

## Résistance aux antibiotiques de *Helicobacter pylori* à l'île de La Réunion : conséquences thérapeutiques.

S. Picot (1), G. Sapin (1), A. Michault (1), B. Faulques (2), J. P. Becquart (2),  
C. Simac (1), C. Amat (3) & E. Ancelin-Malbreil (3)

(1) Laboratoire de bactériologie parasitologie virologie, Groupe hospitalier Sud Réunion, BP 350, 97448 Saint Pierre Cedex, La Réunion, France.

Tél: 33 (0)2 62 35 90 59. Fax: 33 (0)2 62 35 91 10. E-mail : bacterio@ch-sudreunion.fr. Correspondance : A. Michault

(2) Service de gastro-entérologie, Groupe hospitalier Sud Réunion, BP 350, 97448 Saint Pierre Cedex, La Réunion, France.

(3) Laboratoire d'anatomopathologie, Groupe hospitalier Sud Réunion, BP 350, 97448 Saint Pierre Cedex, La Réunion, France.

Manuscrit n°2355. "Bactériologie". Reçu le 3 septembre 2001. Accepté le 2 mai 2002.

**Summary:** Susceptibility of *Helicobacter pylori* to antibiotics in Reunion island and effects on eradication.

The aims of this paper were to assess resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics included in the so-called French triple regimens and to identify the possible causes of therapeutic failure in Reunion island. Antibiotic resistance was determined for 109 strains. All the strains were sensitive to amoxicillin and tetracycline, 93.6% were sensitive to ciprofloxacin, 92.7% to erythromycin and 60.6% to metronidazole. Fifty three patients who had previously tested positive for *H. pylori* received for one week regimen of amoxicillin (1g bd), clarithromycin (0.5g bd) and omeprazole (20 mg bd). Eradication rate after therapy was of 73.6%. Therapeutic failure was analysed for 9 patients using random amplified polymorphic DNA and the presence or not of antibiotic resistance. One cause of failure is clarithromycin resistance. These data show that triple therapy can be used in Reunion Island. In case of failure, sensitivity must be detected because the rate of resistance to metronidazole is over 30%.

**Résumé :**

A La Réunion, aucune étude n'avait été effectuée sur les résistances d'*Helicobacter pylori* aux antibiotiques, ni sur les causes de l'échec thérapeutique; cent-neuf antibiogrammes ont été réalisés. Cent pour cent des souches isolées étaient sensibles à l'amoxicilline et à la tétracycline, 93,6 % à la ciprofloxacine, 92,7 % à l'érythromycine, 60,6 % au métronidazole. Pour 53 patients positifs à *H. pylori* avant traitement, le taux d'éradication a été de 73,6 % après traitement (amoxicilline, clarithromycine, oméprazole). L'échec thérapeutique a pu être analysé pour neuf patients à partir des données des antibiogrammes avant et après traitement, ainsi que pour huit de ces malades sur le profil obtenu par la technique random amplified polymorphic DNA. L'une des causes d'échec est la résistance à l'érythromycine. Le protocole d'éradication de *H. pylori* recommandé par la conférence nationale de consensus peut donc être utilisé à La Réunion. En cas d'échec thérapeutique, il faudra tester la sensibilité de la souche isolée sur une biopsie de contrôle, en raison notamment du pourcentage élevé de résistance au métronidazole.

therapeutic failure  
*Helicobacter pylori*  
resistance  
Reunion Island  
Indian Ocean

échec thérapeutique  
*Helicobacter pylori*  
résistance  
La Réunion  
Océan Indien

### Introduction

Le diagnostic d'infection par *Helicobacter pylori* est le plus souvent réalisé par un test rapide à l'uréase ou lors de l'examen histopathologique. Les malades sont alors traités suivant les protocoles thérapeutiques définis par la conférence nationale de consensus. Cependant, l'une des principales causes de l'échec thérapeutique est due aux résistances primaires. Aucune étude n'ayant été réalisée à l'île de La Réunion sur les résistances de *H. pylori* nous avons recherché les résistances de cette bactérie.

Nos buts étaient de savoir s'il était légitime d'utiliser le schéma thérapeutique proposé par la conférence de consensus et d'essayer de comprendre les causes d'échec.

### Matériels et méthodes

#### Population étudiée

L'étude a été réalisée du 15 décembre 1998 au 15 juillet 1999, chez les patients consultant pour épigastralgie justifiant une endoscopie haute, soit dans un cabinet de gastro-entérologue de Saint-Pierre, soit au Groupe hospitalier Sud Réunion. Les patients n'ayant pas reçu d'antibiothérapie au cours des deux mois précédents, ne prenant pas d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, n'ayant pas d'antécédent d'ulcère gastroduodénal traité par antibiotique et ayant donné leur consentement ont été inclus dans l'étude. Durant cette période, 222 patients (143 hommes, âge moyen : 51 ans; 79 femmes, âge moyen : 51,1 ans)

répondaient aux critères précédents et ont eu des biopsies de l'antre sous fibroscopie.

## Traitement

Chez les patients présentant à l'endoscopie un ulcère gastrique ou bulbaire, le protocole prévoyait deux traitements: soit amoxicilline (1 g x 2) + clarithromycine (500 mg x 2) + oméprazole (20 mg x 2) pendant 7 jours, soit en cas d'allergie aux bêta-lactamines: métronidazole (500 mg x 2) + clarithromycine (500 mg x 2) + oméprazole (20 mg x 2).

## Bactériologie

### Transport, culture, identification

Les biopsies de l'antre prélevées pour culture ont été transportées dans un milieu Portagerm Pylori® (Bio Mérieux) à température ambiante et ensemençées dans les 48 heures. Une biopsie dilacérée a été ensemençée sur gélose Pylori® (Bio Mérieux). La gélose a été incubée à 37 °C pendant 12 jours en jarre sous atmosphère micro aérobie. *H. pylori* a été identifié sur sa morphologie au Gram, la recherche de l'uréase, de l'oxydase et de la catalase.

### Antibiogramme

La détermination des sensibilités a été effectuée sur gélose Mueller-Hinton enrichie par 10 % de sang de mouton. Les colonies ont été mises en suspension dans un bouillon de trypticase-soja additionné de 5 % de sérum de veau foetal pour obtenir un inoculum fort (Mc Farland 3). L'ensemencement des géloses a été réalisé par écouvillonnage. Trois méthodes ont été utilisées pour déterminer la sensibilité.

**Méthode par diffusion en milieu gélosé:** Cette méthode a été utilisée pour déterminer la sensibilité aux macrolides avec un disque d'érythromycine (15 UI), la sensibilité à la ciprofloxacine (disque 5 µg) et à la tétracycline (disque 30 UI). L'interprétation a été faite suivant les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (1999). La lecture a été effectuée après 48 à 72 heures d'incubation. Les souches sont résistantes à la clarithromycine lorsque le diamètre de l'érythromycine est supérieur à 17 mm.

**Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par E. Test®:** cette technique a été employée pour déterminer la CMI de l'amoxicilline. La souche est sensible lorsque la CMI est inférieure à 0,12 mg/l.

**Méthode par dilution simplifiée (point limite):** Le métronidazole à une concentration de 8 mg/l a été inclus dans la gélose Mueller-Hinton 10 % de sang de mouton. Cette gélose a été ensuite pré-réduite pendant 24 heures avant ensemencement.

## Contrôle après traitement

Une nouvelle fibroscopie avec biopsie a été effectuée six semaines après la fin du traitement. Parmi les 75 patients présentant un ulcère gastrique ou bulbaire à l'endoscopie initiale et donc traités, 53 ont eu une biopsie de contrôle, 22 patients ne sont pas revenus pour le contrôle. Quarante-deux de ces 53 patients avaient une culture positive avant traitement.

## Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

Cette technique a été utilisée pour comparer les souches isolées avant et après traitement chez un même malade. La technique utilisée est celle décrite par N. AKOPYANZ *et al.* (1). Une amorce de 10 paires de bases a été utilisée (CCG CAG CCA A). L'extraction de l'ADN a été réalisée selon la technique Quiagen® DNeasy Tissue Kit à partir de suspensions de

culture. La PCR a été réalisée sur 5 µl d'ADN génomique de *H. pylori* auxquels ont été rajoutés 31,5 µl d'eau stérile, 5 µl de tampon PCR 10X (Boehringer®; 100 mM Tris HCl (pH 8,3), 500 mM KCl), 6 µl de solution de MgCl<sub>2</sub> à 25 mM, 1,25 µl de dNTP (concentration finale à 250 mM), 1 µl d'amorce (concentration finale à 0,8 µM), et 0,5 µl de Taq DNA polymerase 5U (Boehringer®). L'ADN a été amplifié dans un thermocycleur Perkin Elmer GeneAmp™ PCR System 2400. Le programme d'amplification était celui préconisé par AKOPYANZ *et al.* (1): 4 cycles (94°C, 5'; 36°C, 5'; 72°C, 5'), 30 cycles (94°C, 1'; 36°C, 1'; 72°C, 2') et un cycle d'élongation finale à 72°C, 10'. La révélation des produits de PCR a été obtenue par électrophorèse de 20 µl d'amplicon dans un gel d'agarose à 2 % contenant 0,5 µg/ml de BET dans du tampon TAE 1X. Les gels ont ensuite été photographiés sous lumière UV.

Le diagnostic histologique a été établi sur coupe après coloration à l'hématéine-éosine-safran. La présence de *H. pylori* a été recherchée sur coupe après coloration de Giemsa et la densité bactérienne estimée en fonction du nombre par champ à l'objectif 40.

La présence de *H. pylori* à l'examen histologique et/ou une culture positive ont été les critères retenus pour définir un patient *H. pylori* positif.

## Statistiques

Le test du  $\chi^2$  a été utilisé pour un intervalle de confiance de 95 %.

## Résultats

**E**n raison de l'absence d'allergie aux bêta-lactamines, tous les patients ont été traités par l'association amoxicilline, clarithromycine, oméprazole.

L'éradication de *H. pylori* a été de 79,2 % à l'examen histopathologique après coloration au Giemsa lorsque *H. pylori* était abondant et de 57,1 % lorsque de rares bacilles par champ étaient présents ( $p = 0,24$  non significatif). Le taux d'éradication de *H. pylori* a été de 80 % pour les ulcères duodénaux, 64,3 % pour les ulcères gastriques ( $p = 0,22$  non significatif) et 66,7 % pour les ulcères gastriques et duodénaux associés.

Cent treize cultures positives parmi les 222 patients inclus dans l'étude ont été obtenues. Cent neuf antibiogrammes ont pu être réalisés, quatre subcultures étant restées négatives.

Les résultats des sensibilités et des résistances sur 109 souches pour les antibiotiques testés sont donnés dans le tableau I.

Parmi les souches résistantes, cinq ont une résistance à l'érythromycine et au métronidazole.

Parmi les 53 biopsies de contrôle chez les patients *H. pylori* positifs avant traitement (culture + ou Giemsa +), 14 révèlent la présence de *H. pylori* (culture + ou Giemsa +), soit un taux d'éradication de 73,6 %.

Après traitement, 11 cultures sur 53 biopsies de contrôle étaient positives. Pour 2 souches, l'antibiogramme n'avait pas été réalisé avant traitement en raison des subcultures restées négatives. Pour ces deux souches, l'antibiogramme montre une sensibilité à tous les antibiotiques testés. Pour six souches qui présentaient une résistance avant traitement à un ou deux antibiotiques (trois souches R à l'érythromycine, deux souches R à l'érythromycine + métronidazole, une souche R au métronidazole), l'antibiogramme est identique après traitement. Deux souches sensibles avant traitement sont aussi sensibles après traitement. Une seule souche montre une modification de l'antibiogramme: avant traitement, sensibilité à tous les

antibiotiques testés, après traitement une résistance au métronidazole.

La technique RAPD a pu être effectuée pour huit malades ayant eu une culture positive avant et après traitement. Pour le neuvième malade, pour lequel la souche avait acquis une résistance au métronidazole, la subculture ayant été impossible, le test n'a pu être réalisé. Pour sept malades, le même profil est obtenu sur les souches isolées avant et après traitement, le profil étant différent pour chaque malade. Pour une souche, le profil est différent avant et après traitement (figure 1).

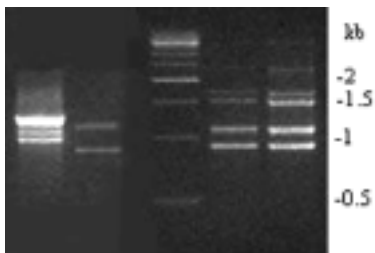
L'impact de la résistance aux macrolides avant traitement sur le taux d'éradication de *H. pylori* est représenté figure 2. Pour les 42 patients ayant eu une culture positive avant traitement, le taux d'éradication global pour ces 42 patients sans tenir compte des résistances est de 71,4 %. Le taux d'éradication est de 76 % pour les patients ayant une souche sensible à tous les antibiotiques testés et de 64,9 % lorsque la souche présente au moins une résistance à un antibiotique testé avant traitement. Aucune des cinq souches résistantes à l'érythromycine ( $\pm$  au métronidazole) n'a été éradiquée lors du traitement. Le traitement par amoxicilline, clarithromycine et oméprazole a été efficace pour 90% des souches résistantes au métronidazole et sur 100 % des souches résistantes à la ciprofloxacine.

## Discussion

De nombreuses études utilisant différentes techniques ont rapporté la sensibilité de *H. pylori* aux antibiotiques. Aucun consensus n'étant décrit à ce jour sur les techniques à utiliser pour tester la sensibilité de *H. pylori* nous avons choisi trois méthodes suivant les antibiotiques testés, après avoir fait une revue de la littérature sur ce sujet. Notre premier choix a porté sur le milieu pour antibiogramme (3, 14) et le milieu pour la mise en suspension des souches (24). Le second choix a été fait sur la méthode d'antibiogramme à utiliser.

Figure 1.

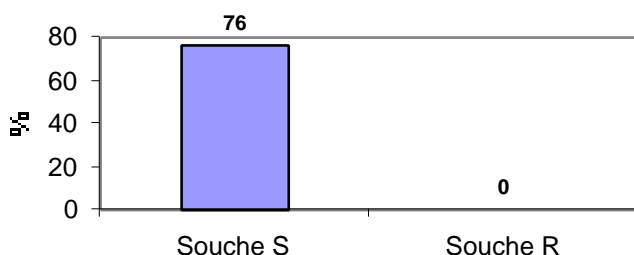
Profils obtenus en random amplified polymorphic DNA sur des souches d'*Helicobacter pylori* isolées chez deux patients avant et après traitement.  
Profiles obtained for random amplified polymorphic DNA on *Helicobacter pylori* strains isolated for two patients before and after treatment.



1-2 : souches avec profils différents chez un patient avant et après traitement, PM : échelle de poids moléculaire  
3-4 : souches avec le même profil chez un patient avant et après traitement

Figure 2.

Taux d'éradication en fonction de la résistance aux macrolides.  
Eradication rate as a function of resistance to macrolides.



Pour l'amoxicilline, la méthode E. Test® a été retenue car il existe quelques souches de sensibilité diminuée (0,5 mg/l) (19) détectées par cette technique. Pour les macrolides, la méthode par diffusion est suffisante car il existe une grande différence de CMI entre souches sensibles et résistantes (21). Pour le métronidazole, la méthode du E. Test® donne des résultats discordants. La méthode la plus appropriée est la méthode de dilution en agar (18) préalablement pré-réduit afin de limiter les variations de sensibilité dues aux modifications du potentiel redox. Pour la ciprofloxacine et la tétracycline pour lesquelles peu de résistances sont décrites, la méthode par diffusion a été utilisée en raison d'une sensibilité suffisante. Enfin nous avons utilisé un inoculum de densité 3 Mc Farland, une incubation de trois jours en atmosphère micro aérobie, conditions les plus fréquemment utilisées (26).

Comme dans d'autres études (23, 27), nous n'avons trouvé aucune résistance à l'amoxicilline et à la tétracycline.

Le pourcentage de résistance à la clarithromycine (7,3 %) situe La Réunion dans les taux moyens européens (Belgique: 15 %, Irlande: 5 % (8), France: 14 %, Angleterre: 5 %, Scandinavie: < 3 % (22)). Le taux est très inférieur à celui du Pérou (50 %) (9), proche de ceux trouvés aux Etats-Unis (8 à 13 %) et en Asie (2 à 10 %) (5) mais supérieur à celui du Canada (3 %) (22). La fréquence des résistances suivant les pays est liée à l'utilisation des macrolides, en particulier dans les traitements des infections respiratoires, comme l'a montrée l'étude de DE KOSTER *et al.* (7) en Belgique où le taux de résistance est passé de 2,2 % en 1990 à 11,1 % en 1996. Ce taux de 7,3 % à La Réunion est certainement dû à une utilisation moindre et plus tardive des macrolides.

Le pourcentage de résistance au métronidazole à La Réunion (39,4 %) situe cette île entre pays développés (Canada: 32 %, Angleterre: 25 %, Australie: 20 %, Amérique du Nord: 20 % (4), Belgique: 30 %, France: 23,9 % (22), Espagne: 7% (8)) et pays en voie de développement (Zaïre: 84 % (8)). Ces différences de niveau de résistance sont liées à l'utilisation des imidazolés dans le traitement des parasitoses, en particulier de l'amibiase. À La Réunion, les enquêtes réalisées dans les écoles pour la recherche des parasitoses intestinales montraient la présence d'*Entamoeba histolytica* dans 5 % des selles en 1969, 2,2% en 1980, 0,6% en 1986-1987 et 0% en 1994. La quasi-disparition de cette parasitose a entraîné une diminution de la prescription des imidazolés (1993 : 42 284 unités de Flagyl®/Flagentyl® prescrits, 1998 : 27 915). Comme dans les études de CAYLA (4), de RAUTELIN *et al.* (25), nous trouvons un taux de résistance plus élevé chez les femmes que chez les hommes. Cette différence est liée aux traitements par imidazolés plus fréquents chez les femmes que chez les hommes en raison des infections gynécologiques (8).

Le taux de résistance à la ciprofloxacine est élevé à La Réunion (6,4 %) comparé au taux de résistance en Europe où il est inférieur à 1 % (21). Une seule étude française réalisée sur une population où 56 % des sujets sont originaires d'Afrique du Nord ou d'Afrique Noire a révélé des taux de résistance très élevés: 40 % (16).

Le pourcentage des souches sont résistantes à la clarithromycine et au métronidazole est de 4,6 %. Un même taux (5 %) est retrouvé en Europe (19).

Avec l'association utilisée (amoxicilline + clarithromycine + oméprazole), le taux d'éradication est de 73,6 %, en accord avec les résultats observés en France: 70 % (17) mais inférieur à d'autres études: 88 % (15), 95 % (11), 96% (10). Dans ces études, la durée du traitement (sept, dix ou 14 jours) ainsi que la posologie sont variables et la sensibilité des souches n'est pas étudiée. Pour les souches résistantes à la clarithromycine

(cinq souches), le taux d'éradication est de 0 %, en accord avec l'étude de CAYLA *et al.* (6) qui trouve, pour une trithérapie avec résistance à la clarithromycine, un taux inférieur à 20 %. L'amoxicilline, bien que sensible sur ces souches, semble peu active alors que l'association amoxicilline-oméprazole donne un taux d'éradication de 50 % (18). L'association amoxicilline-clarithromycine-oméprazole est efficace sur les souches résistantes au métronidazole (taux d'éradication 90,9 %), résultat trouvé dans l'étude de CAYLA (taux d'éradication 95 %) (5).

La résistance primaire aux antibiotiques ne permet pas à elle seule d'expliquer les échecs. Dans notre étude, 35,7 % des souches sont résistantes à la clarithromycine lors d'échec thérapeutique. Le pourcentage de résistance trouvé est habituellement plus élevé (86 % de résistance à la clarithromycine (23)). D'autres facteurs que la résistance primaire interviennent sur le taux d'échec :

- la densité bactérienne: dans les études d'AUROUX *et al.* (2), de MÉGRAUD (20), la densité bactérienne associée à la multiplication des génotypes favorise la résistance au traitement, résultat non trouvé dans notre étude ;

- le diagnostic endoscopique: dans l'étude réalisée au Japon par HABU *et al.* (13), le taux d'éradication est de 91,5 % pour les ulcères duodénaux et de 83,9 % pour les ulcères gastriques. Le type d'ulcère ne suffit donc pas à expliquer le taux d'échec thérapeutique puisque le taux d'éradication dans notre étude est de 80 % pour les ulcères duodénaux et de 64,3 % pour les ulcères gastriques ;

- l'observance : le taux d'éradication des souches sensibles (76 %) est en faveur d'une mauvaise observance du traitement. GRAHAM *et al.* (12) ont montré que le taux d'éradication obtenu était de 96 % chez les patients ayant pris au moins 60 % de la posologie totale et que ce taux chutait à 69 % dans le cas contraire. Pour CAYLA (5), l'observance est le facteur prédictif essentiel du succès thérapeutique. Pour les sept malades pour lesquels les souches isolées avant et après traitement ont le même profil en RAPD, la non-observance est l'hypothèse la plus probable ;

- recontamination: pour le malade pour lequel le profil en RAPD est différent avant et après traitement, une nouvelle contamination a pu avoir lieu après l'arrêt du traitement. Cependant, il est aussi possible que deux génotypes étaient présents avant traitement, un des génotypes ayant une localisation dans la muqueuse moins accessible aux antibiotiques ;

- acquisition de résistance: pour un des patients, l'antibiogramme montre une souche sensible à tous les antibiotiques testés avant traitement et résistante au métronidazole sur la biopsie de contrôle. Pour ce patient, nous n'avons pas pu éliminer de façon formelle la prise de métronidazole pour une autre pathologie entre les deux endoscopies qui aurait pu induire une résistance. Il est aussi possible que deux souches cohabitaient avant le traitement (13) ou une seule souche ayant une résistance hétérogène (28). Enfin, il peut aussi s'agir d'un problème lié à la détection de la résistance aux imidazolés, bien que cette résistance acquise fût vérifiée par renouvellement du test.

## Conclusion

Cette étude épidémiologique montre que l'association amoxicilline - clarithromycine - oméprazole peut être utilisée à La Réunion sans antibiogramme préalable et donne un taux d'éradication proche de celui des études françaises. Le taux de résistance à la clarithromycine (7,3 %) se trouve dans l'intervalle des taux trouvés en Europe. Aucune résistance à

l'amoxicilline n'a été trouvée. La résistance au métronidazole (39,4%) est plus élevée que dans les pays développés, en raison probablement d'une utilisation plus importante de cet antibiotique à La Réunion. En cas d'allergie aux bêta-lactamines, un prélèvement pour culture et antibiogramme semble indispensable avant l'instauration d'un traitement comprenant du métronidazole, le taux de résistance étant supérieur à 30 %. En raison du taux de résistance à la ciprofloxacine, une recherche de résistance avant traitement paraît également souhaitable en cas d'utilisation de celle-ci, mais aussi pour un suivi de l'évolution de sa résistance à La Réunion. Dans cette étude, l'une des causes d'échec thérapeutique est due à la résistance primaire à la clarithromycine. En cas de non-éradication, une recherche de résistance doit être réalisée avant l'instauration d'un nouveau traitement.

## Références bibliographiques

- AKOPYANZ N, BUKANOV NO, WESTBLOM TU, KRESOVICK S & BERG DE - DNA diversity among clinical isolates of *Helicobacter pylori* detected by PCR-based RAPD finger printing. *Nucleic Acids Res*, 1992, **20**, 5137-5142.
- AUROUX J, LAMARQUE D, TANKOVIC J, BENAMOUIZIG R, MAHE S *et al.* - Comparaison de la quantification de l'infection à *Helicobacter pylori* par culture, histologie, et test respiratoire à l'urée marquée au C13. *Gastroentérol Clin Biol*, 1998, **22**, 407-412.
- BUCK GE & SMITH JS - Medium supplementation for growth of *Campylobacter pyloridis*. *J Clin Microbiol*, 1987, **25**, 597-599.
- CAYLA R - Comment éradiquer *Helicobacter pylori* ? *Gastroentérol Clin Biol*, 1996, **20**, 119-130.
- CAYLA R - Eradication de *Helicobacter pylori*. *Hépatogastroenterology*, 1998, **5**, 42-50.
- CAYLA R, ZERBIB F, MÉGRAUD F & LAMOULIATTE H - Clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori* strains before and after treatment: a key factor for treatment failure (abstract). *Gastroenterology*, 1995, **108**, 68.
- DE KOSTER E, COZZOLI A & VANDERBORRE C - *H. pylori* resistance to macrolide increases, to imidazoles remains stable. *Gastroenterology*, 1997, **112**, A 99
- DELTENRE M, DE KOSTER E, CAUCHETEUR OTERO J & JONAS C - Comment éradiquer *Helicobacter pylori* en 1995 ? Revue critique des traitements disponibles. *Gastroentérol Clin Biol*, 1996, **20**, 44-52.
- DUNN BE, COHEN H & BLASER MJ - *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*, 1997, **10**, 720-741.
- GISBERT JP, BOIXEDA D, MARTIN DE ARGILA C, BERMEJO F, REDONDO C & DE RAFAEL L - Erosive duodenitis: prevalence of *Helicobacter pylori* infection and response to eradication therapy with omeprazole plus two antibiotics. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1997, **9**, 957-962.
- GOODWIN CS, MENDALL MM & NORTHFIELD TC - *Helicobacter pylori* infection. *Lancet*, 1997, **349**, 265-269.
- GRAHAM DH, LEVY GM, MALATY HM, EVANS DG, EVANS DJ *et al.* - Factors influencing the eradication of *H. pylori* with triple therapy. *Gastroenterology*, 1992, **102**, 493-496.
- HABU Y, MIZUNO S, HIRANO S, KIYOTA K, INOKUCHI H *et al.* - Triple therapy with omeprazole, amoxicillin and clarithromycin is effective against *Helicobacter pylori* infection in gastric ulcer patients as well as in duodenal ulcer patients. Results of a randomized controlled trial in Japan. *Digestion*, 1998, **59**, 321-325.
- HARTTVIG HARTZEN S, PERCIVAL ANDERSEN L, BREMMELGAARD A, COLDING H, ARP M *et al.* - Antimicrobial susceptibility testing of 230 *Helicobacter pylori* strains: importance of medium, inoculum, and incubation time. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, **41**, 2634-2639.
- LABENZ J, STOLTE M, PEITZ U, TILLENBURG B, BECKER T & BORSCH G - One week triple therapy with omeprazole, amoxicillin and either clarithromycin or metronidazole for cure of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*, 1996, **10**, 207-210.
- MADEIRA I, VANJACK D, PIERRE J, NOUI-MEHIDI C, LAMBERT-ZECHOVSKY N & RUSZNIEXSKI P - Résistance primaire de *Helicobacter pylori* aux antibiotiques. *Gastroentérol Clin Biol*, 1999, **23**, 114.

17. MEGRAUD F - Stratégie d'utilisation des tests diagnostiques dans l'infection à *Helicobacter pylori*. In: *Helicobacter pylori*. Vol 1. *Epidémiologie, pathogénie, diagnostic*. Collection Option Bio, 1996, pp. 367-382.
18. MEGRAUD F - Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics. *Aliment Pharmacol Ther*, 1997, **11**, 43-53.
19. MEGRAUD F - Problèmes posés par la résistance de *Helicobacter pylori* aux antibiotiques. *Press Méd*, 1997, **26**, 1775-1780.
20. MEGRAUD F - Le diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* plus que jamais d'actualité. *Gastroentérol Clin Biol*, 1998, **22**, 405-406.
21. MEGRAUD F - Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* infection. *Br Med Bull*, 1998, **54**, 207-216.
22. MEGRAUD F - Epidemiology and mechanism of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 1998, **115**, 1278-1282.
23. MEGRAUD F, LAURENT J, FLEJOU JF, CAEKAERT A & BARTHELEMY P - *Helicobacter pylori* resistance to antimicrobial agents after treatment failure with omeprazole triple therapy. *Gastroenterology*, 1999, **116**, A121.
24. PICCOLOMINI R, DI BONAVENTURA G, CATAMO G, CARBONE F & NERI M - Comparative evaluation of the E Test, Agar Dilution, and Broth Microdilution for testing susceptibilities of *Helicobacter pylori* strains to 20 antimicrobial agents. *J Clin Microbiol*, 1997, **35**, 1842-1846.
25. RAUTELIN H, SEPPALA K, RENKONEN OV, VAINIO U & KOSUNEN TU - Role of metronidazole resistance in therapy of *Helicobacter pylori* infections. *Antimicrob Agents and Chemother*, 1992, **36**, 163-166.
26. TANKOVIC J - Sensibilité aux antibiotiques et mécanismes de résistance de *Helicobacter pylori*. *Option Bio*, 1999, suppl 230-232, 22-26.
27. VASQUEZ A, VALDEZ Y, GILMAN RH, MCDONALD JJ, WESTBLOM TU *et al.* - Metronidazole and clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* determined by measuring MICs of antimicrobial agents in color indicator egg yolk agar in a miniwell format. *J Clin Microbiol*, 1996, **34**, 1232-1234.
28. WEEL JFL, VAN DER HULST RWM, GERRITS Y, TYTGAT GNJ, VAN DER ENDE A & DANKERT J - Heterogeneity in susceptibility to metronidazole among *Helicobacter pylori* isolates from patients with gastritis or peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol*, 1996, **34**, 2158-2162.