



**Universidade dos Açores**

Carla Sofia Brito Oliveira

**Incidência e Prevalência da Infecção por  
*Helicobacter pylori* em Utentes do  
Laboratório de Análises Clínicas Machado,  
e sua Relação com Fatores de Risco do  
Hospedeiro**

Mestrado em Ciências Biomédicas

Ponta Delgada, 2013



# Universidade dos Açores

Carla Sofia Brito Oliveira

## **Incidência e Prevalência da Infecção por *Helicobacter pylori* em Utentes do Laboratório de Análises Clínicas Machado, e sua Relação com Fatores de Risco do Hospedeiro**

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade dos Açores  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas

Orientadores: Professora Doutora Carla Cabral

Professor Doutor Luís Silva

Ponta Delgada, 2013

## Índice

Resumo	8
Abstract	9
Siglas e Abreviaturas	10
Introdução Geral	11
1 – Introdução	13
1.1 - Classificação Taxonômica de <i>Helicobacter pylori</i>	13
1.1.1 - Enquadramento taxonômico	13
1.1.2 - Evolução taxonômica de <i>Campylobacter</i> a <i>Helicobacter pylori</i>	14
1.2 - Características Microbiológicas de <i>Helicobacter pylori</i>	16
1.2.1 – Morfologia	16
1.2.2 - Características bioquímicas e necessidades nutricionais	17
1.3 - Mecanismos de Patogenicidade e Fatores de Virulência	18
1.3.1 - Fatores de virulência	18
1.3.2 - Indução da inflamação gástrica	19
1.3.3 - Penetração na barreira da mucosa gástrica	20
1.3.4 – Alteração da fisiologia gástrica	21
1.3.5 - Genes de <i>Helicobacter pylori</i> associados à virulência	21
1.3.5.1 - Outros genes de <i>Helicobacter pylori</i> associados à virulência	23
1.4 - Resposta Imunológica do Hospedeiro	25
1.4.1 - Resposta imune inata	25
1.4.2 - Resposta celular imune adaptativa	25
1.4.3 - Resposta humoral imune adaptativa	26

1.5 - Patologias Associadas a <i>Helicobacter pylori</i>	28
1.5.1 - Anatomia do estômago e patologias gástricas	28
1.5.1.1 – Gastrite	29
1.5.1.2 - Úlcera gástrica	30
1.5.1.3 - Carcinoma gástrico e Linfoma de MALT	30
1.6 - Aspectos Epidemiológicos de <i>Helicobacter pylori</i>	32
1.6.1 - Distribuição da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	32
1.6.2 - Fatores que aumentam o risco de infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	32
1.6.3 - Possíveis vias de transmissão de <i>Helicobacter pylori</i>	33
1.6.4 - Prevalência e incidência da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	34
1.6.4.1 - Prevalência da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	34
1.6.4.2 - Incidência da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	35
1.7 - Diagnóstico Laboratorial de <i>Helicobacter pylori</i>	37
1.7.1 - Métodos invasivos	37
1.7.2 - Métodos não invasivos	38
1.7.2.1 - Testes sorológicos	38
1.7.2.2 - Teste Respiratório <sup>13</sup> C-ureia	39
1.7.2.3 - Pesquisa de antígenos de <i>Helicobacter pylori</i> nas fezes	40
1.8 - Estudo da Infecção por <i>Helicobacter pylori</i> em Portugal e nos Açores	42
1.8.1 - Estudo da infecção por <i>Helicobacter pylori</i> em Portugal Continental	42
1.8.2 - Estudo da infecção por <i>Helicobacter pylori</i> nos Açores	43
1.9 – Objetivos deste Estudo	44

2 - Material e Métodos	45
2.1 - Caracterização da Amostra	45
2.1.1 - População alvo	45
2.1.2 – Amostra	45
2.2 - Recolha de dados	47
2.3 - Diagnóstico da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	47
2.3.1 - Pesquisa de anticorpos anti- <i>Helicobacter pylori</i> pelo método imunoenzimático ELISA	47
2.3.2 - Diagnóstico da infecção por <i>Helicobacter pylori</i> através do Teste Respiratório <sup>13</sup> C-ureia	48
2.4 - Análise Estatística dos Dados Recolhidos	48
3 – Resultados	50
3.1 - Incidência da infecção por <i>H. pylori</i>	50
3.1.1 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	51
3.1.1.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	52
3.1.1.2 - Relação da variável género com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	53
3.1.1.3 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	54
3.1.1.4 - Relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	55
3.1.2 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste respiratório <sup>13</sup> C-ureia	56

3.1.2.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste respiratório <sup>13</sup> C-ureia	56
3.1.2.2 - Relação da variável género com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste respiratório <sup>13</sup> C-ureia	58
3.1.2.3 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste respiratório <sup>13</sup> C-ureia	59
3.1.2.4 - Relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste respiratório <sup>13</sup> C-ureia	60
3.2 - Prevalência da infecção por <i>H. pylori</i>	61
3.2.1 - Relação de fatores de risco com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	62
3.2.1.1 - Relação da variável idade com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	63
3.2.1.2 - Relação da variável género com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	64
3.2.1.3 - Relação da variável ano com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	65
3.2.1.4 - Relação da variável concelho de residência com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	66
3.3 - Alguns aspetos comparativos	67
3.3.1 - Comparação entre a incidência global da infecção por <i>H. pylori</i> e a prevalência global da infecção por <i>H. pylori</i>	67
3.3.2 - Distribuição da incidência e da prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> , de acordo com a faixa etária, baseada no “ <i>screening</i> ” sorológico	68

4 – Discussão	69
4.1 - Incidência da infecção por <i>H. pylori</i>	69
4.1.1 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	70
4.1.1.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	70
4.1.1.2 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	71
4.1.1.3 - Relação das variáveis gênero e concelho de residência com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA	71
4.1.2 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste Respiratório <sup>13</sup> C-ureia	72
4.1.2.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste Respiratório <sup>13</sup> C-ureia	72
4.1.2.2 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste Respiratório <sup>13</sup> C-ureia	73
4.1.2.3 - Relação das variáveis gênero e concelho de residência com a incidência da infecção por <i>H. pylori</i> através do Teste Respiratório <sup>13</sup> C-ureia	74
4.2 - Prevalência da infecção por <i>H. pylori</i>	75
4.2.1 - Relação de fatores de risco com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	75
4.2.1.1 - Relação da variável idade com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	75
4.2.1.2 - Distribuição da incidência e da prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> , de acordo com a faixa etária, baseada no “ <i>screening</i> ” sorológico	76

4.2.1.3 - Relação da variável ano com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	77
4.2.1.4 - Relação das variáveis gênero e concelho de residência com a prevalência da infecção por <i>H. pylori</i> através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG	78
5 – Conclusão	79
Bibliografia	81

## Resumo

*Helicobacter pylori* é um bacilo Gram negativo capaz de colonizar a mucosa gástrica. A sua infecção é considerada uma das mais comuns no mundo, associando-se ao desenvolvimento de Gastrite Crônica, Úlcera Gástrica, Carcinoma Gástrico e Linfoma de MALT. Encontram-se associados a *Helicobacter pylori* mecanismos de patogenicidade gástrica e fatores de virulência que promovem a sua colonização e sobrevivência na mucosa gástrica. No hospedeiro, a infecção por *Helicobacter pylori* resulta numa resposta imunológica capaz de produzir principalmente anticorpos capazes de combater a permanência da bactéria no estômago humano. Dois métodos de diagnóstico normalmente aplicados para o diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* são os Testes Sorológicos e o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia. A incidência e a prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* são dois parâmetros epidemiológicos que apresentam heterogeneidade entre países e entre grupos populacionais dentro do mesmo país. Existem achados epidemiológicos em Portugal que caracterizam a distribuição desta infecção em algumas regiões, contudo, até à data, essa distribuição ainda não é conhecida na população açoriana.

Este estudo-piloto teve como principais objetivos: evidenciar a incidência e a prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* num grupo de indivíduos que efetuaram o “*screening*” sorológico ou o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia no Laboratório de Análises Clínicas Machado, Lda, relacionar estes parâmetros com os fatores de risco idade, género, ano e concelho de residência, assim como incluir o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia como futuro indicador da incidência deste tipo de infecção.

A incidência e a prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* foram calculadas a partir de uma amostra de 1409 indivíduos (entre os 2 e os 88 anos), que efetuaram o “*screening*” sorológico e o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia no Laboratório de Análises Clínicas Machado, Lda, entre 2009, 2010 e 2011.

A incidência global encontrada foi de 30,12% e a prevalência global encontrada foi de 53,07%. Verificou-se a presença de relação da incidência e da prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* apenas com as variáveis idade e ano.

Concluiu-se que no grupo de indivíduos estudados a incidência da infecção por esta bactéria é mais frequente na infância e que a sua prevalência é mais frequente na idade adulta. Por outro lado, concluiu-se que estes dois parâmetros decresceram nos últimos anos. O Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia revelou-se um importante indicador da incidência da infecção por *Helicobacter pylori*, podendo ser aplicado em futuros estudos epidemiológicos.

**Palavras-chave:** *Helicobacter pylori*, incidência, prevalência, “*screening*” sorológico, Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia

## Abstract

*Helicobacter pylori* is a gram negative microorganism able to colonize the gastric mucosa, and its infection is considered one of the most common in the world. Gastric pathogenic mechanisms and virulence factors are associated with *Helicobacter pylori* and promote its colonization and survival in gastric mucosa. In the host, infection by *Helicobacter pylori* results in immune response that produces antibodies to fight the permanence of bacteria in the stomach. Two diagnostic methods are usually applied for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: the Serologic Tests and  $^{13}\text{C}$ -urea breath test. The incidence and prevalence of *Helicobacter pylori* infection are two epidemiologic parameters that show heterogeneity between countries and between populations in the same country. There are epidemiological findings in Portugal that characterize the distribution of this infection in some regions, however, this distribution is not known in the Azorean population.

The aim of this pilot study was: to highlight the incidence and prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a group of individuals who made the serological "screening" or who made the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test in Machado Laboratory Clinical; to relate incidence and prevalence with age, gender, year and county of residence, identifying them as potential risk factors; and include the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test as a future indicator of incidence to this type of infection.

The incidence and prevalence of *Helicobacter pylori* infection were calculated from a sample of 1409 individuals (age range was 2 to 88 years) who made the serological "screening" or  $^{13}\text{C}$ -urea breath test in Machado Clinical Laboratory between 2009, 2010 and 2011.

The overall incidence was 30.12% and the overall prevalence was 53.07%. It was verified a relation between incidence and prevalence of *Helicobacter pylori* infection only with the variables age and year.

This work shows that in the group of studied subjects the incidence of infection by this bacterium is more common in childhood and its prevalence is more common in adults. However, these epidemiological parameters decrease with the year. The  $^{13}\text{C}$ -urea breath test proved to be an important indicator of the incidence of *Helicobacter pylori* infection and can be applied in future epidemiological studies.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, incidence, prevalence, serological "screening",  $^{13}\text{C}$ -urea breath test

## Siglas e Abreviaturas

***H. pylori*** – *Helicobacter pylori*

***C. jejuni*** – *Campylobacter jejuni*

***C. pyloridis*** – *Campylobacter pyloridis*

**ROS** – “Reactive oxygen species”

**Msr** – Metionina sulfoxida redutase

**LPS** - Lipopolissacarídeos

**CagA** – “Citotoxin antigen associated”

**cagA-PAI** – ilha de patogenicidade cag

**VacA** – “Vacuolating citotoxin “

**IceA** – “Induced by contact with epithelium”

**SabA** – “Sialic acid-binding adhesion”

**HP-NAP** – Neutrophils activating protein

**DupA** – Duodenal ulcer promoting

**PAMPs** – Padrões moleculares associados aos patógenos

**IgM** – Imunoglobulina M

**IgA** – Imunoglobulina A

**IgG** – Imunoglobulina G

**GC** – Gastrite Crónica

**UG** – Úlcera Gástrica

**CG** – Carcinoma Gástrico

**LM** – Linfoma de MALT

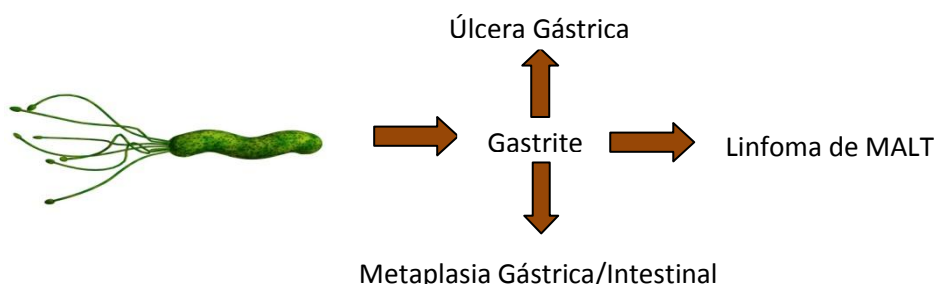
## Introdução Geral

A descoberta de bactérias na mucosa gástrica remonta a 1892, quando um investigador italiano de nome Guilio Bizzozero observou e descreveu pela primeira vez organismos Gram negativos em forma espiral, alojados no estômago de cães. Contudo, este anatomista não valorizou esses achados anatómicos. Três anos depois, um investigador alemão de nome Hugo Salomon, veio confirmar as observações de Bizzozero através de estudos efetuados na mucosa gástrica de ratos<sup>1</sup>.

A comunidade médica demorou a reconhecer o papel deste microrganismo nas úlceras gástricas e gastrites, por acreditar que nenhuma bactéria pudesse sobreviver muito tempo no ambiente ácido do estômago. Este dogma foi desfeito por Barry Marshall e Robin Warren em 1983, quando estes investigadores isolaram este microrganismo do estômago de humanos e foram os primeiros a cultivá-lo” *in vitro*” com sucesso, podendo afirmar que os casos de gastrites, úlceras gástricas ou até mesmo carcinomas gástricos eram principalmente causados pela colonização deste agente na mucosa do estômago.<sup>2,3</sup> Esta fantástica descoberta valeu um prémio Nobel atribuído em 2005 a estes dois investigadores.<sup>4</sup>

Posteriormente, surgiu uma série de artigos científicos a relatarem a prevalência deste microrganismo em patologias do foro gástrico. Essa associação foi também verificada através de vários estudos epidemiológicos, que acabaram por fazer com que a WHO - “*World Health Organization*”, em 1994, classificasse esta bactéria como o principal agente cancerígeno do tipo I para o desenvolvimento deste tipo de patologias (Esquema 1).<sup>2,5</sup>

Hoje em dia este microrganismo é conhecido por *Helicobacter pylori*, contudo inicialmente foi denominado de *Campylobacter pyloridis*.<sup>2,3</sup>



**Figura 1** – Percurso patológico da infecção causada por *H. pylori* (Adaptado de: Pajares, 2006)<sup>2</sup>

Dado o crescente interesse que a comunidade clínica e investigadores a nível mundial têm vindo a demonstrar pelo *H. pylori*, ao fazer uma pesquisa exaustiva principalmente na base de dados da PubMed, foi possível encontrar centenas de artigos científicos relacionados com este microrganismos, desde artigos que relatam os seus mecanismos de patogénese, associações patológicas e até mesmo estudos epidemiológicos realizados em diferentes países e populações. Verificou-se porém que na Região Autónoma dos Açores, até à data, não existe qualquer tipo de estudo efetuado sobre *H. pylori*.

## 1 - Introdução

### 1.1 - Classificação Taxonómica de *Helicobacter pylori*

#### 1.1.1 - Enquadramento taxonómico

*H. pylori* pertence ao Reino Prokaryotae, Filo Bacteria (Eubacteria), Classe Proteobacteria, Subdivisão delta e epsilon, Subclasse Epsilonproteobacteria, Ordem Campylobacteriales, Família Helicobacteriaceae, Género *Helicobacter* e Espécie *pylori*.<sup>6</sup>

Durante a última década, o género *Helicobacter* expandiu-se a novas espécies, sendo que a maioria é encontrada no estômago e no intestino de diferentes animais.<sup>5,7</sup>

**Tabela 1** – Bactérias do Género *Helicobacter*, características e associações. (Adaptado de: López-Brea, 2012)<sup>8</sup>

Local de colonização	Espécies	Número Flagelos	Hospedeiro habitual	Associação Patológica
<b>Tracto Gástrico</b>	<i>H. pylori</i>	4-8	Homem	Gastrite crónica; Úlcera péptica; Cancro Gástrico
	<i>H. mustelae</i>	4-8	Furão	Gastrite e úlcera
	<i>H. nemestrinae</i>	4-8	Macaco	Sem patologia associada
	<i>H. acinonyx</i>	4-8	Leopardo	Gastrite
	<i>H. felis</i>	14-20	Gato, Cão	Por vezes gastrite
	<i>H. bizzozeronii</i>	10-20	Cão	Sem patologia associada
	<i>H. salomonis</i>	5-7	Cão	Sem patologia associada
	<i>H. heilmannii</i>	≥9	Gato, Cão	Gastrite crónica
<b>Tracto Intestinal</b>	<i>H. cinaedi</i>	1-2	Hámster	Em geral, estas espécies estão associadas à síndrome gastrointestinal, transmitidas via sexual.
	<i>H. fennelliae</i>	1-2	?	
	<i>H. canis</i>	2	Cão	
	<i>H. westmeadii</i>	1	?	
	<i>H. pullorum</i>	1	Galinha	Hepatite vibriónica
	<i>H. pametensis</i>	2	Gaivotas	
	<i>H. bilis</i>	3-14	Ratos	Hepatite; coloniza o cego e cólon
<i>H. rodentium</i>	2	Ratos	Sem patologia associada	
<i>H. muridarum</i>	10-14	Roedores	Sem patologia associada	

Segundo o site “*List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature*” estão descritas 30 espécies do gênero *Helicobacter*. A Tabela 1 refere-se a algumas espécies que colonizam tanto o trato gástrico como o trato intestinal.<sup>8</sup>

O gênero *Helicobacter* foi definido por estudos de composição do RNA ribossômico 16S e por estudos de sequenciação e hibridação do DNA da bactéria. Este gênero, juntamente com outros (*Campylobacter*, *Arcobacter* e *Wolinella*) constitui a superfamília VI de bactérias gram negativas.<sup>2,7</sup>

O gênero *Helicobacter* é composto atualmente por 30 espécies que apresentam propriedades comuns, especialmente aquelas relacionadas com a vida no estômago, onde podem localizar-se no fundo e no corpo, mas é principalmente no antro onde as bactérias são encontradas em maior densidade.<sup>7,9</sup>

### 1.1.2 - Evolução taxonômica de *Campylobacter pyloridis* a *Helicobacter pylori*

O gênero *Campylobacter* foi descrito inicialmente por Sebald e Veron em 1963. Este novo gênero adquiriu uma elevada importância na medicina quando se conseguiu identificar a espécie *C. jejuni* como um dos principais agentes causadores de diarreias.<sup>7</sup> Posteriormente, foi descoberta uma série de espécies deste gênero cuja posição taxonômica foi sendo gradualmente modificada, baseando-se em análises genômicas. Assim, em 1991 Vandamme e seus colaboradores conseguiram fazer uma redefinição do gênero *Campylobacter* diferenciando-o do gênero *Helicobacter*.<sup>2,7</sup> Mas foram os pesquisadores Marshall e Warren que em 1989 conseguiram isolar pela primeira vez a espécie *C. pyloridis* que mais tarde veio a ser denominada por *H. pylori*.<sup>2,7,9</sup> Esta diferenciação foi obtida graças ao sequenciamento do RNA de *C. pylori*, associado a técnicas de biologia molecular, caracterização de proteínas e lípidos da parede celular, assim como caracterização sorológica e análise das propriedades bioquímicas.<sup>2,9</sup>

Como mostram as figuras 2 e 3, o gênero *Campylobacter* difere morfológicamente do gênero *Helicobacter* por o primeiro apresentar bactérias finas (0,2 a 0,5 µm de diâmetro), podem ter 0,5 a 8,0 µm de comprimento, são curvadas (usualmente em S), apresentam um movimento característico graças a um flagelo em cada extremidade e são Gram negativas. Já o gênero *Helicobacter* apresenta bactérias curvadas em forma helicoidal, podem ter entre 0,3 a 1,0 µm de diâmetro, 1,5 a 5,0 µm de comprimento, são móveis graças a mais do que um flagelo em cada extremidade e são Gram negativas.<sup>7,8,9</sup>



**Figura 2** – *Helicobacter pylori* em coloração de Gram. (Retirado de: López-Brea, 2012)<sup>8</sup>

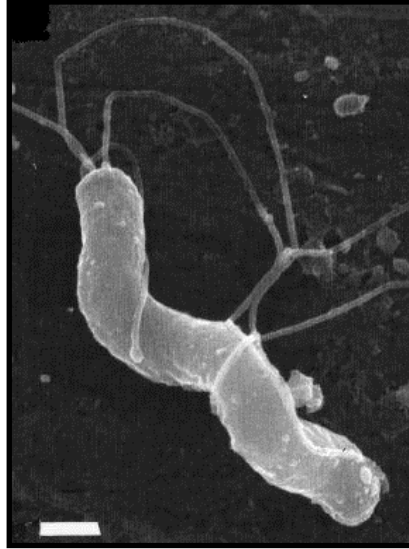


**Figura 3** – *Campylobacter jejuni* em coloração de Gram. (Retirado de: López-Brea, 2012)<sup>8</sup>

## 1.2 - Características Microbiológicas de *Helicobacter pylori*

### 1.2.1 - Morfologia

A morfologia de *H. pylori*, observada à microscopia ótica e eletrônica (Figura 4), é homogênea, apresenta uma estrutura encurvada ou espiralada com formato bacilar, de superfície lisa e extremidades arredondadas, móvel e não esporulada. A sua mobilidade é permitida devido à existência de múltiplos flagelos polares.<sup>7,9,10</sup>



**Figura 4** – Observação microscópica eletrônica da estrutura morfológica de *H. pylori*. (Retirado de: Mobley, 2001)<sup>7</sup>

A morfologia microscópica das colônias de *H. pylori* pode variar conforme o meio de cultura utilizado e/ou a idade das colônias. Quando o esfregaço é feito a partir de colônias “jovens” observam-se bacilos na forma espiral, enquanto que no esfregaço feito a partir de colônias “velhas” observam-se formas esféricas ou cocóides. A conversão morfológica da forma espiral para cocóide pode se dever à diversidade das condições ambientais tais como uma incubação prolongada, temperaturas elevadas, pH alcalino, aerobiose, entre outros. Culturas com formas cocóides são metabolicamente ativas, contudo não podem ser repicadas pois o microrganismo já não é capaz de se multiplicar.<sup>7,9</sup>

### **1.2.2 - Características bioquímicas e necessidades nutricionais**

As principais características bioquímicas desta bactéria são as provas de oxidase e catalase positivas, a não produção de H<sub>2</sub>S e a presença da enzima urease responsável pela hidrólise da ureia em bicarbonato e amônia. Este microrganismo, *in vitro*, necessita de um meio rico em sangue, plasma, carvão, amido ou gema de ovo, que permita o seu crescimento. Multiplica-se em condições microaerófilas, enriquecidas com 10% de CO<sub>2</sub>, à temperatura ideal de 35° a 37°C. Por ser uma bactéria microaerófila requer O<sub>2</sub> em pequenas quantidades e utiliza a hidrogenase para obter energia através da oxidação do hidrogénio molecular.<sup>7,9</sup>

### 1.3 - Mecanismos de Patogenicidade e Fatores de Virulência de *Helicobacter pylori*

#### 1.3.1 – Fatores de virulência

O resultado clínico da infecção provocada por *H. pylori* é determinado pela complexa interação entre fatores do hospedeiro e da bactéria. Embora os fatores do hospedeiro permaneçam quase desconhecidos, a identificação dos da bactéria avança continuamente.<sup>10</sup>

Assim, torna-se evidente que existe múltiplos fatores de virulência, associados aos mecanismos de patogenicidade adotados por *H. pylori*, que contribuem com 3 principais efeitos: a inflamação gástrica, a penetração na barreira da mucosa gástrica e a alteração fisiológica gástrica (Tabela 2).

**Tabela 2** – Fatores de virulência associados a *H. pylori*. (Adaptado de: Mobley, 2001; Pinto, 2007)<sup>7,9</sup>

Fatores de Virulência	Função
Urease	Neutraliza ácidos gástricos, logo, confere ao <i>H. pylori</i> resistência à acidez.
Flagelos	Permite a penetração para o interior da camada de muco gástrico.
Adesinas	Medeia a ligação a células do hospedeiro.
Mucinase	Degrada o muco gástrico.
Superóxido dismutase	Impede a destruição fagocítica neutralizando metabólitos do oxigênio.
Catalase	Impede a destruição fagocítica neutralizando peróxidos.
Proteína Inibidora de ácidos	Induz a hipocloridria durante a infecção aguda através do bloqueio da secreção ácida das células parietais.
Fosfolipases	Degrada o muco gástrico.
Citotoxina vacuolizante	Induz a vacuolização em células epiteliais.
Proteína de choque térmico	Amplifica a produção de urease.

### 1.3.2 - Indução da inflamação gástrica

*H. pylori* apresenta uma elevada capacidade de adesão às células epiteliais gástricas, acabando por penetrá-las, o que contribui para a colonização e patogenicidade desta bactéria. A sua degeneração na superfície do epitélio, ocasionada pela infecção, provoca a indução da infiltração inflamatória constituída por leucócitos, neutrófilos, linfócitos e plasmócitos.<sup>7,9</sup> Ou seja, os produtos tóxicos produzidos por *H. pylori* são libertados e há estimulação da produção e secreção de citocinas pró-inflamatórias pela célula epitelial, tais como, interleucina-8 (IL-8), uma potente citocina que ativa os neutrófilos, funcionando como um mediador inflamatório.<sup>11,12</sup>

A produção de urease bacteriana também atua nesta fase, sendo a mais abundante proteína de *H. pylori* e representa 10% do total de proteínas sintetizadas por esta bactéria.<sup>13</sup> Assim, para sobreviver num ambiente gástrico hostil, *H. pylori* desenvolveu importantes estratégias para se adaptar rápida e eficazmente a diversas variações de pH que ocorrem desde o lúmen do estômago (pH=1,4) até à superfície do epitélio celular (pH neutro). Logo, a resistência ao ácido clorídrico é de vital importância na patogénese desta bactéria, visto que, sem este atributo biológico, *H. pylori* não teria condições de colonizar a mucosa gástrica.<sup>10</sup> A enzima urease, que é uma proteína de alto peso molecular (500 a 600Da), atua promovendo a hidrólise da ureia, presente em condições fisiológicas no suco gástrico, levando à produção de amónia e bicarbonato.<sup>13</sup> Por sua vez, a amónia atua como receptor de iões  $H^+$ , gerando um pH neutro no interior da bactéria, o que confere a *H. pylori* resistência à acidez gástrica.<sup>10,13</sup> Estudos demonstram que a entrada de ureia na bactéria é acelerada em pH 5 e diminuída em pH 7. Essa entrada é altamente específica, não sendo facilmente saturada e independente da temperatura e energia. Portanto, *H. pylori* possui um mecanismo que permite a libertação do substrato ureia sobre a urease, em condições em que é necessária a alcalinização local do meio ambiente, sendo este controlado por uma proteína de membrana sensível ao pH.<sup>10</sup> Esse mecanismo é promovido pela proteína Ure1 que atua como “portão” de um canal – o “canal ureia  $H^+$ ” –, que também permite o refluxo de urease, aumentando o pH periplasmático e do microambiente envolvente, prevenindo o acúmulo tóxico de ureia dentro da bactéria.<sup>14</sup> Curiosamente, *in vitro*, a urease pode ser detetada à superfície da bactéria como resultado da lise celular verificada em colónias de culturas antigas.<sup>14</sup> Como a urease compreende 10% do total de proteínas sintetizadas por *H. pylori*, esta enzima requer um elevado investimento energético motivado pela sua

ação essencial como fator de colonização.<sup>10</sup> Geneticamente, esta proteína enzimática é codificada por um gene da família urease, conhecido como *ureI*. Segundo Bury-Moné et al (2001)<sup>14</sup>, estirpes de *H. pylori* que apresentam deleção do gene *ureI* não são capazes de sobreviver em pH ácido.<sup>14</sup>

Durante o processo de inflamação gástrica *H. pylori* está exposto a substâncias produzidas pelas células gástricas, fagócitos e outras células associadas à resposta imune. Essas substâncias são denominadas de ROS - “*reactive oxygen species*” –, promovem o stress oxidativo na bactéria, sendo alguns elementos conhecidos por superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ), entre outros e que oxidam aminoácidos de importantes proteínas bacterianas.<sup>13</sup> Um dos produtos resultantes dos ROS é a metionina (resíduo reversível enzimaticamente), que quando sofre a ação enzimática pela metionina sulfóxido redutase (Msr), produzida por *H. pylori*, vem diminuir a sensibilidade desta bactéria ao stress oxidativo, restaurando a funcionalidade da proteína bacteriana a que está associada. Contudo, até hoje apenas algumas proteínas ricas em metionina foram associadas à interação com a Msr, não sendo ainda muito bem conhecida a função desta enzima bacteriana.<sup>13,15</sup>

### 1.3.3 - Penetração na barreira da mucosa gástrica

Outro mecanismo de patogênese de *H. pylori* é a sua capacidade excepcional de aderência à mucosa gástrica. A afinidade deste microrganismo pelas células gástricas produtoras de muco deve-se à composição neutra do muco gástrico, diferente dos mucopolissacarídeos ácidos produzidos pelas células caliciformes da metaplasia intestinal (local onde raramente se observa *H. pylori*).<sup>10</sup> Numa fase precoce de colonização a bactéria necessita de atravessar a camada de muco que protege o epitélio gástrico. Tal camada é formada por um gel viscoelástico que confere proteção química e mecânica ao revestimento epitelial, principalmente contra as bactérias. No entanto, lipases, mucinases, fosfolipases e proteases sintetizadas por *H. pylori* degradam a camada de muco facilitando a progressão da bactéria.<sup>10,11</sup>

### 1.3.4 - Alteração da fisiologia gástrica

*H. pylori* move-se facilmente devido à morfologia em espiral e aos flagelos e deste modo, atravessa a camada de muco estabelecendo um íntimo contacto com as células epiteliais de revestimento.<sup>10,16</sup> A proteção contra a fagocitose e destruição intracelular é realizada pelas enzimas superóxido dismutase e catalase, proteínas extracelulares fundamentais para a sobrevivência da bactéria na mucosa inflamada. Para além disso, estas são consideradas fatores de resistência de *H. pylori*, contra os mecanismos líticos oxidativos das células polimorfonucleares.<sup>9,10,11</sup>

Nesta fase, é também proporcionado um aumento da atividade da urease bacteriana por ação de proteínas de choque térmico conhecidas por HspA e B, que promovem uma reação cruzada com a proteína Hsp60 homóloga humana, aumentando assim a inflamação gástrica e a facilidade de colonização de *H. pylori*.<sup>9,17</sup>

### 1.3.5 - Genes de *Helicobacter pylori* associados à virulência

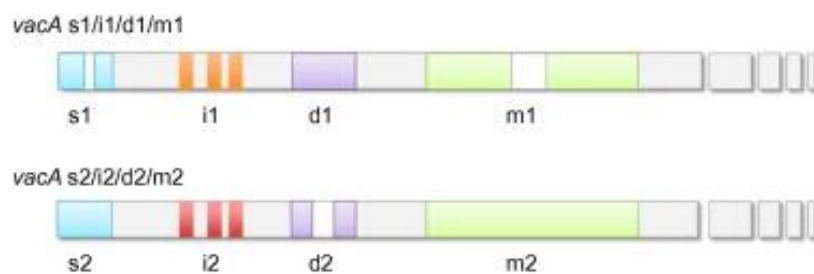
Verifica-se que o estudo das variações genómicas em *H. pylori*, responsáveis pela codificação de diferentes fatores de virulência, tem sido uma mais-valia para melhor compreender a existência de diversos tipos de lesões no hospedeiro.<sup>18</sup>

O primeiro gene específico a ser identificado em *H. pylori* foi o “*citotoxin antigen associated*” (*cagA*), que está fortemente associado ao risco de desenvolvimento de carcinoma gástrico. As estirpes *cagA*<sup>+</sup> tendem a ser mais virulentas e induzem níveis mais altos de expressão de citocinas, tais como IL-1b e IL-8.<sup>10,11</sup> O gene *cagA* é considerado um marcador da ilha de patogenicidade *cag* (*cag*-PAI). Esta possui entre 35 e 40Kb, comporta 31 genes e é encontrada em cerca de 60% das estirpes ocidentais. A ilha *cag*-PAI é um componente do genoma de *H. pylori* que contém genes homólogos aos das outras bactérias que codificam componentes do sistema de secreção do tipo IV (T4SS), permitindo que a bactéria module vias do metabolismo celular da célula hospedeira, incluindo a expressão de proto-oncogenes.<sup>12,19</sup>

Indivíduos infetados por estirpes que expressam o gene *cagA* têm uma probabilidade 3 vezes maior de desenvolver úlcera duodenal ou até mesmo carcinoma gástrico do que aqueles infetados com estirpes *cagA*<sup>-</sup>. Contudo, como a proteína CagA é fortemente imunogénica, qualquer variação no seu gene pode levar a diferentes respostas do hospedeiro, incluindo diferentes graus de resposta inflamatória.<sup>12</sup>

É de notar que recentes estudos sobre isolamentos de estirpes de *H. pylori*, provenientes de várias populações geográficas, têm incidido principalmente na ilha *cag*-PAI. Estes estudos demonstraram que apesar do conteúdo genético da *cag*-PAI ter sido ao longo do tempo conservado foram descobertos novos marcadores virulentos formados a partir desta ilha de patogenicidade, que provavelmente surgiram após seleção Darwiniana defendida por muitos investigadores. Assim, os novos genes propostos são conhecidos por *cagD*, *cagQ* e *cagZ* e acabam por fornecer uma nova perspectiva da organização dos componentes do T4SS.<sup>19,20</sup>

Outro gene específico, importante para o grau de patogenicidade de *H. pylori*, é o gene “*vacuolating cytotoxin*” (*vacA*). Para a sobrevivência da bactéria num meio ácido é necessária não só a presença da enzima urease mas também a produção da citotoxina VacA, que induz a formação de canais seletivos de aniões nas células epiteliais, levando à exsudação de ureia para a mucosa gástrica, promovendo a disfuncionalidade dos lisossomas/endossomas na célula epitelial assim como a sua apoptose.<sup>12,19,20</sup> O gene *vacA* e a respetiva proteína que codifica, são considerados importantes fatores de virulência, visto que contribuem para a produção de alcalóides pela urease, que podem induzir danos no DNA do hospedeiro e conseqüentemente promover a resposta inflamatória.<sup>21</sup> A combinação em mosaico (Figura 5) dos alelos da região *s* com os alelos da região *m* determina a produção de citotoxinas, responsáveis pelos diferentes graus da actividade vacuolizante da bactéria.<sup>12,21</sup> Assim, as estirpes portadoras do genótipo *vacA s1/m1* produzem uma elevada quantidade de toxina, enquanto que as estirpes *s1/m2* produzem uma quantidade moderada e as estirpes *s2/m2* produzem uma quantidade quase nula. Estirpes *s2/m1* são raramente encontradas.<sup>5,21</sup> Por sua vez, as estirpes *vacA* do tipo *s1a* parecem ser mais patogénicas que as *s1b*, *s1c* e/ou *s2*, estando as primeiras relacionadas com o desenvolvimento de úlcera péptica. As estirpes do tipo *m1* estão associadas a um maior risco de danos nas células epiteliais do que as do tipo *m2*.<sup>21</sup>



**Figura 5** - Representação esquemática dos alelos do gene *vacA* de *H.pylori*. (Retirado de: Suzuki, 2012)<sup>5</sup>

Em 2007 foi identificada uma nova região alélica no gene *vacA* denominada de região intermediária (*i*), podendo ser dividida em *i1* e *i2*. Todas as estirpes *s1/m1* foram associadas a *i1* e todas as estirpes *s2/m2* foram associadas a *i2*, provavelmente derivado das respectivas localizações no gene.<sup>12,21</sup> Verifica-se que estirpes do tipo *i1* apresentam uma maior patogenicidade que as do tipo *i2*, aumentando o risco de desenvolvimento de carcinoma gástrico.<sup>12</sup> Mais recentemente, foi identificada também uma quarta região alélica denominada de região de deleção (*d*), que se divide em *d1* e *d2*. A diferença entre as duas incide no facto de *d1* não apresentar deleção enquanto que *d2* apresenta uma deleção entre 69 e 81 pb.<sup>5,21</sup> Assim, *d1* apresenta um maior grau de patogenicidade do que *d2*, aumentando o risco de atrofia da mucosa gástrica.<sup>5</sup>

### 1.3.5.1 - Outros genes de *Helicobacter pylori* associados à virulência

Existem outros genes de *H.pylori*, não menos importantes, recentemente descritos.

Um deles é o gene “*induced by contact with epithelium*” (*iceA*), que se divide em 2 alelos: o *iceA1* e o *iceA2*. A função do *IceA1* ainda não é muito clara, mas sabe-se que apresenta forte homologia com a endonuclease de restrição do tipo II de *Neisseria lactamica*. A expressão deste alelo está associada à úlcera péptica e ao carcinoma gástrico. A função do alelo *IceA2* também é desconhecida.<sup>22</sup>

Outros dois genes são o “*blood group antigen adhesin*” (*babA*) e o “*sialic acid-binding adhesin*” (*sabA*). O gene *babA* está ligado ao grupo sanguíneo *Lewis<sup>b</sup>*, considerado um importante produto de patogenicidade ao permitir o contacto entre a bactéria e o epitélio e facilitar a libertação de fatores de virulência como o gene *cagA* e o gene *vacA*.<sup>19,22</sup> O *sabA* é um gene recentemente identificado no *H. pylori* e parece

apresentar funcionalidades de adesão ao epitélio gástrico semelhantes às do gene *babA*. Estes dois fatores de virulência fazem parte de um grupo recentemente descoberto - “*outer membrane vesicles*” (OMVs).<sup>19,23</sup>

O gene “*neutrophils-activating protein*” (HP-NAP) está relacionado com o potencial de indução de inflamação. O produto deste gene induz a aderência de neutrófilos às células endoteliais e estimula a produção de espécies reativas de oxigênio e azoto pelos neutrófilos.<sup>10,24</sup>

Em 2005 foi descoberto o gene “*duodenal ulcer promoting*” (*dupA*) que se localiza numa região específica do genoma de *H. pylori* e que aparenta estar envolvido na indução da produção de IL-8 no antro e de IL-12 pelos monócitos, promovendo o desenvolvimento de gastrite com evolução para úlcera duodenal na maior parte dos casos.<sup>21</sup>

## 1.4 - Resposta Imunológica do Hospedeiro

A infecção causada por *H. pylori* resulta numa forte resposta imunológica do hospedeiro, que pode ser dividida em resposta inata e resposta adaptativa.<sup>25,26</sup>

### 1.4.1 - Resposta imune inata

A resposta imune inata trata-se de um processo inicial não específico que reage de forma severa com componentes bacterianos, independentemente dos recetores específicos para antígenos. Este tipo de mecanismo desencadeia uma resposta protetora comum em todos os hospedeiros, contra componentes conhecidos como “*padrões moleculares associados aos patógenos*” (*PAMPs*), como por exemplo os lipopolissacarídeos (LPS).<sup>25,27</sup> Esta via de reconhecimento resulta na ativação da via alternativa do complemento com libertação de C3a e C5a, assim como ativação de uma resposta celular imune adaptativa e ativação de uma resposta humoral imune adaptativa.<sup>25,28</sup>

### 1.4.2 - Resposta celular imune adaptativa

Para desencadear uma resposta celular imune adaptativa é necessário que a infecção por *H. pylori* seja contínua.<sup>25</sup> Esse mecanismo é caracterizado pela formação de um intenso infiltrado de neutrófilos associados a períodos de acloridria. Como *H. pylori* é inicialmente pouco invasivo, surgem também mediadores de resposta inflamatória, tais como o fator ativador plaquetário e proteínas de superfície, que estão envolvidos no recrutamento de neutrófilos e leucócitos mononucleares, como os linfócitos (células T e células B), plasmócitos, macrófagos, monócitos e células dendríticas, para o local da infecção (Figura 6).<sup>25,27</sup> Contudo, uma vez que essa fase apresenta redução na produção de ácido, é facilitado o processo de colonização gástrica por parte da bactéria.<sup>18,25</sup> A degeneração do epitélio, para além de facilitar a estimulação imunitária, promove a produção de citocinas inflamatórias por parte dos macrófagos, tais como, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-8.<sup>25,28</sup> As estirpes da bactéria que possuam a ilha *cag-PAI* estão tipicamente associadas a um crescente e elevado grau de resposta inflamatória, assim como as estirpes que contenham o alelo do tipo *vacA s1/m1*, o gene *dupA* ou até mesmo os genes associados a proteínas de membrana *babA* e *sabA*.<sup>27</sup>

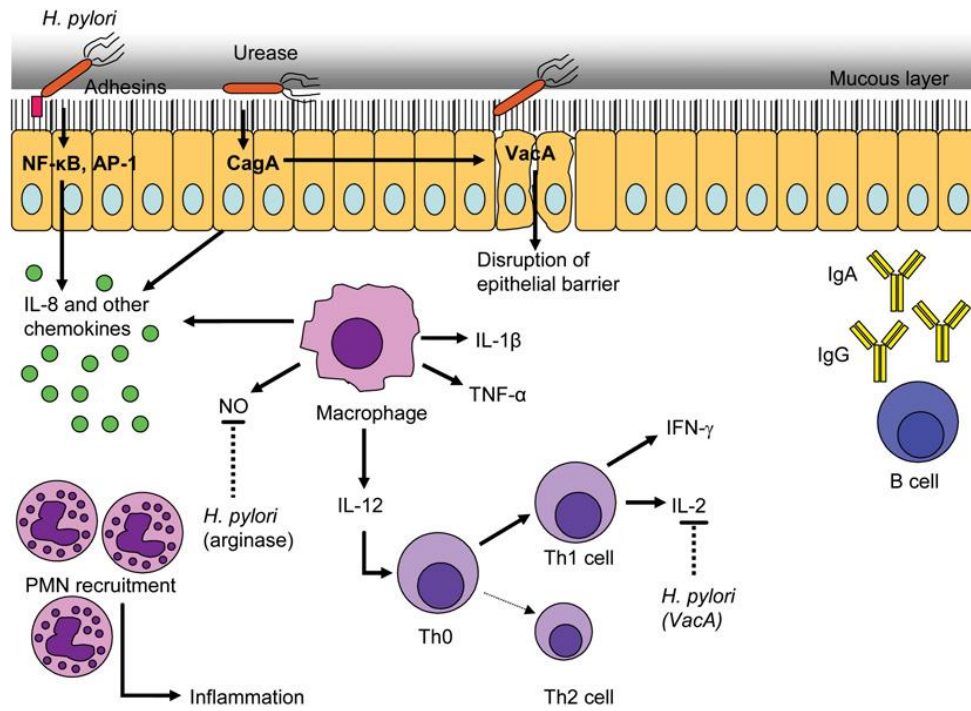
### 1.4.3 - Resposta humoral imune adaptativa

Embora a resposta celular imune adaptativa seja predominante na infecção causada por *H. pylori*, a resposta humoral imune adaptativa também é observada, sendo caracterizada como sistêmica e estável. Este tipo de resposta está associado à produção de anticorpos que reconhecem antígenos bacterianos presentes na mucosa gástrica.<sup>28</sup> Estudos demonstraram que o LPS da bactéria contém antígenos Le<sup>x</sup> e Le<sup>y</sup> de grupos sanguíneos. Estas evidências indicam uma provável correlação entre o reconhecimento destes antígenos pelo sistema imune do hospedeiro e a indução de gastrite por *H. pylori*.<sup>18</sup>

Existem 3 tipos de imunoglobulinas associadas a esta infecção: IgM, IgA e IgG.

Estudos efetuados em indivíduos infetados com *H. pylori* sugerem que a elevada resposta imune, que ocorre após 14 dias do início da infecção, está associada à produção de anticorpos do tipo IgM, compatíveis com a fase aguda da infecção. A persistência do processo inflamatório leva ao aparecimento de anticorpos do tipo IgA que podem inibir a aderência bacteriana, mas por pouco tempo, observando-se um posterior desenvolvimento da infecção para cronicidade.<sup>25,27</sup> Por último, verifica-se o aparecimento de anticorpos do tipo IgG que se encontram ligados à infecção crônica por *H. pylori*.<sup>27</sup> (Figura 6). Isto sugere que a resposta imune adaptativa humoral contra *H. pylori* não é totalmente eficaz, contribuindo para a permanência desta bactéria na mucosa gástrica.<sup>25</sup>

Incidência e Prevalência da Infecção por *Helicobacter pylori*

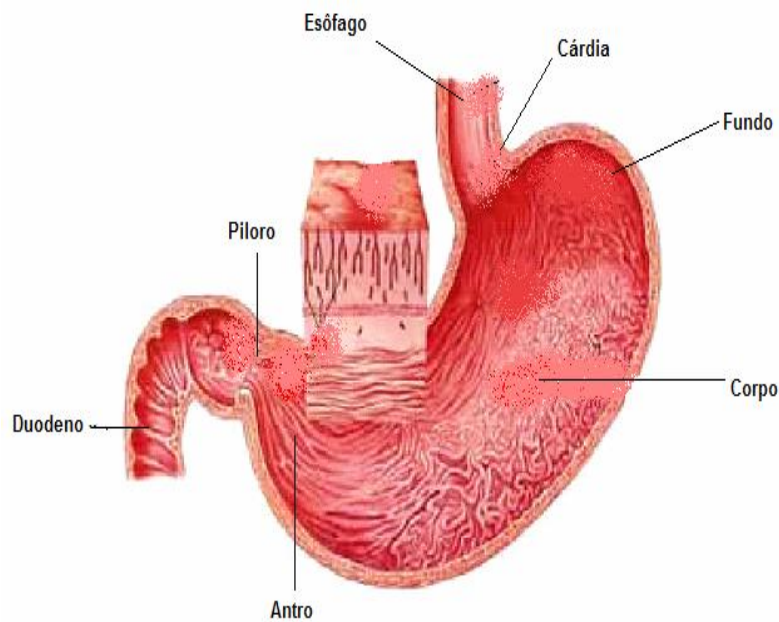


**Figura 6** – Resposta imunológica do hospedeiro contra *H. pylori*. (Retirado de: Portal-Celhay, 2006)<sup>25</sup>

## 1.5 - Patologias Associadas a *Helicobacter pylori*

### 1.5.1 - Anatomia do estômago e patologias gástricas

Antes de mais, torna-se importante referir que, anatomicamente o estômago humano (Figura 8) é constituído pelo fundo (região da curvatura superior), pela cárdia (região entre o esófago e o estômago), pelo corpo (porção central), pelo antro (entre o corpo e o estômago) e pelo piloro (porção que comunica com a parte inicial do duodeno).<sup>7,9</sup>



**Figura 8** – Anatomia do estômago humano. (Retirado de: Pinto, 2009).<sup>9</sup>

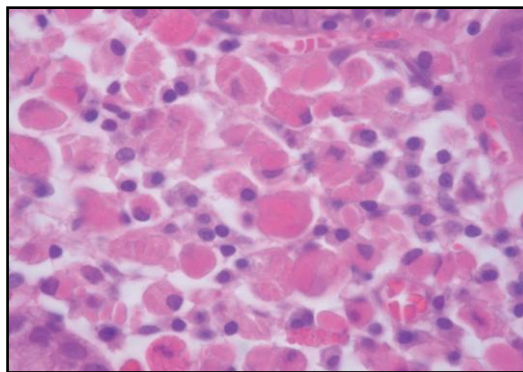
Até há pouco mais de uma década, a patogénese da gastrite, úlcera gástrica e carcinoma gástrico era atribuída ao desequilíbrio entre mecanismos de defesa do hospedeiro e secreção ácida. No entanto, nos últimos anos, pesquisas têm sugerido a presença de bactérias no estômago e a relação entre estes microrganismos e patologias gástricas.<sup>18</sup>

A infecção por *H. pylori* é considerada a principal causa de gastrite crónica (GC), úlcera gástrica (UG), carcinoma gástrico (CG) e Linfoma de MALT (LM).<sup>18,16</sup> Esta bactéria instala-se especificamente nas microvilosidades gástricas, localizadas acima das células epiteliais do estômago, preferindo a região do antro.<sup>7,9</sup>

### 1.5.1.1 - Gastrite

A gastrite pode ser encontrada na forma aguda e na forma crônica, podendo ser assintomática ou ocorrer episódios de dor e até mesmo de indigestão, estando correlacionada com o risco de ocorrência de transformações cancerígenas malignas.<sup>9,30</sup> Estudos sugerem que a fase aguda da infecção é de curta duração e está associada a um quadro histopatológico de denso infiltrado de neutrófilos polimorfonucleares e um exsudado aderente à superfície epitelial gástrica.<sup>30</sup> O infiltrado inflamatório agudo dá lugar à gastrite crônica (GC), de leve a elevada intensidade e a manutenção da inflamação durante anos pode levar à progressão da gastrite crônica superficial do antro até às porções mais proximais do estômago (corpo e fundo).<sup>11</sup>

Pesquisas sugerem que a infecção bacteriana da mucosa gástrica é a causadora da maioria das gastrites e outras pesquisas apontam que 95% dos casos de gastrite crônica têm como agente etiológico *H. pylori*.<sup>9,30</sup> Um exemplo recentemente estudado pelo investigador Yoon et al (2012)<sup>31</sup> na Coreia do Sul, é a Gastrite “*Russel body*”. Este tipo especial de gastrite é considerada uma doença crônica rara que se inicia com o surgir de um denso infiltrado de células plasmáticas, mais propriamente de eosinófilos que contêm inclusões citoplasmáticas - os “*Russel bodies*”.<sup>30,31</sup> (Figura 9) Existem vários casos descritos que associam esta patologia à infecção por *H. pylori*, pois verifica-se quase sempre que as lesões na mucosa gástrica desaparecem após erradicação da bactéria.<sup>31</sup>



**Figura 9** – Denso infiltrado de eosinófilos com inclusões “*Russel bodies*”, em biópsia gástrica. (Retirado de: Yoon, 2012)<sup>31</sup>

### 1.5.1.2 - Úlcera Gástrica

A úlcera gástrica (UG) geralmente predomina na pequena curvatura do antro, próximo da incisura angular, numa região adjacente à mucosa secretora de ácido. Macroscopicamente pode-se observar uma lesão na mucosa gástrica ou mesmo na membrana da mucosa intestinal (duodeno).<sup>9,32</sup>

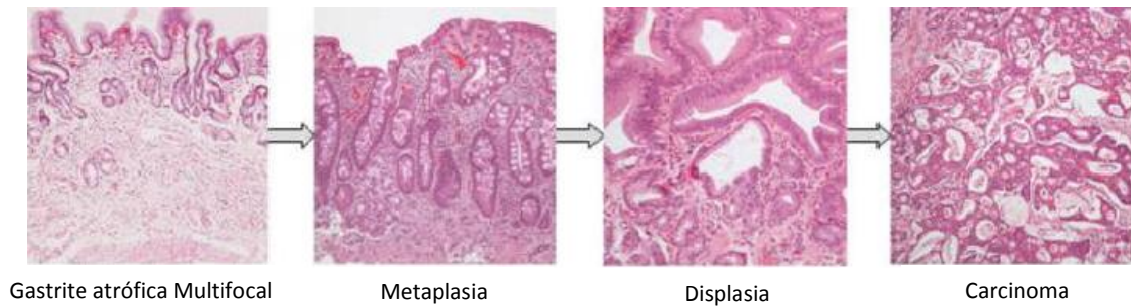
Esta patologia crónica afeta 5% a 10% da população e resulta da produção excessiva de gastrina, a qual estimula a produção de suco gástrico, estando também relacionada com a deficiência dos fatores defensivos da mucosa, não sendo capazes de proteger o epitélio contra os efeitos corrosivos do ácido e da pepsina.<sup>9,32</sup> Ao postular-se que a infecção por *H. pylori* leva a um processo inflamatório agudo ou crónico, depreende-se então que as UG ocorrem na presença de GC superficial ou atrófica, desenvolvendo-se no limite do processo inflamatório.<sup>32</sup> Esta teoria foi fundamentada recentemente na Turquia por Uyanikoglu et al (2012)<sup>33</sup>, num estudo cujo objetivo era o de identificar fatores risco etiológicos para o desenvolvimento de UG e úlcera duodenal (UD). Estes investigadores concluíram que a maioria dos casos de UG e UD estavam associados à presença de *H. pylori*, sendo considerado o principal fator etiológico causador do desenvolvimento deste tipo de patologias.<sup>33</sup>

Após a constatação de que a erradicação de *H. pylori* acarreta a cicatrização da UG, estabeleceu-se (em 1987) que todos os pacientes com doença ulcerativa relacionada com esta bactéria deveriam receber tratamento específico para o agente.<sup>32,34</sup> Atualmente, esse é o único consenso a que se chegou quanto ao tratamento da infecção por *H. pylori*.<sup>9,32</sup>

### 1.5.1.3 - Carcinoma Gástrico e Linfoma de MALT

O carcinoma gástrico (CG) é considerado a segunda causa principal de mortes por cancro no mundo, com incidência de 800.000 casos por ano.<sup>35</sup> Diferentes estudos indicam que o cancro CG está fortemente relacionado com fatores ambientais, como a infecção por *H. pylori*, que leva a um processo inflamatório com consequente indução de danos oxidativos, que podem estar relacionados a condições pré-neoplásicas.<sup>36,37</sup> (Figura 10) Em 1994, esta bactéria foi classificada como carcinogénico do tipo I para CG pela “*International Agency for Research on Cancer*” (órgão subordinado à Organização Mundial da Saúde), cuja infecção está associada a um risco duas vezes maior para o desenvolvimento de adenocarcinoma gástrico.<sup>36,37</sup> É também de referir que, vários estudos conduzidos em parentes de primeiro grau de pacientes com CG têm

destacado uma associação positiva entre história familiar e risco para o desenvolvimento de cancro. Logo, esses indivíduos podem apresentar um risco 16 vezes maior, estando esse fator relacionado com diferenças na expressão de produtos bacterianos específicos, com diferentes respostas do hospedeiro ou com diferentes interações entre a bactéria e o hospedeiro.<sup>10</sup>



**Figura 10** – Alterações neoplásicas que ocorrem na mucosa gástrica, promovendo o desenvolvimento de CG. (Adaptado de: Uday, 2010)<sup>37</sup>

O Linfoma de MALT (LM) também pode estar relacionado com a infecção por *H. pylori* pois, em condições patológicas, o estômago não possui tecido linfóide, ocorrendo um infiltrado MALT adquirido, dando origem ao linfoma do tecido linfóide associado à mucosa gástrica.<sup>9,36</sup> Assim, verifica-se que uma terapia de erradicação, aplicada especificamente para eliminação de *H. pylori*, pode promover a remissão do LM entre 60% a 80% dos casos.<sup>38</sup>

## **1.6 - Aspectos Epidemiológicos de *Helicobacter pylori***

### **1.6.1 - Distribuição da infecção por *Helicobacter pylori***

A infecção por *H. pylori* é de distribuição cosmopolita, sendo que a sua incidência e prevalência são acima de tudo uma questão de saúde pública, especialmente em países subdesenvolvidos e em indivíduos de baixa classe económica.<sup>39,40</sup> A prova é de que muitos estudos têm vindo a ser desenvolvidos na África subsariana e em áreas rurais usando os testes sorológicos como principal técnica de diagnóstico.<sup>39</sup>

Assim, estima-se que aproximadamente 50% da população mundial (2.7 biliões de pessoas) está infetada com esta bactéria (40% em países desenvolvidos e 70% a 80% em países subdesenvolvidos).<sup>40,41</sup> Atualmente as taxas de infecção variam de nação para nação: por exemplo, o ocidente apresenta taxas de 25%. Nos Estados Unidos a infecção está principalmente disseminada nas gerações mais velhas e na população mais pobre.<sup>2</sup> Entre estes, Portugal é uma notável exceção apontando-se uma prevalência próxima dos 80% apesar da 26ª posição no ranking de desenvolvimento das Nações Unidas.<sup>40</sup> Estes factos são principalmente atribuídos a padrões de higiene mais baixos, particularmente a contaminação da água, considerada uma potencial fonte de infecção por *H. pylori*.<sup>42,43</sup>

Atualmente, o grande desafio dos investigadores é o de melhorar o entendimento acerca da epidemiologia de *H. pylori*, o que permitirá o desenvolvimento de medidas que deverão alterar significativamente o perfil epidemiológico da infecção e o das doenças a ela relacionadas.<sup>36</sup> Contudo, o facto da maioria da informação sobre a prevalência desta bactéria ser derivada de uma população geográfica e demograficamente diversificada pode representar um obstáculo ao desenvolvimento de estudos epidemiológicos.<sup>42</sup>

### **1.6.2 - Fatores que aumentam o risco de infecção por *Helicobacter pylori***

Muitos estudos têm vindo a ser desenvolvidos para determinar quais os fatores de risco que promovem o desenvolvimento da infecção por *H. pylori*. A maioria destes estudos incluem um questionário como importante senão mesmo principal componente para identificação dos fatores de risco. No entanto, a qualidade destas pesquisas é variável e em muitos casos o procedimento de análise estatística nem sempre é o mais adequado.<sup>42</sup>

Fatores intrínsecos como a idade, género, etnia, assim como fatores ambientais e contextuais ligados ao nível socioeconómico, são tidos como sendo de risco para a aquisição da infecção por *H. pylori*.<sup>18,43</sup>

Um exemplo é a pesquisa efetuada por Brown (2000)<sup>42</sup>, que destaca o fumo, o consumo de álcool, a dieta e a exposição ocupacional como fatores ambientais de risco para a aquisição da infecção por *H. pylori* e a condição socioeconómica, a higiene precária e a ausência de saneamento básico e de fornecimento de água como fatores contextuais de risco para a aquisição da infecção por *H. pylori*.<sup>42</sup>

### **1.6.3 - Possíveis vias de transmissão de *Helicobacter pylori***

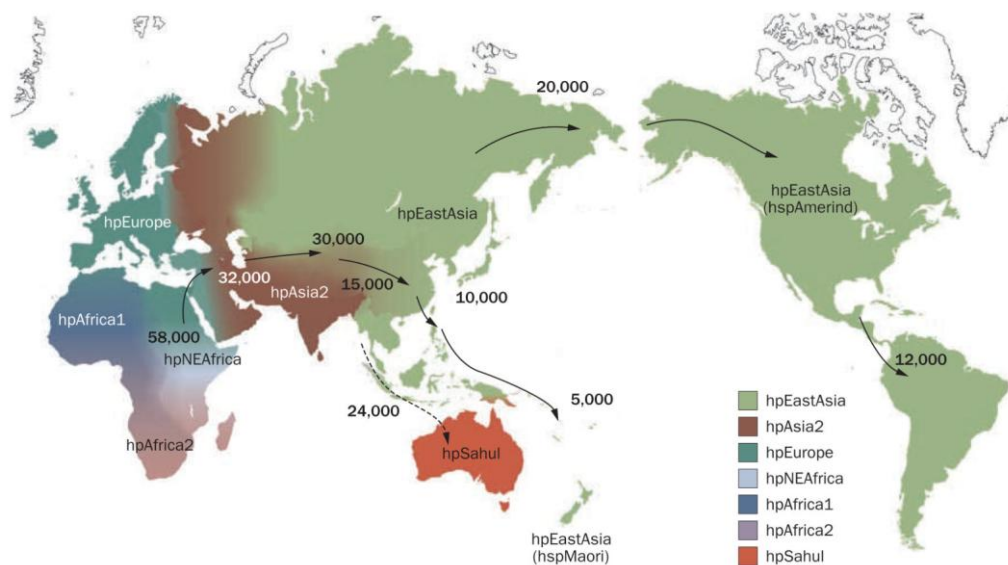
A transmissão de *H. pylori* ainda não está muito clarificada, contudo sabe-se que o ser humano é praticamente o seu principal reservatório natural, sendo que as vias mais comuns de transmissão são a oral-oral (regurgitação do suco gástrico, podendo contaminar a boca), fecal-oral (eliminação de *H. pylori* nas fezes, suspeitando-se da sua disseminação na água como potencial fonte de contaminação) e de humano para humano (devido às altas taxas de prevalência em indivíduos que vivem em condições de aglomeração humana).<sup>18,45</sup>

Outros estudos têm vindo a sugerir alguns animais domésticos como possível via de transmissão de *H. pylori*. Um exemplo são os gatos infectados com esta bactéria a qual pode ser encontrada na saliva, em secções gástricas, nas fezes e na placa oral desses felinos.<sup>42</sup>

## 1.6.4 - Prevalência e incidência da infecção por *Helicobacter pylori*

### 1.6.4.1 - Prevalência da infecção por *Helicobacter pylori*

*H. pylori* está ligado à população humana desde a migração de indivíduos de África para os outros continentes, há aproximadamente 58 milhões de anos. (Figura 11)<sup>12</sup> Devido a este facto, foram “criados” 7 tipos de populações ligados à distribuição de *H. pylori* e que se distinguem através do predomínio das diferentes estirpes genéticas desta bactéria.<sup>12</sup> Verifica-se assim que a infecção por *H. pylori* ocorre em todo o mundo, mas a prevalência varia muito entre países e entre grupos populacionais dentro do mesmo país.<sup>16</sup> Um estudo epidemiológico efetuado na Nigéria (considerado país subdesenvolvido) por Jemilohun et al (2010)<sup>46</sup>, recorrendo ao teste urease e à análise histológica de biópsias gástricas como técnicas de diagnóstico, concluiu que 64% dos indivíduos analisados estavam infetados por esta bactéria.<sup>46</sup> Por outro lado, o estudo efetuado em Portugal por Santos et al (2010)<sup>40</sup>, recorrendo também ao mesmo tipo de técnicas de diagnóstico, demonstrou que 44,9% dos indivíduos analisados estavam infetados por *H. pylori*, valor consideravelmente inferior ao estimado pelas Nações Unidas em 2004, para a população geral portuguesa e próximo do de vários países desenvolvidos da Europa Ocidental.<sup>40</sup>



**Figura 11** – Distribuição geográfica dos fenótipos de *H. pylori*, verificada aproximadamente à 58 milhões de anos. (Retirado de: Yamaoka, 2010)<sup>12</sup>

A prevalência da infecção por *H. pylori* também está relacionada com a idade, sendo que a aquisição desta bactéria é mais comum na infância do que na idade adulta.<sup>16</sup> Esta teoria é claramente contextualizada em países subdesenvolvidos, sendo fundamentada em vários artigos científicos nos últimos anos, mas particularmente num estudo efetuado recentemente em crianças no sul da Nigéria por Etukudo et al (2012)<sup>44</sup>, através do qual concluíram que a prevalência de *H. pylori* era de 30,9%, verificando que a infecção era normalmente adquirida cedo.<sup>44</sup> Por outro lado, nos países considerados desenvolvidos, verifica-se uma maior taxa da prevalência deste microrganismo em indivíduos adultos, podendo-se concluir que a manutenção de *H. pylori*, associada ao fator idade, está fortemente correlacionada com as condições sócio-económicas, falta de água potável e a uma alta densidade de habitantes em determinadas regiões do globo.<sup>16</sup>

No que diz respeito ao género relacionado com a prevalência da infecção por *H. pylori*, existem regiões onde se verificam diferentes taxas. O estudo feito por Hestvik et al (2010)<sup>39</sup> no Uganda, veio demonstrar que as crianças do sexo masculino estão infetadas em maior número do que as crianças do sexo feminino. Contudo, esta diferença raramente foi confirmada, havendo apenas 10 estudos que verificaram uma associação da prevalência com o género ao longo dos últimos 20 anos.<sup>39</sup>

#### **1.6.4.2 - Incidência da infecção por *Helicobacter pylori***

No geral, existem pouco estudos sobre a incidência da infecção por *H. pylori*. No entanto sabe-se que, nos países industrializados, essa taxa em crianças ronda os 1,9% nos EUA, 1,1% no Japão, 2,7% na Inglaterra e 0,3% na Finlândia. Em países em desenvolvimento, a taxa de incidência infantil é significativamente maior, atingindo índices até 5% ao ano. Em adultos de países industrializados, a incidência extrapolada é de 0,1% a 1% das pessoas susceptíveis ao ano.<sup>36</sup> No estudo efetuado por Mushen et al (2010)<sup>47</sup>, em crianças israelitas na idade pré-escolar e durante a idade escolar, verificou-se que a prevalência da infecção pela bactéria foi de 49.7% e 58.9% nos respetivos períodos.<sup>47</sup> Deduziram assim que surgiram 14 novos casos de infecção por *H. pylori* durante a transição de um período para o outro (cerca de 4 anos), estimando-se uma incidência anual de 5%.<sup>45,47</sup> A investigação efetuada no Uganda por Hestvik et al (2010)<sup>39</sup>, sugere que crianças que vivam com poucos recursos sócio-económicos apresentam uma elevada incidência da infecção por *H. pylori*, verificando-se uma diminuição dessa taxa em crianças mais crescidas.<sup>39</sup>

Torna-se necessário ter em conta dois importantes fatores quando se realiza um estudo epidemiológico numa dada população: por um lado, quando a amostra estudada é recrutada entre indivíduos que foram sujeitos a exames de diagnóstico para deteção de *H. pylori*, não podendo ser considerada uma população representativa da população em geral, pois assume-se que a infeção está associada ao desenvolvimento de úlceras gástricas e sintomas dispépticos.<sup>40</sup> Logo, qualquer taxa de prevalência ou incidência num grupo sintomático tende a ser sobrestimada, mesmo que se estude uma amostragem “aleatória”, por exemplo, de dadores de sangue ou trabalhadores industriais. Nenhum desses grupos fornecerá uma amostra verdadeiramente normal<sup>47</sup>; o segundo fator a ter em conta é o método de diagnóstico para deteção de *H. pylori*. A maioria dos estudos epidemiológicos têm invocado a evidência sorológica de resposta imunitária específica para determinação da incidência e da prevalência, sendo considerado o marcador mais prático para este tipo de investigação.<sup>45</sup>

## 1.7 - Diagnóstico Laboratorial de *Helicobacter pylori*

Para a detecção laboratorial de *H. pylori* existem diferentes métodos e técnicas de diagnóstico, no entanto nenhum deles é suficientemente eficaz para ser aceite como “padrão de ouro”.<sup>9,29,48</sup> (Tabela 3) No entanto, vários investigadores têm vindo a desenvolver novas técnicas de diagnóstico da infecção provocada por esta bactéria de modo a encontrar o método mais eficaz para a sua detecção.<sup>29</sup>

**Tabela 3** – Comparação da sensibilidade, especificidade e custos entre métodos invasivos e métodos não invasivos. (Adaptado de: Logan, 2001; Kazemi, 2011)<sup>48</sup>

Método	Técnica	Sensibilidade	Especificidade	Custos
Invasivo	Histológica	88-95%	90-95%	££££
	Cultural	80-90%	95-100%	£££
	Teste urease	90-95%	90-95%	£-££
Não Invasivo	Teste sorológico	80-95%	80-95%	£
	Pesquisa antigénio fecal	90-95%	90-95%	££
	Teste respiratório <sup>13</sup> C-urea	90-95%	90-95%	£££

### 1.7.1 - Métodos invasivos

Através dos métodos invasivos *H. pylori* pode ser detectado por endoscopia gástrica para posterior estudo histológico, estudo cultural ou para o teste da urease. Contudo, este método pode originar erros de amostragem dado que 14% dos pacientes infectados com *H. pylori* não apresenta infecção antral mas podem ser portadores desta bactéria, particularmente se tiverem atrofia gástrica, metaplasia intestinal ou refluxo biliar.<sup>29</sup> Para além disso, estes métodos não conseguem detectar níveis baixos de *H. pylori* após tratamento, subvalorizando assim a certeza da eficácia do tratamento de erradicação ou de uma posterior reinfecção.<sup>49</sup>

É de referir que estudos recentes têm demonstrado que também é possível detetar a presença de *H. pylori* em biópsias gástricas e em secreções da mucosa oral através da aplicação de técnicas moleculares, como por exemplo, a técnica de PCR em tempo real.<sup>29</sup> No estudo feito por Sepúlveda E. e seus colaboradores (2012), verifica-se que esta técnica apresentou resultados com elevado grau de sensibilidade e especificidade, tendo sido estudados principalmente os genótipos associados aos genes

*cagA* e *vacA*.<sup>50</sup> Contudo, torna-se um procedimento limitado devido ao facto de ser dispendioso e requerer que as amostras estejam corretamente acondicionadas para obter resultados fidedignos.<sup>29,50</sup>

### **1.7.2 - Métodos não invasivos**

Recentemente, a entidade “*European Helicobacter Pylori Study Group*” advertiu para o facto do diagnóstico de *H. pylori* ocorrer no geral em vários níveis práticos laboratoriais. Assim, o diagnóstico não invasivo conquistou um importante lugar na prática clínica.<sup>29</sup> Este tipo de testes vem ajudar a clarificar a deteção de *H. pylori* principalmente em casos onde existam dúvidas quanto à sua presença. Contudo, por si só podem não diagnosticar de imediato uma infecção ou monitorizar a erradicação desta bactéria.<sup>49</sup>

Existem 3 importantes métodos não invasivos utilizados para o diagnóstico do *H. pylori* e que serão previamente descritos.

#### **1.7.2.1 - Testes sorológicos**

Os testes sorológicos têm apresentado uma elevada comercialização devido à sua facilidade de manuseamento, pouco dispendiosos e elevada reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade, utilizando como produto de estudo o soro humano.<sup>51</sup>

Estes testes têm como princípio identificar anticorpos específicos para *H. pylori*, contudo requerem validação e padronização local antes de serem postos em prática.<sup>29,51</sup> Para além disso, têm sido frequentemente utilizados em estudos epidemiológicos, incluindo estudos retrospectivos para determinação da prevalência e incidência da infecção por esta bactéria.<sup>51</sup> Uma das vantagens dos testes sorológicos é o facto de poderem ser aplicados em pacientes que estejam a tomar medicamentos com inibidores de protões ou antibióticos, contudo não são tão bem sucedidos na avaliação da terapia de erradicação de *H. pylori*.<sup>29</sup>

Atualmente, investigadores e laboratórios clínicos podem ter à sua disposição alguns métodos desta natureza como a fixação do complemento, aglutinação, hemaglutinação e Imunoblot, no entanto o método imunoenzimático (ELISA) tem sido o mais utilizado por apresentar resultados satisfatórios quanto à sensibilidade e especificidade da técnica, embora possa haver a probabilidade de ocorrência de falsos resultados.<sup>52</sup>

Assim, o método ELISA detecta a presença de 3 classes de imunoglobulinas: IgM, IgA e IgG. Este estudo não deve ser baseado individualmente na detecção só de uma destas imunoglobulinas mas sim no seu todo. Segundo o “*Institut Virion/Serion GmbH*” na Alemanha, está descrito que 2-7% dos pacientes com infecção aguda provocada por *H. Pylori* apresentam IgG negativo e IgA positivo. Por outro lado, 15-35% dos indivíduos com infecção aguda não apresentam IgA positivo, assim torna-se necessário recorrer ao estudo da IgM que é detectada logo no início da infecção.<sup>51,53</sup> No entanto, é necessário ter em conta que por a IgM aparecer logo no início da aquisição da infecção o mais provável é o indivíduo não apresentar ainda sintomas, logo dificulta a sua detecção em casos de infecção primária e sem uma terapia precoce permite a possibilidade da bactéria ser transmitida durante esse período.<sup>48,54</sup> Os títulos de IgG indicam a permanência da infecção crónica por *H. Pylori* e contribui para a taxa de prevalência desta bactéria, enquanto que os títulos de IgM e IgA contribuem para a taxa de incidência.<sup>51</sup>

Quando se compara a sensibilidade e especificidade entre os testes sorológicos e os métodos invasivos para detecção de *H. Pylori* verifica-se que os últimos apresentam uma menor taxa de resultados falsos positivos, o que já não se verifica no estudo sorológico. Por outro lado, o estudo por métodos invasivos pode apresentar resultados falsos negativos devido à distribuição não homogénea da bactéria no estômago.<sup>48,51</sup>

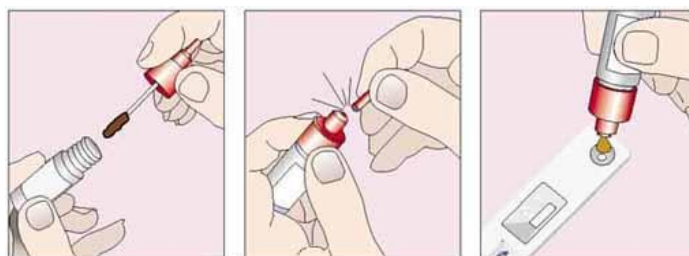
#### 1.7.2.2 - Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia

O teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia consiste num método não invasivo que deteta a presença de *H. pylori* baseando-se na sua elevada atividade urease. Tem como princípio a ingestão de uma solução de ureia ligada ao <sup>13</sup>carbono, que será rapidamente hidrolisada pela enzima urease libertada por *H. pylori*. Por sua vez o <sup>13</sup>carbono poderá ser detetado no CO<sub>2</sub> que se encontra na circulação sanguínea e que será expirado pelos pulmões.<sup>55</sup> Assim, recorrendo a este método torna-se possível identificar a presença da bactéria e/ou verificar se o tratamento de erradicação surgiu efeito.<sup>55,56</sup> Como é demonstrado no estudo de Frenck et al (2006)<sup>57</sup>, efetuado principalmente em crianças Egípcias, este teste é altamente específico e sensível, verificando-se uma precisão de diagnóstico superior ao método sorológico.<sup>57</sup> Para além disso, este método é mais consistente na sensibilidade e especificidade dos resultados quando comparado com o teste urease efetuado a partir de amostras de biópsias gástricas.<sup>58</sup> Contudo é caro,

moroso e requer a ingestão de ureia marcada isotopicamente assim como um aparelho específico para detecção do  $^{13}\text{C}$  carbono.<sup>58,59</sup>

### 1.7.2.3 - Pesquisa de antígenos de *Helicobacter pylori* nas fezes

A Meridian Biosciences, Inc. introduziu, em 1997, o conceito de identificação de antígenos de *H. pylori* em amostras fecais recorrendo a um imunoensaio numa microplaca. Como exemplo, existe o imunoensaio *ImmunoCard STAT! HpSA* que consiste em um procedimento qualitativo “*in vitro*”, frequentemente usado na prática laboratorial. Este teste rápido baseia-se numa técnica cromatográfica de fluxo lateral, cujo qual detecta a presença da bactéria nas fezes em 5 minutos (Figura 6).<sup>59,60</sup> De um modo geral é pesquisada a presença de antígenos da bactéria nas fezes humanas, cujos quais se vão conjugar com os anticorpos específicos impregnados no poço do teste rápido, obtendo no final uma banda que confirma a presença desses mesmos antígenos.<sup>57,59</sup> O *ImmunoCard STAT! HpSA* utiliza anticorpos monoclonais anti-*H. pylori*.<sup>59</sup>



**Figura 12** – Procedimento efetuado no imunoensaio *ImmunoCard STAT! HpSA*. (Retirado de: Meridian Diagnostics, INC, 2008)<sup>59</sup>

Dado a sua simplicidade, este tipo de teste é principalmente utilizado quando se pretende estudar em grande escala epidemiológica a presença de *H. pylori* em crianças.<sup>29</sup> Para além disso, é frequentemente requisitado pelos clínicos quando pretendem detectar de forma direta e não invasiva *H. pylori* e/ou quando pretendem confirmar a sua erradicação após 4 semanas do fim do tratamento<sup>56</sup>. É de notar que alguns estudos já têm verificado uma elevada sensibilidade e especificidade neste tipo de teste, similar à que se verifica também no teste respiratório  $^{13}\text{C}$ -ureia (>90%), chegando mesmo ao ponto de recentes linhas de orientação europeias recomendarem estes dois métodos para o diagnóstico e confirmação da erradicação de *H. pylori*.<sup>29,57,59</sup> Como fundamentação desta teoria, no estudo efetuado por Frenck et al (2006)<sup>57</sup>, foram

analisadas amostras fecais, principalmente de crianças com idade inferior a 6 anos, utilizando o procedimento efetuado no imunoensaio *ImmunoCard STAT! HpSA*. Estes investigadores verificaram que este imunoensaio apresentou uma muito boa performance no diagnóstico de *H. pylori*, concluindo assim que é um ótimo método de diagnóstico para esta bactéria, não invasivo e que pode ser uma excelente alternativa de aplicação em crianças.<sup>57</sup>

## **1.8 - Estudo da Infecção por *Helicobacter pylori* em Portugal e nos Açores**

A infecção por *H. pylori* encontra-se distribuída tanto por países desenvolvidos como por países em vias de desenvolvimento e Portugal não é exceção à regra.

### **1.8.1 - Estudo da infecção por *Helicobacter pylori* em Portugal Continental**

Já existem alguns achados epidemiológicos que caracterizam a distribuição deste tipo de infecção em algumas regiões de Portugal. Efetivamente, até 2010, a única publicação encontrada, baseada em estudos epidemiológicos, acerca da infecção por *H. pylori* em Portugal, pertence a Quina (1994)<sup>61</sup>, onde foi estimada uma prevalência da infecção de 82,8% em adultos e uma prevalência da infecção de 46,0% em crianças.<sup>61</sup>

Como já tem sido referido anteriormente, em 2010, uma pesquisa feita por Santos et al (2010)<sup>53</sup>, numa população dispéptica no Algarve, estimou uma prevalência da infecção por *H. pylori* de 44,9%.<sup>53</sup>

Em 2011, Oleastro et al (2011)<sup>62</sup> realizou uma pesquisa que teve como objetivo determinar a incidência e prevalência da infecção por *H. pylori* em crianças pertencentes a uma população da área de Lisboa, estabelecendo uma relação da prevalência deste tipo de infecção com determinantes sociodemográficos.<sup>62</sup> A prevalência global da infecção por *H. pylori* foi de 31,6%, verificando-se um aumento com o decorrer da idade. Por outro lado, a incidência da infecção por *H. pylori* estimada foi de 11,6 por 100 crianças-ano, verificando-se uma aquisição da infecção por *H. pylori* de 47,5% em crianças com idades inferiores a 5 anos.<sup>62</sup>

Mais recentemente, foi publicado um estudo feito por Bastos et al (2013)<sup>63</sup>, onde foi possível estimar a prevalência da infecção por *H. pylori* em adolescentes na idade dos 13 anos, pertencentes à área do Porto a após 3 anos estimar a incidência da infecção por *H. pylori* no mesmo grupo populacional.<sup>63</sup> Verificou-se uma prevalência da infecção por *H. pylori* de 66,2% e uma incidência da infecção por *H. pylori* de 4,1 por 100 pessoas-ano.

### **1.8.2 - Estudo da infecção por *Helicobacter pylori* nos Açores**

Verifica-se que na Região Autónoma dos Açores, até à data, não existe qualquer tipo de pesquisa sobre a incidência e a prevalência da infecção por *H. pylori*, porém sabe-se que este tipo de infecção está ligado ao desenvolvimento de patologias do foro gástrico que têm surgido não só em Portugal Continental como também na Região Autónoma dos Açores.

## 1.9 - Objetivos deste Estudo

Pela importância etiológica que tem vindo a ser atribuída a *H. pylori* e pela variabilidade da sua incidência, prevalência e virulência, este estudo-piloto apresentou como principais objetivos:

- ☞ Evidenciar a incidência e prevalência da infecção por *H. pylori* num grupo amostragem que efetuaram o “*screening*” sorológico para esta bactéria no Laboratório de Análises Clínicas Machado, Lda, recorrendo ao método de diagnóstico imunoenzimático ELISA, na ilha de S. Miguel, pertencente à Região Autónoma dos Açores;
- ☞ Relacionar a incidência e a prevalência da infecção pelo *H. pylori* com quatro fatores de risco para o desenvolvimento desta infecção no hospedeiro:
  - a variável idade, de modo a estudar a incidência e a prevalência da infecção por *H. pylori* em grupo etários que variam entre os 2 e os 88 anos de idade;
  - a variável género, para a verificar se existem diferenças nas taxas de incidência e de prevalência da infecção por *H. pylori* entre indivíduos do sexo masculino e indivíduos do sexo feminino;
  - a variável ano, de modo observar a tendência da incidência e da prevalência da infecção por *H. pylori* ao longo do tempo;
  - a variável concelho de residência, para verificar se existem diferenças nas taxas de incidência e de prevalência da infecção por *H. pylori* de acordo com o local geográfico, na ilha de S. Miguel.
- ☞ À semelhança do método ELISA, incluir o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia como futuro indicador da incidência da infecção por *H.pylori*, comparando os resultados obtidos para cada fator de risco através do estudo das imunoglobulinas de classes IgM e IgA com os resultados obtidos para cada fator de risco através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia.

## 2 - Material e Métodos

### 2.1 - Caracterização da Amostra

#### 2.1.1 - População alvo

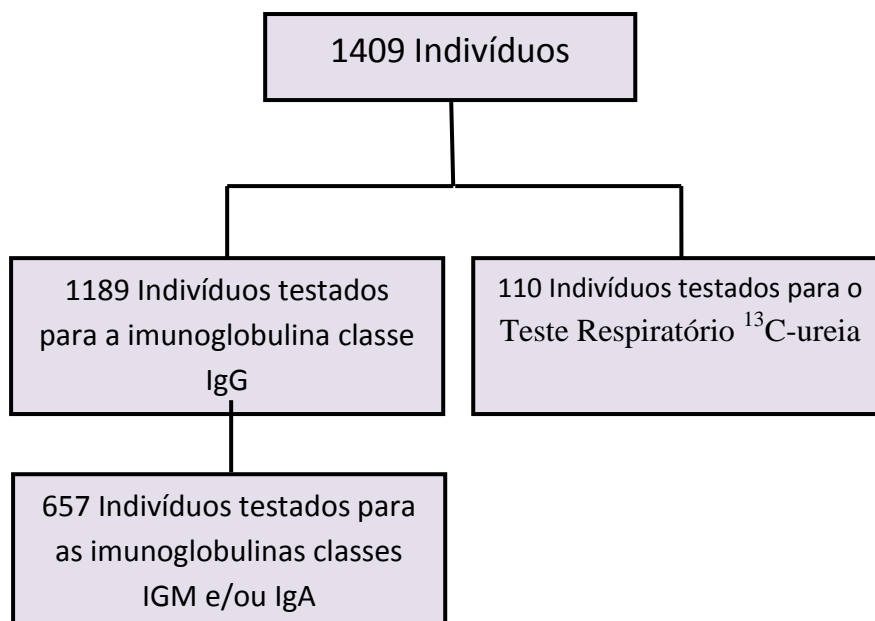
Este estudo compreendeu um total de 1409 indivíduos que efetuaram o “screening” sorológico para *H. pylori* ou que efetuaram o Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia para detecção de *H. pylori* no Laboratório de Análises Clínicas Machado, Lda. (LACM), sendo que os referidos métodos de diagnóstico foram requisitados por clínicos aos quais estes pacientes recorreram entre os anos de 2009, 2010 e 2011.

#### 2.1.2 - Amostra

Esta amostragem caracterizou-se por apresentar 731 indivíduos do sexo feminino e 678 indivíduos do sexo masculino, com idades entre os 2 e os 88 anos (média=38.30 anos).

Do total de 1409 indivíduos que foram testados no LACM (Figura 13):

- 1189 indivíduos foram testados para a imunoglobulina de classe IgG (613 indivíduos do sexo feminino e 576 indivíduos do sexo masculino, com idades entre os 2 e os 88 anos).
- 110 indivíduos foram testados para o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia para detecção de *H. pylori* (59 indivíduos do sexo feminino e 51 indivíduos do sexo masculino, com idades entre os 7 e os 76 anos).



**Figura 13** – Distribuição dos indivíduos estudados de acordo com o método de diagnóstico da infecção por *H.pylori* aplicado no LACM

Para o estudo da prevalência da infecção por *H. pylori* foram selecionados os indivíduos aos quais foi requisitada a pesquisa da imunoglobulina de classe IgG (1189 indivíduos).

Para o estudo da incidência da infecção por *H. pylori* foram selecionados os indivíduos testados para:

- As imunoglobulinas de classes IgA e/ou IgM (657 indivíduos, do total de 1189 indivíduos também testados para a imunoglobulina de classe IgG);
- O Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia (110 indivíduos).

O grupo de indivíduos testados para as imunoglobulinas de classes IgM e/ou IgA e grupo de indivíduos testados para o Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia representam um total de 767 indivíduos selecionados para o estudo da incidência da infecção por *H. pylori*.

## 2.2 - Recolha de Dados

Para aceder à amostragem em estudo foi efetuada uma pesquisa exaustiva na base de dados do LACM, suportada pelo programa informático Appolo (ferramenta comercializada pela empresa Confidentia), cujo qual permite uma gestão global e eficiente de todo o processo laboratorial.

## 2.3 - Diagnóstico da infeção por *Helicobacter pylori*

### 2.3.1 - Pesquisa de anticorpos anti-*Helicobacter pylori* pelo método imunoenzimático ELISA

Para efetuar a pesquisa das imunoglobulinas do tipo IgA, IgM e IgG, procedeu-se em primeiro lugar à colheita de sangue de cada indivíduo para o tubo apropriado à análise. Após retração do coágulo e centrifugação a 3200 rpm durante 15 minutos, obteve-se o soro a partir do qual se efetuou o respetivo estudo.

Recorreu-se ao método imunoenzimático ELISA para realizar este tipo de pesquisa, utilizando o autoanalisador DS2-Dinex, fabricado por *Magellan Biosciences*, que possui o seu próprio programa de tratamento de dados (DS-Matrix). Para além disso, recorreu-se a kits de reagentes fabricados pela *DRG Instruments GmbH*, Alemanha. De acordo com as especificações e instruções do fabricante, este método tem como princípio a técnica de “*sandwich*”, sendo utilizadas tiras que suportam um grupo de poços revestidos com antígenos específicos de *H. pylori* para cada imunoglobulina. Deste modo, inicialmente o DS2-Dinex diluiu 10µl do soro em 1ml do diluente, sendo pipetado 100µl da diluição em cada poço. De seguida aguardou-se 60 minutos para dar lugar a um processo de incubação entre 17°C e 25°C. Após esse período de tempo cada poço foi automaticamente lavado 3 vezes com 300µl da solução de lavagem. Após este passo, foi adicionado 100µl do conjugado aguardando-se 30 minutos de incubação entre 17°C e 25°C. Procedeu-se novamente à lavagem automática de cada poço (3 vezes com 300µl da solução de lavagem). Foi adicionado 100µl do substrato E aguardou-se 20 minutos de incubação à mesma temperatura sendo efetuado no final o respetivo procedimento de lavagem. Por último, foi adicionado 100µl da solução STOP e medida a absorvância a 450nm. Para monitorização desta técnica foram usados 2 níveis do controlo (negativo e positivo) e ainda 3 níveis dos calibradores de concentrações

conhecidas, de forma a criar uma curva de regressão linear, considerada a curva de calibração “*standard*”, a partir da qual foram extrapolados os valores de concentração para cada amostra. De acordo com as especificações da DRG *Instruments GmbH*, valores superiores a 20U/ml foram considerados positivos.

### **2.3.2 - Diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia**

Para o diagnóstico da infecção por *H. pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia recorreu-se ao kit de recolha *Helicobacter Test*, fabricado por *INFAI<sup>®</sup>, Institut für Biomedizinische Analytik und NMR-Imaging GmbH*, Alemanha. Como especiais especificações do fabricante, o paciente deve estar no mínimo 6 horas em jejum e não estar sob terapia antibacteriana pelo menos há 4 semanas. Assim, foi administrada a cada indivíduo uma solução do ácido cítrico (1g do ácido cítrico diluído em 200ml de água) e aguardou-se 5 minutos. De seguida, foi pedido a cada indivíduo para expirar para o interior do tubo identificado como amostra basal (0 minutos). Cada paciente voltou a tomar mais uma solução agora composta por 75mg da <sup>13</sup>C-ureia diluída e aguardou 30 minutos. Mais uma vez foi pedido para expirar para o interior de outro tubo agora identificado como amostra “30 minutos”.

Segundo o protocolo do LACM, estas amostras foram enviadas para o laboratório subcontratado – Laboratório Dr. Joaquim Chaves -, sendo analisadas por espectrofotometria de massa. Para aquelas amostras cujo valor da relação basal/30 minutos foi superior a 4.0‰ concluiu-se que o resultado era positivo para a existência de infecção por *H. pylori*.

## **2.4 - Análise Estatística dos Dados Recolhidos**

Foi utilizado o Excel 2007 (Microsoft) para organização dos dados exportados a partir do programa Apollo, assim como para posterior elaboração dos gráficos de regressão.

Para efetuar o tratamento estatístico dos dados obtidos recorreu-se à ferramenta informática SPSS v.18 – “*Statistical Package for the Social Sciences*”, a partir da qual se aplicou o módulo para o cálculo da regressão logística. O objetivo da regressão foi o de analisar o efeito de vários fatores na incidência e na prevalência da amostra: idade, género, ano e concelho de residência. Os casos positivos para o cálculo da incidência

basearam-se nos resultados dos testes sorológicos para a IgM e/ou IgA ou nos resultados positivos do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia. Os modelos foram estimados separadamente, uma vez que a maioria dos testes sorológicos não foi realizada em simultâneo com o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia. O grau de ajustamento dos modelos foi avaliado pelo AIC e através do teste Omnibus e do teste de Hosmer e Lemeshow. Foram calculados os valores dos coeficientes dos modelos de regressão ( $b$ ) bem como de  $e^b$ , uma vez que o último valor indica o aumento ou a diminuição do risco em relação à classe de referência.

A prevalência foi estudada de um modo idêntico, tendo os casos sido obtidos a partir dos resultados positivos do teste sorológico para a IgG.

De modo a perceber o efeito da idade na incidência e na prevalência da infecção por *H. pylori*, os indivíduos foram divididos em faixas etárias de 10 anos e foi analisada a possibilidade de ajustar um modelo à evolução temporal da respetiva taxa.

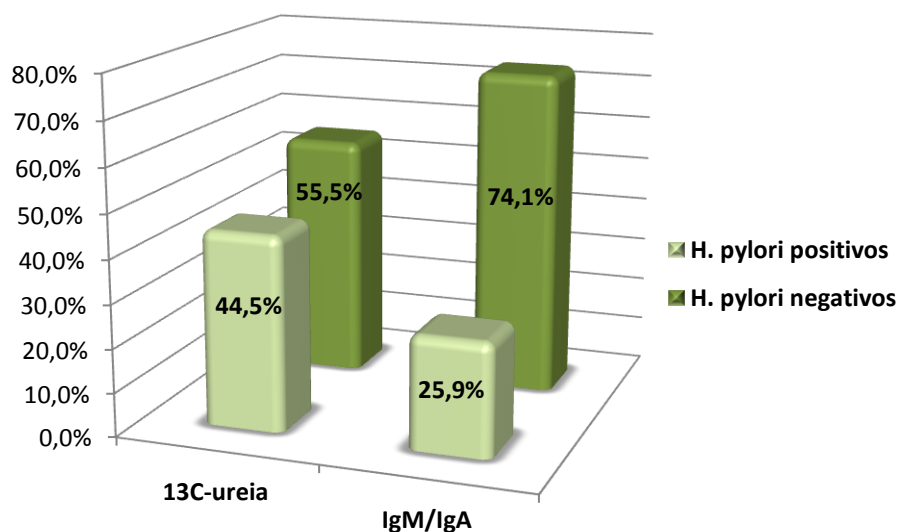
Para discutir e concluir sobre os resultados estatísticos calculados pelo SPSS, assumiu-se um nível de confiança de 95% e um valor de significância de 0,05.

### 3 - Resultados

#### 3.1 - Incidência da infecção por *H. pylori*

Para a determinação da incidência da infecção por *H. pylori* teve-se em conta os resultados positivos a partir do grupo de (Figura 14):

- 657 Indivíduos testados para as imunoglobulinas de classes IgM e IgA, a partir do qual 170 indivíduos (25,90%) apresentaram resultados positivos e 487 indivíduos apresentaram resultados negativos (74,10%) para IgM e/ou IgA;
- 110 Indivíduos testados para o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia, a partir do qual 49 indivíduos (44,50%) apresentaram resultados positivos e 61 indivíduos apresentaram resultados negativos (55,50%).



**Figura 14** – Distribuição dos resultados positivos e dos resultados negativos para *H. pylori*, através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA e através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia, a partir de uma amostra de 767 indivíduos do LACM

Os resultados positivos obtidos a partir do estudo das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, assim como os resultados positivos obtidos a partir do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia contribuíram para uma incidência global de 30,12%.

### 3.1.1 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA

Na Tabela 4 encontram-se apresentados alguns dados importantes para definição da estatística utilizada (gl – “graus de liberdade”), para a determinação do efeito de cada variável sobre a incidência (Teste Wald-Quadrado - “*Wald Chi-Square*”), assim como para a atribuição da significância estatística (p) de cada variável sobre a incidência da infecção provocada por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA.

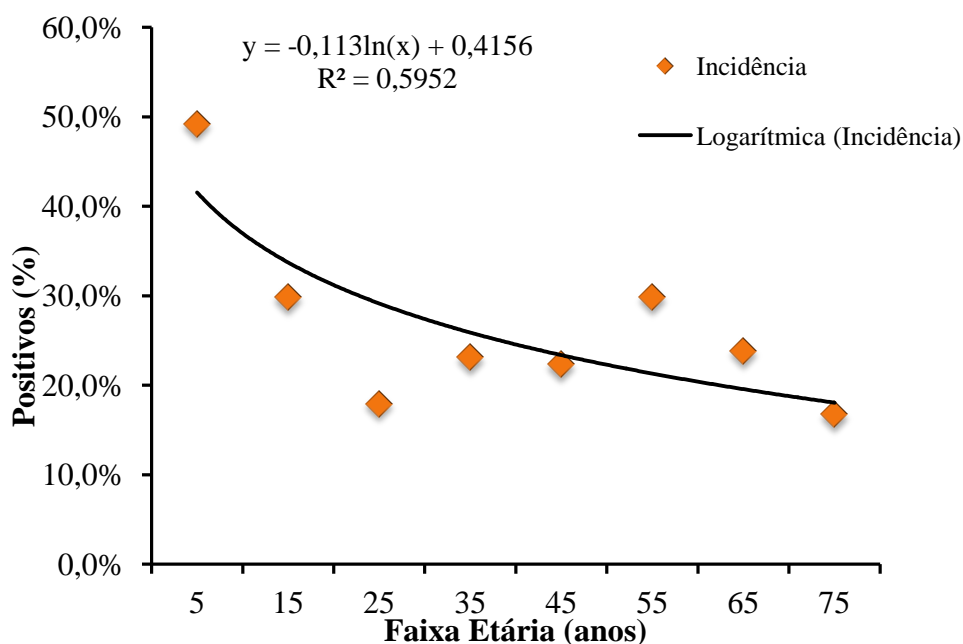
O modelo de regressão logística com o maior ajustamento (AIC = 736,568) incluiu apenas as variáveis Ano e Idade, não tendo as restantes variáveis apresentado um efeito significativo na incidência da infecção por *H. pylori*, pelo que foram excluídas do modelo (Tabela 4). O teste Omnibus rejeitou a hipótese de que o modelo obtido seja igual ao modelo nulo ( $\chi^2=14,709$ ; gl=3; p=0,002). O teste de Hosmer e Lemeshow considera que o poder de classificação do modelo é bom ( $\chi^2=6,517$ ; gl=8; p=0,590).

**Tabela 4** – Modelo logístico aplicado aos dados relativos à incidência da infecção por *H. pylori* numa amostra de 657 indivíduos submetidos aos testes sorológicos para deteção das imunoglobulinas de classes IgM e IgA (b – coeficiente de regressão)

Variáveis	b	Erro padrão	Wald	gl	p	Exp(b)	IC 95% de Exp(B)
Ano			7,27	2	0,026		
Ano (1)	-0,098	0,218	0,20	1	0,653	0,907	0,59 1,39
Ano (2)	-0,564	0,222	6,46	1	0,011	0,569	0,37 0,88
Idade	-0,013	0,005	6,15	1	0,013	0,987	0,98 1,00
Constante	-0,360	0,236	2,33	1	0,127	0,698	

### 3.1.1.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA

A análise da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA associada à variável idade, foi efetuada a indivíduos entre os 2 e 88 anos de idade, obtendo-se um nível de significância de 0,013 ( $p < 0,05$ ), ou seja, estatisticamente significativo. Através do cálculo da exponencial do valor do coeficiente de regressão, obteve-se um risco relativo associado a cada ano de vida. Verificou-se que por cada ano de vida, o risco de contrair a infecção por *H. pylori* foi reduzido em (100-98,7) 2,3%. Esta análise revelou assim um decréscimo da incidência da infecção com o avanço da idade, como é evidenciado pela linha de tendência logarítmica na Figura 15.

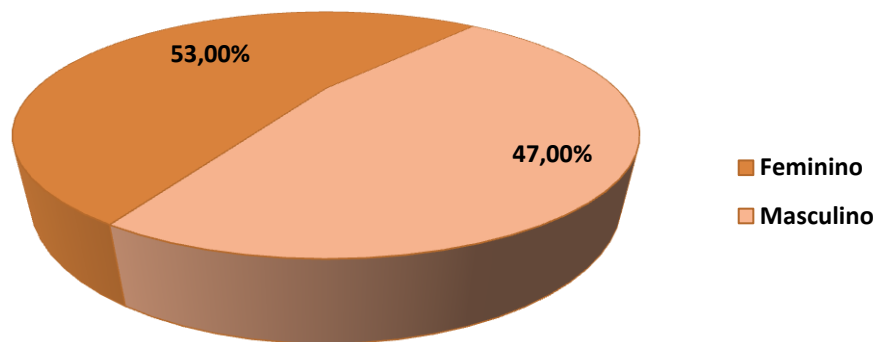


**Figura 15** – Relação da variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* pesquisa das imunoglobulinas IgM e IgA, no LACM

A maior percentagem de incidência da infecção pela bactéria foi observada na faixa etária dos 0 aos 10 anos (49,20%), havendo uma tendência para decrescer até aproximadamente aos 25 anos (17,90%) e estabilizando entre as faixas dos 30 aos 50 anos, apesar de aumentar ligeiramente na faixa etária dos 50 aos 60 anos (29,80%). Verifica-se um decréscimo significativo da incidência a partir dos 60 anos de idade.

### 3.1.1.2 - Relação da variável género com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA

A análise da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA relacionada com o género mostra que 53,00% dos indivíduos que apresentaram resultados positivos para IgM e/ou IgA são do sexo feminino, enquanto que 47,00% são do sexo masculino. Contudo, o teste a esta variável não foi considerado estatisticamente significativo pois o nível de significância foi de 0,084 ( $p > 0,05$ ) (Figura 16).

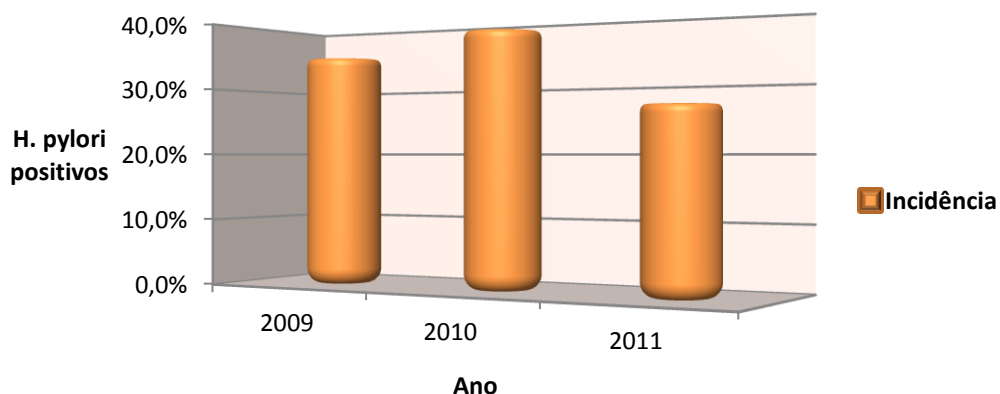


**Figura 16** - Relação da variável género com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, no LACM

### 3.1.1.3 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA

Como exemplifica a Figura 17, a determinação da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA ao longo dos anos de 2009, 2010 e 2011 demonstrou que, em 2009 cerca de 31,40% dos indivíduos apresentaram resultados positivos para IgM e/ou IgA, em 2010 foram cerca de 37,90% dos indivíduos e em 2011 foram cerca de 30,70% dos indivíduos. Verificou-se uma certa flutuação de resultados positivos ao longo deste período de tempo, contudo, a análise da associação da incidência à variável ano foi considerada estatisticamente significativa pois apresentou um nível de significância de 0,026 ( $P < 0,05$ ).

De 2009 para 2010 verificou-se um aumento da incidência da infecção por *H. pylori* de 6,50%, enquanto que de 2010 para 2011 verificou-se uma diminuição incidência da infecção pelo *H. pylori* de 7,20%.

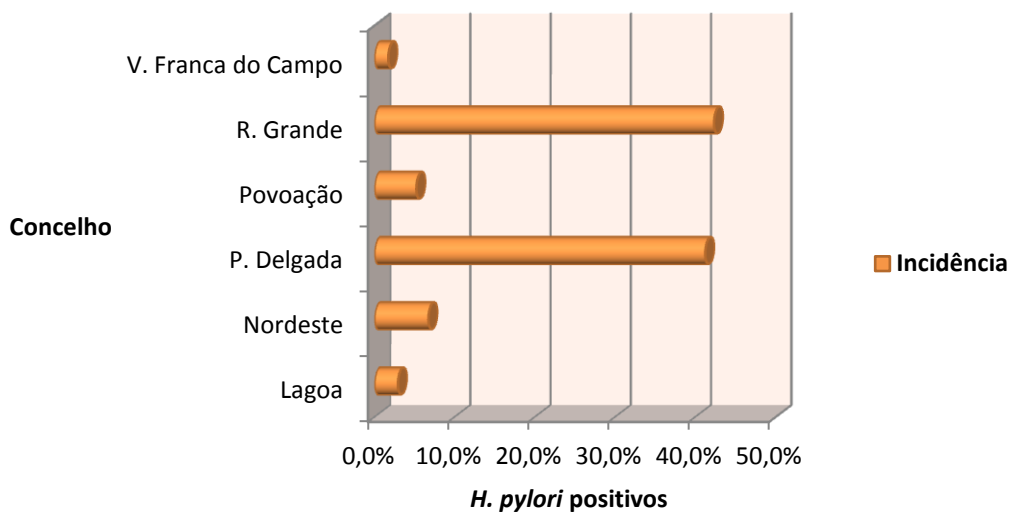


**Figura 17** - Relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, no LACM

### 3.1.1.4 - Relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA

A análise da associação da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA à variável concelho de residência foi efetuada tendo em conta 6 locais geográficos da ilha de S. Miguel – Vila Franca do Campo (1,70%), Ribeira Grande (42,30%), Povoação (5,20%), Ponta Delgada (41,20%), Nordeste (6,70%) e Lagoa (2,90%).

O teste a esta variável não foi considerado estatisticamente significativo pois apresentou um nível de significância de 0,906 ( $P > 0,05$ ) (Figura 18).



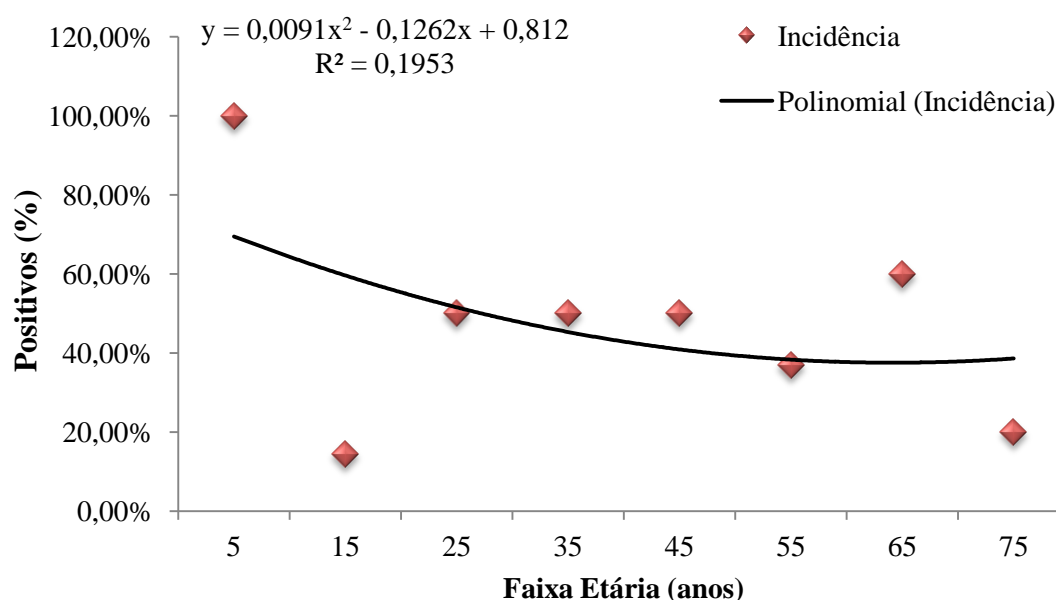
**Figura 18** – Relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, no LACM

### 3.1.2 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia

Neste caso, o modelo de regressão logística com o maior ajustamento (AIC = 151,181) excluiu todas as variáveis. O teste Omnibus não rejeitou a hipótese de que o modelo obtido seja igual ao modelo nulo ( $\chi^2=9,598$ ; gl=8; p=0,294).

#### 3.1.2.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia

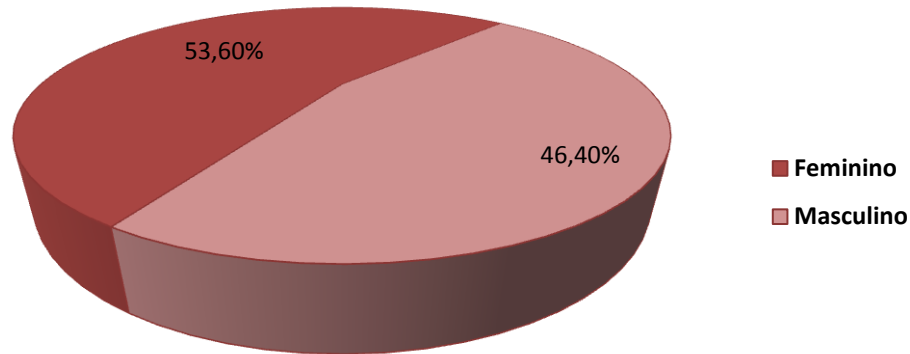
A análise da relação da incidência da infecção por *H. pylori* com a variável idade, através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia, foi efetuada a indivíduos entre os 2 e os 88 anos de idade, obtendo-se um nível de significância de 1,000 (P>0,05), ou seja, não foi considerada estatisticamente significativa. Ainda assim, esta análise revelou um decréscimo acentuado da incidência da infecção até aproximadamente aos 15 anos (14,30%), verificando-se um aumento até aos 25 anos (50,00%), mantendo-se na mesma taxa de incidência até aos 45 anos, como é evidenciado na Figura 19. A incidência da infecção por *H. pylori* diminuiu ligeiramente na faixa etária dos 50 aos 60 anos (37,00%), aumentou ligeiramente na faixa etária dos 60 aos 70 anos (60,00%) e diminuiu de modo acentuado a partir dos 70 anos atingindo valores de 20,00%.



**Figura 19** – Relação da variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia, no LACM

Em geral, observou-se que a tendência da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia foi a diminuição da mesma com o avanço da idade, indo ao encontro do que foi observado na pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA.

### 3.1.2.2 - Relação da variável gênero com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia



**Figura 20** - Relação da variável gênero com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia, no LACM

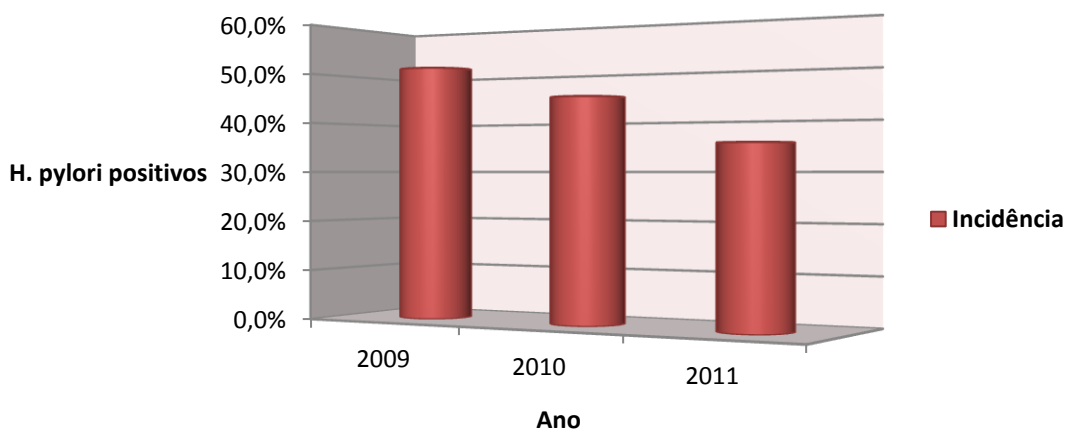
A análise da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia relacionada com o gênero mostrou que 53,60% dos indivíduos que apresentaram resultados positivos são do sexo feminino, enquanto que 47,40% dos indivíduos que apresentaram resultados positivos são do sexo masculino (Figura 20). Estes achados foram muito semelhantes aos observados na análise da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA quando relacionada com o gênero.

Contudo, neste caso o teste a esta variável não foi considerado estatisticamente significativo pois o nível de significância foi de 0,693 ( $P > 0,05$ ).

### 3.1.2.3 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia

A determinação da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia ao longo dos anos de 2009, 2010 e 2011 demonstrou que, em 2009 cerca de 51,20% dos indivíduos apresentaram resultados positivos, em 2010 foram cerca de 44,70% dos indivíduos e em 2011 foram cerca de 35,50% dos indivíduos (Figura 21). Ao contrário do observado na incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA quando relacionada com a variável ano (onde se verificou uma diminuição da incidência mas com uma certa flutuação de resultados positivos ao longo dos 3 anos), neste caso verificou-se claramente um decréscimo da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia no mesmo período de tempo. De 2009 para 2010 observou-se um decréscimo da incidência da infecção pelo *H. pylori* de 6,50% e de 2010 para 2011 observou-se um decréscimo da incidência da infecção por *H. pylori* de 15,7%.

No entanto, a análise da associação da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia à variável ano não foi considerada estatisticamente significativa pois apresentou um nível de significância de 0,304 (P>0,05).

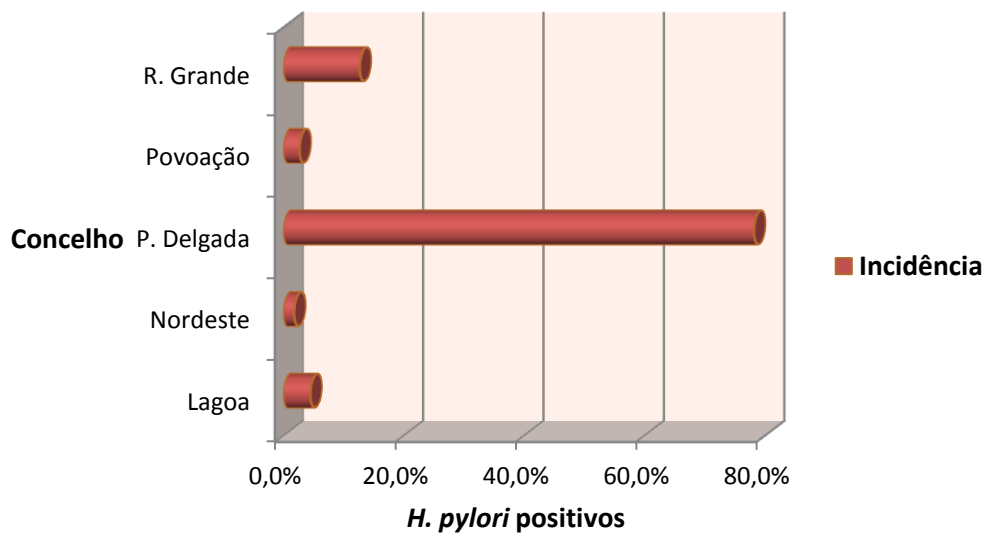


**Figura 21** – Relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia, no LACM

### 3.1.2.4 - Relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório $^{13}\text{C}$ -ureia

A análise da associação da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório  $^{13}\text{C}$ -ureia à variável concelho de residência foi efetuada tendo em conta apenas 5 locais geográficos da ilha de S. Miguel – Ribeira Grande (12,70%), Povoação (2,70%), Ponta Delgada (78,20%), Nordeste (1,80%) e Lagoa (4,50%) (Figura 22).

Contudo, o teste a esta variável não foi considerado estatisticamente significativo pois apresentou um nível de significância de 0,867 ( $P > 0,05$ ).

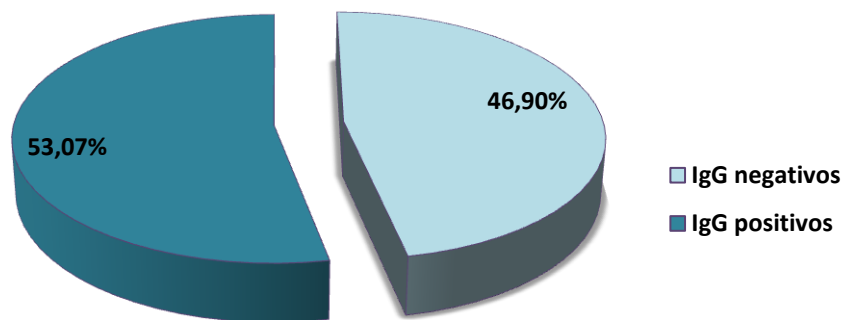


**Figura 22** – Relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório  $^{13}\text{C}$ -ureia, no LACM

### 3.2 - Prevalência da infecção por *H. pylori*

Para a determinação da prevalência da infecção por *H. pylori* teve-se em conta os resultados positivos a partir do grupo de (Figura 14):

- 1189 indivíduos testados para a imunoglobulina de classe IgG, a partir do qual 631 indivíduos (53,10%) apresentaram resultados positivos e 558 indivíduos (46,90%) apresentaram resultados negativos.



**Figura 23** - Distribuição dos resultados positivos e dos resultados negativos para *H. pylori*, através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG no LACM, a partir de uma amostra de 1189 indivíduos testados

Os resultados positivos obtidos a partir do estudo da imunoglobulina de classe IgG contribuíram para uma prevalência de 53,07%.

### 3.2.1 - Relação de fatores de risco com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG

Na Tabela 5, encontram-se apresentados alguns dados importantes para definição da estatística utilizada (gl – “graus de liberdade”), para a determinação do efeito de cada variável sobre a incidência (Teste Wald-Quadrado - “*Wald Chi-Square*”), assim como para a atribuição da significância estatística (p) de cada variável sobre a prevalência da infecção provocada por *H. pylori*, através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG.

**Tabela 5** - Modelo logístico aplicado aos dados relativos à prevalência da infecção por *H. pylori* numa amostra de 1189 indivíduos submetidos aos testes sorológicos para detecção da imunoglobulina de classe IgG (b – coeficiente de regressão)

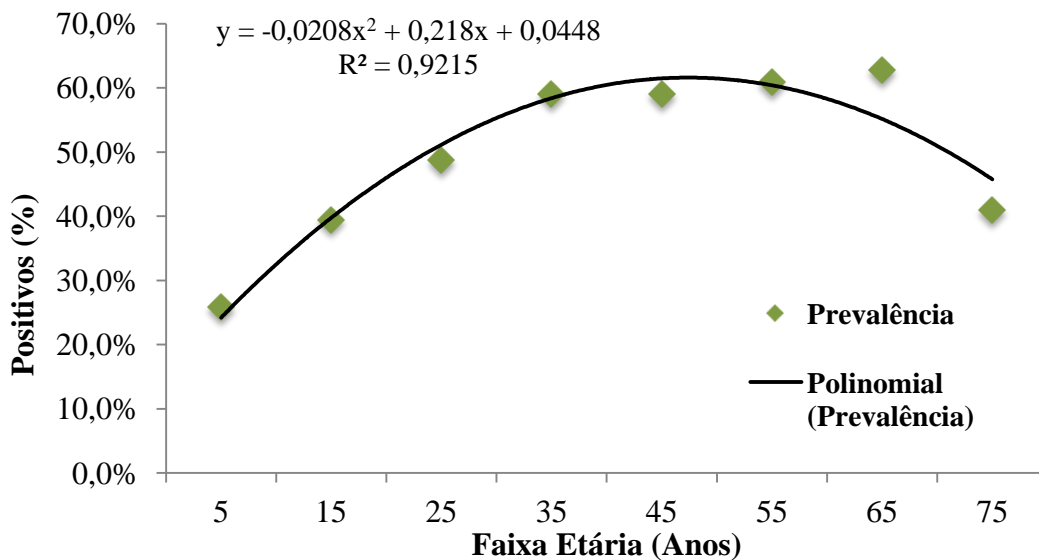
Variáveis	b	Erro padrão	Wald	gl	p	Exp(b)	IC 95% de Exp(B)	
<b>Sexo</b>	-0,235	0,119	3,94	1	0,047	0,790	0,63	1,00
<b>Idade</b>	0,017	0,004	23,58	1	0,000	1,017	1,01	1,02
<b>Ano</b>			8,62	2	0,013			
<b>Ano (1)</b>	0,432	0,152	8,11	1	0,004	1,541	1,14	2,07
<b>Ano (2)</b>	0,330	0,149	4,93	1	0,026	1,391	1,04	1,86
<b>Constante</b>	-0,681	0,187	13,20	1	0,000	0,506		

O modelo de regressão logística com o maior ajustamento (AIC = 1643,819) incluiu apenas as variáveis Ano, Idade e Sexo, não tendo as restantes variáveis apresentado um efeito significativo na prevalência da infecção por *H. pylori*, pelo que foram excluídas do modelo (Tabela 5). O teste Omnibus rejeitou a hipótese de que o modelo obtido seja igual ao modelo nulo ( $\chi^2=37,429$ ; gl=4; p<0,001). O teste de Hosmer e Lemeshow considera que o poder de classificação do modelo foi bom ( $\chi^2=13,422$ ; gl=8; p=0,098).

### 3.2.1.1 - Relação da variável idade com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG

A análise da prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, associada à variável idade, foi efetuada a indivíduos entre os 2 e 88 anos de idade, obtendo-se um nível de significância de 0,000 ( $P < 0,05$ ), ou seja, estatisticamente significativo. Através do cálculo da exponencial do valor do coeficiente de regressão, obteve-se o risco relativo associado a cada ano de vida. Verifica-se que por cada ano de vida, o risco de ocorrer a infecção por *H. pylori* é aumentado em (101,7-100) 1,70%. A análise revelou assim um aumento da prevalência da infecção com o avanço da idade, como é evidenciado pela linha de tendência na Figura 24.

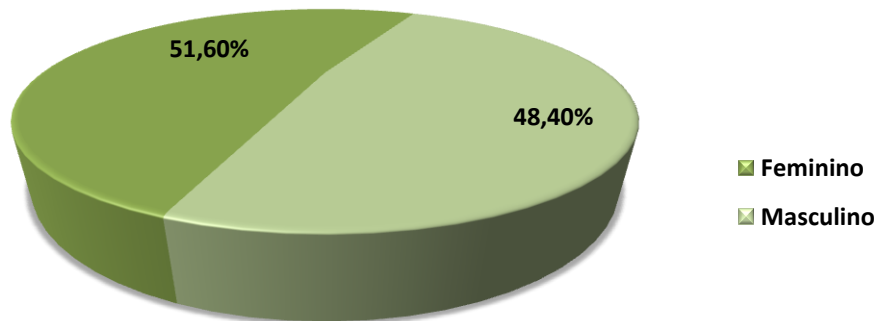
A menor percentagem de prevalência da infecção pela bactéria foi observada na faixa etária dos 0 aos 10 anos (25,80%), verificando-se um aumento a partir dos 10 anos que permanece até próximo dos 60 anos. Ocorre um decréscimo significativo da prevalência a partir dos 70 anos atingindo valores de 40,90%.



**Figura 24** – Relação da variável idade com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, no LACM

### 3.2.1.2 - Relação da variável gênero com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG

A análise da prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG relacionada com o gênero mostra que 51,60% dos indivíduos que apresentaram resultados positivos para IgG são do sexo feminino, enquanto que 48,40% são indivíduos do sexo masculino. O teste a esta variável foi considerado estatisticamente significativo pois o nível de significância foi de 0,047 ( $P > 0,05$ ) (Figura 25).

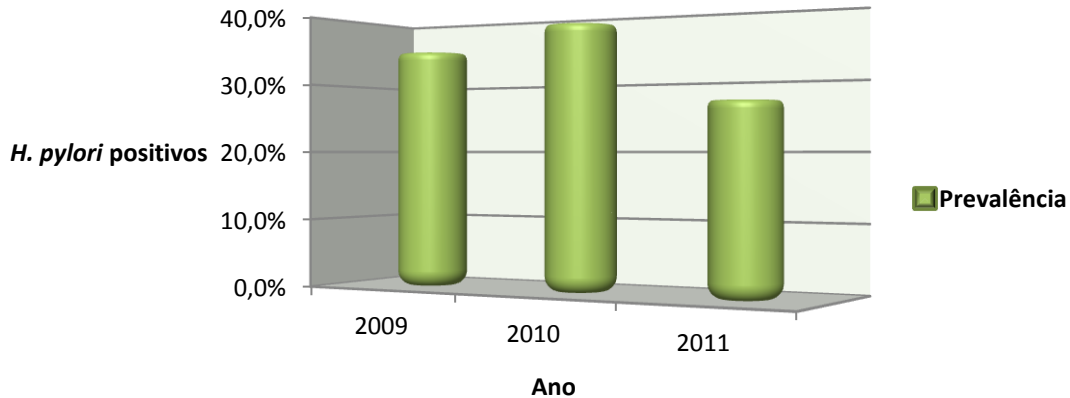


**Figura 25** - Relação do gênero com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, no LACM

### 3.2.1.3 - Relação da variável ano com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG

A determinação da prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG ao longo dos anos de 2009, 2010 e 2011 demonstrou que, em 2009 cerca de 34,80% dos indivíduos apresentaram resultados positivos para IgG, em 2010 foram cerca de 38,20% dos indivíduos e em 2011 foram cerca de 27,00% dos indivíduos, sendo que o ano de 2010 foi o que apresentou uma maior prevalência da infecção (Figura 26). Apesar de se verificar na prevalência da infecção por *H. pylori* uma certa flutuação de resultados positivos ao longo deste período de tempo, a análise da associação desta à variável ano foi considerada estatisticamente significativa pois apresentou um nível de significância de 0,020 ( $P < 0,05$ ).

De 2009 para 2010 verificou-se um aumento da prevalência da infecção por *H. pylori* de 3,00%, enquanto que de 2010 para 2011 verificou-se uma diminuição prevalência da infecção por *H. pylori* de 11,00%.

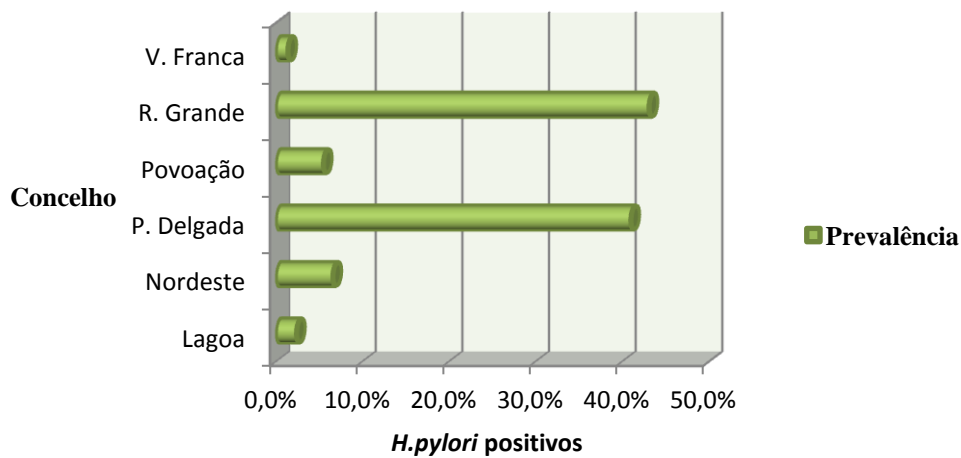


**Figura 26** – Relação do ano com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, no LACM

### 3.2.1.4 - Relação da variável concelho de residência com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG

A análise da associação da prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG à variável concelho (Figura 27) foi efetuada tendo em conta 6 locais geográficos da ilha de S. Miguel – Vila Franca do Campo (1,40%), Ribeira Grande (42,10%), Povoação (5,50%), Ponta Delgada (41,00%), Nordeste (6,60%) e Lagoa (2,40%).

O teste a esta variável não foi considerado estatisticamente significativo pois apresentou um nível de significância de 0,123 ( $P > 0,05$ ).

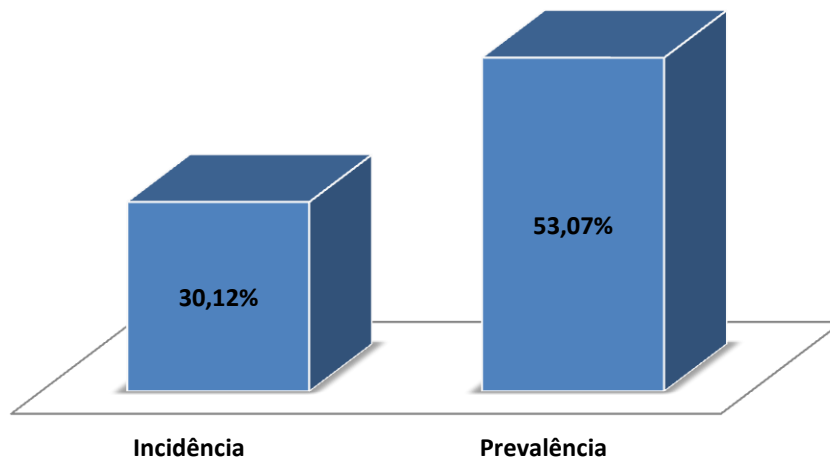


**Figura 27** – Relação do concelho de residência com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, no LACM

### 3.3 - Alguns aspetos comparativos

#### 3.3.1 - Comparação entre a incidência global da infecção por *H. pylori* e a prevalência global da infecção por *H. pylori*

Verificou-se que a incidência global da infecção por *H. pylori* foi de 30,12%, enquanto que a prevalência global da infecção pelo *H. pylori* foi de 53,07%. O número de novos casos de aquisição da infecção por *H. pylori* corresponde a mais de metade do número de indivíduos portadores desta bactéria (Figura 28).



**Figura 28** – Incidência global e prevalência global da infecção por *H. pylori* no LACM, a partir de um total de 1409 indivíduos testados

### 3.3.2 - Distribuição da incidência e da prevalência da infecção por *H. pylori*, de acordo com a faixa etária, baseada no “*screening*” sorológico

De acordo com a informação obtida foi possível elaborar a Tabela 7, que evidencia a distribuição das taxas de incidência e de prevalência da infecção por *H. pylori*, de acordo com a idade, através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA e através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, respectivamente. Nesta tabela pode-se verificar quais as faixas etárias que apresentaram uma maior e menor taxa para a incidência e para a prevalência da infecção por *H. pylori*.

**Tabela 7** – Distribuição da incidência e da prevalência da infecção por *H. pylori* no LACM, de acordo com a faixa etária, através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA e através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, respectivamente

Faixa etária	Incidência IgM/IgA (%)	Prevalência IgG (%)
0-10	<b>↑49,2</b>	<b>↓25,8</b>
11-20	29,80	39,40
21-30	17,90	48,70
31-40	23,10	59,00
41-50	22,30	59,00
51-60	29,80	60,80
61-70	23,80	<b>↑62,7</b>
>71	<b>↓16,7</b>	40,90

## Discussão

### 4.1 - Incidência da infecção por *H. pylori*

A incidência global da infecção por *H. pylori* encontrada no LACM foi de 30,12%.

Dado que ainda existem poucos estudos a nível mundial sobre a incidência da infecção por *H. pylori*, torna-se complexo comparar a incidência encontrada na população em estudo com outros achados epidemiológicos. Ainda assim, na investigação realizada por Oleastro et al (2011)<sup>62</sup>, na área de Lisboa, verificou-se uma incidência da infecção por *H. pylori* de 47,5% na população estudada<sup>62</sup>, valor claramente mais elevado do que o encontrado neste trabalho. No entanto, durante o período de tempo selecionado, o número de novos indivíduos infetados com esta bactéria (incidência) corresponde aproximadamente a mais de metade do número de indivíduos portadores deste microrganismo (prevalência) (Figura 29), concluindo assim que a disseminação da infecção por *H. pylori* está a aumentar de forma gradual e que pode ganhar um carácter alarmante ao combate da propagação desta bactéria na população.

Na determinação da incidência da infecção por *H. pylori*, verificou-se que tanto a pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA como o Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia forneceram a informação de novos casos de indivíduos infetados com *H. pylori*. No caso da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA verificou-se que, na amostra de 1189 indivíduos, os clínicos nem sempre requisitaram este tipo de análise (Figura 13), logo nem todos os indivíduos foram submetidos a um “*screening*” sorológico completo. Para além disso, a maioria dos indivíduos que efetuaram o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia não fizeram a pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA. Estas 2 características da amostragem para o estudo da incidência da infecção por *H. pylori* derivam provavelmente do facto dos clínicos só requisitarem estes tipos de pesquisa quando o indivíduo apresenta sintomas que o justifique.

#### **4.1.1 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA**

##### **4.1.1.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA**

Ao relacionar a variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, observou-se que a tendência incide no decréscimo da infecção com o passar da idade (Figura 15). Dado que as faixas etárias que apresentaram uma maior percentagem de incidência foram as correspondentes a um grupo considerado infantil (0 aos 10 anos) e a um grupo em transição para a 3ª idade (a partir dos 60 anos), é de notar que: a elevada incidência nas crianças pode-se dever ao facto de estas fazerem parte de um grupo de risco que se encontra muitas vezes exposto a padrões de higiene mais baixos ligados a diversas características do quotidiano; por sua vez, a diminuição da incidência da infecção por *H. pylori* que se verificou a partir dos 60 anos pode ser explicada por um processo de tratamento de erradicação desta bactéria ou simplesmente devido ao facto de que em idades mais avançadas o organismo humano pode já não se encontrar suficientemente capaz de produzir uma resposta humoral imune adaptativa eficaz, ao ponto de produzir anticorpos do tipo IgM e IgA essenciais ao combate do processo inflamatório agudo causado por esta bactéria.

Na idade adulta a incidência da infecção por *H. pylori* diminuiu provavelmente devido à exposição a tratamentos de atenuação da infecção provocada por esta bactéria e de certa forma devido a maiores cuidados nos hábitos quotidianos. O ligeiro aumento da incidência da infecção entre os 50 e 60 anos pode ser explicado por uma reinfeção de *H. pylori*.

Em geral, pôde-se concluir que através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA no LACM, a aquisição de *H. pylori* na população em estudo é mais comum na infância do que na idade adulta, sendo que o risco de incidência da infecção por *H. pylori* diminui com o avanço da idade.

#### **4.1.1.2 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA**

De acordo com a Figura 17, verificou-se que a relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA demonstrou uma certa flutuação ao longo de 2009, 2010 e 2011, mas em geral observou-se um decréscimo da taxa de incidência de 2009 até 2011. Apesar do ano ter sido considerado uma variável estatisticamente significativa essa flutuação apenas poderá ser explicada pelo número de indivíduos testados para as imunoglobulinas de classes IgM e/ou IgA em cada período anual, verificando-se que 2010 foi o período em que se pesquisou mais anticorpos deste tipo. Logo, estes achados por si só não podem concluir se o fator tempo aumenta ou diminui o risco de incidência da infecção por *H. pylori*, através da pesquisa destas imunoglobulinas. Ainda assim, de 2009 para 2010 verificou-se um aumento da incidência da infecção por *H. pylori* que acabou por ser anulado com a diminuição da incidência que se verificou de 2010 para 2011.

#### **4.1.1.3 - Relação das variáveis género e concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA**

O género e o concelho de residência são duas variáveis que não foram consideradas estatisticamente significativas.

Ainda assim, quanto ao género (Figura 16), tanto os homens como as mulheres apresentaram valores percentuais de incidência muito próximos. A probabilidade de não se conseguir relacionar o género com a incidência da infecção por *H. pylori*, na população em estudo, era elevada dado que na maioria dos estudos existentes não se verifica esse tipo de relação.

No que diz respeito à variável concelho de residência (Figura 18) verificou-se uma elevada percentagem de incidência da infecção em indivíduos pertencentes a Ponta Delgada e em indivíduos pertencentes à Ribeira Grande. Por sua vez, Vila Franca foi o concelho que apresentou uma menor taxa de incidência. Estes achados podem estar somente ligados à quantidade populacional, sendo que os dois maiores concelhos em termos populacionais são Ponta Delgada e Ribeira Grande.

Assim, através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA não foi possível retirar conclusões concretas acerca da relação das variáveis género e concelho com o risco do aumento ou diminuição da incidência da infecção por *H. pylori*.

#### **4.1.2 - Relação de fatores de risco com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia**

##### **4.1.2.1 - Relação da variável idade com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia**

Na análise da relação da incidência da infecção por *H. pylori* com a variável idade, através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia, verificou-se que a faixa etária onde se observou uma maior taxa de incidência foi dos 0 aos 10 anos de idade. Efetivamente, a literatura tem vindo a evidenciar que a incidência da infecção por esta bactéria é mais acentuada em crianças até aproximadamente aos 10 anos de idade, verificando-se um decréscimo da mesma com o passar da idade.<sup>36,57,62</sup> Como exemplo, existe o estudo de Oleastro et al (2011)<sup>62</sup>, efetuado em crianças até aos 15 anos na área de Lisboa, que demonstra que a taxa de incidência nessa população obteve o seu pico no grupo indivíduos com 4 anos de idade, verificando-se o seu decréscimo nas idades mais avançadas.<sup>62</sup>

O facto de se ter observado um aumento da incidência da infecção por *H. pylori* a partir dos 15 anos mantendo-se até aproximadamente aos 65 anos indica o surgimento de novos casos de indivíduos infetados ou reinfetados por esta bactéria. Esse aumento da incidência da infecção por *H. pylori* também foi verificado através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, contudo, apenas se refletiu na faixa etária dos 50 aos 60 anos. Estes achados levam a crer que o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia fornece uma melhor precisão de diagnóstico da infecção por *H. pylori* superior à pesquisa sorológica, como já foi referido anteriormente.

A diminuição da incidência da infecção por *H. pylori* que se observou a partir dos 65 anos pode ser explicada por um processo de tratamento de erradicação desta bactéria ou simplesmente devido ao facto de que em idades mais avançadas o organismo humano pode já não se encontrar suficientemente capaz de produzir uma resposta humoral imune adaptativa eficaz, ao ponto de produzir anticorpos do tipo IgM e IgA essenciais ao combate do processo inflamatório agudo causado por esta bactéria.

Apesar da variável idade não ter sido considerada estatisticamente significativa para o estudo da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia, verificou-se que os achados encontrados foram semelhantes aos achados observados na incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA. Provavelmente este tipo de pesquisa com o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia necessitava de um maior volume de indivíduos testados para se obter significado estatístico.

#### **4.1.2.2 - Relação da variável ano com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia**

Na análise da incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia, relacionada com a variável ano, verificou-se claramente um decréscimo da incidência desde 2009 até 2011 (Figura 21), ao contrário do que foi observado na incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, onde se verificou um decréscimo até 2011 mas com uma certa flutuação nos resultados. Assim, os achados encontrados através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia vieram clarificar o decréscimo da incidência da infecção por *H. pylori* ao longo dos 3 anos. Efetivamente, este achado poderá estar ligado à elevada sensibilidade e especificidade do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia, que vários estudos têm vindo a relatar<sup>52,65</sup>, onde os investigadores verificam uma precisão de diagnóstico da infecção por *H. pylori* superior à pesquisa sorológica. De facto, no estudo realizado por Portorreal et al (2002)<sup>52</sup>, apesar do método de diagnóstico ELISA, para pesquisa das imunoglobulinas relacionadas com a infecção por *H. pylori*, ter sido considerado de alta sensibilidade (83,0% e 86,0%), a sua especificidade foi considerada muito inferior (70,6% e 71,0%), sugerindo assim a possibilidade de ocorrência de falsos resultados negativos.<sup>52</sup> Já no estudo efetuado por Gatta et al (2006)<sup>65</sup>, foram administradas, à população selecionada para estudo, três doses de <sup>13</sup>C-ureia com diferentes concentrações e verificaram-se sempre valores de sensibilidade à volta de 96,8% e valores de especificidade à volta de 100%, para este método de diagnóstico.<sup>65</sup>

Assim apesar da variável ano não ter sido considerada estatisticamente significativa, de certo modo foi claramente observada a diminuição do risco de incidência da infecção por *H. pylori*, através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia, no período de tempo estudado. Ainda assim, este tipo de pesquisa com o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-

ureia necessitava de um maior volume de indivíduos testados para se obter significado estatístico.

#### **4.1.2.3 - Relação das variáveis género e concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia**

Segundo a Figura 20, a determinação da incidência da infecção por *H. pylori* relacionada com a variável género, através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia, apresentou valores muito semelhantes aos observados na análise da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA e que vão ao encontro do que tem sido relatado por alguns autores<sup>57</sup>. Ou seja, na maioria dos estudos existentes não se verifica uma relação entre o aumento ou diminuição da incidência da infecção por *H. pylori* e a variável género.

Na relação da variável concelho de residência com a incidência da infecção por *H. pylori* através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia observou-se que os concelhos que apresentaram uma maior taxa de incidência foram Ponta Delgada e Ribeira Grande, achados que vão também ao encontro dos observados na incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas IgM e IgA. Estes achados podem estar somente ligados à quantidade populacional, sendo que os dois maiores concelhos em termos populacionais são os referidos anteriormente.

Assim, através do Teste respiratório <sup>13</sup>C-ureia não foi possível retirar conclusões concretas acerca da relação das variáveis género e concelho com o risco do aumento ou diminuição da incidência da infecção por *H. pylori*.

## **4.2 - Prevalência da infecção por *H. pylori***

A prevalência da infecção por *H. pylori* encontrada no LACM foi de 53,07%, um valor inferior ao estimado pelas Nações Unidas para a população portuguesa (80%)<sup>40</sup>, mas acima do valor de prevalência calculado por Santos et al (2010)<sup>40</sup>, no Algarve (44,9%), assim como acima do valor de prevalência calculado por Oleastro et al (2011)<sup>62</sup>, na área de Lisboa (31,6%) Por outro lado, a taxa de prevalência da infecção por *H. pylori* calculada neste estudo foi mais baixa do que a observada no estudo de Bastos J (2013)<sup>63</sup>, na área do Porto (66,2%). É de notar que apesar dos indivíduos em estudo residirem num arquipélago, distante do Continente, mas ainda assim pertencente a Portugal, a elevada diferença entre o valor de prevalência calculado neste estudo e o estimado para a população portuguesa em geral, vem fundamentar a teoria de que a prevalência pode variar entre grupos populacionais dentro do mesmo país.<sup>16</sup> Por outro lado, esta percentagem encontra-se ligeiramente acima do valor de prevalência estimado para os países desenvolvidos (40%) e claramente abaixo do valor estimado para os países subdesenvolvidos (70% a 80%).<sup>40,41</sup> Esta evidência pode indicar que a população em estudo tem uma significativa tendência para estar exposta a *H. pylori*, provavelmente devido a factos atribuídos a padrões de higiene e alimentação favoráveis.

### **4.2.1 - Relação de fatores de risco com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG**

#### **4.2.1.1 - Relação da variável idade com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG**

Na relação da variável idade com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG verificou-se que esta última tendeu a aumentar com o decorrer da idade (Figura 24). Efetivamente, a faixa etária onde se observou uma maior prevalência da infecção por *H. pylori* corresponde a um grupo pertencente à fase adulta (60 aos 70 anos). Logo, pôde-se deduzir que os indivíduos pertencentes a este grupo provavelmente foram infetados por *H. pylori* quando eram mais jovens (elevada incidência), permanecendo portadores desta bactéria até à presente idade (elevada prevalência). Outros estudos efetuados também verificaram uma elevada prevalência desta infecção em indivíduos na idade adulta. Por exemplo, a pesquisa efetuada por Santos et al (2010)<sup>53</sup>, numa população do Algarve, registou uma maior

prevalência da infecção por *H. pylori* em indivíduos com idades compreendidas entre os 40 e 60 anos, rondando valores entre os 59,3% e 56,8%.<sup>53</sup> Por outro lado, uma pesquisa efetuado por Grade t al (2012)<sup>65</sup>, em adultos de diferentes raças nos EUA, obteve valores de prevalência à volta de 64,0%, 58,8% e 52,0%.<sup>65</sup> A manutenção do nicho ecológico de *H. pylori* no ser humano poderá estar fortemente associada não só à ineficácia da antibioterapia para total erradicação desta bactéria mas também aos eficazes mecanismos de patogenicidade adotados pela mesma, sendo necessário manter uma vigilância permanente da evolução da infecção ao longo dos anos. Para além disso, as condições gástricas favoráveis à permanência de *H. pylori* no estômago, que se verificam principalmente após a redução na produção de ácido durante o processo inflamatório, facilitam a colonização deste microrganismo, contribuindo para o aumento da prevalência da sua infecção. Por último, os hábitos alimentares e de higiene aos quais os indivíduos estão sujeitos também podem promover uma elevada prevalência da infecção por esta bactéria.

Por outro lado, segundo Santos et al (2010)<sup>53</sup>, o fenómeno da baixa prevalência verificada em indivíduos pertencentes à faixa etária >70 anos, pode ser derivado da própria história natural da infecção por *H. pylori* que poderá estar condicionada muitas vezes pelo surgimento de gastrite atrófica e conseqüente perda do nicho ecológico da bactéria.<sup>53</sup> Para além desta teoria, não se dispõe de qualquer outra explicação evidente para esta observação, que futuramente merece ser aprofundada.

Assim, pôde-se concluir que na população em estudo a prevalência da infecção por *H. pylori* no LACM é mais comum na idade adulta do que na infância, sugerindo que a variável idade representa um fator de risco para o aumento da prevalência da infecção por *H. pylori*.

#### **4.2.1.2 - Distribuição da incidência e da prevalência da infecção por *H. pylori*, de acordo com a faixa etária, baseada no “*screening*” sorológico**

As faixas etárias onde se observou uma menor prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG correspondem a 2 grupos distintos: um grupo considerado muito jovem (0 aos 10 anos) e um grupo mais idoso (>70 anos). De facto, a baixa prevalência da infecção verificada em indivíduos mais jovens pode ser explicada pela elevada incidência da infecção nesse mesmo grupo etário (Tabela 7), referida anteriormente, pois na sua maioria são indivíduos que estão numa fase inicial da infecção ou que ainda não foram infetados por *H. pylori*. Logo estão numa

fase inicial do desenvolvimento da resposta humoral imune adaptativa contra este microrganismo, não tendo ainda desenvolvido anticorpos do tipo IgG. Estudos efetuados em alguns países considerados desenvolvidos também registaram baixos níveis de prevalência deste tipo de infecção na infância. Por exemplo, o estudo realizado por Llanes et al (2012)<sup>66</sup> em Havana, Cuba registou, em crianças, apenas uma prevalência da infecção por *H. pylori* de 30,8%.<sup>66</sup> Outro estudo efetuado por Segal et al (2008)<sup>67</sup>, em crianças no Canadá, apenas registou uma prevalência da infecção por *H. pylori* de 7,1%.<sup>67</sup> Assim sendo, pode-se concluir que de acordo com os resultados de prevalência obtidos, em crianças no LACM, estes vão de encontro aos baixos níveis prevalentes da infecção verificados em países considerados desenvolvidos e contra os elevados índices de prevalência observados nos países subdesenvolvidos.

Por outro lado, ao observar a Tabela 7, na população em estudo, as faixas etárias onde se verificou uma maior incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA são aquelas onde se verificou uma menor prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG, podendo-se concluir que é na infância que os indivíduos estão mais susceptíveis à aquisição de *H. pylori*. Por sua vez, também se observou que foi na idade adulta que se verificou uma menor incidência da infecção e uma maior prevalência da mesma, sendo esses indivíduos considerados portadores de *H. pylori*. A pesquisa efetuada por Bastos et al (2013)<sup>63</sup>, na área do Porto, também relata uma elevada incidência da infecção por *H. pylori* em indivíduos jovens e uma elevada prevalência da infecção por *H. pylori* em indivíduos adultos, defendendo assim a teoria de que a aquisição desta bactéria ocorre com mais frequência na idade infantil/juvenil contribuindo para a elevada prevalência de *H. pylori* na idade adulta.<sup>63</sup>

#### **4.2.1.3 - Relação da variável ano com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG**

À semelhança do que se verificou na incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA, a relação da variável ano com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG demonstrou uma certa flutuação ao longo de 2009, 2010 e 2011 (Figura 26), mas em geral um decréscimo da prevalência de 2009 a 2011. Essa flutuação apenas pode ser explicada pelo número de indivíduos testados para a imunoglobulina de classe IgG em cada período anual, verificando-se que 2010 foi o ano em que se pesquisou mais

anticorpos deste tipo. Apesar desta variável ter sido considerada estatisticamente significativa, não foi possível concluir com clareza se o fator tempo contribuiu para o aumento ou diminuição do risco de prevalência da infecção por *H. pylori*.

Ainda assim, de 2009 para 2010 verificou-se um aumento da prevalência da infecção por *H. pylori* que acabou por ser anulado com a diminuição da prevalência que se verificou de 2010 para 2011.

#### **4.2.1.4 - Relação das variáveis género e concelho de residência com a prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG**

Quanto ao género (Figura 25), tanto os indivíduos do sexo masculino como os indivíduos do sexo feminino apresentaram valores percentuais de prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG muito próximos. Apesar desta variável se ter revelado estatisticamente significativa, não se conseguiu concluir quanto à sua relação com a prevalência da infecção por *H. pylori*, pois a probabilidade de não ser possível relacionar o género com a prevalência, na população em estudo, era elevada dado que na maioria dos estudos científicos existentes esta relação não se verifica.<sup>36</sup> Apenas num estudo efetuado por Hestvik et al (2010)<sup>39</sup>, em crianças no Uganda, se concluiu que indivíduos do sexo masculino estão infetados em maior número do que indivíduos do sexo feminino.<sup>39</sup>

Em relação à variável concelho de residência (Figura 27), observou-se uma elevada percentagem da prevalência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG em indivíduos pertencentes a Ponta Delgada e em indivíduos pertencentes à Ribeira Grande. Por outro lado, o concelho que apresentou uma menor taxa de prevalência foi Vila Franca. Contudo, estes achados podem estar somente ligados à quantidade populacional de cada concelho, sendo Ponta Delgada e Ribeira Grande os dois maiores concelhos em termos populacionais.

Assim, através da pesquisa da imunoglobulina de classe IgG não foi possível retirar conclusões concretas acerca da relação das variáveis género e concelho de residência como fatores de risco para o aumento ou diminuição da prevalência da infecção por *H. pylori*.

## 5 - Conclusão

No decorrer deste estudo concluiu-se que a prevalência global da infecção por *H. pylori* no LACM foi superior à incidência global da infecção por *H. pylori*, verificando-se assim que no LACM é mais frequente identificar indivíduos portadores desta bactéria do que novos indivíduos infetados. No entanto, a taxa de incidência global da infecção por *H. pylori* encontrada ainda foi bastante significativa, podendo-se concluir que a relação incidência global/prevalência global da infecção por esta bactéria tem vindo a aumentar entre os indivíduos que recorrem ao LACM. Assim, torna-se necessário adotar futuramente novas medidas de combate à propagação deste tipo de infecção, assim como rever os padrões de higiene e de alimentação na população em estudo.

Na relação da incidência e da prevalência da infecção por *H. pylori*, através do “*screening*” sorológico, com as variáveis idade, género, ano e concelho de residência, apenas se observou relação com as variáveis idade e ano.

Através do “*screening*” sorológico verificou-se que, a variável idade representa por um lado, um fator de risco para a incidência da infecção por *H. pylori* dado que esse parâmetro aumenta com a diminuição idade. Por outro lado, a variável idade representa um fator de risco para a prevalência da infecção por *H. pylori* pois esse parâmetro aumenta com o avançar da idade, na população estudada. Logo, concluiu-se que na relação da variável idade com a incidência e a prevalência da infecção por *H. pylori*, através do “*screening*” sorológico, a infecção por esta bactéria surge mais frequentemente na infância (incidência), prevalecendo na idade adulta (prevalência).

Na relação da variável ano com a incidência e prevalência da infecção por *H. pylori*, através do “*screening*” sorológico, observou-se um decréscimo tanto na incidência como na prevalência. Logo, concluiu-se que com o passar do tempo o risco de incidência e de prevalência da infecção por *H. pylori* diminuiu, provavelmente devido à aplicação clínica de antibióterapias contra esta bactéria.

No estudo das variáveis género e concelho de residência não se verificou a sua relação com o risco de incidência e prevalência da infecção por *H. pylori*. Contudo, é de referir que onde se observou as maiores taxas de incidência e prevalência da infecção foram nos concelhos de Ponta Delgada e Ribeira Grande, locais estes que apresentam uma maior densidade populacional na ilha de S. Miguel e onde provavelmente se encontram clínicos especialistas na área da gastroenterologia aos quais os indivíduos recorrem com mais facilidade.

A relação da incidência da infecção por *H. pylori*, através do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia revelou, em geral, achados muito semelhantes aos observados na relação da incidência da infecção por *H. pylori* através da pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA. No entanto, foi através da variável ano que o Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia se revelou melhor indicador para a incidência da infecção por *H. pylori* do que a pesquisa das imunoglobulinas de classes IgM e IgA. Assim, concluiu-se que, apesar do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia ser mais dispendioso, neste estudo acabou por ser considerado o mais indicado para a determinação da incidência da infecção por *H. pylori* numa dada população ou local geográfico, tendo em conta a sua elevada sensibilidade e especificidade, sendo possível aplicar este teste de diagnóstico para futuros estudos epidemiológicos. Para além disso, o facto do Teste Respiratório <sup>13</sup>C-ureia não ser um método invasivo representa uma alternativa ao teste sorológico em estudos que envolvam crianças.

## Bibliografia

- 1 - Günter-Janulaityté D, Günter T e Kupeinskas L. What Bizzozero never could imagine – *Helicobacter pylori* today and tomorrow. *Med.* 2003, 39(6): 542-549.
- 2 – Pajares JM, Gisbert JP. *Helicobacter pylori*: its discovery and relevance for medicine. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006; 98(10): 770-785.
- 3 - Marshall B. Gastric spirochaetes: 100 years of discovery before and after Kobayashi. *Keio J Med.* 2002; 51(2): 33-37.
- 4 – Konturek SJ, Konturek PC, Konturek JW, Plonka M, Czesnikiewicz-Guzik M, Brzozowski T, Bielanski W.. *Helicobacter pylori* and its Involvement in Gastritis and Peptic Ulcer Formation. *J Physiol and Pharmacol.* 2006; 57(3): 29-50.
- 5 - Suzuki R, Shiota S, Yamaoka Y. Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori*. *J Inf, Gene and Evol.* 2012; 12: 203-213.
- 6 – NCBI Taxonomy Browser [base de dados na Internet]. Bethesda(MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2011 – [acesso em 2012 Nov 28]. *Helicobacter pylori*; [aproximadamente 1p.]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy) browser.html.
- 7 – Mobley HLT, Mendez GL, Hazell SL, editors. *Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics. Washington(DC): ASM Press; 2001.
- 8 - López-Brea M. *Helicobacter pylori*: retos para el siglo XXI [internet]. Madrid: Manuel López-Brea. 2012 Set – [acesso em 2012 Set 28]. Disponível em: <http://www.helicobacterspain.com/>.
- 9 - Pinto ACR. *Helicobacter pylori*: uma revisão. São Paulo: Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas; 2007.

- 10 - Ladeira MSP, Salvadori DMF, Rodrigues MAM. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. *J Brasil Patol Med Lab*. 2003; 39(4): 335-342.
- 11 - Siqueira JS, Lima PSS, Barreto AS, Quintans-Júnior LJ.. Aspectos gerais nas infecções por *Helicobacter pylori*. *RBAC*. 2007; 39(1): 9-13.
- 12 – Yamaoka Y. Mechanisms of Disease: *Helicobacter pylori* Virulence Factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010; 7(11): 629-641.
- 13 – Kuhns LG, Mahawar M, Sharp JS, Benoi S, Maier RJ. Role of *Helicobacter pylori* Methionine Sulfoxide Reductase in Urease Maturation. *BJ*. 2013; 450: 141-148.
- 14 - Bury-Moné S, Skouloubris S, Labigne A, De Reuse H. The *Helicobacter pylori* urel protein: role in adaptation to acidity and identification of residues essential for its activity and for acid activation. *Molec Micro*. 2001; 42(4): 1021-1034.
- 15 – Olczak AA, Olson JW, Maier RJ. Oxidative-stress Resistance Mutants of *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol*. 2002; 184: 3186-3193.
- 16 – Barbosa JA, Schinonni MI. *Helicobacter pylori*: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. *Rev Ci Med Biol*. 2011; 10(3): 254-262.
- 17 – Serrano A, Candelaria-Hernández M, Salazar JG, Herrera LA. *Helicobacter pylori* y Cáncer Gástrico. Instituto Nacional Cancerologia, México. 2009; 4: 193-204.
- 18 - Guimarães J, Corvelo TC, Barile KA. *Helicobacter pylori*: Fatores relacionados à sua patogênese. *Rev Paraense Med*. Jan-Mar 2008; 22(1): 33-38.
- 19 – Backert S, Clyne M. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2011; 16 Suppl 1: 19-25.
- 20 – Costa AC, Figueiredo C, Touati E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2009; 14 Suppl 1: 15-20.

- 21 – Yamaoka Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori*-related gastroduodenal diseases from molecular epidemiological studies. *Gastroenterol Res and Pract.* 2012, Article ID 371503: 1-9.
- 22 - Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P, Sangchan A, Sripa B, Tor-Udom S, Vilaichone RK. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA, cagE, iceA and babA<sub>2</sub> genotypes in Thai dyspeptic patients. *J Inter Infect Diseases.* 2007; 12(1): 30-36.
- 23 – Shao L, Takeda H, Fukui T, Mabe K, Han J, Kawata S, Ootani K, Fukao A. Genetic diversity of the *Helicobacter pylori* sialic acid-binding adhesion (sabA) gene. *Bioscie Trends.* 2010; 4(5): 249-253.
- 24 – Amedei A, Cappon A, Codolo G, Cabrelle A, Polenghi A, Benagiano M, Tasca E, Azzuri A, D'Elis MM, Del Prete G, Bernard M. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* promotes Th1 immune responses. *J Clinic Invest.* 2006; 116(4): 1092-1101.
- 25 - Portal-Celhay C, Perez-Perez GI. Immune responses to *Helicobacter pylori* colonization: mechanisms and clinical outcomes. *Clin Scie.* 2006; 110: 305-314.
- 26 - Akhiani AA, Stensson A, Schön K, Lycke NY. IgA antibodies impair resistance against *Helicobacter pylori* infection: studies on immune evasion in IL-10-deficient mice. *J Immunol.* 2005; 174: 8144-8153.
- 27 – Algood HS, Cover TL. *Helicobacter pylori* persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19(4): 597-613.
- 28 – Turner M. Anticorpos. In: Roitt I, Brostoff J e Male D. *Imunologia.* 6<sup>a</sup> ed. Brasil: Manole; 2003. p. 65-83.
- 29 – McNulty CA, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2011; 16 Suppl 1: 10-18.

30 – Alakkari A, Zullo A, O'Connor HJ. *Helicobacter pylori* and nonmalignant diseases. *Helicobacter*. 2011; 16 Suppl. 1: 33-37.

31 – Yoon JB, Lee TY, Lee JS, Yoon JM, Jang SW, Kim MJ, Lee SJ, Kim TO. Two cases of Russel body gastritis treated by *Helicobacter pylori* eradication. *Clin Endosc*. 2012; 45: 412-416.

32 – Arakawa T, Watanabe T, Tanigawa T, Tominaga K, Fujiwara Y, Morimoto K. Quality of ulcer in gastrointestinal tract: its pathophysiology and clinical relevance. *WJG*. 2012; 18(35): 4811-4822.

33 – Uyanikoğlu A, Danalioğlu A, Akyüz F, Ermis F, Güllüoğlu M, .Kapran Y, Demir K, Ozdil S, Besisik F, Boztas G, Mungan Z, Kaymakoglu S. Etiological factors of duodenal and gastric ulcers. *Turk J Gastroenterol*. 2012; 23(2): 99-103.

34 - Suzuki RB, Cola RF, Cola TB, Ferrari CG, Ellinger F, Therezo AL, Silva LC, Eterovic A, Sperança MA. Different factors influence peptic ulcer disease development in a Brazilian population. *WJG*. 2012; 18(38): 5404-5411.

35 – Ding SZ, Zheng PY. *Helicobacter pylori* infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut Pathogens*. 2012; 4(18).

36 – Kodaira MS, Ulhôa Escobar AM, Grisi S. Aspectos epidemiológicos do *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. *Rev Saúde Pública*. 2002; 36(3): 356-69.

37 - Ghoshal UC, Chaturvedi R, Correa P. The enigma of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Indian J Gastroenterol*. 2010; 29(3): 95-100.

38 – Saito Y, Suzuki H, Tsugawa H, Imaeda H, Matsuzaki J, Hirata K, Hosoe N, Nakamura M, Mukai M, Saito H, Hibi T. Overexpression of miR-142-5p and miR-155 in gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma resistant to *Helicobacter pylori* eradication. *PLoS ONE*. 2012; 7(11): e47396.

39 – Hestvik E, Tylleskar T, Kaddu-Mulindwa DH, Ndeezi G, Grahnquist L, Olafsdottir E, Tumwine JK. *Helicobacter pylori* in apparently healthy children aged 0-12 years in urban Kampala, Uganda: a community-based cross sectional survey. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10: 62.

40 – Santos H, Guerreiro H, Sousa D, Estevens J, Gonçalves AP, Carvalho AP, Inácio C, Faleiro ML, Dionísio L. *Helicobacter pylori* numa população dispéptica no Algarve: prevalência e caracterização genética. *J Português Gastroenterol.* 2010; 17: 102-107.

41 - Iso N, Matasuhisa T, Shimizu K. *Helicobacter pylori* infection among patients visiting a clinic in Kasama City, Ibaraki Prefecture. *J Nippon Med Sch.* 2005; 72(6): 341-354.

42 – Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev.* 2000; 22(2): 283-297.

43 – Ertem D. Clinical practice: *Helicobacter pylori* infection in childhood. *Eur J Pediatr.* 2012 Sep 27.

44 – Etukudo OM, Ikpeme EE, Ekanem EE. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection among children seen in a tertiary hospital in Uyo, southern Nigeria. *Pan African Med J.* 2012; 12(39).

45 – Goh KL, Chan WK, Shiota S, Yamaoka Y. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and public health implications. *Helicobacter.* 2011; 16 Suppl. 1: 1-9.

46 – Jemilohun AC, Otegbayo JA, Ola SO, Oluwasola OA, Akere A. Prevalence of *Helicobacter pylori* among Nigerian patients with dyspepsia in Ibadan. *Pan African Med J.* 2010; 6(18).

47 – Muhsen K, Athamna A, Bialik A, Alpert G, Cohen D. Presence of *Helicobacter pylori* in a sibling is associated with a long-term increased risk of *H. pylori* infection in Israeli Arab children. *Helicobacter.* 2010; 15(10): 8-13.

48 - Logan RPH, Walker MM. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection [revisão]. *BMJ*. 2001; 323: 920-922.

49 – Kazemi S, Tavakkoli H, Habizadeh MR, Emami MH. Diagnostic values of *Helicobacter pylori* diagnostic tests: stool antigen test, urea breath test, rapid urease test, serology and histology. *J Res Med Sci*. 2011; 16(9): 1097-1104.

50 – Sepúlveda E, Moreno J, Spencer ML, Quilodrán S, Brethauer U, Briceño C, García A. Comparison of *Helicobacter pylori* in oral cavity and gastric mucosa according to virulence genotype (*cagA* and *vacA m 1*). *Rev Chilena Infectol*. 2012; 29(3): 278-283.

51 - Urita Y, Hike K, Torii N, Kikuchi Y, Kurakata H, Kanda E, Sasajima M, Miki K. Comparison of sérum IgA and IgG antibodies for detecting *Helicobacter pylori* infection. *Inter Med*. 2004; vol. 43(7): 548-552.

52 - Portorreal A, Kawakami E. Avaliação do método imunoenzimático (ELISA) para diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* em crianças e adolescentes. *Arq Gastroenterol*. 2002; 39(3): 198-203.

53 - Institut Virion\Serion GmbH. Serion ELISA classic *Helicobacter pylori* IgG/ IgM/ IgA. Alemanha: Burger; 2008.

54 – She RC, Wilson AR, Litwin CM. Evaluation of *Helicobacter pylori* immunoglobulin G (IgG), IgA, and IgM serologic testing compared to stool antigen testing. *Clin Vaccine Immunol*. 2009; 16(8): 1253-1255.

55 - INFAI<sup>®</sup>, Institut für biomedizinische Analytik undmNMR-Imaging GmbH. *Helicobacter* Test. Espanha PI HTI MS 75 ES 20110701. 2008.

56 – Falaknazi K, Jalalzadeh M, Vafaeimanesh J. Noninvasive stool antigen assay for screening of *Helicobacter pylori* infection and assessing success of eradication therapy in patients on hemodialysis. *Iran J of Kidney Dis*. 2010; 4(4): 317-321.

57 – Frenck Jr RW, Fathy HM, Sherif M, Mohran Z, Mohammedy HE, Francis W, Rockabrand D, Mounir BI, Rozmajzl P, Frierson HF. Sensitivity and specificity of various tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* in Egyptian children. *J American Academy Ped.* 2006; 118(4): 1195-1202.

58 – Nocon M, Kuhlmann A, Leodolter A, Roll S, Vauth C, Willich SN, Greiner W. Efficacy and cost-effectiveness of the <sup>13</sup>C-urea breath test as the primary diagnostic investigation for the detection of *Helicobacter pylori* infection compared to invasive and non-invasive diagnostic tests. *GMS Health Technol.* 2009; 5, ISSN 1861-8863.

59 - Meridian Diagnostics, INC. Imunoensaio rápido para a detecção de antígenos de *Helicobacter pylori* em amostras fecais. Cincinnati (Ohio) 750720. 2008.

60 - Meridian Diagnostics, INC. ImmunoCardSTAT®HpSA. União Europeia 30689.2008.

61 – Quina M. *Helicobacter pylori*: the Portuguese scene. Grupo de Estudo Português do *Helicobacter pylori* (GEPHP). *Eur J Cancer Prev.* 1994; 3: 65-68.

62 – Oleastro M, Pelerito A, Nogueira P, Benoliel J, Santos A, Cabral J, Lopes AI, Ramalho PM, Monteiro L. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in a healthy pediatric population in the Lisbon área. *Helicobacter.* 2011; 16: 363-372.

63 – Bastos J, Peleteiro B, Pinto H, Marinho A, Guimarães JT, Ramos E, Vecchia C, Barros H, Lunet N. Prevalence, incidence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in a cohort of Portuguese adolescents (EpiTeen). *Digestive and Liver Disease.* 2013; 45: 290-295.

64 – Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Osborn J, Perna F, Bernabucci V, Vaira D. Accuracy of breath tests using low doses of <sup>13</sup>C-urea to diagnose *Helicobacter pylori* infection: a randomized controlled trial. *Gut.* 2006; 55: 457-462.

65 - Grad YH, Lipsitch M, Aiello AE. Secular trends in *Helicobacter pylori* seroprevalence in adults in the United States: evidence for sustained race/ethnic disparities. *Am J Epidemiol.* 2012; 175(1): 54-59.

66 – Llanes R, Millán LM, Escobar MP Gala A, Capó V, Feliciano O, Llop A, Ponce F, Pérez-Pérez GI. Low prevalence of *Helicobacter pylori* among symptomatic children from a hospital in Havana, Cuba. *J Trop Pediatr.* 2012; 58(3): 231-234.

67 – Segal I, Otley A, Issenman R Armstrong D, Espinosa V, Cawdron R, Morshed MG, Jacobson K. Low prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Canadian children: a cross-sectional analysis. *Can J Gastroenterol.* 2008; 22(5): 485-489.