

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA  
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

BRENDA GONÇALVES RESENDE

**Métodos de diagnóstico para infecção causada pelo *Helicobacter pylori* em crianças**

2012



**Brenda Gonçalves Resende**

**Método de diagnóstico para infecção causada pelo *Helicobacter pylori* em crianças**

Monografia apresentada ao Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Microbiologia aplicada às Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Dulciene Maria de Magalhães Queiroz

Co-orientadora: Profa. Dra. Andréia Maria Camargos Rocha

**Belo Horizonte**

**2012**

## **Agradecimentos**

À Deus que está no comando de todos os passos da minha vida;

À professora Dulciene Maria de Magalhães Queiroz, pela orientação e oportunidade de realizar este trabalho;

À professora Andréia Maria Camargos Rocha, pela co-orientação, incentivo, paciência e confiança;

Aos alunos de pós-graduação, bolsistas de iniciação científica, aos técnicos, aos apoios técnicos e todos os outros funcionários de Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina da UFMG;

Ao Dr. Fabrício Freire de Melo e a Dra. Silvia Beleza de Moura, membros da banca examinadora;

Aos amigos e professores do curso de Especialização em Microbiologia, por serem presença constante nessa caminhada;

À minha mãe, Nilene e meu pai, Walter por serem meus exemplos de vida, por serem fundamentais em todas as etapas e conquistas da minha vida e por nunca deixarem de acreditar em mim;

Ao meu irmão Biel, por todas as conversas e apoio nas horas mais difíceis;

Aos meus grandes e maravilhosos amigos, pelo grande carinho e paciência;

À Flavinha, minha amiga-irmã pelas broncas, dicas, incentivo e paciência infinita de todos os dias.

À todos os meus familiares, por acreditarem em mim e pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer.”

Mahatma Gandhi

## RESUMO

O *Helicobacter pylori* é o responsável por umas das infecções crônicas mais freqüentes em todo o mundo. Esse microrganismo está associado a vários distúrbios gástricos, como a gastrite, a úlcera péptica, o câncer gástrico e o linfoma gástrico tipo MALT. A infecção é adquirida predominantemente na infância e as taxas de prevalências são mais elevadas em crianças de países em desenvolvimento. A infecção pode ser diagnosticada por vários métodos invasivos (cultura, histologia, teste da urease pré-formada e PCR) e não-invasivos (teste respiratório com uréia marcada, detecção de antígenos em amostras de fezes e pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori*). Foi objetivo desse trabalho, realizar uma revisão da literatura com o intuito de avaliar o desempenho dos diferentes métodos de diagnóstico para essa infecção. O presente estudo adotou como estratégia metodológica a revisão integrativa da literatura nacional e internacional sobre os "Métodos de diagnósticos para a infecção do *Helicobacter pylori* em crianças". Foram avaliados 70 artigos e 1 capítulo de livro, sendo encontrados diferenças nos valores de sensibilidade e especificidade para cada teste empregado em crianças. Com esse estudo, foi possível concluir que nenhum método apresenta 100% de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da infecção causada pelo *H. pylori*, portanto, é recomendado pelo menos dois métodos para diagnosticar essa infecção.

Palavras-chave: *Helicobacter pylori*, métodos de diagnóstico, crianças.

## ABSTRACT

*Helicobacter pylori* is responsible for one of the most common chronic infections world wide. This bacterium is associated with several gastric disorders such as gastritis, peptic ulcer, gastric cancer and gastric MALT lymphoma. The infection is acquired predominantly in childhood and prevalence rates are higher among children in developing countries. The infection can be diagnosed by several invasive methods (culture, histology, urease test and PCR preformed) and noninvasive (urea breath test, antigen detection in stool samples and detection of anti-*H. Pylori*). It was aim of this study was to perform a literature review in order to evaluate the performance of different diagnostic methods for this infection. This study adopted as a methodological strategy integrative review of the national and international literature on the Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection in children. We evaluated 70 articles and one book chapter, and found differences in sensitivity and specificity for each test used in children in this study, we concluded that no method has 100% sensitivity and specificity for the diagnosis of infection caused by *H. pylori* is therefore recommended at least two methods to diagnose this infection.

Key-words: *Helicobacter pylori*, diagnosis, children.

## LISTA DE ABREVIATURAS

$^{13}\text{C}$  – Carbono 13

$^{14}\text{C}$  – Carbono 14

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay

*H. pylori* – *Helicobacter pylori*

IgA – imunoglobulina A

IgG – imunoglobulina G

IgM – imunoglobulina M

Malt – mucosa-associated lymphoid tissue

PBE – prática baseada em evidências

PCR – polymerase chain reaction



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	8
2. OBJETIVO .....	10
3. REFERENCIAL TEÓRICO-METODOLÓGICO .....	11
3.1. Métodos e Etapas .....	12
3.2. Levantamentos dos Dados.....	13
3.2.1. População e Amostra .....	13
3.2.2. Critérios de Inclusão da Amostra.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	15
4.1. Métodos de Diagnóstico da Infecção pelo <i>H. pylori</i> .....	15
4.1.1. Cultura .....	15
4.1.2. Pesquisa de <i>H. pylori</i> em Cortes Histológicos .....	17
4.1.3. Teste da Urease Pré-Formada .....	18
4.1.4. PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) .....	20
4.1.5. Teste Respiratório com Uréia Marcada .....	21
4.1.6. Pesquisa de Anticorpos anti- <i>H. pylori</i> .....	23
4.1.7. Detecção de Antígenos de <i>H. pylori</i> nas Fezes.....	24
5. CONCLUSÃO .....	27
6. REFERÊNCIAS.....	28

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O *Helicobacter pylori* é responsável por uma das infecções crônicas mais freqüentes em todo o mundo. Essa bactéria é o principal agente de gastrite em seres humano e é um fator essencial na patogênese da úlcera péptica. Além disso, tem papel fundamental na cadeia de eventos que culminam com o desenvolvimento de câncer gástrico e linfoma gástrico tipo MALT (tecido linfóide associado à mucosa) (FORMAN *et al.*, 1991; PARSONET *et al.*, 1991; MARSHALL, 1994; COVER & BLASER, 1995; WOTHERSPOON & PATH, 1998; HIGASHI *et al.*, 2002; FRANCO *et al.*, 2008; ISRAEL *et al.*, 2001; LADEIRA; SALVADORI; RODRIGUES, 2003; KONTUREK *et al.*, 2006).

Estudos epidemiológicos relatam que a prevalência global da infecção pelo *H. pylori* é de aproximadamente 50%. Nos países em desenvolvimento a maioria da população encontra-se infectada, cerca de 60% a 90%, ao contrário dos países desenvolvidos, onde a infecção atinge 25% a 50% da população. (BLASER, 1993; CUNHA *et al.*, 2003; HAMILTON-MILLER, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2005<sup>a</sup>; NARDONE; ROCCO; THEINER, 2004). No Brasil, a prevalência gira em torno de 60% nos estados do sul e sudeste atingindo quase 100% em algumas áreas, como o norte de Minas Gerais e regiões norte e nordeste do país (OLIVEIRA *et al.*, 1999; CUNHA *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2005b).

A aquisição da infecção pelo *H. pylori* ocorre predominantemente na infância, na idade pré-escolar, por via oral-oral ou fecal-oral (LEE, 1994; ROCHA *et al.*, 2003; QUEIROZ & LUZZA., 2006), e está associada a fatores como baixo nível socioeconômico, maior aglomeração familiar, condições de higiene precárias e ausência ou deficiência de saneamento básico (MALATY & GRAHAM, 1994; GOODMAN *et al.*, 1996; SARKER *et al.*, 1997; QUEIROZ & LUZZA., 2006; FIALHO *et al.*, 2007; BRAGA *et al.*, 2007). Deve-se ressaltar, ainda, o papel da mãe ou irmãos infectados na transmissão da infecção pelo *H. Pylori*, especialmente nos países em desenvolvimento onde, aproximadamente 50% das crianças de 10 anos de idade encontram-se infectadas (ROCHA *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2004; KONNO *et al.*, 2005; WEYERMANN *et al.*, 2009).

Quando não tratada, a infecção pelo *H. pylori* pode permanecer para o resto da vida dos indivíduos, já que os casos de cura espontânea são raros (ILVER et al., 1998).

A maioria dos indivíduos infectados pelo *H. pylori* não irão desenvolver nenhuma doença grave decorrente da infecção, entretanto, cerca de 15% a 20% dos indivíduos *H. pylori*-positivos irão desenvolver úlcera péptica duodenal ou câncer gástrico/linfoma gástrico. Provavelmente, fatores ligados ao ambiente, ao hospedeiro e ao microrganismo determinam o surgimento das diversas doenças (PARSONNET et al., 1991; DUNN et al., 1997; WOTHERSPOON & PATH, 1998; ILVER et al., 1998; PARKIN et al., 2005). Embora menos freqüente que em adultos, a úlcera duodenal também pode acometer crianças, sendo causa de dor abdominal recorrente, sangramento do trato gastrointestinal e anemia nessa faixa etária (THOMAS et al., 1992; CHOE et al., 2000; SHERMAN et al., 2009).

Vários métodos diagnósticos têm sido desenvolvidos para detectar a infecção causada pelo *H. pylori*, incluindo técnicas invasivas (cultura, histologia, teste da urease e PCR) e não-invasivas (teste respiratório com uréia marcada, detecção de antígenos de *H. pylori* em amostras de fezes e pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori*). No entanto, nenhum método pode ser considerado como padrão ouro para o diagnóstico do *H. pylori*, pois nenhum deles apresenta 100% de sensibilidade, apenas a cultura apresenta 100% de especificidade (OGATA et al., 2001; LEAL et al., 2008; KINDERMANN & LOPES, 2009; SÝKORA & ROWLAND, 2011).

As crianças, de uma forma geral, apresentam sinais e sintomas muito inespecíficos, tais como diarreia, vômitos e dores abdominais que podem ser confundidos com várias infecções associadas a microrganismos diversos. Além disso, crianças têm uma carga bacteriana menor e resposta imunológica menos exuberante que adultos, fatores que tem sido responsabilizados pelas diferenças observadas na acurácia dos testes diagnósticos nessa população (LEAL et al., 2008; ROCHA et al., 2009).

## 2. OBJETIVO

Considerando a importância do diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* na infância, as vantagens e desvantagens de cada teste, as variações de sensibilidade e especificidade e as dificuldades de definir um diagnóstico confiável nessa faixa etária, foi objetivo desse trabalho realizar uma revisão da literatura com o intuito de avaliar o desempenho dos diferentes métodos de diagnóstico para essa infecção.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO-METODOLÓGICO

O referencial teórico-metodológico deste estudo encontra-se fundamentado na Prática Baseada em Evidências (PBE). Galvão et al. (2003) definem a PBE como uma abordagem que utiliza a definição de um problema, a busca e a análise crítica das evidências disponíveis combinadas a aplicação de evidências na prática e avaliação dos resultados obtidos.

Para Simon<sup>1</sup> (1999, citado por GALVÃO; SAWADA, ROSSI, 2002, p.2), [...] “a prática baseada em evidências não conta com a intuição, observações não sistematizadas ou princípios patológicos”. Ela enfatiza o uso de pesquisas para guiar a tomada de decisão clínica e o aprendizado de novas habilidades. Assim, a prática baseada em evidências combina a pesquisa com a experiência clínica e as preferências do paciente para realizar uma decisão de um problema específico.

Quando se fala em evidências, refere-se à efetividade, eficiência, eficácia e segurança. A efetividade diz respeito ao tratamento que funciona em condições do mundo real. A eficiência diz respeito ao tratamento barato e acessível para que os pacientes possam dele usufruir. A eficácia quando o tratamento funciona em condições de mundo ideal. E, por último, a segurança significa que uma intervenção possui características confiáveis que tornam improvável a ocorrência de algum efeito indesejável para o paciente. Portanto, um estudo com boa validade interna deverá apresentar os componentes descritos acima (EL DIB, 2007, p.1).

É uma abordagem que possibilita a melhoria da qualidade da assistência prestada ao paciente e incentiva o profissional de saúde buscar conhecimento científico por meio do desenvolvimento de pesquisas ou aplicação na sua prática dos resultados encontrados na literatura (URSI; GALVÃO, 2006).

De acordo com Closs<sup>2</sup> (1999, citado por URSI; GALVÃO, 2006, p.125), esta modalidade tem sido intensamente discutida nas últimas duas décadas, na busca da delimitação de suas potencialidades e limitações.

A prática baseada em evidência gerou a necessidade de realizar revisões com rigor científico exigido para um estudo primário, dentre elas, as revisões de literatura denominadas integrativa, sistemática, sistemática com metanálise e metasíntese (WHITTEMORE, 2005).

### 3.1. Métodos e Etapas

Este estudo adotou como estratégia metodológica a revisão integrativa da literatura nacional e internacional sobre os "Métodos de diagnósticos para a infecção do *Helicobacter pylori* em crianças".

De acordo com Broome<sup>3</sup> (citado por Whitemore; Knafl 2005, p.1) a revisão integrativa é um método de revisão específica que resume a literatura teórica e empírica, que permite a inclusão de diversas metodologias (experimentais e não experimentais).

Segundo Whitemore; Knafl (2005) e Beyea; Nichll (1998), a revisão integrativa da literatura envolve as seguintes etapas:

Identificação do problema de estudo: é a fase de reconhecimento do tema e da pergunta que deverá ser respondida pelo estudo.

- Levantamento da literatura: o levantamento bibliográfico se faz por meio da localização e obtenção de documentos para avaliar a disponibilidade de material que subsidiará o tema do trabalho de pesquisa. Este levantamento é realizado junto às bibliotecas ou serviços de informações existentes. As bases de dados computadorizados são eficientes e efetivas, porém existem limitações quando não é utilizada uma terminologia adequada;
- Avaliação crítica dos estudos: compreende uma ferramenta indispensável para identificar e selecionar aquilo que é válido, importante e aplicável. Os valores da qualidade são subsequentemente incorporados dentro do estágio de análise dos dados. Porém, não existe um padrão de categoria excelente para as análises qualitativas;
- Análise dos dados: uma interpretação completa e não tendenciosa das fontes primárias, ao lado da síntese inovadora das evidências, são objetivos do estágio de análise dos dados;
- Redação da revisão: a redação da pesquisa bibliográfica varia de acordo com o tipo de trabalho científico que se deseja apresentar. No caso das revisões integrativas, os dados podem ser registrados em tabelas ou na forma diagramática. Os detalhes explícitos a partir das

fontes primárias e as evidências para suportar as conclusões necessitam de serem apresentadas para demonstrar uma cadeia lógica de evidências, permitindo ao leitor da revisão, determinar que as conclusões das revisões não excedam as evidências.

## **3.2. Levantamentos dos Dados**

### **3.2.1. População e Amostra**

Foi considerada população de estudo toda a literatura relacionada ao tema do estudo indexada nos bancos de dados PUBMED, SCIELO e capítulos de livros.

Para o levantamento dos artigos foi realizada uma busca nos bancos de dados por meio da utilização dos "descritores de assunto" (DeCs): "Diagnosis"; "*Helicobacter pylori*"; "culture"; "histology"; "urease test preformed"; "PCR"; "urea breath test"; "antibody of anti-*H. pylori*"; "detection of antigen stool".

A busca para a composição da população deste estudo foi iniciada pelo PUBMED. No campo de busca, os descritores usados foram: "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "culture" "children", sendo encontrados 135 artigos. "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "histology" "children", encontrando-se 134 artigos. "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "urease test preformed" "children", sendo encontrados 4 artigos. "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "PCR" "children", sendo encontrados 42 artigos. "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "urea breath test" "children", sendo encontrados 192 artigos. "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "antibody anti-*H. pylori*" "children", sendo encontrado 47 artigos. "*Helicobacter pylori*" "diagnosis" "detection of antigen stool" "children", sendo encontrados 52 artigos.

Na base de dados do SCIELO, a busca foi realizada por meio do formulário básico, utilizando o termo diagnosis in *Helicobacter pylori* como palavra chave, encontrando-se 96 artigos.

O livro selecionado foi: Medicina Laboratorial para o Clínico, sendo utilizado apenas um capítulo.

A seleção da amostra foi realizada a partir da leitura dos resumos nas bases de dados, sendo selecionada apenas a literatura que atendia aos critérios de inclusão definidos neste estudo.

Após a seleção da literatura por meio da leitura dos resumos, foram obtidos os estudos na íntegra e realizada a leitura crítica dos trabalhos selecionados, tendo como referência os critérios de inclusão definidos neste estudo.

Diante do exposto, a amostra ficou constituída com 70 artigos e 1 capítulo de livro.

### **3.2.2. Critérios de Inclusão da Amostra**

Foram considerados como critérios de inclusão da amostra:

- Apenas as publicações que responderam à questão do estudo;
- Período de publicação: 1982 a 2011;
- Idioma: inglês, português e espanhol;
- Tipo de publicação: artigos e capítulos de livro;
- Delineamentos: todos os tipos de delineamentos.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Métodos de Diagnóstico da Infecção pelo *H. pylori*

Existem vários métodos para diagnosticar a infecção pelo *H. pylori*. Alguns como, métodos microbiológicos, histopatológicos, teste da urease pré-formada e técnicas de biologia molecular são considerados metodologias invasivas, pois são necessários fragmentos da mucosa gástrica que são obtidos por esofagogastroduodenoscopia. Outras técnicas, como a pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori* em amostras de soro, urina e saliva, pesquisa de antígenos de *H. pylori* nas fezes e teste respiratório com uréia marcada com carbono-13 (<sup>13</sup>C) e carbono-14 (<sup>14</sup>C) são consideradas não-invasivas ou indiretas, ou seja, não requerem fragmentos da mucosa gástrica.

Embora a maioria dos métodos atualmente utilizados apresente sensibilidade e especificidade elevadas em adultos, tem sido recomendado o emprego de, pelo menos, dois métodos diferentes para se fazer o diagnóstico preciso da infecção (FAUCHÈRE, 1996; MÉGRAUD, 1996).

#### 4.1.1. *Cultura*

A cultura do *H. pylori* é feita a partir de fragmentos de mucosa gástrica e consiste no método mais específico para o isolamento e diagnóstico da bactéria, pois permite a caracterização morfológica do agente infeccioso, além de ser possível avaliar a susceptibilidade a antimicrobianos, melhorando a conduta terapêutica (THIJS et al., 1996; VINETTE et al., 2004; FERREIRA et al., 2001; BITTENCOURT et al., 2006; BOYANOVA et al., 2007).

A cultura bacteriana tem especificidade elevada, com resultados de 100%, porém apresenta variação na sensibilidade, sendo encontrados valores de 77,0% a 100% para o diagnóstico em crianças (GLASSMAN, 1992; WESTBLOM et al., 1992; YAÑES et al., 2000; OGATA et al., 2001). As diferenças na sensibilidade podem

estar relacionadas com diversos fatores tais como, o número de fragmentos, o tempo e a temperatura de transporte/armazenamento das amostras, o tipo de meio de cultura usado, o período de incubação e a forma de inocular o material na placa (MÉGRAUD, 1996).

O uso de dois ou mais fragmentos de biopsia de regiões diferentes (antro e corpo) apresentam resultados mais confiáveis (ANDERSEN & WADSTROM, 2001). Andersen & Wadstrom (2001) também observaram maior viabilidade do microrganismo quando os fragmentos de biopsia eram transportados em temperaturas adequadas de 4°C com período de processamento inferior a 2 horas do que os fragmentos que foram transportados em temperatura ambiente por mais de 4 horas. As taxas de recuperação da bactéria podem ser 15% menores quando o transporte e o processamento dos fragmentos são feitos de forma inadequada.

Para garantir uma maior positividade da cultura, é recomendado homogeneizar as amostras antes de serem plaqueadas no meio de cultura (MÉGRAUD, 1996).

Por se tratar de uma bactéria fastidiosa, o meio de cultura deve ser seletivo e suplementando com sangue de carneiro, que é fundamental para o crescimento do *H. pylori*. Deve conter, também, antibióticos e antifúngicos para evitar o crescimento de bactérias e fungos que possam inibir o crescimento do *H. pylori*. A presença do indicador cloreto de trifeniltetrazólio torna as colônias de *H. pylori* douradas, diferenciando-as, assim de colônias de microrganismos contaminantes que possam ter crescido no meio de cultura (QUEIROZ; MENDES; ROCHA, 1987).

As placas devem ser incubadas em temperatura de 37°C e em condições de microaerofilia, ou seja, ambiente com 10% de CO<sub>2</sub>, 5% de O<sub>2</sub>, 80-85% de N<sub>2</sub> e 95 a 100 % de água. A incubação deve ser feita por um período de 3 a 7 dias (TOMPKINS, 1992; GLUPCZYNSKI, 1994; SAMUELS et al., 2000; SIQUEIRA et al., 2007; BRUDEN, et al., 2011). Placas que são abertas e analisadas antes do período mínimo de incubação podem gerar resultados falso-negativos.

Outros fatores que podem diminuir a sensibilidade do teste são: distribuição irregular do microrganismo na mucosa gástrica; uso prévio de alguns medicamentos, como omeprazol, alguns antimicrobianos, bismuto ou benzocaínas e contaminação da pinça usada na endoscopia com glutaraldeído ou com outra bactéria presente na mucosa gástrica (BROW & PEURA, 1993; BUJANOVER; REIF; YAHAV, 1996; SIQUEIRA et al., 2007; ARISMENDI-MORILLO, et al. 2011).

Como a cultura apresenta 100% de especificidade, alguns autores a consideram “padrão-ouro” no diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* (GUARNER et al., 2010)

#### **4.1.2. Pesquisa de *H. pylori* em Cortes Histológicos**

Os cortes histológicos feitos a partir de fragmentos de tecidos gástricos obtidos de biópsias podem ser re-examinados permanentemente utilizando, por exemplo, a coloração de Wharthin-Starry que é um corante a base de prata. Essa técnica é considerada preferencial para a identificação do *H. pylori*, mas devido à complexidade de execução não é aplicada na rotina diagnóstica (BROW & PEURA, 1993; BUJANOVER; REIF; YAHAV 1996; MULLER et al., 2007). Outras técnicas de coloração podem ser empregadas, como: laranja de acridina (corante fluorescente) (WALTERS; BUDIN; PAULL, 1986; BROW & PEURA, 1993), Gram (TROWELL et al., 1987), carbolfucsina, uma técnica simples, barata e fácil de ser aplicada na rotina (ROCHA et al., 1989) e Giemsa (BROW & PEURA, 1993; BUJANOVER; REIF; YAHAV 1996; GLUPCZYNSKI, 1994). A coloração de hematoxilina e eosina também pode ser usada para detectar o microrganismo, mas os resultados nem sempre são satisfatórios, pois as células se coram fracamente por esses corantes (GLUPCZYNSKI, 1994; MULLER et al., 2007).

A pesquisa do *H. pylori* em cortes histológicos deve ser feita por um médico patologista e a sensibilidade e a especificidade desse teste variam de acordo com a experiência do profissional, a qualidade da biópsia, a densidade bacteriana presente na amostra coletada e o tipo de corante usado (MÉGRAUD, 1996; CUSTÓDIO et al., 2005; ARISMENDI-MORILLO, et al., 2011).

O número de fragmentos analisados tem relação direta com a detecção da bactéria, como relatado por Arismendi-Morillo et al., (2011). O uso de mais de dois fragmentos de biópsias gástricas de diferentes regiões da mucosa aumenta significativamente a sensibilidade do teste.

Resultados falso-negativos e positivos têm sido relatados. Os falso-negativos devem-se, principalmente, a distribuição desigual da bactéria na mucosa gástrica (OGATA et al., 2001; SIQUEIRA et al. 2007). Os resultados falso-positivos podem

ser observados devido a contaminação por outros microrganismos, como por exemplo, o *Helicobacter heilmanni*, também presente nessa região (BOYANOVA et al, 2007). Nesse caso, a experiência do patologista é importante para diferenciar os dois microrganismos.

Ogata et al (2001) estudando cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina e Giemsa, de crianças brasileiras, demonstraram que o teste é preciso para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, sendo encontrados valores de sensibilidade de 93% e especificidade de 100%.

A histologia apresenta algumas vantagens, por ser uma técnica rápida, pouco onerosa, que oferece registro visual permanente e que, além disso, é capaz de detectar, simultaneamente, as lesões da mucosa associadas a essa infecção (GUARNER et al., 2010).

#### **4.1.3. Teste da Urease Pré-Formada**

O estômago dos seres humanos é um ambiente rico em ácido clorídrico e ainda sim o *H. pylori* consegue colonizá-lo. Isso acontece devido à capacidade do microrganismo de produzir a urease, uma enzima capaz de diminuir a acidez desse ambiente hostil e, portanto, tornar possível a sobrevivência da bactéria (McNULTY et al., 1987; FERREIRA et al.; 2001; SCHOEP et al., 2010).

Essa característica do *H. pylori* é a base do teste da urease pré formada. Para a realização do exame, fragmentos de mucosa gástrica são introduzidos em um meio contendo uréia e um indicador de pH, como por exemplo, o vermelho de fenol e são incubados a 37°C (CAETANO et al. 2008). A urease produzida previamente pelo *H. pylori* hidrolisa a uréia presente no meio e a transforma em amônia. Esse processo altera o pH do meio, que muda da cor âmbar para o róseo, em até 24 horas, indicando resultado positivo (FERREIRA et al., 2001). O uso de testes rápidos, permite a redução do tempo de observação para 6 horas e até mesmo para 1 hora (JUNIOR et al., 2004; FERREIRA et al., 2001; CAETANO et al., 2008).

O teste da urease pré-formada é de fácil execução, podendo ser feito no momento da endoscopia, apresenta baixo custo e menor tempo para a liberação do

resultado quando comparado a outros métodos de diagnóstico como a cultura e a microscopia (FERREIRA et al., 2001; CAETANO et al., 2008).

Vários autores têm relatado bons resultados de sensibilidade e especificidade do teste da uréase pré-formada para o diagnóstico da infecção em crianças. Glassman (1992), estudando crianças americanas, encontrou sensibilidade de 91% e especificidade de 100%. Também Cirak; Akyön; Mégraud, (2007) observaram em crianças japonesas, sensibilidade de 96% e especificidade de 90%. Ainda Ogata et al., (2001), avaliando crianças brasileiras, observaram sensibilidade de 100% e a especificidade de 84,2%. Alguns fatores podem interferir na sensibilidade do teste, como por exemplo, o número de bactérias presentes na mucosa gástrica (ZAITOUN, 1993; CAETANO et al., 2008; BOYANOVA et al., 2007 ARISMENDI-MORILLO, et al., 2011) e o uso de medicamentos, tais como os inibidores de bombas de prótons e os antagonistas dos receptores de H<sub>2</sub>. Para aumentar a sensibilidade do teste, é recomendado a análise de mais de um fragmento de mucosa e suspensão da medicação antes da realização da endoscopia (MEGRAUD, 1996; FERREIRA et al., 2001; OZTURK et al. 2003; GUARNER et al., 2010).

O tempo empregado para fazer a leitura do teste é fundamental para gerar resultados confiáveis. A leitura deve ser feita em até 24 horas após a colheita do material, pois após esse período pode haver o crescimento de bactérias produtoras de urease que podem estar presentes na cavidade oral ou contaminando a pinça utilizada na biopsia (MÉGRAUD, 1996; LEODOLTER; WOLLE; MALFERTHERINER, 2001). Além disso, a presença de traços de sangue no fragmento da biopsia pode ser erroneamente interpretado como uma mudança de cor no meio (MÉGRAUD, 1996).

Alguns autores, comparando os métodos invasivos de diagnóstico para o *H. pylori*, relatam equivalência no desempenho do teste da uréase pré-formada com a histologia e a PCR e, por apresentar praticidade na execução, baixo custo e resultados rápidos e precisos, o teste tem sido recomendado na rotina médica, para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* em crianças (JUNIOR et al., 2004; CAETANO et al., 2008; GUARNER et al., 2010; ARISMENDI-MORILLO et al., 2011).

#### **4.1.4. PCR (Reação da Polimerase em Cadeia)**

Muitas técnicas de biologia molecular têm sido empregadas para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* e também para detectar genes que estão associados a fatores de virulência e a susceptibilidade da bactéria aos antimicrobianos (CIRAK; AKYÖN; MÉGRAUD, 2007; BITTENCOURT et al., 2006). Os métodos, baseados principalmente na hibridização, genotipagem e amplificação do material genético bacteriano, são usados principalmente, para confirmar a presença do microrganismo quando outros testes deixam dúvidas (LÓPEZ-BREA; ALARCÓN; MÉGRAUD, 1997).

A PCR detecta sequências específicas de ácidos nucleicos da bactéria utilizando oligonucleotídeos sintéticos que agem como “primers” (iniciadores) para a replicação enzimática das sequências de DNA definida (JUNIOR et al., 2004). A PCR pode ser feita a partir de biópsia gástrica fresca ou em parafina, saliva, fezes, suco gástrico ou placa dentária (MAPSTONE et al., 1993; HAMMAR et al., 1992; WAHLFORS et al., 1995; ENOROTH & ENGSTRAND, 1995; BONAMICO et al., 2004;).

Para obter bons resultados é necessário fazer a escolha correta dos iniciadores que amplificam fragmentos de proteínas específicas do *H. pylori*. Isso evita que outras bactérias que podem estar presentes na amostra sejam detectadas, conferindo maior especificidade da reação (BUJANOVER et al., 1996, LUSCENTI & GATTI, 2008).

A técnica apresenta cerca de 95% de sensibilidade e 100% de especificidade em adultos (BUJANOVER et al., 1996; LEUNG & SUNG, 1996; MÉGRAUD, 1996). Quando empregadas para o diagnóstico em crianças, o teste também apresenta sensibilidade (100%) e especificidade (94,6%) bastante elevados, conforme demonstrado por Junior et al., (2004) em crianças do Brasil submetidas à biópsia gástrica. Os autores relatam ainda que é necessário o uso de dois pares de *primers*, pois o *H. pylori* apresenta grande variabilidade genética.

A sensibilidade da PCR para detecção de *H. pylori* em amostras de fezes varia de 25% a 100% conforme demonstrado por Falsafi et al (2009) em crianças. Segundo os autores a variabilidade pode dever-se a degradação da bactéria no trato gastrointestinal e/ ou a presença de inibidores da reação, como os polissacarídeos

complexos. A eliminação dos inibidores de PCR nas fezes e o uso de *primers* específicos melhoram a acurácia do teste (sendo encontrados valores de 62,5% e especificidade de 92,3%), especialmente se a carga bacteriana for mais elevada.

GUARNER et al., 2010 em artigo de revisão sobre métodos diagnósticos para o *H. pylori* em crianças, confirmam esse achado e relatam menor sensibilidade da PCR para o diagnóstico do *H. pylori* em fezes quando comparada a detecção de antígenos da bactéria em fezes.

Resultados falsos positivos podem ocorrer se procedimentos inadequados de limpeza e desinfecção dos materiais forem feitos, e também se houver contaminação do laboratório (LEUNG & SUNG, 1996).

Apesar da técnica de PCR para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* ser bastante específica, ainda é pouco utilizada na clínica médica porque necessita de profissionais qualificados e laboratórios equipados adequadamente para execução de práticas biomoleculares, isso torna a técnica complexa e de alto custo, sendo assim, é mais aplicada em laboratórios de pesquisa (JUNIOR et al., 2004). Além disso, é necessário obter mais estudos que comprovem a boa precisão do teste em crianças. No entanto, a PCR pode ser usada em conjuntos com outras metodologias diagnósticas para validar o resultado referente ao *H. pylori*.

#### **4.1.5. Teste Respiratório com Uréia Marcada**

O teste respiratório com uréia marcada é baseado na atividade da enzima urease produzida pela bactéria. Para realizar esse teste, o paciente ingere suco de laranja ou maçã contendo uréia marcada com o  $^{13}\text{C}$  ou com  $^{14}\text{C}$  (KOLETZKO, 2005; ROCHA et al., 2009). Na presença da bactéria, a uréia marcada é convertida em amônia e  $\text{CO}_2$  que se torna, então marcado. Amostras de ar expirado pelo paciente são colhidas antes e após 30 minutos da ingestão do suco com a uréia marcada (GODDARD et al., 2003). Concentrações de  $\text{CO}_2$  marcado são determinadas através de espectrômetro de luz infravermelha para  $^{13}\text{C}$  e espectrofotômetro de cintilação líquida para  $^{14}\text{C}$  (GRAHAM et al, 1987; MARSHALL & SURVEYOR, 1988; ÖZDEMIR et al., 2008).

O uso do  $^{13}\text{C}$  é mais vantajoso que  $^{14}\text{C}$ , pois não apresenta radioatividade e pode ser usado em grávidas e crianças (GODDARD & LOGAN, 2003).

Bruden et al (2011) conduziram, na população adulta do Alaska, um estudo para avaliar cinco métodos diagnósticos (invasivos e não invasivos) para a infecção pelo *H. pylori*. O teste respiratório, quando comparado a técnicas invasivas, apresentou sensibilidade variando de 93% a 97% e especificidade de 78% a 88%. Em relação aos testes avaliados (cultura, histologia, teste rápido da urease e sorologia) o teste respiratório obteve a maior precisão. Resultados elevados de sensibilidade (96%) e especificidade (100%) também foram observados por Subrada et al (2011) ao avaliar testes para a identificação do *H. pylori* em pacientes do norte da Europa com atrofia da mucosa gástrica.

Apesar do bom desempenho do teste para o diagnóstico da infecção em adultos e crianças mais velhas, valores menores de sensibilidade e especificidade foram relatados em crianças com menos de 6 anos de idade (YANG; KO; SEO, 2008). Essa menor sensibilidade tem sido explicada pela produção de  $\text{CO}_2$  endógeno que é dependente da idade, peso e sexo. Pacientes mais jovens apresentam menor produção de  $\text{CO}_2$  endógeno (YANG; KO; SEO, 2008). Entretanto, resultados satisfatórios foram observados na população brasileira. Um trabalho realizado no LPB (Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia) da Faculdade de Medicina da UFMG, demonstrou sensibilidade de 88,0% e especificidade de 95,0% para crianças com menos de 6 anos de idade e sensibilidade de 100% e especificidade de 98,0% em crianças mais velhas (CARDINALI et al., 2003). Yang; ko; Seo (2008) em crianças coreanas, também observaram valores elevados de sensibilidade e especificidade, mesmo em crianças com menos de 6 anos de idade (98,2% e 87,4%, respectivamente).

Resultados falso-negativos podem ser encontrados quando o paciente faz uso de antimicrobianos e inibidores de bombas de prótons que reduzem a densidade bacteriana na amostra (SUBRADA et al., 2011; KOLETZKO, 2005). É recomendado que os inibidores de bomba de prótons sejam suspensos 15 dias e os antimicrobianos um mês antes da realização do teste (ROCHA et al., 2009). Antagonistas de receptores de  $\text{H}_2$  e antiácidos também interferem nos resultados do teste, sendo assim, é recomendada a suspensão de ambas as drogas 48 horas antes da realização do teste (ROCHA, et al., 2009; KOLETZKO, 2005). Pacientes submetidos à gastrectomia parcial, administração de uréia em dose inferior à



recomendada e variação no intervalo de tempo entre a colheita das duas amostras também são causas de resultados falso-negativos (IMRIE et al., 2001; BITTENCOURT, et al., 2006; ROCHA et al., 2009;).

Resultados falso-positivos podem ocorrer pela presença de outras bactérias produtoras de urease encontradas na mucosa gástrica, como é o caso do *H. heilmannii* (BOYANOVA et al., 2007) e pela contaminação de microrganismos da cavidade oral que também produzem urease (IMRIE et al., 2001; Yang; ko; Seo, 2008). A fim de evitar a contaminação por esses microrganismos, tem sido empregado o uso da uréia marcada em forma de cápsulas (ROCHA et al., 2009).

Por ser um teste não invasivo e com acurácia elevada é o mais indicado para a confirmação da erradicação da bactéria em adultos e crianças, inclusive naquelas menores de 6 anos de idade (GODDARD & LOGAN, 2003; GUARNER et al., 2010; BRUDEN et al., 2011; LEAL et al., 2011).

#### **4.1.6. Pesquisa de Anticorpos anti-*H. pylori***

Pacientes infectados pelo *H. pylori* desenvolvem resposta imunológica local e sistêmica, que resulta na produção de anticorpos das classes IgM, IgA e IgG, sendo a IgG a principal imunoglobulina detectada no soro desses pacientes (LEUNG & SUNG, 1996; PORTORREAL & KAWAKAMI, 2002; BRUDEN et al., 2011).

Muitos métodos sorológicos estão descritos na literatura, entretanto o mais usado é o ensaio imunoenzimático (ELISA), porque além de apresentar acurácia elevada para o diagnóstico da infecção em adultos, é um teste rápido, simples, reprodutível, de baixo custo, existindo vários kits comerciais disponíveis no mercado (BEST et al., 1994; BITTENCOURT et al., 2006). No entanto, quando empregado em crianças apresenta sensibilidade menor (BITTENCOURT et al., 2006; LEAL et al., 2008). Assim, para crianças de Belo Horizonte com menos de 6 anos de idade, o teste mostrou sensibilidade de 71,4%, enquanto que em crianças com idade entre 6-12 anos a sensibilidade foi de 85,2% (ROCHA et al., 2000). Portorreal e Kawakami (2002) também avaliaram o teste de ELISA em crianças brasileiras e observaram sensibilidade de aproximadamente 75% em crianças menores de 10 anos e 95%

para aquelas com mais de 10 anos. A especificidade foi de aproximadamente 70% nos dois grupos.

Na Itália, Bonamico et al (2004) relatam valores de sensibilidade de 89,3% e especificidade de 90,7% em crianças com mais de 7 anos de idade, porém esses valores diminuí em crianças com menos de 7 anos, sendo observados sensibilidade de 80,6% e especificidade de 89,6%. As diferenças encontradas nos valores de sensibilidade e especificidade podem ser explicadas pela resposta diferente em cada faixa etária ou pela persistência de anticorpos no soro mesmo depois do tratamento e/ou eliminação espontânea do microrganismo.

Os anticorpos IgM, IgA e IgG também podem ser detectados em amostras de saliva e urina (LEAL et al., 2008), porém a sensibilidade e a especificidade do teste nessas amostras não são tão elevadas quanto no soro, portanto não são indicadas para o diagnóstico da infecção em crianças (LEAL et al., 2008; BITTENCOURT et al., 2006; GUARNER et al., 2010).

Resultados falso-negativos podem ocorrer devido a menor produção de IgG, como pode acontecer em crianças (BEST et al., 1994; OGATA et al., 2001); ao uso de diferentes pontos de corte entre resultados positivos e negativos (PORTORREAL & KAWAKAMI, 2002; OGATA et al., 2001).; ao uso de antígenos não apropriados para a detecção do *H. pylori* em uma população específica (OGATA et al., 2001); e a não identificação de pacientes já tratados (GODDARD & LOGAN, 2003). Resultados falso-positivos também podem acontecer, especialmente devido ao tempo prolongado de permanência de anticorpos na circulação após a erradicação da bactéria (SHERMAN et al., 1999).

Os testes sorológicos são técnicas não invasivas, de fácil execução, de baixo custo, tem boa sensibilidade e especificidade, sendo assim, são muito eficazes em estudo epidemiológicos (GONZÁLES; SERRANO; HARRIS, 2007).

#### **4.1.7. Detecção de Antígenos de *H. pylori* nas Fezes**

A detecção de antígenos de *H. pylori* em amostras de fezes é feita por um método imunoenzimático (ELISA), podendo ser utilizados anticorpos monoclonais ou policlonais (LEAL et al., 2011b; CHOI et al., 2011).

É um método não invasivo que detecta a presença de antígenos de *H. pylori* em fezes e tem sido considerado bastante atrativo para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, monitoramento da resposta do hospedeiro ao tratamento da infecção com antimicrobianos e também para estudos epidemiológicos (GONZÁLES; SERRANO; HARRIS, 2007; KALACH et al., 2009; KORI; GOLDSTEIN; GRANOT, 2009; POURAKBARI et al., 2011).

Vários kits comerciais para a detecção de *H. pylori* em fezes estão disponíveis no mercado. A principal diferença entre eles é o tipo de anticorpos empregados, monoclonais ou policlonais. Um teste rápido (ensaio imunocromatográfico) que usa anticorpos monoclonais para detectar a presença da bactéria nas fezes também está disponível no comércio (DZIERZANOW-FANGRAT et al., 2006; PRELL et al., 2009; LEAL et al., 2011; CHOI et al., 2011).

A detecção de antígenos em fezes tem mostrado resultados satisfatórios em relação à sensibilidade e a especificidade tanto em populações adultas quanto em crianças (KORI; GOLDSTEIN; GRANOT, 2009). Segundo Kalach et al., 2009 em adultos, o teste apresenta sensibilidade de 93,0% e especificidade de 92,0% e em crianças a sensibilidade varia de 88,7% a 98,0% e especificidade de 94,0% a 99,0%. Na nossa população, Cardinali et al (2003) relatou para o diagnóstico da infecção em crianças com idades compreendidas entre 1 e 18 anos sensibilidade de 96,9% e especificidade de 100%.

Alguns estudos mostram que os valores de sensibilidade e especificidade são melhores quando são usados anticorpos monoclonais, tanto em adultos quanto em crianças. Já os estudos usando anticorpos policlonais apresentaram resultados controversos (CIRAK; AKYÖN; MÉGRAUND, 2007; GUARNER et al., 2009; PRELL et al., 2009; ANTOS et al., 2005).

Prell et al (2009) compararam a eficiência da pesquisa de antígenos nas fezes (ELISA monoclonal) com o teste respiratório e com o teste rápido para detecção de antígenos de *H. pylori* em fezes por imunocromatografia. A detecção de antígenos de *H. pylori* por ELISA nas fezes de crianças mostrou sensibilidade e especificidade elevadas, cerca de 95%, enquanto a detecção por imunocromatografia mostrou sensibilidade de 93,5% e 90,3% (resultado de duas leituras) em crianças não tratadas. Valores menores de sensibilidade (85,7% e 71,4%, também resultados de duas leituras) foram observados em crianças pós tratamento. O autor considera que essa diferença pode ocorrer devido à fraca visualização da linha no teste, o que

pode deixar o resultado ambíguo. Antos et al (2005) também avaliaram o ensaio imunocromatográfico e demonstraram sensibilidade de 88,3%, especificidade de 91,0% e acurácia de 85,0% para o diagnóstico da infecção em crianças. Apesar dos valores um pouco menores de sensibilidade e especificidade, os autores consideram que o teste rápido para o diagnóstico do *H. pylori* em crianças pode ser usado quando o teste respiratório não estiver disponível.

Alguns fatores como, sangramento da mucosa gástrica, uso de inibidores de bomba de prótons e antimicrobianos podem diminuir a sensibilidade do teste, portanto, cuidados devem ser tomados ao avaliar o teste em pacientes que estão sob essas condições, a fim de evitar erros nos resultados (ROCHA et al; 2009).

O teste é rápido, simples, confiável, de baixo custo, não invasivo, a obtenção das amostras é fácil podendo ser estocadas em geladeira por 5 dias ou congeladas a -20°C ou -80°C por tempo indeterminado. Desde que sejam armazenadas de forma correta, podem também ser enviadas pelo correio. O congelamento permite que várias amostras sejam testadas em um único experimento sem haver influência na precisão do teste (KOLETZKO, 2005; GUARNER et al., 2010).

A detecção de antígenos de *H. pylori* em amostras de fezes é uma ferramenta diagnóstica não invasiva que tem boa precisão nos resultados tanto em adultos quanto em crianças. Essa característica do teste faz com que ele seja atraente no monitoramento da resposta ao tratamento da infecção com antimicrobianos e nos estudos epidemiológicos, principalmente em crianças (VAIRA et al., 2000; KALACH et al.; 2009; PRELL et al., 2009; LEAL et al.; 2011).

## 5. CONCLUSÃO

Existem vários métodos de diagnóstico para a infecção causada pelo *H. pylori*. Como nenhum deles apresenta 100% de sensibilidade e especificidade (exceto a cultura que é 100% específica) é recomendado o uso de pelo menos dois testes para o diagnóstico da infecção.

Essa recomendação torna-se especialmente válida para o diagnóstico da infecção em crianças, visto que este grupo de pacientes, em geral, apresenta menor carga bacteriana, menor produção de anticorpos, menor produção de CO<sub>2</sub> endógeno e inflamação mais moderada da mucosa gástrica, fatores que podem dificultar a detecção do *H. pylori* tanto por métodos invasivos quanto por métodos não-invasivos.

## 6. REFERÊNCIAS

ANDERSEN, L. P.; WADSTRON, T. Basic bacteriology and culture. *Helicobacter pylori* physiology and genetics, v. 4, p. 27-33, 2001.

ANTOS, D. et al. Evaluation of a novel rapid one-step immunochromatographic assay for detection of monoclonal *Helicobacter pylori* antigen in stool samples from children. **J Clin Microbiol**, v. 43, n. 6, p. 2598-2601, jun. 2005

ARISMENDI-MORILLO G. et al. Comparison of three methods based on endoscopic gastric biopsies for diagnosis of *Helicobacter pylori* active infection in a clinical setting. **Arq Gastroenterol**, v. 48, n. 3, p. 190-194, jul./set. 2011.

BEST, L. M. et al. Serological detection of *Helicobacter pylori* antibodies in Children and their parents. **J Clin Microbiol**, v. 32, n. 5, p. 119-1196, may. 1994.

BEYEA, S.; NICHLL, L. H. Writing an integrative review. **AORN Journal**, v. 67, n. 4, p. 877, april. 1998.

BITTENCOURT, P. F. S. et al. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 5, p. 325-334, 2006.

BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*: microbiology of a “show” bacterial infection. **Trends Microbiol**, v. 1, p. 255-260, 1993

BONAMICO, .M. et al. Evaluation of stool antigen test, PCR on oral samples and serology for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in children. **Helicobacter**, v. 9, n. 1, p. 69-76, 2004.

BOYANOVA, L. et al., *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmannii* in untreated Bulgarian children over a period of 10 years. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, p. 1081-1085, 2007.

BRAGA, A. B et al. *Helicobacter pylori* colonization among children up to 6 years: results onf a community-based study from Northeastern Brazil. **J Trop Pediatric**, v. 53, p. 393-478, 2007.

BROWN, K.E., PEURA, D. A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenteol Clin North Am**, v. 22. P. 105-115, 1993.

BRUDEN D. L., et al. Diagnostic accuracy of tests for *Helicobacter pylori* in an Alaska Native population. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 42, p. 4682-4688, nov. 2011.

BUJANOVER, Y. REIF S. YAHAV J. *Helicobacter pylori* and disease in the pediatric patient. **Pediatr Clin North Am**, v. 43, p. 213-234.

CAETANO, A. et al. *Helicobacter pylori* e doença péptica. Estudo comparativo de métodos diagnósticos. **Arq Gastroenterol**, v. 45, n. 2, p. 255-257, jul./set. 2008.

CADINALI, L. C. C. et al. Evaluation of [<sup>13</sup>C] urea breath test and *Helicobacter pylori* stool antigens tests for *H. pylori* infection in children from a developing country. **J Clin Microbiol**, v. 41, p. 3334-3335, 2003.

CIRAK, M. Y. et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. **Helicobacter**, v. 12, n. 1, p. 4-9, 2007.

CHOE, Y. H.; HONG, H. C. *Helicobacter pylori* infection with iron deficiency anemia and subnormal growth at puberty. **Arch Dis Child**, v. 82, p. 135-140, 2000.

CHOI, J. et al. Prospective evaluation of a new stool antigen test for the detection of *Helicobacter pylori*, in comparison with histology, rapid urease test, 13C-urea breath test, and serology. **JGHF**, v. 26, p. 153-1059, 2011.

COVER, T. L.; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. **ASM News**, v. 109, p. 136-141, 1995.

CUNHA, R. P. et al. Prevalence and risk factors associated with *Helicobacter pylori* infection in native populations from Brazilian Western Amazon. **Tropical Medicine & Hygiene**, v. 97, p. 382-386, 2003.

CUSTÓDIO, R. O. et al. Identificação do *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico: comparação com o método histológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 4, p. 322-325, jul./ago. 2005.

DUNN, B. E. et al. *Helicobacter pylori*. **Clin Microbiol Rev**, v. 10, p. 720-741, 1997.

DZIERZANOW-FANGRAT, K. et al. Diagnosis *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v. 11, n. 1. p. 6-13, 2006.

EL DIB, Regina Paolucci. Como praticar a medicina baseada em evidências. **J Vasc Brás**, v. 6, n. 1, p. 1-4, 2007.

ENORTH, H. E.; ENGSTRAND, L. Immunomagnetic separation and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in water and stool specimens. **J Clin Microbiol**, v. 33, p. 2162-2165, 1995.

FALSAFI, T. et al. Application of Stool-PCR test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. **World J Gastroenterol**, v.15, n. 4, p. 484-488, jan. 2009.

FAUCHÈRE, J. L. Evolution of the anti- serum antibody response: In: LEE, A. MÉGRAUD, F., editors. *Helicobacter pylori*: Techniques for Clinical Diagnosis and Basic Research. London: WB Saunders Company LTD, 1996: 50-73.  
*Helicobacter pylori*

FIALHO, A. M. et al. The association between *Helicobacter pylori* infection and height in children from an urban community in North-east Brazil. **Ann Trop Pediatr**, v. 27, p. 55-61, 2007.

FERREIRA, L. E. V. V. C. et al. Alterações no teste ultra-rápido da urease e no exame anatomopatológico para *Helicobacter pylori* induzidas por drogas anti-secretoras. **Arq Gastroenterol**, v. 38, n. 1, p. 3-8, jan./mar. 2001.

FORMAN, D. et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *Br Med J*, v, 302, p. 1302-1305, 1991.

FRANCO, A. T. et al. Regulation of gastric carcinogenesis by *Helicobacter pylori* virulence factors. **Cancer Res**, v. 68, p. 379-387, 2008.

GALVÃO, Cristina M; SAWADA, Namie O; ROSSI, Lídia A. A prática baseada em evidências: considerações teóricas para sua implementação na enfermagem perioperatória. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 5, set./out. 2002.

GALVÃO, Cristina Maria *et al.*; A busca das melhores evidências. **Rev Esc Enferm USP**, v. 37, n. 4, p. 43-50, 2003.

GLASSMAN, M. S. *Helicobacter pylori* infection in children: a clinical overview. **Clin Pediatr**, v. 32, p. 481-487, 1992.

GLUPCZYNSKI, Y. The diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a microbiologist's perspective. **Rev Med Microbiol**, v. 5, p. 199-208, 1994.

GODDARD, A. F. LOGAN, R. P. H. Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* detection and eradication. **Br J Clin Pharmacol**, v. 56, p. 273-283, 2003.

GOODMAN, K. J. et al. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. **Am J Epidemiol**, v. 144, p. 290-299, 1996.

GONZÁLES, C. G.; SERRANO, C.; HARRIS, P. R. Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en niños mediante la detección de antígenos en deposiciones. **Rev Méd Chile**, v. 135, p.

GRAHAM, D. Y. et al. *Campylobacter pylori* detected non invasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. **Lancet**, p. 1174-1177, 1987.

GUARNER, J. et al. *Helicobacter pylori* diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009. **Eur J Pediatr**, v. 169, p. 15-25, 2010.

HAMILTON-MILLER, J. M. The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection. *Inter J Antimicrobiol Agents*, v. 22, p. 360-366, 2003.



HAMMAR, M. et al. Rapid detection of *Helicobacter pylori* detected in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. **J Clin Microbiol**, v. 30, p. 54-58, 1992.

HIGASHI, H. et al. Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 99, p.14428-14433, 2002a.

ILVER, D. et al. *Helicobacter pylori* adhesion binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. **Science**, v. 279, p. 373-377, 1998.

IMRIE, C. et al. Limitations to carbon 13-labeled urea breath testing for *Helicobacter pylori* in infants. **The Journal of Pediatrics**, v. 139 ,n. 5, p. 734-737, 2001.

ISRAEL, D. A. et al. *Helicobacter pylori* genetic diversity within the gastric niche of a single human host. **PNAS**, v. 98, n. 25, p. 14625-14630, dec. 2001.

JUNIOR, et al. Detecção gástrica de *Helicobacter pylori* em pacientes pediátricos sintomáticos através da reação em cadeia de polimerase (PCR), teste de urease e exame histológico. **Pediatria**, v. 26, n. 1, p. 34-42, 2004.

KALACH, N. et al. Usefulness and influence of age of a novel Rapid HpStA stool antigen for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 65, p. 450-453, 2009.

KINDERMANN, A.; LOPES, A. I. *Helicobacter pylori* Infection in Pediatrics. **Helicobacter**, v. 14, n. 1, p. 52-57, 2009.

KOLETZKO, S. Noninvasive diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection in children. **Can J Gastroenterol**, v. 19, n. 9, p. 433-439, jul., 2005.

KONTUREK, S. J. et al. *Helicobacter pylori* and its involvement in gastritis and peptic ulcer formation. **Journal Of Physiology And Pharmacology**, v. 57, n. 3, p. 29-50, 2006.

KOONO, M. et al. Five-year follow-up study of mother-to-children transmission of *Helicobacter pylori* infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method. **J Clin Microbiol**, v. 43, p. 2246-2250, 2005.

KORI, M.; GOLDSTEIN, E.; GRANOTE. *Helicobacter pylori* infection in young children detected by a monoclonal stool antigen immunoassay. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 28, n. 2, p. 157-159, Feb. 2009.

LADEIRA, M. S. P.; SALVADORI, D. M. F.; RODIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 335-342, 2003.

LEAL, Y. A. et al. Antibody-Based Detection Tests for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Children: A Meta-Analysis. **Plos ONE**, v. 3, n. 11, p. 1-11, set. 2008.

- LEAL, Y. A. et al.  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Helicobacter**, v. 16, p. 327-337, 2011a.
- LEAL, Y. A. et al. Utility of stool sample-based tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. **JPGN**, v. 52, n. 6, p. 718-728, jun. 2011b.
- LEE, A. The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Scand J Gastroenterol**, v. 29, s.1, p. 2-6, 1994.
- LEODOLTER, A.; WOLLE, K.; MALFERTHERINER, P. Current standards in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Dig Dis**, v. 19, p. 116-122, 2001.
- LEUNG, V.K. S.; SUNG, J. J. Y. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection, **J Int Fed Clin Chem**, v. 8, n. 161, p. 164-166, 1996.
- LÓPEZ-BREA, M.; ALARCÓN, T.; MÉGRAUD, F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 13, n. 1, p. 13-19, 1997.
- LUSCENTI, R. S.; GATTI, L. L. Diagnóstico molecular da infecção pelo *Helicobacter pylori* em mucosa gástrica. **Revista Paraense de Medicina**, v. 22, n. 1, p. 21-26, jan./mar. 2008.
- MALATY, H. M.; GRAHAM, D. Y. Importance of children socioeconomic status in the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. **Gut**, v. 35, p. 742-745, 1994.
- MAPSTONE, N. P. et al. Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. **J Clin Pathol**, v. 46, p. 540-543, 1993.
- MARSHALL, B. J; SURVERYOR, I. Carbon<sup>14</sup> urea breath test for the diagnosis of *Campylobacter pylori* associated with gastritis. **J Nucl Med**, v. 29, p. 11-16, 1988.
- MARSHALL, B. J. *Helicobacter pylori*. **Am J Gastroenterol**, v. 89, p. 116-128, 1994.
- McNULTY, C. A. DENTE, J. C. Rapid identification of *Campylobacter pylori* (*C. pyloridis*) by performed enzymes. **J Clin Microbiol**, v. 25, p. 1683-1686, 1987.
- MÉGRAUD, F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. **Scand J Gastroenterol**, v.31, n. 215, p. 57-62, 1996;
- MULLER, L. B. et al. Prevalência da infecção por *helicobacter pylori* e das lesões precursoras do câncer gástrico em pacientes dispépticos. **Arq Gastroenterol**, v. 44, n. 2, p. 93-98, abr./jun. 2007.
- NARDONE, G.; ROCCO, A; MALFERTHEINER, P. Review article: *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesions. **Blackwell Publishing Ltd**, v. 20, p. 261-270, may. 2004.

OGATA, S. K. et al. Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic children and adolescents. **São Paulo Medical Jornal**, p. 67-71, 2001.

OLIVEIRA, A. M. et al., Evaluation of an Enzyme-linked Immunosorbent assay for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children from different age groups with and without duodenal ulcer. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 28, p. 157-151, 1999.

ÖZDEMİR, E. et al. Could the simplified <sup>14</sup>C urea breath test be a new standard in noninvasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection? **Ann Nucl Med**, v. 22, p. 611-616, 2008.

OZTURK, E. et al. A new, practical, low-dose <sup>14</sup>C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: clinical validation and comparison with the standard method. **Eur J Nucl Med Mol Imaging**, v. 30, n. 11, p. 1457-1462, nov. 2003.

PARKIN, D. M. et al. Global cancer statistics, 2002. **CA Cancer J Clin**, v. 55, p. 74-108, 2005.

PARSONNET, J. et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. **N Engl J Med**, v. 325, p. 1127-1131, 1991.

POURAKBARI, B. et al. Evaluation of a new antigen for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in stool of adult and children. **Helicobacter**, v. 16, p. 42-46, 2011.

PORTORREAL, A.; KAWAKAMI, E. Avaliação do método imunoenzimático (elisa) para diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* em crianças e adolescentes. **Arq Gastroenterol**, v. 39, n. 3, p. 198-203, jul./set. 2002.

PRELL, C. et al. Improved performance of a rapid office-based stool test for detection of *Helicobacter pylori* in children before and after therapy. **J. Clin. Microbiol**, v. 47, n. 12, p. 3980-3984, dec. 2009.

QUEIROZ D.M; MENDES E. N.; ROCHA, G. A. Indicator Medium for Isolation of *Campylobacter pylori*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 25, n. 12, p. 2378-2379, dec, 1987.

QUEIROZ, D. M.; LUZZA, F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, s.1, p. 1-5, 2006.

RODRIGUES, M. N. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children from urban community in north-east Brazil and risk factors for infection. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, v.16, p. 201-205, 2004.

RODRIGUES, M. N. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Fortaleza, Northeastern Brazil. **Rev de Saúde Pública**, v. 39, p. 847-849, 2005a.

RODRIGUES, M. N. et al. *Helicobacter pylori* infection in adults from a poor urban community in northeastern Brazil: demographic, lifestyle and environmental factors. **Braz J infect dis**, v. 9, p. 405-410, 2005b.

ROCHA, A. G. et al. Simple Carbolfuchsin staining for showing *C. pylori* and other spiral bacteria in gastric mucosa. **J Clin Pathol**, v. 42, p. 1004-1005, 1989.

ROCHA, G. A. Immunoblot Analysis of Humoral Immune Response to *Helicobacter pylori* in Children with and without Duodenal Ulcer. **J Clin Microbiol**, v. 38, n. 5, p. 1777-1781, may. 2000.

ROCHA, A. M., et al. Accuracy of a comercial enzyme-linked immunosorbent assay for cagA in patients from Brazil with and without gastric carcinoma, **J. Clin Microbiol**, v. 41, p. 447-448, 2003.

ROCHA, A. M., et al. Investigação laboratorial do paciente com infecção por H. pylori. In: Medicina Laboratorial para o Clínico, Coopmed, Belo Horizonte, 2009.

SAMUELS, A. L., et al. Culture of *Helicobacter pylori* from a Gastric String May Be an Alternative to Endoscopic Biopsy. **Journal Of Clinical Microbiology**, v, 38, n. 6, p. 2438-2439, jun., 2000.

SARKER, A. S. et al. *Helicobacter pylori*: prevalence, transmission and serum pepsinogen II concentration in children of poor periurban community in Bangladesh. **Clin Infct Dis**, v. 25, p. 990-995, 1999.

SCHOEP, T. D. et al. Surface Properties of *Helicobacter pylori* Urease Complex Are Essential for Persistence. **Plos One**, v. 5, n. 11, p. 1-8, nov. 2010.

SHERMAN, P. et al., *Helicobacter pylori* in children and adolescents: reports of working groups 2000. Proceedings of de World Congress of Pediatric Gastroenterology, **Hepatology and Nutrition**, aug. 2009.

SHERMAN P. et al. Canadian *Helicobacter pylori* Study Group Consensus Conference on the approach to *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents, **Can J Gastroenterol**, v. 13, p. 553-559, 1999.

SIQUEIRA, J. S. et al. Aspectos gerais nas infecções por *Helicobacter pylori* Revisão. **RBAC**, v. 39, n. 1, p. 9-13, 2007.

SUBRADA, A. et al. Performance of Routine *Helicobacter pylori* Tests in Patients with Atrophic Gastritis. **J Gastrointestin Liver Dis**, v. 20, n. 4, p. 349-354, dec., 2011.

S YKORA, J.; ROWLAND, M. *Helicobacter pylori* in Pediatrics. **Helicobacter**, v. 16, n. 1, p. 59-64.

THIJS, J. C. et al. Diagnostics tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standart. **Am J Gastroenterol**, v.9, p. 2125-2129, 1996.

THOMAS, J. E., SULLIVAN, P.B., EASTHAM, E. J. Protein- losing enteropathy and *Helicobacter pylori*, **J. Pediatric Gastroenterol Nutri**, 1992. B. J.; HEATLEY, R.V. (Ed.). *Helicobacter pylori* and Gastrointestinal Diseases. Oxford: Blackwell Scientific Publication, p. 19-28, 1992.

TOMPKINS, D. S. Isolation and characteristics of *Helicobacter pylori*. In: RATHBONE,

TROWELL, J. E. et al. Simple half-Gram stain for showing presence of *Campylobacter pylori* in sections. **J. Clin Pathol**, v. 40, p. 702, 1987.

URSI, E. S.; GALVÃO, C. M. Prevenção de lesões de pele no perioperatório: revisão integrativa da literatura. **Rev Latino-am Enfermagem**, v. 14, n. 1, p. 124 -131, jan./fev. 2006.

VAIRA, D. et al. Clinical role of fecal antigen determination in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Clin lab**, v. 46, p. 487-490, 2000.

VINETTE, K. M. B., et al. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *H.pylori* infection in pediatric patients. **BMC Microbiology**, p. 1-7, 2004.

WAHLFORS, J. et al. Development of a rapid PCR method for identification of *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric biopsy specimens. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 14, p. 780-786, 1995.

WALTERS, L. L.; BUDIN, R. E.; PAULL, G. Acridine orange to identify *Campylobacter pyloridis* in formalin fixed paraffin-embedded gastric biopsies. **Lancet**, v. 42, 1986.

WESTBLOM, T. U. et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult and pediatric patients by using pyloriset, a rapid latex agglutination test. **J Clin Microbiol**, v. 30, p. 96-98, 1992.

WEYERMANN, M. et al. Acquisition of *Helicobacter pylori* infection in early childhood: independent contributions of infected mothers, fathers and siblings. **Am J Gastroenterol**, v. 104, p. 182-189, 2009.

WHITTEMORE, R.; KNAFI, K. The integrative review: updated methodology. **Journal of Advanced Nursing**, Oregon, USA, v. 52, n. 5, p. 546 - 553, dez. 2005.

WHITTEMORE, R. Combining evidence in nursing research: methods and implications. **Nursing Research**, v. 54, n. 1, p. 56-62, jan/feb. 2005.

WOTHERSPOON, A. C. PATH, M. R. Gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue and *Helicobacter pylori*. **Annu Rev Med**, v. 49, p. 289-299, 1998.

YAÑES, P. et al. Comparison of invasive and noninvasive methods for the diagnosis and evaluation of eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. **Arch Med Res**, v. 31, p. 415-421, 2000.

YANG, H. R.; KO, J. S.; SEO, J. K. Does the diagnostic accuracy of the  $^{13}\text{C}$ -urea breath test vary with age even after the application of urea hydrolysis rate? **Helicobacter**, v. 13, p. 239-244, 2008.

ZAITOUN, A. M. Histology compared with chemical testing for urease for rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. **J Clin Pathol**, v. 46, p. 684-685, 1993.