

GENES DE VIRULÊNCIA EM *Helicobacter pylori*: COMPONENTES ESTRUTURAIS E MÉTODOS DE DETECÇÃO.

Jéssica Alves Rodrigues¹
Natália Alves Pires de Campos¹
Bruno Batista dos Santos¹
Amanda Ferreira Paes Landim¹
Jaqueline Correia Pontes¹
Lucas Luiz de Lima Silva¹
Igor Marques Cesário Calassa¹
Ana Karoline Silva Oliveira¹
Silvana Barbosa Santiago²
Lílian Carla Carneiro¹
Mônica Santiago Barbosa¹

RESUMO: *Helicobacter pylori* é uma bactéria Gram negativa que coloniza a mucosa gástrica humana, tem sido associada com gastrites, úlceras e é um importante fator de risco para o desenvolvimento do câncer gástrico. A infecção pelo microrganismo depende não só de fatores ambientais, mas também de fatores genéticos do hospedeiro e da bactéria. Assim, fatores de virulência produzidos por *H. pylori*, têm sido alvo de várias pesquisas científicas, tais como o gene *cagA*, que codifica uma citotoxina associada A e está envolvido com aumento do processo inflamatório; o gene *vacA* que codifica uma citotoxina vacuolizante; o gene *babA* que codifica uma proteína de adesão bacteriana que se liga ao antígeno Lewis-b, e os genes *dupA*, *sabA* e *oipA* que parecem envolvidos no desenvolvimento de úlceras duodenais e adesão da bactéria ao epitélio gástrico. Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar e descrever os fatores de virulência de *H. pylori*, bem como relatar os diferentes métodos de identificação dos genes de virulência. Trata-se de uma revisão bibliográfica, onde o levantamento de dados foi realizado através de artigos científicos oriundos das bases de dados indexadas. Os resultados demonstram a associação dos genes de virulência da bactéria com diversas patologias gástricas, contudo, o estudo deve ser estendido, com a elaboração de estudos de meta análise, bem como estudos de análise molecular para avaliar a frequência desses genes de virulência em diversas populações e associa-los as diferentes formas clínicas encontradas em pacientes dispépticos.

Palavras chave: Fatores de virulência, diagnóstico molecular, mucosa gástrica, patologias.

ABSTRACT: *Helicobacter pylori* is a Gram-negative bacterium that colonizes the human gastric mucosa, has been associated with gastritis, ulcers and is an important risk factor for the development of gastric cancer. Infection by the microorganism depends not only on environmental factors, but also on genetic factors of the host and bacteria. Thus, virulence factors produced by *H. pylori* have been the subject of several scientific studies, such as the *cagA* gene, which codes for an associated cytotoxin A and is involved with an increase in the inflammatory process; the *vacA* gene encoding a vacuolating cytotoxin; the *babA* gene encoding a bacterial adhesion protein that binds to the Lewis-b antigen, and the *dupA*, *sabA* and *oipA* genes that appear to be involved in the development of duodenal ulcers and adhesion of the bacterium to the gastric epithelium. Thus, the

¹Universidade Federal de Goiás – UFG- Goiânia – GO _ Rua 235, S/N, Setor Leste Universitário. CEP: 74605050. Laboratório de biotecnologia bacteriana. Endereço para Correspondência: santiagosant@gmail.com.

²Instituto Federal de Goiás – Câmpus-Goiânia Oeste 863, Avenida C-198, 743 - Jardim América, Goiânia - GO, CEP 74270-040

present work had as objective to analyze and describe the virulence factors of *H. pylori*, as well as to report the different methods of identification of virulence genes. This is a bibliographical review, where the data collection was carried out through scientific articles originating from the indexed databases. The results demonstrate the association of bacterial virulence genes with several gastric pathologies, however, the study should be extended with the elaboration of meta-analysis studies, as well as molecular analysis studies to evaluate the frequency of these virulence genes in several populations and associates them with the different clinical forms found in dyspeptic patients.

Key words: Factors of virulence, molecular diagnosis, gastric mucosa, pathologies.

1. INTRODUÇÃO

Helicobacter pylori foi isolada pela primeira vez da mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica e úlcera péptica, pelos pesquisadores Marshall e Warren. Tal descoberta proporcionou aos cientistas o Prêmio Nobel de Medicina em 2005 e reformulou o pensamento convencional de que seria impossível a existência de bactérias colonizadoras no estômago, devido à sua alta acidez (BARBOSA; SCHINONNI, 2011; NIEDERLE; MOREIRA, 2013).

H. pylori é uma bactéria Gram negativa, pode ser encontrada nas formas espiral ou bacilar em culturas frescas ou se adaptar em formato cocóide em culturas mais velhas. Seu tamanho é variável, medindo de 0,5 a 11µm de largura e 2,5 a 5µm de comprimento; possui de 4 a 6 flagelos polares com bainha e bulbo terminal que a confere grande mobilidade. Os flagelos possuem cerca de 3µm de comprimento, que associados ao seu formato de hélice espiralada permitem a *H. pylori* penetre a camada de muco que protege o epitélio gástrico. (GRAHAM, 1994; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009; LIMA; RABENHORST, 2009; BARBOSA;SCHINONNI, 2011).

A infecção por *H. pylori* possui distribuição cosmopolita, afeta mais de 50% da população mundial, ocasionando cerca de um milhão de mortes por ano. A prevalência varia de acordo com a raça, idade e nível socioeconômico, estima-se que em países em desenvolvimento cerca de 80% dos adultos estejam infectados. A prevalência da infecção está relacionada as condições de vida, saneamento básico e a exposição dos indivíduos a bactéria, o que normalmente acontece na primeira fase da vida. (KODAIRA; ESCOBAR; GRISI, 2002; LADEIRA; SALVADORI; RODRIGUES, 2003).

As vias de transmissão da *H. pylori* ainda não estão totalmente esclarecidas, no entanto sabe-se que o estômago é o seu principal reservatório nos seres humanos. A transmissão ocorre normalmente de indivíduo para indivíduo e mais comumente em crianças. Os principais meios de transmissão são através das vias: oral-oral, fecal-oral, gástrica-oral e iatrogênica, que ocorre através de instrumentos endoscópicos contaminados (GUIMARAES; CORVELO; BARILE, 2008; MAZZOLENI et al., 2010).

H. pylori é um patógeno bem adaptado, persistindo no hospedeiro mesmo com ação do sistema imunológico, isso se dá devido à presença de regiões hipervariáveis em genes codificantes para estruturas que permite a bactéria evadir-se das respostas imunológicas, principalmente através da alteração de seus antígenos de superfície. As manifestações clínicas da infecção por *H. pylori* irão depender da relação parasito-hospedeiro, determinada por diversos fatores, entretanto a persistência do microrganismo no trato gastrointestinal leva ao aumento do risco de desenvolvimento de diversas doenças, como: gastrite crônica, gastrite atrófica e úlcera péptica. Além disso, a infecção por *H. pylori* é considerado um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer gástrico, sendo este microrganismo classificado pela OMS como um carcinógeno do tipo I (GASCHE et al., 2001; PETERSON, 2013; FRENCK; CLEMENS 2003; FRUGIS et al., 2016; TRINDADE et al., 2017).

O genoma do *H. pylori* é de aproximadamente 1,7 Mbp, após o seu sequenciamento, pesquisadores identificaram uma grande diversidade genômica de cepas deste microrganismo. Além disso, foram identificados genes que codificam fatores de virulência, os quais interagem com o hospedeiro e estão relacionados diretamente com o desenvolvimento e agressividade dos diversos tipos de lesões gástricas induzidas pela infecção por *H. pylori*. (BONECA et al., 2003; BARBOSA e SCHINONNI, 2011; MATSUNARI, 2012).

Desta forma o objetivo deste estudo foi analisar e descrever os genes de *H. pylori*, responsáveis pelos fatores de virulência das diferentes cepas, além de relatar os diferentes métodos de detecção da bactéria e identificação gênica.

2. MÉTODOS

O estudo tratou-se de uma revisão bibliográfica, o levantamento de dados foi realizado através de consultas a livros e periódicos, bem como artigos científicos oriundos das bases de dados

indexadas: Scientific Electronic Library Online - SciELO, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde - LILACS, Medical Literature Analysis and Retrieval System on-line - MEDLINE. Os descritores empregadas para busca nas bases de dados foram: *Helicobacter pylori*, diagnóstico molecular, mucosa gástrica, patologias, virulência.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Genoma

H. pylori, possui considerável importância como patógeno, apresenta-se com um cromossomo circular, onde há 1.667.867 pares de bases, possuindo mecanismos de replicação, secreção e divisão celular parecidos ao das bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Haemophilis influenzae*. Até o momento dois genomas de *H. pylori* foram completamente sequenciados (*H. pylori* 26695 e *H. pylori* J99). Apesar de suas características gerais serem semelhantes, essas duas cepas apresentam origem diferente, a 26695 foi isolada no Reino Unido no começo dos anos 80, e a J99, nos EUA, em 1994. As cepas de *H. pylori* possuem sistemas desenvolvidos que favorecem a motilidade, eliminação do ferro, além de restringir e modificar o DNA. Sua membrana externa expressa proteínas específicas, que possuem papel importante na complexidade da interação patógeno-hospedeiro. (BRUCE et al., 1997; SALAMA et al., 2000; TOMB, et al., 1997; MOBLEY et al., 2001)

No mapa genômico da bactéria, são encontradas várias sequências de múltiplos genes, tendo como principal os que codificam a proteína urease estrutural e acessórias, além de citotoxina como as proteínas *VacA* e *CagA*, que são importantes fatores de virulência. Cerca de 40% dos isolados de *H. pylori* possuem plasmídeos, onde podem ter de 1,5 a 23,3 pares de base, entretanto, ainda não foi reconhecido nenhum fator de virulência (SALAMA et al., 2000; MOBLEY et al., 2001).

3.2 Genes de virulência

H. pylori possui genes de virulência que estão correlacionados com as diversas patologias gástricas. A codificação de diferentes fatores de virulência acontece devido as variações genômicas das cepas, o que acarreta em diversos tipos de lesão no hospedeiro (PORTELA; RABENHORST, 2018).

3.2.1 Genes da Urease

H. pylori é sensível ao pH ácido, portanto quando chega ao estômago a bactéria inicia rapidamente a produção de urease. A urease é uma enzima capaz de catalisar a hidrólise de ureia em amônia e dióxido de carbono. A amônia, quando secretada, interage com os prótons liberados pelas células parietais, presentes nas glândulas gástricas, ocasionando o aumento do pH na membrana celular da bactéria e nas áreas próximas do local de colonização. Além de neutralizar o ácido gástrico, a amônia gerada pela urease também danifica o epitélio gástrico. Foram identificados sete principais genes constitutivos relacionados à produção de urease pela bactéria. Os genes *ureA* e *ureB* que codificam as duas subunidades que compõe a enzima, e os genes *ureE*, *ureF*, *ureG* e *ureH*, que codificam proteínas acessórias importantes na ativação da urease. O gene *ureI* codifica uma proteína presente na membrana externa do *H. pylori*, essa proteína funciona como um canal, atuando na internalização da ureia. Os íons de níquel necessários para a atividade da urease são transportados pela membrana citoplasmática por uma proteína de alta afinidade, *nixA*, codificada pelo gene *nixA* (LADEIRA; SALVADORI; RODRIGUES, 2003).

3.2.2 Gene *CagA*

O gene *cagA* (*cytotoxin associated gene A*) foi o primeiro a ser identificado em *H. pylori*, está localizado em uma região do DNA bacteriano chamada de ilha de patogenicidade *cag* (*cagPAI*). O gene *cagA* induz a produção de uma citotoxina chamada de proteína *cagA*. Essa proteína atua como um antígeno altamente imunogênico, portanto cepas *cagA* positivas, geralmente são mais virulentas e induzem maior expressão de citocinas, como: IL-8 e IL-1 β . Tal proteína é injetada na célula hospedeira, e isso induz alterações da fosforilação de tirosinas, nas vias de sinalização e transdução de sinal para o núcleo, o que resulta em alterações morfológicas e rearranjos do citoesqueleto (SOZZI et al., 2005).

O gene em questão apresenta diferentes subtipos relacionados ao número de pares de bases existentes no mesmo, isso acontece pelo fato de sua região 3' ter número variável de sequências repetitivas, sendo assim, há: *cagA* subtipo A (621-651pb), subtipo B (732-735 pb), subtipo C (525pb) e subtipo D (756 pb). Essas variações estruturais podem estar diretamente ligadas aos diferentes potenciais patogênicos do gene. As doenças mais relacionadas à essa cepa são: câncer gástrico e úlcera duodenal, pelo fato desse tipo de cepa desencadear uma resposta inflamatória intensa (YAMAOKA, 2008; PORTELA; RABENHORST, 2018; DADASHZADEH et al., 2018).

3.2.3. Gene *cagE*

O *cagE* (*cytotoxin associated gene E*) é um gene que se localiza na extremidade direita do *cag-PAI*, acima do *cagA* e é responsável por induzir secreção de IL-8 a partir de células gástricas epiteliais do hospedeiro infectado. Esse gene é um biomarcador de patogenicidade e apresenta melhor marcador que *cagA*. Além disso o gene *cagE*, é responsável por codificar uma proteína, localizada na membrana interna da bactéria, tal proteína tem propriedade de ATPase, fornecendo energia para a síntese do sistema de transporte de substância da bactéria (SOZZI et al., 2005; RAMIS et al., 2013).

3.2.4. Gene *baba*

Embora tenham sido identificados três alelos de *bab* (blood group antigen): *babA1*, *babA2* e *babA3*, apenas o produto do gene *babA2* é considerado funcionalmente ativo pelo fato de ser o único capaz de induzir uma proteína que é capaz de se ligar ao antígeno Lewis-b. Esse gene é um dos mediadores responsáveis pela aderência do *H. pylori* nas células gástricas, e apesar de ser bastante relevante tem pequena propensão de induzir câncer (DADASHZADEH et al., 2018).

3.2.5. Gene *iceA*

Outro gene de virulência é o *iceA* (*induced by contact with epithelium gene*), que apresenta duas variantes: *iceA1* e *iceA2* com diferentes distribuições geográficas. O gene foi identificado pelo fato de que quando entra em contato com o epitélio é transcricionalmente super regulado, ou seja, é regulado de forma positiva no contato do *H.pylori* com células epiteliais humanas e pode estar associada a úlcera péptica (HUANG, et al., 2016).

3.2.6. Gene *vacA*

Esse gene (*vacuolating cytotoxin A*) é o segundo fator de virulência mais amplamente investigado. Ele induz diversas atividades celulares, inclusive a vacuolização da célula, interrupção das funções endossomais e lisossomais, formação de canais de membrana, imunomodulação e apoptose. Ele é considerado um fator de virulência de grande importância na patogênese do câncer gástrico e da úlcera péptica (DADASHZADEH et al., 2018).

O *vacA* apresenta duas variáveis (S e M). A região S possui dois alelos: *s1* ou *s2*, sendo que para o *s1* existem três subtipos: *s1a*, *s1b*, *s1c*. Essa região está localizada na extremidade 5' da cadeia e codifica o peptídeo sinal. Já a região M (média) possui dois alelos: *m1* ou *m2*. As diferentes combinações dos alelos das duas regiões é o que determina a produção da citotoxina, responsável pelo grau de virulência da bactéria. As cepas com genótipo *vacA s1m1* apresentam maior quantidade de citotoxina e as cepas com genótipo *vacA s2m2* produzem pouca ou nenhuma citotoxina (DADASHZADEH et al., 2018).

3.2.7. Gene *oipA*

O gene *oipA* (*outer inflammatory protein gene*) é uma proteína inflamatória externa, ou seja, está relacionado com processos inflamatórios e está associado a úlcera péptica, devido a esse aumento da inflamação e secreção de IL-8. É encontrado no cromossomo da bactéria e pode apresentar tanto o gene funcional como o não funcional. O funcional é regulado pelo “slipped strand” que é um mecanismo de reparo que depende do número de dinucleotídeos CT repetidos na região 5' do gene. Sabe-se que o funcional apresenta 6 e 9 dinucleotídeos CT repetidos e o não funcional apresenta 5 e 7. (YAMAOKA et al., 2008)

3.2.8. Gene *dupA*

O *dupA*, conhecido como o gene promotor da úlcera duodenal foi identificado em 2005 como primeiro fator de virulência da doença citada. Estudos relatam uma associação entre o gene *dupA* e a produção elevada de interleucina-8 (IL-8) a partir de células epiteliais *in vivo*. Também há relatos de que esse gene tem efeito supressivo sobre o câncer gástrico (ABADI; PEREZ-PEREZ, 2016; YAMAOKA, 2008).

3.2.9. Gene *sabA*

O gene *sabA* (*sialic acid binding adhesin A*) codifica uma das proteínas da membrana externa da *H. pylori*, chamada de proteína *sabA*, é uma adesina que se liga ao ácido salicílico, o qual se liga ao antígeno sialil-Lewis-x da célula epitelial gástrica humana. As glicoproteínas desse antígeno estão associadas ao processo inflamatório e agem como receptores para selectinas expressas na superfície dos leucócitos, mediando assim, sua migração para o local da inflamação. O gene pode ser funcional ou não, sendo que o não funcional geralmente codifica pequenos

fragmentos que não se ligam ao epitélio gástrico (YAMAOKA, 2008; DADASHZADEH et al., 2018).

3.3 Métodos para detecção de genes de virulência

Após a identificação da infecção por *H. pylori* é possível realizar a caracterização dos genes de virulência, para assim correlacioná-los com as possíveis patologias e os melhores métodos de intervenção e tratamento da infecção. Para realizar essa detecção é necessário realizar a extração do DNA da bactéria dos tecidos gástricos e após realizar a amplificação *in vitro*, utilizando iniciadores (primers) que sinalizam a sequência a ser amplificada, possibilitando assim a identificação dos diversos genes constituintes da bactéria (MENEZES, 2015).

Para a detecção dos genes de virulência a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é a mais utilizada devida à sua alta especificidade e sensibilidade, além de utilizada para a detecção de genes que confere a bactéria resistência aos antibióticos. Apesar dessas características, a PCR não é uma técnica ainda utilizada para o diagnóstico padrão da infecção, pois possui um alto custo e apresenta algumas dificuldades de padronização (KANNA et al, 2013).

A técnica de PCR consiste em diversas variações que buscam aperfeiçoar a amplificação nos diversos materiais genéticos existentes. Entre elas temos a PCR em tempo real, Hot Start PCR, Touch-down PCR, Nested PCR, RT-PCR e Multiplex PCR. A técnica de PCR em tempo real consiste na amplificação dos genes tanto de DNA como de RNA, o resultado é visualizado imediatamente, dispensando a eletroforese como no caso da PCR convencional. Isto é possível pela adição de sondas fluorescentes às reações de PCR diminuindo o tempo de análise do produto da amplificação e reduz também o risco de contaminação da amostra. (NOVAIS; PIRES-ALVES; SILVA 2004).

Durante a amplificação podem surgir produtos inespecíficos devido aos primers se ligarem em regiões inespecíficas e não complementares aos seus genes, assim foi desenvolvida a Hot Start PCR que durante a reação a enzima Taq-polimerase é separada dos demais componentes, entrando em atividade apenas na desnaturação das fitas minimizando assim essa ligação equivocada dos

primers. Já o Touch-down PCR é utilizado quando não se conhece a temperatura ideal para o anelamento dos primers e então o termociclador é programado para diminuir as temperaturas gradualmente (ROSSETTI et al., 2006).

A reação de Nested PCR é muito utilizada quando a quantidade de material genético é muito pequena e então é utilizado o produto de uma amplificação anterior para aumentar a sensibilidade e especificidade da reação. (FERREIRA, 2013)

A RT-PCR é uma variação da PCR convencional que consiste na amplificação do RNA mensageiro, que foi transcrito através da enzima transcriptase reversa para um cDNA. Através desse DNA complementar (cDNA) várias fitas duplas de DNA são formadas. A RT-PCR consiste em um método sensível e específico capaz de determinar um gene específico em um processo patológico (ROSSETTI et al., 2006).

A Multiplex PCR consiste em uma amplificação simultânea de vários genes no mesmo tubo. Isso é possível, pois durante a Multiplex PCR vários pares de primers são utilizados sinalizando assim várias regiões do DNA a ser amplificado. É uma técnica muito utilizada, pois foi desenvolvida para reduzir o custo e o tempo da reação, já que diversas regiões do DNA podem ser amplificadas simultaneamente (ROSSETTI et al., 2006; KANNA et al., 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo visou correlacionar a infecção de *H. pylori* com patologias gástricas, tais como gastrite, úlcera e câncer gástrico. O levantamento de dados enfatizou a relevância dos genes de *cagA*, *cagE*, *babA*, *iceA*, *vacA*, *oipA*, *vir B11* e *vir D4*, *dupA*, *sabA*, *urease*. O genoma da bactéria é altamente variável e com considerável diversidade alélica, isso resulta em uma expressão diferencial dos genes de virulência da bactéria, o que justifica o fato de algumas cepas serem mais virulentas do que outras, ocasionando diferentes manifestações clínicas.

Os genes *cagA* e *vacA* são considerados importantes fatores de virulência e foram os primeiros a serem identificados. O *cagA* quando positivo geralmente é mais virulento e indutor de maior expressão de citocinas, já o *vacA* é responsável pela indução de diversas atividades celulares, inclusive a vacuolização celular, e possui grande importância na patogenicidade da úlcera péptica e do câncer gástrico.

Os genes codificantes para a urease, denominados *ureA*, *ureB*, *ureE*, *ureF*, *ureG* e *ureH* e *ureI*, desenvolvem importante papel no processo de adaptação da *H. pylori* no ambiente gástrico, que é bastante hostil, uma vez que a mesma não é acidófila, sendo assim, um é fator de virulência e de manutenção da bactéria na mucosa gástrica. Os genes *sabA* e *babA* são adesinas, sendo que *sabA* também tem importante papel na inflamação.

As vias de transmissão da *H. pylori* ainda permanecem desconhecidas, todavia as evidências demonstram que a bactéria possui uma afinidade pelas células da mucosa gástrica e são capazes de sobreviver ao ambiente hostil através de mecanismos de adaptação como as ureases e catalases, os quais são responsáveis por desencadear algumas doenças, como gastrite crônica, úlceras pépticas e câncer.

A infecção causada por *H. pylori* é considerada um problema de saúde pública mundial e apresenta maior prevalência entre os países em desenvolvimento, devido sua transmissão estar relacionada as condições sócio econômicas. A erradicação da bactéria é considerada uma medida profilática para o desenvolvimento do câncer gástrico.

O diagnóstico precoce da bactéria em rotina clínica, por meio de técnicas moleculares, que são extremamente sensíveis e específicas, como a reação em cadeia polimerase, acarretaria em uma melhora no prognóstico e qualidade de vida dos pacientes. Contudo, a elaboração de estudos análogos a este deve ser estendida, bem como estudos de análise molecular em diversas populações para que se possa ter maior sobre os fatores de virulência de *H. pylori* e o desenvolvimento de patologias gástricas.

REFERÊNCIAS

- ABADI, A.T.B; PEREZ-PEREZ, G. Role of *dupA* in virulence of *Helicobacter pylori*. **World J Gastroenterology**, [S.L], v. 22, n. 46, p. 10118–10123, 2016.
- BARBOSA, J. A.; SCHINONNI, M. I. *Helicobacter pylori*: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. **Rev. de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 10, n. 3, p. 254-262, 2011.
- BONECA, I.G, et al. A revised annotation and comparative analysis of *Helicobacter pylori* genomes. **Nucleic Acids Res.,Oxford**, v.31, n.6, p.704–1714, 2003.

BRUCE E. DUNN, HARTLEY COHEN, AND MARTIN J. BLASER. *Helicobacter pylori* **Clinical Microbiology Reviews**, Vol. 10, No. 4 , p. 720–741, 1997.

DADASHZADEH, K.; PEPPELENBOSCH, M. P.; ADAMU, A.I. *Helicobacter pylori* Pathogenicity Factors Related to Gastric Cancer. **Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 2017, n. 7942489, p. 1-6, 2018.

FERREIRA, A.W. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Autoimunes**. 3 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2013.

FRENCK R.W.; CLEMENS J. *Helicobacter* in the developing world. **Microbes Infect**, v.5: p.705-713, 2003.

FRUGIS S, et al. Prevalência do *Helicobacter pylori* há dez anos comparada com a atual em pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta. **Arq Bras Cir Dig**, v.20 n.3, p.151-154, 2016.

GASCHE, C, et al. Oxidative stress increases frameshift mutations in human colorectal cancer cells. **Cancer Res**, v.61 p.7444 - 448, 2001.

GUIMARAES, J; CORVELO, T. C; BARILE, K. A. *Helicobacter pylori*: fatores relacionados à sua patogênese. **Rev. Para. Med.**, Belém, v. 22, n. 1, p. 33-38, 2008.

GRAHAM, D. Y. Benefits from elimination of *Helicobacter pylori* infection include major reduction in the incidence of peptic ulcer disease, gastric cancer, and primary gastric lymphoma. **Preventive Medicine**. v. 23, p. 712-716, 1994.

HUANG, X, et al. Relationship between the *iceA* gene of *Helicobacter pylori* and clinical outcomes. **The Clin Risk Manag**, [S.L], v. 12, n. 7, p. 1085–1092, 2016.

KANNA, S.; MARADEY-ROMERO, C.; FASS, R. Diagnostic Testes for *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology & Endoscopy News**, p. 51-58, 2013.

KODAIRA, M.S.; ESCOBAR, A.M.U; GRISI, S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Revista Saúde Pública**, v. 36, p. 356- 369, 2002.

LADEIRA, M. S. P; SALVADORI, D. M. F; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 39, n. 4, p. 335-342, 2003.

LIMA, P. V.; RABENHORST, S. H. B; Genes Associados à Virulência de *Helicobacter Pylori*. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v.55, n. 4, p. 389-396. 2009.

MATSUNARI. O, et al. Association between *Helicobacter pylori* virulence factors and gastroduodenal diseases in Okinawa, Japan. **Journal of clinical microbiology**, v. 50, n. 3, p. 876-883, 2012.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia medica**. 6. ed. Rio de Janeiro (RJ): Elsevier, 2009.

- MOBLEY, H.L.T.; MENDZ G.L.; HAZELL S.L. *Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics. Washington (DC): ASM Press, 2001.
- MAZZOLENI, L. E, et al. Tratamento e retratamento do *Helicobacter pylori*. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 67, n. 5, p. 153-164, 2010.
- MENEZES, G. D. L, et al. Aplicações da Biologia Molecular no Diagnóstico de *Helicobacter Pylori*: Revisão da Literatura. **Saúde**, v. 1, n. 01, p. 132-140, 2015.
- NIEDERLE, R.; MOREIRA, A. C. O PERIGO PODE ESTAR NO ESTÔMAGO: *Helicobacter pylori*. Aspectos Epidemiológicos, Patológicos, de Tratamento e Preventivos. **Revista Contexto & Saúde**, v. 10, n. 19, p. 59-66, 2013.
- NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES, M.; SILVA, F. F. PCR em tempo real. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, p. 10-13. 2004.
- PETERSON, W. L. Review article: *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. **Aliment. Pharmacol. Ther.** v. 57 ,p. 607–611, 2013.
- PORTELA; RABENHORST, S. B. Genes Associados à Virulência de *Helicobacter Pylori*. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Fortaleza, v. 4, n. 55, p. 226-230, 2018.
- RAMIS, I. B, et al. *CagE* as a biomarker of the pathogenicity of *Helicobacter pylori*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 2, p. 37-45, 2013.
- ROSSETTI, M. L, et al. **Doenças infecciosas: Diagnóstico Molecular**. 1ª ed. Editora Guanabara Koogan, 2006.
- SALAMA, N, et al. A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. **PNAS**, Stanford, v. 97, n. 26, p. 14668–14673, 2000.
- SOZZI M, et al. Heterogeneity of *cag* genotypes and clinical outcome of *Helicobacter pylori* infection. **J Lab Clin Med**. v.146 p.262 – 270, 2005.
- TOMB, J. F, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. **Nature international journal of science**, 1997.
- TRINDADE L. M. D. F., et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Samples of Gastric Biopsies. **Gastroenterol Res** v.10 n.1 p. 33-41, 2017.
- YAMAOKA, H. Roles of *Helicobacter pylori BabA* in gastroduodenal pathogenesis. **World J Gastroenterol**, v.27, n. 14, p. 4265–4272, 2008.

