibilidade do *H. pylori* ao longo do tempo permite detectar o emergir de estirpes resistentes na comunidade. Pensamos que este tipo de estudo terá futuramente uma importância crescente.

#### AGRADECIMENTOS

Queremos exprimir toda a nossa gratidão à técnica de laboratório Lidia Santos que pela sua competência e dedicação tornou este trabalho possível. Agradecemos também a Manuel Ribeiro do Rosário que se prontificou a rever o manuscrito e à Abbott Laboratórios Lda. a confiança que depositou em nós e o apoio financeiro que tornou possível a realização das técnicas de microbiologia.

#### BIBLIOGRAFIA

1. TREIBER G: The influence of drug dosage on *Helicobacter pylori* eradication: a cost effectiveness analysis. *Am J Gastroenterol* 1996;91:246-58.
2. HULST RWM, KELLER JJ, RAWES EAJ, TYTGAT GNJ: Treatment of *Helicobacter pylori* infection: a review of the world literature. *Helicobacter* 1996;1:6-19.
3. GRAHAM DY, DEBOER WA, TYTGAT GNJ: Choosing the best anti-*H. pylori* therapy: Effect of antimicrobial resistance. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1072-6
4. DIXON MF, GENTA RM, YARDLEY JH, PELAYO CORREA: Classification and grading of gastritis, the updated Sidney system. *Am J Surg Pathol*. 1996;20:1161-81.
5. GLUPCZYNSKY Y, LABBÉ M, HANSEN M et al: Evaluation of the E test for quantitative antimicrobial susceptibility testing of

*Helicobacter pylori*. J Clin Microbiol 1991;29:2072-5.

6. MARSHALL BJ, WARREN JR: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984; i: 1311-1314.

7. WALT JH, PETERSON WL: The treatment of *Helicobacter pylori* infection in the management of peptic ulcer disease. N. Engl. J Ed 1995;333:984-91.

8. NIH Consensus Development Panel: *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA 1994;272:65-9.

9. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. Gut. 1997;41:8-13.

10. GLUPCZYNSKI Y, LANGENBERG W, DANKERT J, and the European Study Group on Antibiotic Susceptibility of *Helicobacter pylori*: Results of a multicenter European survey in 1991 of metronidazole resistance to *Helicobacter pylori*. Eur. J. Clin. Microbiol Infect. Dis. 1991;11:777-781

11. MÉGRAUD F (APT): Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics. Aliment Pharmacol Ther 1997;11(Suppl 1):43-53

12. LING TKW, CHENG AFB, SUNG JJY, et al: An increase in *Helicobacter pylori* strains resistant to metronidazole: A 5 year study. Helicobacter 1996;1:57-61

13. KARIM QN, LOGAN RPH: Emerging patterns of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) antimicrobial resistance in Europe. Gut 1996; 39:A51. (abst)

14. REDDY R, OSATO M, GUTIERREZ O, KIM JG, GRAHAM DY: Metronidazole resistance is high in Korea and Colombia and appears to be rapidly increasing in the US. Gastroenterology 1996;10:A236.(abst)

15. ROSARIO M, MACHADO CAETANO J, MAROTE G, ALVES

SILVA J, PESSANHA M, MACHADO CAETANO J: *Helicobacter pylori* antibiotic sensitivity profile in a Portuguese population. Am J Gastroenterol 1997;92:1624. (abst)

16. CABRITA J, OLEASTRO M, MANHENTE A, CHAVES S, PIRES I: Evolution of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Portugal (1990-1997). Gut 1997;41:A99.(abst)

17. HYDE DK, BUCKLEY MJ, O'MORAIN CA: Clinical relevance of antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori* infection. In: Moran AP, O'Morain CA ed. Pathogenesis and host response in *Helicobacter pylori* infections. 1st ed. Bad Hamburg, 1997:230-241.

18. GLUPCZYNSKI Y, BURETTE A, KOSTER E, NYST J-F, DELTENRE M, CADRANEL S, BOURDEAUX L, DEVOS D: Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. Lancet. 1990;335: 976-977

19. OLSON C, EDWARDS A: Primary susceptibility of *H. pylori* to clarithromycin compared to metronidazole in patients with duodenal ulcers associated with *H. pylori*. Gastroenterology 1995;90:1589

20. LERANG F, MOUM B, HAUG JB et al: Highly effective twice-daily triple therapies for *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease: Does in vitro metronidazole resistance have any clinical relevance. Am J. Gastroenterol 1997;92:248-53.

21. GRAHAM DY, LEW GM, MALATY HM et al: Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. Gastroenterology 1992;102:493-6

22. CUTLER AF, SCHUBERT TT: Patient factors affecting *Helicobacter pylori* eradication with triple therapy. Am J Gastroenterol 1993;88:505-9.

23. MÉGRAUD F: How should *Helicobacter pylori* infection be diagnosed. Gastroenterol 1997;113:S93-98.