

COD. ACERVO: 71132
R 13844290 / 05 03/06/05 BES

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA

**AVALIAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE *HELICOBACTER*
PYLORI E A CORRELAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLONIZAÇÃO
BACTERIANA E ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS**

Maria do Perpétuo Socorro Saldanha da Cunha

T
616.33
C 973n

Fortaleza - Ceará

2002

MARIA DO PERPÉTUO SOCORRO SALDANHA DA CUNHA

**AVALIAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE *HELICOBACTER
PYLORI* E A CORRELAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLONIZAÇÃO
BACTERIANA E ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia Tropical do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. José Luciano Bezerra Moreira
Orientador

Profa. Dra. Cibele Mano de Carvalho
Co-orientador

Fortaleza – Ceará

2002

C979 Cunha, Maria do Perpétuo Socorro Saldanha da.
Avaliação de dois métodos diagnósticos de helicobacter pylori e a correlação entre a densidade de colonização bacteriana e achados histopatológicos / Maria do Perpétuo Socorro Saldanha da Cunha. – Fortaleza, 2002.

75 f.

Orientador: Prof. Dr. José Luciano Bezerra Moreira.
Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará – Curso de Pós-Graduação em Patologia Tropical.

1. Helicobacter pylori. 2. Infecções por helicobacter.
3. Helicobacter I. Título

CDD 612.313



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPTO. DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA

ATA DE DEFESA PÚBLICA DA TESE DE MARIA DO PERPÉTUO SOCORRO SALDANHA DA CUNHA, REALIZADA PELO CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL, DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, NO DIA 20 DE DEZEMBRO DE 2002.

Aos vinte dias do mês de dezembro de dois mil e dois, foi realizada na Sala de Reunião do Departamento de Patologia e Medicina Legal, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, a defesa pública da Tese de Mestrado de **MARIA DO PERPÉTUO SOCORRO SALDANHA DA CUNHA**, intitulada: "AVALIAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE *Helicobacter pylori* E A CORRELAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DA COLONIZAÇÃO BACTERIANA E ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS", para obtenção do título de **Mestre em Patologia**. A Banca Examinadora foi composta pelos professores doutores: **José Luciano Bezerra Moreira (Orientador/ e Presidente)**, **Maria Ceci do Vale Martins – HIAS**, **Antonio Wilson Vasconcelos**, e **Cibele Barreto Mano de Carvalho**. Após a apresentação e arguição da referida tese, a mestranda obteve o conceito **APROVADA**, atribuída consensualmente por todos os membros da Banca Examinadora. A presente ata, após lida e achada conforme, será assinada pelo Presidente e pela Banca Examinadora. Com base nas normas vigentes da Pós-Graduação, Resolução no. 14/CEPE/97 Art. 54; a **candidata faz jús ao grau de Mestre em Patologia**, área de concentração Patologia Tropical.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. JOSE LUÇIANO/BEZERRA MOREIRA
(Presidente)

Profa. Dra. MARIA CECI DO VALE MARTINS
(Profa. Convidada – HIAS)

Prof. Dr. ANTONIO WILSON VASCONCELOS

Profa. Dra. CIBELE BARRETO MANO DE CARVALHO

DEDICATÓRIA

- À minha mãe, por ter me ensinado o gosto pelos livros e pela aventura da existência.
- Ao meu esposo, pela generosidade de sua alma e imensa satisfação de viver ao seu lado.
- Ao meu filho, meu pequeno encanto, por todas as noites em que seus balbucios são mais belos que as estrelas.
- Aos meus irmãos, pela alegria e certeza de sempre tê-los comigo.
- Aos meus avós, pelas maravilhosas lembranças e por tudo que chamo saudade.



AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- Professor Dr. José Luciano Bezerra Moreira, pela orientação e paciência no transcorrer deste trabalho
- Professora Dra Cibele Mano de Carvalho, pela co-orientação da dissertação, disponibilidade e contribuição em todos os momentos.
- Professor Dr. Dalgimar Beserra de Menezes, pela amizade, ensinamentos constantes, críticas e sugestões.

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. Prof. Talapa Godwinisky Naidu, coordenador do Mestrado em Patologia Tropical, pelo apoio prestado e disponibilidade constantes.
- Ao Dr Eilson Goes Oliveira, pela disponibilidade na análise estatística deste trabalho.
- Ao Hospital Geral de Fortaleza, Setor de Endoscopia Digestiva na pessoa dos Drs. Adriano Cunha, Ricardo Paula Pessoa e José Wilson Júnior e demais funcionários.
- Ao Hospital Albert Sabin, Setor de Endoscopia, em especial Dr. Paulo Sérgio Coutinho.
- Aos Drs. Profs. Antônio Wilson de Vasconcelos e Ceci por terem gentilmente aceito o convite para a banca examinadora.
- A Universidade Federal do Ceará e funcionários do Departamento de Patologia e Medicina Legal, em especial Terezinha de Jesus dos Santos Rodrigues, Paula Paz Palácio e Francileide Paiva de Oliveira.
- Aos Drs. Paulo Roberto Carvalho de Almeida e Régia Vidal do Patrocínio, pela contribuição à minha formação acadêmica
- A Dra. Maria do Patrocínio Grangeiro, pela ajuda e apoio no desenvolver desta pesquisa
- A Dra. Márcia Maria de Negreiros, pela cooperação e incentivo prestados.
- As Dras. Maria Lúcia Libanez e Nathalie Broutet, pelo exemplo de dedicação ao estudo do *Helicobacter pylori*.
- E a todos que, de alguma maneira, participaram na elaboração desta dissertação.

LISTA DE SIGLAS

HE: Hematoxilina-Eosina

MALT: Mucosae-associated Lymphoid Tissue

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: Polimerase Chain Reaction

BHI: Brain Heart Infusion

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: Crianças.....	27
QUADRO 2: Adultos.....	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Intensidade da colonização gástrica por <i>Helicobacter pylori</i> em adultos e crianças quando comparados cultura e histopatológico.....	29
TABELA 2:	Distribuição de <i>Helicobacter pylori</i> em crianças quanto ao sexo.....	30
TABELA 3:	Intensidade da resposta inflamatória do antro e corpo gástricos em crianças com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	31
TABELA 4:	Avaliação de folículos e agregados linfóides em antro e corpo gástricos de crianças com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	32
TABELA 5:	Avaliação de atrofia em antro e corpo gástricos de crianças com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	33
TABELA 6:	Distribuição de <i>Helicobacter pylori</i> em adultos quanto ao sexo.....	33
TABELA 7:	Intensidade da resposta inflamatória do antro e corpo gástricos em adultos com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	34
TABELA 8:	Avaliação de folículos e agregados linfóides em antro e corpo gástricos de adultos com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	35
TABELA 9:	Avaliação de atrofia em antro e corpo gástricos de adultos com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	36
TABELA 10:	Avaliação de metaplasia intestinal em antro e corpo gástricos de adultos com e sem <i>Helicobacter pylori</i>	37

RESUMO

O presente trabalho estuda a prevalência de infecção por *H. pylori* em crianças e adultos, os valores diagnósticos da cultura e histopatológico e a correlação entre a densidade de *H. pylori* e os aspectos histológicos. Foram examinadas biópsias gástricas de 23 adultos e 21 crianças, as quais foram submetidas ao exame histopatológico e à cultura. A avaliação histológica foi realizada de acordo com a Classificação de Sydney Modificada, usando escores de 0-3 para as variantes graduadas de inflamação e atividade da gastrite e colonização por *H. pylori*. Atrofia, metaplasia intestinal e folículos/agregados linfóides foram referidos como presente ou ausente. As biópsias foram coradas pelos métodos HE e Giemsa. Diferença nos resultados de cultura e histopatológico foi encontrada em 13 pacientes e *H. pylori* foi detectado mais frequentemente à histologia. Cinco crianças (23,9%) e 6 adultos (24,1%) foram diagnosticados por cultura e 8 crianças (38,1%) e 16 adultos (69,6%) por exame histológico. Todos os pacientes positivos para *H. pylori* apresentavam gastrite. A densidade de *H. pylori* foi correlacionada com atividade neutrofilica polimorfonuclear, inflamação crônica e folículos/agregados linfóides e positividade à cultura. Concluimos que a detecção de *Helicobacter pylori* por análise histopatológica de rotina oferece melhores resultados que a cultura e a densidade da bactéria está relacionada com o grau de inflamação, atividade, presença de folículos/agregados linfóides em amostras de antro de adultos e positividade da cultura.

SUMMARY

This study approaches the incidence of *Helicobacter pylori* infection in children and adult patients, the diagnostic performance of culture and histology, and the correlation between the density of *H.pylori* and histologic features. We obtained gastric biopsies from twenty-three adults and twenty-one children and submitted them for histopathologic and culture studies. The updated Sydney Classification System of gastritis was employed using a score of 0-3 to grade the degree and activity of inflammation and *H.pylori* colonization. Atrophy, intestinal metaplasia and lymphoid follicles/aggregates were referred as present or absent. The biopsies were evaluated by H-E and Giemsa staining. Differences in results for the culture and histologic examination were found in 13 patients and *H.pylori* was detected more frequently by histology. Five children (23,9%) and six adults (26,1%) were diagnosed by culture and eight children (38,1%) and sixteen adults (69,6%) by histology. All the patients who had *H.pylori* also presented chronic gastritis. The density of *H.pylori* was correlated with polymorphonuclear neutrophil activity, chronic inflammation, lymphoid follicles/aggregates and positivity in culture. We concluded that *H.pylori* detection in routine examination is more available in histopathologic studies and that the density of *H.pylori* was correlated with the grade of inflammation, activity, presence of follicle lymphoid and successful culture.

SUMÁRIO

Pág.

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE QUADROS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Histórico.....	1
1.2 Epidemiologia.....	4
1.3 Virulência e Patogenia.....	6
1.4 Gastrite	13
1.5 Diagnóstico	16
1.5.1 Anatomopatológico.....	17
1.5.2 Bacteriológico	18
2 OBJETIVOS	21
2.1 Geral.....	21
2.2 Específicos	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Pacientes.....	22
3.2 Procedimentos Endoscópicos.....	23
3.3 Análise Histológica.....	23
3.4 Análise Microbiológica.....	25
3.4.1 Coleta e Acondicionamento	25
3.4.2 Cultura.....	25

3.5 Análise Estatística	26
4 RESULTADOS	27
5 DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO.....	44
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

Anexos

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico do *Helicobacter pylori*

Espiroquetas no estômago de cães foram primeiro referidos por Giulio Bizzozero, Professor de Patologia da Universidade de Pavia e Turin, em 1893, tendo Salomon descrito-os em 1896 no estômago de cães e gatos. Krienitz, em 1906, em trabalho publicado no *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, intitulado "Ueber das Auftreten von Spirochäten verschiedener Form im Mageninhalt bei Carcinoma ventriculi"¹, foi quem primeiro mencionou a presença de microorganismos espiralados no estômago humano, ao estudar o líquido proveniente de um paciente com câncer gástrico. Doengen, em 1938, comparou espiroquetas encontrados em exames histopatológicos de estômagos provenientes de material de autópsias, com bactérias semelhantes vistas em glândulas gástricas de *Macacus rhesus*, usando a coloração de hematoxilina-eosina (HE). No ano seguinte, bactérias espiraladas foram detectadas por Freedberg e Barron em 37% de 35 produtos de gastrectomias de pacientes com úlcera gástrica ou carcinoma. Palmer (1954), em estudo de 1180 biópsias gástricas, declarou que nenhuma delas continha espiroquetas ou qualquer estrutura similar, fazendo com que diminuísse o interesse por este microorganismo. Nos anos

¹ Nota da autora: "Sobre a presença de várias espiroquetas no conteúdo gástrico de carcinomas".

50 e 70, de modo quase unânime, os microbiologistas, por não conseguirem cultivar a bactéria presente no estômago e ignorando estudos precedentes, defenderam a idéia de que o estômago seria um órgão estéril. O equívoco continuou com Steer e Colin Jones (1975) que numa série de 50 pacientes com úlcera gástrica que se submeteram à gastrectomia, observaram, em 80% dos casos, a presença de uma bactéria associada à gastrite difusa e que nem a bactéria nem a infecção eram afetadas quando a úlcera cicatrizava com carbenoxolone. Estas bactérias foram incorretamente identificadas como *Pseudomonas sp*, com base em achados bacteriológicos. Steer (1975) também demonstrou o processo de fagocitose destes microorganismos ao estudar as alterações inflamatórias gástricas e a migração neutrofilica.

Em 1981, no Royal Perth Hospital, Austrália, Barry Marshall, médico clínico, iniciou um projeto de estudo conjuntamente com Robin Warren, anatomopatologista. Ambos acompanharam um paciente de nacionalidade russa, idoso, portador de gastrite, em que perceberam a presença de bactérias na mucosa gástrica em biópsias coradas pelo método de Warthin-Starry. Após tentativas frustradas de cultura, a bactéria cresceu depois de um final de semana prolongado em que as placas foram não intencionalmente incubadas por cinco dias. Esta vinculação entre a bactéria e a gastrite foi primeiro apresentada ao Royal Australian College of Physicians em 1982, tendo sido publicada em 1983, recebendo a denominação de organismos similares do *Campylobacter* (MARSHALL e WARREN, 1983, 1984).

Esses organismos similares de *Campylobacter* foram designados *Campilobacter pyloridis* por se tratarem de bactérias micro-aerófilas, curvadas e Gram-negativas, lembrando *Campylobacter*, tanto morfológicamente quanto na proporção guanina/citosina do DNA. Por razões gramaticais, o nome foi mudado em 1987 para *Campylobacter pylori*, que passou a designar a cepa cultura-padrão do Royal Perth Hospital 13487 (NCTC 11637). Subsequentemente, com base na análise e critérios taxonômicos incluindo aspectos ultraestruturais, perfis de ácidos graxos, quinonas respiratórias, características de crescimento e capacidades enzimáticas, constatou-se que *Campylobacter pylori* não pertencia ao gênero *Campylobacter*. Um novo gênero foi então sugerido em 1989, o *Helicobacter* (GOODWIN et al, 1989). Em estudos baseados na análise de subunidades do RNA ribossômico (16S), o gênero *Helicobacter* foi posicionado na subdivisão epsilon das proteobactérias, próximo aos gêneros *Flexispira* e *Thiovulum*. O critério para a inclusão no gênero *Helicobacter* foi a presença de pelo menos 93% de seqüências comuns ao *Helicobacter pylori*. Hoje, reconhecem-se cerca de 74 espécies colonizando animais e humanos, presentes principalmente no trato gastrointestinal (PUBMED, 2001). Dentre as espécies do gênero *Helicobacter* que colonizam o estômago, três delas são infectantes ao homem: *H. pylori*, *H. heilmannii* e *H. felis*, todas possuindo a capacidade de provocar gastrite crônica, mesmo em pacientes assintomáticos.

O *Helicobacter pylori* é uma bactéria Gram-negativa, em forma de S, V ou U, móvel, espiralada e microaerófila, com 4 a 6 flagelos unipolares,

medindo 0,5 µm a 0,9 µm de diâmetro e 2,5 a 4,0 µm de comprimento. O *Helicobacter pylori*, no homem, tem sido isolado mais comumente do estômago, como também de outros sítios como saliva, placa dentária, intestino grosso e fezes, de pacientes sintomáticos ou assintomáticos (FERRELL et al., 1984; KRADJEN et al., 1989; FERGUSON et al., 1993; KELLY et al., 1994).

No estômago, o *H. pylori* coloniza a mucosa gástrica (corpo, fundo e antro gástricos) e/ou área de metaplasia gástrica localizada em outras regiões (esôfago, duodeno e divertículo de Meckel) onde se apresenta com forma curva ou espiralada. *In vitro*, com o prolongamento do tempo de cultura, pode ocorrer o aparecimento de formas cocóides. O *Helicobacter pylori* cresce também em meios suplementados com sangue total, sendo, entretanto, conveniente, a adição de drogas antimicrobianas para inibir o crescimento de contaminantes (FRELAND et al., 1988; TEE et al., 1991).

1.2 Epidemiologia da infecção por *H. pylori*

Embora a infecção por *H. pylori* seja cosmopolita, sua prevalência varia em diferentes regiões do mundo, com predominância em países em desenvolvimento e de baixo nível sócio-econômico. Nestes países, a infecção se dá precocemente, durante a infância, aumentando com a idade, ao contrário do que ocorre em países desenvolvidos. A infecção precoce e a longo termo pode ser um importante fator predisponente ao câncer gástrico,

uma hipótese que parece ser corroborada pela alta taxa de câncer gástrico encontrada nestes países (MITCHELL et al., 1992; KUIPERS et al., 1993; OLIVEIRA, 1994). É possível que o contato oro-oral seja o modo mais comum de transmissão nos países desenvolvidos, enquanto que o modo oro-fecal seja mais importante nos países em desenvolvimento.

O fator de risco melhor estabelecido é o baixo nível sócio-econômico da população. Klein et al., (1991), em estudo realizado no Peru, demonstraram a importância da origem da água como fator de risco. Crianças que não possuíam cisternas em suas casas e buscavam água fora da residência apresentavam índice de infecção três vezes maior do que aquelas cujas famílias possuíam cisterna; em contrapartida, crianças provenientes de famílias de alto nível econômico e que foram supridas com água da rede municipal não tratada foram 12 vezes mais infectadas que aquelas que consumiam água da comunidade.

Mitchell et al. (1992), em estudo realizado em área urbana e rural do sul da China, constataram uma diferença na prevalência de infecção por *H. pylori* em crianças de 0-5 anos nas duas áreas estudadas. Essa diferença refletia em diferentes taxas de incidência de câncer gástrico na população e estava relacionada principalmente à densidade de pessoas de uma habitação.

Na maioria dos estudos, não há uma grande evidência de diferença da infecção por *H. pylori* quanto ao sexo, embora Klein et al., (1994), em estudo realizado em crianças peruanas entre 6-30 meses de idade, tenham demonstrado que durante os primeiros 18 meses depois do nascimento,

crianças do sexo masculino tinham sido mais comumente infectadas e permaneciam por mais tempo infectadas do que as crianças do sexo feminino.

Contrário ao que foi mostrado para a doença ulcerosa duodenal, o grupo sanguíneo “O” não representa um fator de risco para a infecção por *H. pylori*, embora Lin et al., (1997), ao estudar 776 pacientes sintomáticos, tenha demonstrado uma prevalência de infecção por *H. pylori* em pacientes “O+” de 86,4% em Taiwan.

Helicobacter pylori tem sido relacionado à urticária (Criado et al, 1999) e placas ateroscleróticas (AMERISO et al, 2001). Indícios da presença de espécies de *Helicobacter* foram observados por Avenaud et al. (2000) em pacientes com carcinoma primário do fígado, embora o envolvimento da bactéria em carcinomas associado ao esôfago de Barrett não tenha sido de todo aceito (FERRERES et al, 1991; RICAURTE et al, 1996; QUDDUS et al, 1997; HENIHAN et al, 1998).

1.3 Virulência e Patogenia do *H. pylori*

Gastrite crônica ativa, úlcera péptica e aumento no risco de desenvolvimento de adenocarcinomas e linfomas gástricos têm sido associados a infecção por *Helicobacter pylori*. (PARSONNET et al., 1991; KHULUSI et al, 1995; ECK et al, 1997 e KOSHIDA et al, 2000). Entretanto, estas condições somente ocorrem em cerca de 15% de pessoas infectadas e

entre estas, somente aquelas submetidas à influência da virulência das cepas de *H. pylori*, de susceptibilidade genética do hospedeiro e de co-fatores ambientais.

O *Helicobacter pylori* possui a propriedade de sobreviver e se multiplicar na mucosa gástrica, graças à sua capacidade de hidrolisar a uréia através da síntese de urease, geneticamente regulada, proporcionando assim a produção de amônia, que irá permitir a sobrevivência bacteriana no meio ácido gástrico e, posteriormente, determinar o primeiro efeito lesivo às células epiteliais.

A mobilidade bacteriana do *Helicobacter pylori* está garantida pela presença de 5 a 6 flagelos unipolares, que lhe permitem e conferem habilidade de se mover dentro de uma substância viscosa, como é o muco que recobre a superfície gástrica.

A presença de adesinas bacterianas e receptores para *Helicobacter pylori* no epitélio gástrico têm sido referidos, ao se estudar o tropismo do *H. pylori* para o epitélio gástrico e a não-colonização bacteriana em áreas de metaplasia intestinal (OTA, 1998).

A virulência de cepas infectantes é o maior determinante para o desenvolvimento da doença, embora haja uma diversidade genômica importante (Jiang, 1996; Hazell, 1997), inclusive a partir de cepas de origens geográficas distintas (HAZELL, 1997). Dois genes expressos por cepas de *Helicobacter pylori* têm sido identificados como possíveis determinantes de virulência: gene da citotoxina vacuolizante (*vacA*) e gene relacionado a

citotoxina (*cagA*). Cepas que produzem a citotoxina vacuolizante (*VacA*) são isoladas mais comumente de pessoas com úlcera péptica ou com gastrite atrófica (ATHERTON et al., 1997). Telfort et al. (1994) clonaram e sequenciaram o gene que codifica esta proteína (*vacA*) e este gene varia conforme a cepa, sua seqüência sinalizadora e região média. Gunn et al (1998) correlacionaram cepas *cagA* à densidade da colonização antral por *Helicobacter pylori*. Cepas *vacA* que possuem regiões sinalizadoras diferentes, estão associadas a maior ou menor resposta inflamatória e posteriormente, propensão ao desenvolvimento de úlcera duodenal (ATHERTON et al, 1997).

A citotoxina *CagA* (citotoxina relacionada ao gene A) é importante na patogênese da inflamação, sendo mais comum entre pessoas com ulceração péptica, linfoma ou adenocarcinoma gástrico. É um marcador para a ilha de patogenicidade *cag*, que engloba genes relacionados à inflamação induzida por cepas patogênicas e inclui *cagA*, *picA* e *pic B* (GUNN et al, 1998; PARSONNET et al, 1997).

Cepas que codificam a proteína vacuolizante (*VacA*) têm a capacidade de promover *in vitro* a vacuolização citoplasmática de células epiteliais de mamíferos, enquanto que estudos realizados por CRABTREE et al (1995), demonstram uma estreita associação entre a produção de interleucina 8 e a região *cag*. A interleucina 8 é um pequeno polipeptídeo relacionado à ativação endotelial com hiperexpressão de moléculas de adesão e recrutamento de linfócitos e neutrófilos, desempenhando assim um importante papel na indução e persistência da inflamação. A produção de

enzimas proteolíticas e de radicais livres que se segue, contribui não só para a manutenção da inflamação, como provoca um efeito lesivo às células da mucosa gástrica relacionadas a proteção natural (células epiteliais), reguladoras (células G do antro) ou secretoras (células parietais do fundo). A expressão de interleucina 8 nas células epiteliais, induzida por *H.pylori*, está relacionada, principalmente, com cepas *CagA*.

Recentemente, foi descrito um novo gene designado *iceA* (induzido por contato com o epitélio), com dois alelos, um deles relacionado a fragmento de restrição por endonucleases (PEEK et al *apud* Nogueira 2001).

Blaser et al., (1992) desenvolveram um modelo acerca da patogênese e história natural da inflamação induzida por *Helicobacter pylori* (Fig. I).

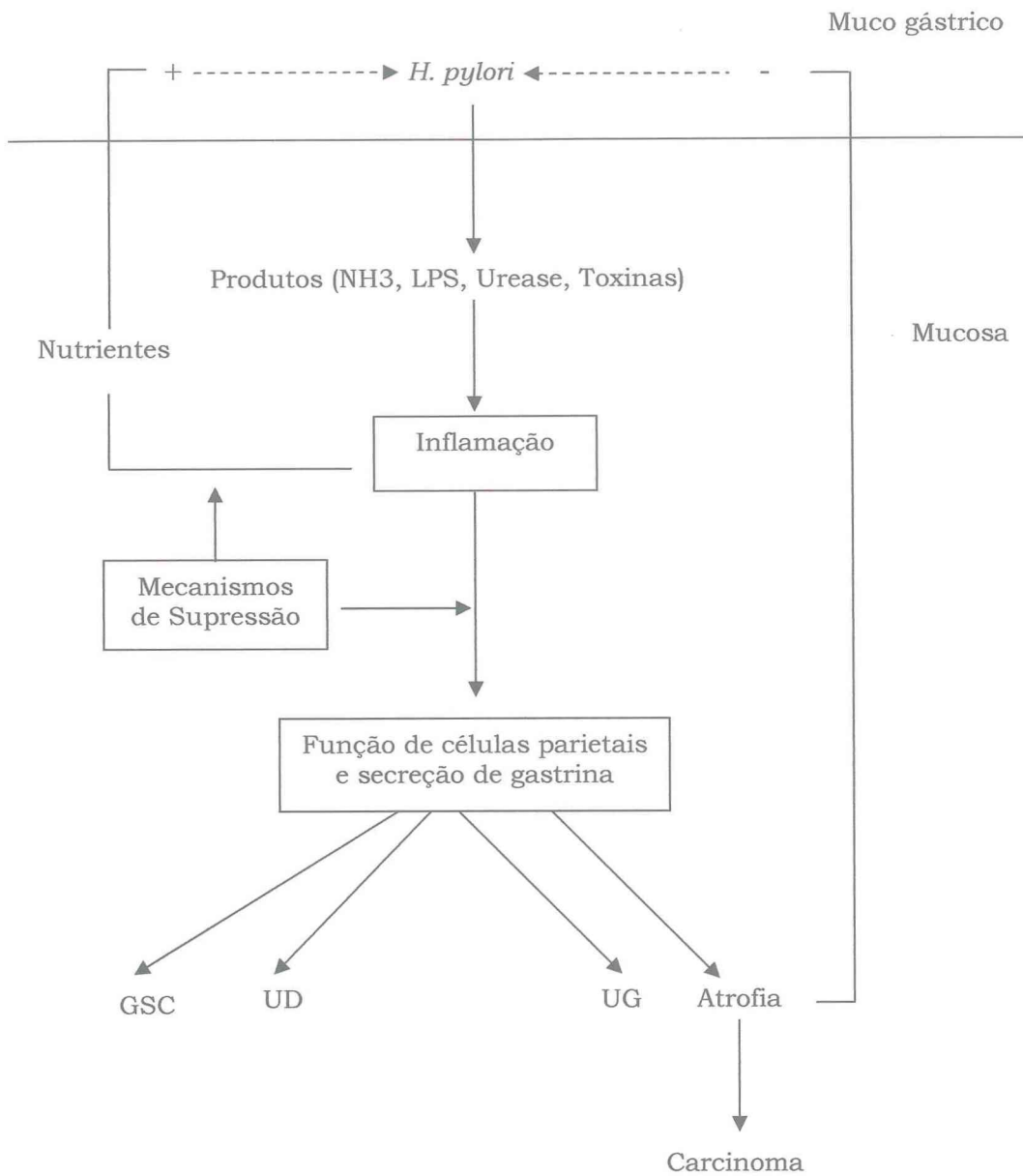


Figura I: Inflamação e Helicobacter

Fonte: Adaptado de Martin J. Blaser. Gastroenterology, 1992.

Legenda:

GSC: Gastrite crônica superficial

UD: Úlcera duodenal

UG: Úlcera gástrica

A resposta imunológica do hospedeiro parece influenciar o tipo de doença gastroduodenal. A principal lesão de base associada à presença de *H. pylori* é a inflamação crônica (gastrite), em que substâncias antigênicas bacterianas são provavelmente os desencadeadores da resposta inflamatória com mobilização de fagócitos, mastócitos, linfócitos e plasmócitos. Segue-se a liberação de diversos mediadores vasoativos e eicosanóides, interleucinas e substâncias citotóxicas, mediando e mantendo o processo inflamatório bem como influenciando a fisiologia das secreções gástricas, podendo levar a ulcerações, pela produção de substâncias lesivas à célula. A amônia é um exemplo, e funciona como um acelerador de apoptose nas células gástricas (IGARASHI et al., 2001). Tahara *apud* Jankowski, 1991) relata que fatores de crescimento epidérmico (EGF) têm um potencial na ação oncogênica do *H. pylori* no estômago. A resposta inflamatória gástrica específica, que envolve antígenos HLA classe II e linfócitos T auxiliar, e que culmina com a mobilização de linfócitos B e plasmócitos, irá constituir os elementos linfóides (ou seja, MALT - mucosal associated lymphoid tissue), o que pode propiciar o desenvolvimento de linfomas de tipo MALT (WESTON et al, 1997). Entretanto, como Mascarel (1998) observou, os folículos e agregados linfóides encontrados na gastrite por *Helicobacter* são uma condição inicialmente policlonal reativa, o mesmo sendo notado por Jaskiewicz (2000), o qual observou também que a correlação entre *Helicobacter* e gastrite folicular aumentava com a idade.

Alterações no ciclo celular podem culminar com atrofia, a longo prazo, causada por apoptose, a longo prazo, ou com mutações, que podem

levar à metaplasia e displasia. Em ambas as condições, há um risco elevado para o carcinoma gástrico (KOSHIDA et al., 2000; MIHARA et al., 1999; CORREIA, 1995).

Correia (1998) propôs um modelo para as alterações displásicas e neoplásticas decorrente da infecção por *Helicobacter pylori* (Fig. II).

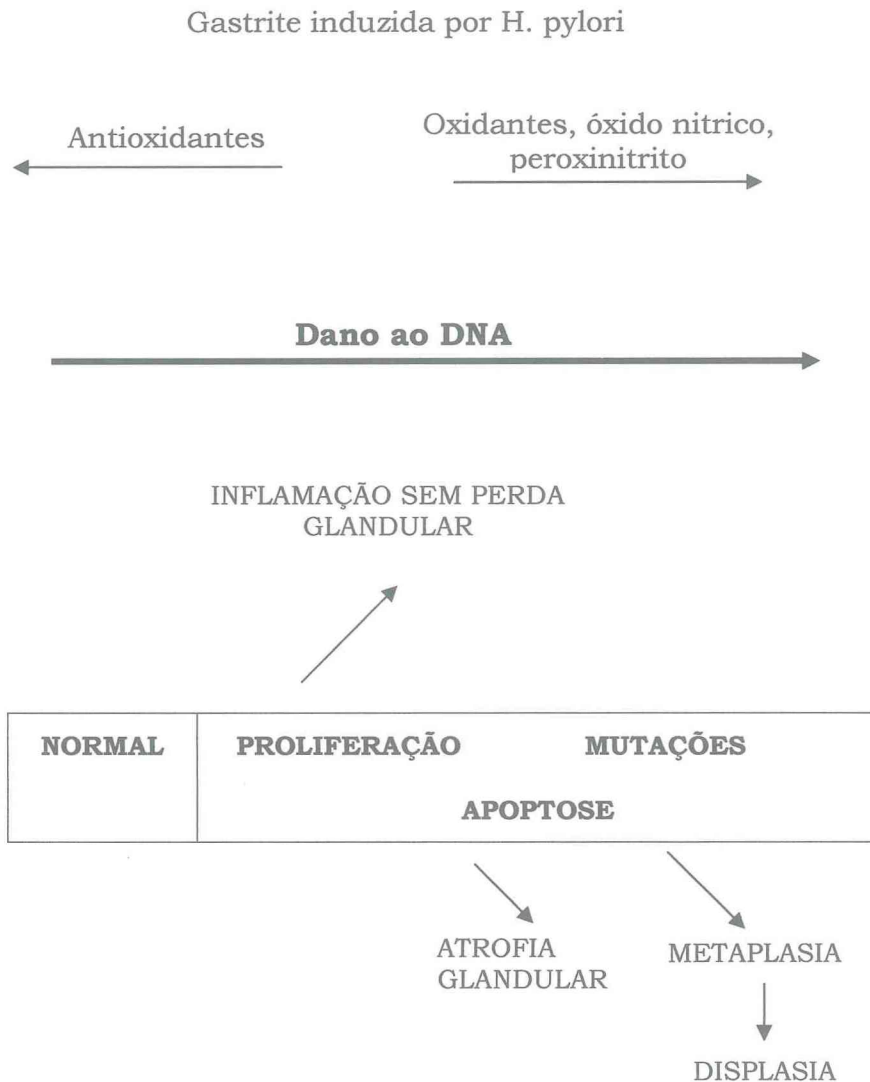


Figura II: Carcinogênese e *Helicobacter pylori*.

Fonte: Adaptado de Correia e Miller. British Medical Bulletin, 1998, 54, n. 1, p. 156.

Correia, 1995. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis

1.4 Gastrite e *H. pylori*

A parede do estômago tem quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular própria e subserosa, e este órgão pode ser dividido em três regiões: cárdia, fundo e antro. Histologicamente, o estômago é também dividido em regiões que não correspondem necessariamente à divisão anatômica. A superfície epitelial é recoberta por um epitélio colunar alto, muco secretor, alternando com fovéolas; as células têm núcleos basais e citoplasma encoberto por muco. Em zona cárdica e antral, as fovéolas ocupam metade da espessura epitelial, na mucosa fúndica, em que as fovéolas são mais curtas, estas ocupam cerca de 1/4 de sua espessura. As glândulas se dividem em três secções distintas: cripta, colo e corpo. Na cripta, encontram-se células produtoras de muco; no colo, células imaturas, onde podem ser observadas mitoses; e no corpo, células produtoras de pepsina e células parietais - ao nível fúndico. O antro se distingue do fundo gástrico pela ausência de células parietais, e células produtoras de pepsina e pela presença de células produtoras de muco dentro do corpo da glândula. Tanto em região fúndica como antral, células neuro-endócrinas se dispersam ao longo do corpo da glândula. Em região antral, as células endócrinas G e D secretam, respectivamente, gastrina e somatostatina, reguladoras da secreção ácida. Em região fúndica, células D, [células enterocromafins ou células enterocromafins-símile (ECL)] e células A, (que contêm enteroglucagon), constituem a maioria das células endócrinas (OWEN, 1986).

Inflamação gástrica é um achado constante em pacientes com *H. pylori* e como a infecção é raramente autolimitada, ela inicia uma sequência de alterações inflamatórias na mucosa gástrica causando primeiramente gastrite erosiva aguda, seguindo-se uma gastrite crônica e, depois de um período de décadas, alterações regressivas, que podem evoluir para condições pré-cancerosas bem estabelecidas: a gastrite atrófica crônica, metaplasia intestinal e displasia (ER NST et al., 2000; GDALEVICH et al., 2000).

A fase aguda inicial da resposta à infecção é caracterizada por um marcado acúmulo de polimorfonucleares neutrófilos na mucosa. Depois da fase aguda inicial, o processo inflamatório crônico por um período de tempo prolongado é atribuído ao infiltrado mononuclear e linfoplasmocitário na mucosa, o qual constitui o aspecto mais característico da gastrite associada a *H. pylori* (HATZ et al., 1996). Há uma forte relação entre a presença de folículos linfóides e infiltrado monocitário e a densidade de colonização por *H. pylori*, já que folículos linfóides não são encontrados na mucosa gástrica normal, ao contrário do intestino delgado e cólon.

A presença de atrofia, isto é, perda de glândulas, resulta de um processo inflamatório prolongado e, quando presente no corpo gástrico, está relacionada a uma diminuição da secreção ácida. Em ambas as localizações, antro e corpo, a atrofia glandular está associada ao desenvolvimento de metaplasia intestinal completa e incompleta, que é a substituição do epitélio gástrico maduro por um epitélio maduro de tipo intestinal, bem como ao aumento no risco de desenvolvimento de lesões malignas.

Após a descoberta do *H. pylori* como importante fator etiológico na gênese das gastrites e úlceras gástricas, durante o Congresso Mundial de Gastroenterologia em 1990, na cidade de Sydney, Austrália, foram estabelecidos critérios para a classificação e graduação de gastrites, o que culminou com a "Classificação de Sydney" (MISIEWICZ et al., 1990). De acordo com a Classificação de Sydney, o espectro da gastrite foi convenientemente dividida em três grandes grupos: aguda, crônica e especiais, sendo baseada na topografia, morfologia e etiologia, e agrupadas em duas categorias de acordo com a presença e distribuição topográfica de atrofia. Após 4 anos, essa classificação foi revista e ampliada por um grupo de patologistas de vários países, em Houston, Estados Unidos, dando origem ao "Sistema de Sydney Modificado", que é atualmente aceito e empregado na avaliação histopatológica da gastrite (DIXON et al., 1996).

Variantes a serem consideradas na avaliação de gastrite, de acordo com o Sistema de Sydney Modificado, incluem:

Variantes graduadas.

- Densidade de *H. pylori*;
- Atividade polimorfonuclear neutrofílica;
- Inflamação crônica;
- Atrofia glandular;
- Metaplasia intestinal completa e incompleta.

Variantes não graduadas.

- Erosão e dano à superfície epitelial;
- Folículos linfóides;
- Hiperplasia foveolar;
- Metaplasia pseudopilórica
- Metaplasia pancreática;
- Hiperplasia endócrina.

A análise da relação entre a densidade de colonização por *H. pylori* em adultos e crianças e alterações histológicas pode auxiliar na compreensão da história natural da infecção e seus aspectos evolutivos, visto que o *H. pylori* é considerado agente carcinogênico bem estabelecido, pela OMS (1994).

1.5 Diagnóstico Laboratorial de Infecção por *H. pylori*

Os métodos diagnósticos da infecção por *H. pylori* se dispõem em invasivos e não invasivos. Consideram-se invasivos os exames que utilizam fragmentos obtidos através de biópsia gástrica e, portanto necessitam de endoscopia digestiva alta. Os métodos invasivos auxiliares compreendem a cultura, o teste rápido de urease, a amplificação gênica (PCR) e o exame anatomopatológico do fragmento proveniente de biópsia gástrica. O diagnóstico sorológico e os testes respiratórios estão entre os métodos ditos

não-invasivos (CLAYTON et al., 1992; MC COLL et al, 1997; OWEN et al., 1985).

A cultura de *H. pylori* pode ser realizada a partir não só de amostras obtidas por biópsias gástricas como de amostras do líquido gástrico, fezes, placa dentária e sangue (FENNELL, 1984; KRADJEN, 1989; KELLY, 1994).

Todos esses métodos têm uma sensibilidade e especificidade elevada, mas não chegam a 100%, e todos possuem evidentemente vantagens e inconvenientes (LAHEIJ et al, 2000).

1.5.1 Diagnóstico Anatomopatológico

O exame anatomopatológico é um método invasivo utilizado não só para diagnosticar a infecção gástrica por *H. pylori*, como também para documentar o tipo e intensidade das lesões associadas à infecção e flagrar alguma eventual alteração maligna ou pré-maligna.

O antro é o local habitual de biópsias, e o número ideal de fragmentos é difícil de determinar com exatidão. De acordo com o Sistema de Sidney, dois fragmentos de antro e corpo permitem a caracterização morfológica e topográfica precisa da gastrite e o diagnóstico de infecção por *H. pylori*.

Solução de formalina a 10% é o fixador de escolha, pois permite a preservação da morfologia e está apropriado à maioria das colorações

utilizadas. Após a fixação, amostras são incluídas em parafina, a que se seguem cortes microtômicos que podem variar de 3 a 5 µm de espessura.

São várias as colorações utilizadas para o diagnóstico de *H. pylori*, pois não há uma coloração específica para a bactéria. A coloração utilizada de rotina em histopatologia, a hematoxilina-eosina (H-E), permite o diagnóstico na maioria dos casos. Outras colorações como Giemsa, Warthin-Starry, Crésil-violeta, Genta, Azul de toluidina e Ziehl-Neelsen, também podem ser utilizadas, sendo o método de Giemsa modificado aquele de uso mais difundido pelo seu baixo custo e alta sensibilidade (ANIN et al, 2000).

Após a confecção das lâminas, procede-se a leitura microscópica, com o uso de microscópio óptico, eventualmente com imersão, quando então poderão ser observadas alterações histológicas, incluindo a presença de *H. pylori*.

Outras técnicas como microscopia eletrônica e imunohistoquímica podem ser utilizadas, embora não sejam aplicadas rotineiramente. (BARBOSA et al, 1988).

1.5.2 Diagnóstico Bacteriológico

A cultura de biópsias antrais é habitual, já que o antro é o sítio de colonização preferida do *H. pylori*. O cultivo primário do *H. pylori* requer fragmentos frescos obtidos de mucosa gástrica os quais devem ser transportados em recipientes contendo soro fisiológico ou uma solução de

glicose a 20%, onde o microorganismo poderá se manter até 5 horas em temperatura inferior a 10°C. Para um tempo de transporte mais longo, é necessário um meio de transporte específico. As amostras são maceradas ou homogeneizadas antes da inoculação em meio de cultura.

O *H. pylori* é um microaerófilo, crescendo melhor em atmosfera de 5% de oxigênio com 5 a 10% de CO₂ e com bom crescimento em pH entre 6.9 e 8.0, a 37°C.

Diferentes meios de cultura têm sido propostos, sendo os mais utilizados o Wilkins-Chalgren, Brucella, Mueller-Hinton e Columbia, em que se utiliza o sangue de diferentes espécies animais como suplemento. A avaliação das placas deve ser feita após três dias, sendo necessários 7 dias para considerá-las negativas. Pequenas colônias arredondadas e translúcidas podem ser visualizadas de 3 a 5 dias. O meio de Belo Horizonte, proposto por QUEIROZ *apud* ANSORG, 1991, incorpora o trifenil-tetrazolium uma substância que as torna douradas e brilhantes. Há dificuldades em se manter repetidas subculturas, pois sua viabilidade é comumente perdida após o quarto repique. Em culturas mais antigas, o *H. pylori* pode evoluir de sua forma habitual para formas coccóides, que são formas em degeneração. O *H. pylori* é inativo na maioria dos testes bioquímicos convencionais. Produz catalase e citocromo oxidase, porém são notáveis seus altos níveis de urease e fosfatase alcalina. As cepas podem ser conservadas em nitrogênio líquido ou a -80°C, em caldo de Brucella acrescido de glicerol a 30%.

Ocasionalmente, cepas de *H. pylori* têm sido isoladas de gatos domésticos e outro referiram animais que incluem porcos e macacos. O

Helicobacter pylori não tem sido cultivado de alimentos, água potável ou do meio ambiente, embora hajam evidências de sua presença nestes locais, demonstráveis nela técnica de PCR.

2 OBJETIVO

2.1 Geral

- Avaliar a sensibilidade da cultura como método diagnóstico de rotina na investigação de *H. pylori* em nosso meio, comparativamente à histologia.

2.2 Específicos

- Avaliar a prevalência de *H. pylori* em biópsias gástricas de pacientes adultos e de crianças quando submetidos a dois métodos de detecção de infecção: cultura e histopatológico;
- Correlacionar a densidade de colonização de *H. pylori* com os seguintes parâmetros: tipo e intensidade da reação inflamatória, presença de atrofia e presença de metaplasia intestinal, em adultos e crianças.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Pacientes

Foram incluídos no estudo pacientes atendidos no Serviço de Endoscopia de dois hospitais de atendimentos terciários da cidade de Fortaleza-Ce, no período de janeiro de 1999 a dezembro de 2000 e que se submeteram a biópsias do trato digestivo alto para esclarecimento diagnóstico. Foram colhidas amostras gástricas de antro e corpo para diagnóstico histopatológico e para cultura. Foram excluídos do estudo pacientes portadores de neoplasias, doenças crônicas degenerativas, pacientes com hipertensão portal ou com sangramento digestivo, bem como os que estivessem em uso de antibióticos ou de inibidores da bomba de prótons. Dos pacientes, foram obtidos consentimentos verbal e escrito, bem como dos pais ou responsáveis em caso de pacientes menores de 14 anos.

Foram estudados 44 pacientes, sendo 21 crianças (idade inferior a 15 anos) e 23 adultos.

3.2 Procedimento Endoscópico

- **Desinfecção do aparelho**

- ↳ Lavagem externa do aparelho com detergente neutro;
- ↳ Lavagem externa com endozima® (detergente enzimático);
- ↳ Imersão em glutaraldeído a 2% por 20 minutos;
- ↳ Lavagem em água corrente.

- **Local da Biópsia**

- ↳ Parede anterior e pequena curvatura do antro;
- ↳ Grande curvatura do corpo.

3.3 Análise Histológica

Foram colhidos de modo sistemático duas amostras de parede anterior e pequena curvatura de antro e duas amostras de grande curvatura do corpo, excluindo-se biópsias adicionais de lesões específicas não incluídas no presente estudo. As amostras eram imediatamente colocadas em recipientes individuais contendo formalina a 10%, os quais eram etiquetados e identificados quanto à procedência e localização anatômica. O material em seguida era processado segundo a rotina para estudo histopatológico em

tecido, e feitos cortes histológicos que eram em seguida corados pelos métodos de hematoxilina-eosina (HE) e de Giemsa (anexos I e II). A avaliação da gastrite foi realizada de acordo com o Sistema de Sydney modificado quanto às seguintes variantes: densidade de bactérias espiraladas identificáveis como *H. pylori*, grau de atividade, cronicidade, atrofia glandular, metaplasia intestinal, folículos e/ou agregados linfóides, como detalhado abaixo:

A densidade de bactérias foi avaliada semi-quantitativamente e dividida em ausente, leve, moderada e severa, com os respectivos escores (0 a 3). Grau de atividade foi definido de acordo com a presença de mono e polimorfonucleares no epitélio e foi graduada em ausente, leve, moderada e severa. Quanto ao grau de cronicidade foi definido como a presença de células de inflamação na lâmina própria e foi dividida em ausente, leve, moderada e severa. Metaplasia intestinal foi definida como a substituição do epitélio gástrico maduro por um de tipo intestinal maduro, e foi referida como presente ou ausente. A atrofia, isto é, a perda glandular, foi referida como presente ou ausente. Folículos e/ou agregados linfóides foram referidos como presentes ou ausentes.

3.4 Análise Microbiológica

3.4.1 Coleta e Acondicionamento

Espécimes clínicos provenientes de antro e corpo gástrico (no mínimo dois fragmentos de antro e um de corpo) obtidos por biópsias endoscópicas foram acondicionados em tubos eppendoff contendo 0,5 ml de BHI, transportados em isopor com gelo, e encaminhados ao processamento em até no máximo 4 h após a coleta (Anexo III).

3.4.2 Cultura

As amostras foram maceradas e semeadas em placas de Petri contendo meio de Belo Horizonte fresco, em que foram adicionados vancomicina, ácido nalidíxico, trifeniltetrazolium e anfotericina B. As placas foram incubadas em microaerofilia a 37°C, em jarras de anaerobiose e avaliadas no 3º, 5º e 7º dias de incubação (BURNENS e NICOLET, 1993) (Anexo III).

Em culturas positivas, o crescimento bacteriano foi avaliado de acordo com a quantidade de colônias e foi em regular, moderado e excelente quantidade de bactérias.

Indícios de crescimento bacteriano foram a presença de pequenas colônias arredondadas e douradas, e a que se seguiam repicagem das colônias, realização de provas bioquímicas (urease, catalase e oxidase) e esfregaço em lâmina corado pelo Gram, de acordo com a quantidade de colônias obtidas.

Crescimento de microorganismos com características morfológicas de colônia diferentes do aspecto típico do *H. pylori*, foram interpretadas como contaminantes. Quando em crescimento suficiente, foram estocadas colônias para estudos posteriores, em -80°C.

3.5 Análise Estatística

As diferenças entre proporções independentes foram analisadas pelo teste clássico do X^2 (qui-quadrado), adotando-se um nível de significância de 5% (0,05) (BERQUÓ, 1980).

4 RESULTADOS

Dados epidemiológicos, histológicos e bacteriológicos estão mostrados nos quadros 1 e 2.

Quadro 1: Crianças

Nº	Idade (anos)	Densid		Atividade		Cronic		Atrofia		Metap		Folic/agreg.		Cultura
		a	c	a	c	a	c	a	c	a	c	a	C	
1	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	9	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4	4	1	1	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0+C
5	6	1	0	2	1	2	2	P	0	0	0	0	0	0+C
6	2	1	1	1	1	2	3	0	0	0	0	0	ag	2
7	8	2	1	2	1	2	1	0	0	0	0	fol	0	1
8	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
9	4	0	0	0	0	0	1	P	0	0	0	0	ag	0
10	4	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
11	1	0	0	0	0	2	1	P	0	0	0	0	ag	0
12	3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
13	6	3	3	1	1	3	1	0	0	0	0	ag	0	3
14	12	2	2	2	2	3	3	0	0	0	0	ag	0	0
15	4	2	2	2	2	3	3	0	0	0	0	0	ag	2
16	9	2	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1
17	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	fol	0	0
18	9	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
19	2	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	fol	0	0
20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	9	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0

Legenda:

C: contaminação

Folic: Foliculo linfóide

Agreg: Agregado linfóide

Metap: Metaplasia intestinal

a: antro

c: corpo

P: presente

Quadro 2: Adultos

N°	Idade (anos)	Densid		Atividade		Cronic		Atrofia		Metap		Folic/agreg.		Cultura
		a	c	a	c	a	c	a	c	a	c	a	C	
22	37	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
23	43	2	2	2	2	2	2	P	0	0	0	fol	fol	0
24	28	3	3	2	1	2	2	0	0	0	0	fol	fol	0
25	34	3	1	3	1	2	2	0	0	0	0	0	ag	3
26	44	2	1	2	1	2	2	0	0	P	0	ag	ag	0
27	70	0	0	0	0	1	3	0	P	P	0	0	fol	0+C
28	54	3	2	1	1	2	2	P	0	P	P	0	0	2
29	19	2	1	2	2	2	2	0	P	0	0	0	0	0+C
30	42	3	3	2	0	3	1	0	0	0	0	0	0	2
31	31	2	2	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
32	56	3	1	3	1	3	2	0	0	0	0	0	0	3
33	43	0	0	0	0	2	1	0	0	P	0	0	0	0
34	36	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0+C
35	51	3	2	2	1	3	2	P	0	0	0	fol	0	0
36	69	2	1	3	3	2	3	0	P	P	0	0	0	0
37	38	2	2	2	1	3	2	P	0	0	0	0	ag	0
38	23	1	0	1	1	2	1	0	0	0	0	fol	0	0
39	42	2	2	1	2	2	2	0	0	0	0	ag	0	2
40	60	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0+C
41	56	2	1	3	1	3	3	0	0	0	0	0	0	0+C
42	54	2	1	2	0	2	1	0	0	0	0	ag	0	C+2
43	23	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0	fol	0	0
44	45	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0

Legenda:

C: contaminação

Folic: Foliculo linfóide

Agreg: Agregado linfóide

Metap: Metaplasia intestinal

a: antro

c: corpo

P: presente

TABELA 1: INTENSIDADE DA COLONIZAÇÃO GÁSTRICA POR *HELICOBACTER PYLORI* EM ADULTOS E CRIANÇAS QUANDO COMPARADOS CULTURA E HISTOPATOLÓGICO

	CULTURA				CONTAMINANTE	HISTOPATOLÓGICO			
	0	1	2	3		0	1	2	3
CRIANÇAS (N=21)	16(76,1%)	2(9,5%)	2(9,5%)	1(4,7%)	2*(9,5%)	13(61,9%)	3(14,2%)	4(19%)	1(4,7%)
ADULTOS (N=23)	17(73,9%)	0	4(17,3%)	2(8,6%)	6♣(26%)	7(30,4%)	1(4,3%)	9(39,1%)	6(26%)

* Culturas negativas com contaminantes

♣ Cinco culturas negativas e uma positiva, com contaminantes

TABELA 2: DISTRIBUIÇÃO DE *HELICOBACTER PYLORI* EM CRIANÇAS QUANTO AO SEXO

	SEXO	
	MASCULINO	FEMININO
Com <i>H.pylori</i> (N=8)	4(50%)	4(50%)
Sem <i>H.pylori</i> (N=13)	1(7,6%)	12(92,3%)

TABELA 3: INTENSIDADE DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DO ANTRO E CORPO GÁSTRICOS EM CRIANÇAS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI*

	ANTRO				CORPO			
	Aus	L	M	I	Aus	L	M	I
<i>Com H.pylori</i>								
(N=8)								
Inflamação	0	1(12,5%)	4(50%)	3(37,5%)	0	3(37,5%)	2(25%)	3(37,5%)
Atividade	0	4(50%)	4(50%)	0	1(12,5%)	5(62,5%)	2(25%)	0
<i>Sem H.pylori</i>								
(N=13)								
Inflamação	3(23%)	8(61,5%)	2(15,3%)	0	4(30,7%)	9(69,2%)	0	0
Atividade	11(84,5%)	2(15,3%)	0	0	12(92,3%)	1(7,6%)	0	0

Legenda:
Aus: Ausente
L: Leve
M: Moderada
I: Intensa

TABELA 4: AVALIAÇÃO DE FOLÍCULOS E AGREGADOS LINFÓIDES EM ANTRO E CORPO GÁSTRICOS DE CRIANÇAS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI*

	ANTRO			CORPO		
	Aus	Fol	Ag	Aus	Fol	Ag
Com <i>H.pylori</i> (N=8)	5 (62,5%)	1 (12,5%)	2 (25%)	6 (75%)	0	2 (25%)
Sem <i>H.pylori</i> (N=13)	11(84,6%)	2 (15,3%)	0	11 (84,6%)	0	2 (15,3%)

Legenda:

Aus: Ausente

Fol: Foliculos linfóides

Ag: Agregados linfóides

TABELA 5: AVALIAÇÃO DE ATROFIA EM ANTRO E CORPO GÁSTRICOS DE CRIANÇAS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI*

	ANTRO		CORPO	
	Aus	P	Aus	P
Com <i>H.pylori</i> (N=8)	7(87,5%)	1(12,5%)	8	0
Sem <i>H.pylori</i> (N=13)	11(84,6%)	2(15,3%)	13	0

Legenda:

Aus: Ausente

P: Presente

TABELA 6: DISTRIBUIÇÃO DE *HELICOBACTER PYLORI* EM ADULTOS QUANTO AO SEXO

	SEXO	
	MASCULINO	FEMININO
Com <i>H.pylori</i> (N=16)	7(43,7%)	9(56,2%)
Sem <i>H.pylori</i> (N=7)	3(42,8%)	4(57,1%)

TABELA 7: INTENSIDADE DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DO ANTRO E CORPO GÁSTRICOS EM ADULTOS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI*

	ANTRO				CORPO			
	Aus	L	M	I	Aus	L	M	I
<i>Com H.pylori</i>								
(N=16)								
Inflamação	0	0	11(68,7%)	5(31,2%)	0	4(25%)	10(62,5%)	2(12,5%)
Atividade	0	4(25%)	8(50%)	4(25%)	3(18,7%)	9(56,2%)	3(18,7%)	1(6,2%)
<i>Sem H.pylori</i>								
(N=7)								
Inflamação	0	4(57,1%)	3(42,8%)	0	1(14,2%)	5(71,4%)	0	1(14,2%)
Atividade	6(85,7%)	0	1(14,2%)	0	7(100%)	0	0	0

Legenda:

Aus: Ausente

L: Leve

M: Moderada

I: Intensa

TABELA 8: AVALIAÇÃO DE FOLÍCULOS E AGREGADOS LINFÓIDES EM ANTRO E CORPO GÁSTRICOS DE ADULTOS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI*

	ANTRO			CORPO		
	Aus	Fol	Ag	Aus	Fol	Ag
Com <i>H.pylori</i> (N=16)	9(56,5%)	4(25%)	3(18,7%)	11(68,7%)	2(12,5%)	3 (18,7%)
Sem <i>H.pylori</i> (N=7)	6(85,7%)	1(14,2%)	0	6(85,7%)	1(14,2%)	0

Legenda:

Aus: Ausente

Fol: Foliculos linfoides

Ag: Agregados linfoides

**TABELA 9: AVALIAÇÃO DE ATROFIA EM ANTRO E CORPO GÁSTRICOS
DE ADULTOS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI***

	ANTRO		CORPO	
	Aus	P	Aus	P
Com <i>H.pylori</i> (N=16)	12(75%)	4(25%)	14(87,5%)	2(12,5%)
Sem <i>H.pylori</i> (N=7)	7(100%)	0	6(85,7%)	1(14,2%)

Legenda:

Aus: Ausente

P: Presente

TABELA 10: AVALIAÇÃO DE METAPLASIA INTESTINAL EM ANTRO E CORPO GÁSTRICOS DE ADULTOS COM E SEM *HELICOBACTER PYLORI*

	ANTRO		CORPO	
	Aus	Pres	Aus	Pres
Com <i>H.pylori</i> (N=16)	13(81,2%)	3(18,8%)	15(93,7%)	1(6,2%)
Sem <i>H.pylori</i> (N=7)	5(71,4%)	2(28,5%)	7(100%)	0

Legenda:

Aus: Ausente

Pres: Presente

Dos 44 pacientes estudados, 21 eram crianças, sendo 05 do sexo masculino e 16 do sexo feminino, com idade mediana de 04 anos e amplitude de 01 a 12 anos, e 23 adultos, sendo 10 do sexo masculino e 13 do sexo feminino, com idade mediana de 43 anos e amplitude de 19 a 70 anos.

24 pacientes foram positivos em cultura e histologia, sendo 08 crianças e 16 adultos. À cultura, oito pacientes apresentavam contaminantes, em que só a uma delas associou-se crescimento de *H.pylori*.

➤ **Histopatológico**

H.pylori foi demonstrado em 08 crianças (38.1%), sendo que 50% delas apresentavam moderada quantidade de bactérias no antro.. Na população adulta, 16 pacientes apresentaram *H.pylori* (69,6%) sendo que 52,2% demonstraram moderada quantidade de bactérias

➤ **Cultura**

Na população infantil, houve crescimento bacteriano em amostras de 05 pacientes (23,9%) e em 06 pacientes da população adulta (26,1%). Tanto em adultos quanto em crianças, a positividade ocorreu em pacientes com maior quantidade de bactérias ao histopatológico. Das 44 amostras, em oito culturas cresceram contaminantes (35,8%).

➤ **Quanto ao sexo**

A prevalência de *H.pylori* em adultos foi maior no sexo feminino, sendo igual na população infantil.

➤ **Quanto à intensidade da resposta inflamatória**

A inflamação crônica de antro e corpo foi vista em todos os pacientes com *H.pylori*. Em 10 de 16 pacientes adultos, a intensidade do infiltrado inflamatório correlacionou-se à densidade de bactérias. Nos pacientes sem a bactéria, observou-se inflamação crônica em 85% dos casos, dois deles somente em antro gástrico.

Todos os pacientes com *H.pylori* apresentavam gastrite em atividade, sendo vista em 83,7% no antro e corpo. Em pacientes sem *Helicobacter*, apenas 03 apresentavam algum grau de atividade, sendo 02 crianças e 01 adulto. Em 04 crianças (50%), guardou relação direta a densidade de *Helicobacter pylori* com a intensidade da atividade. Em 09 pacientes adultos, (56,2%), correlacionou-se o grau de atividade da gastrite com a quantidade de *Helicobacter* em antro e em 06 (37,5%) no corpo.

➤ **Quanto a atrofia**

Atrofia foi vista em 04 pacientes adultos com *H.pylori*, dentre 05. Em crianças, duas delas apresentaram atrofia em região antral, e não mostraram infecção por *Helicobacter*.

➤ **Quanto a metaplasia intestinal**

Não se demonstrou metaplasia intestinal em crianças. Metaplasia intestinal foi vista em antro de 05 pacientes, 03 deles com *Helicobacter* e 02 sem a bactéria; somente 01 paciente a apresentou em região corporal .

5 DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que o índice de positividade foi bem maior no histopatológico do que na cultura e nesta, o crescimento bacteriano mostrou relação com a quantidade de bactérias observadas à biópsia, tanto em adultos quanto em crianças. Fatores que devem ser levados em consideração para estes resultados incluem dificuldades inerentes ao transporte das amostras para cultura, que requer condições ideais de temperatura e acondicionamento e o fato de se estar implementando o cultivo desta bactéria no serviço de microbiologia. O uso de meio seletivo para suprimir contaminantes endógenos e exógenos, por outro lado, não reduziu de todo a presença de contaminação, vista em oito dos 44 pacientes. Glupczipinki (1998) refere que a flora orofaríngea do paciente também pode interferir no crescimento do *Helicobacter pylori* e por causa disso, o crescimento pode requerer até mais de dez dias. No nosso caso, em particular, culturas que não apresentavam crescimento algum, eram desprezadas após o 7º dia. Todos os pacientes que mostraram positividade à cultura, mostraram-na ao histopatológico

Apesar de existirem diversas colorações histoquímicas e técnicas especiais como imunohistoquímica que podem ser utilizadas para facilitar o diagnóstico e também visualização da bactéria, o H-E e o Giemsa possuem acurácia, baixo custo e fácil realização; a histologia, 69,6% dos adultos e 38,1% das crianças apresentam *H. pylori* em suas biópsias. O padrão de colonização é compatível com o descrito na literatura, em que a infecção

corpá s3 ocorreu em pacientes com *Helicobacter pylori* demonstráveis também em regi3o antral.

O estudo histopatol3gico foi realizado seguindo-se o Sistema de Sidney Modificado, o qual Cohen et al. (2000) demonstram a sua aplicabilidade para pacientes infantis. A alteraç3o histol3gica que mais guardou relaç3o com a presenç3a da bact3ria foi a inflamaç3o cr3nica em adultos e crianç3as e a atividade da gastrite, embora a cronicidade tenha sido um achado frequente tanto em pacientes infectados como n3o infectados. Em nosso estudo, a alta incid3ncia de cronicidade sem a demonstraç3o de *Helicobacter pylori* pode ser devido a infecç3es subtratadas ou reinfecç3es frequentes. A presenç3a de atividade em mucosa g3strica de crianç3as infectadas vai de encontro ao descrito na literatura (Queiroz et al, 2000), embora haja estudos que n3o consideram relevantes o grau de atividade da gastrite em pacientes infantis (ASHORN et al, 1995). Quando correlacionadas densidade e atividade da gastrite, n3o houve correlaç3o na populaç3o adulta, ao contr3rio da populaç3o infantil (62,5%) A atrofia em antro g3strico de adultos tamb3m guardou relaç3o com o *H. pylori*; dos pacientes infectados, 25% (04 pacientes) mostraram-na em regi3o antral, dois deles tamb3m em corpo g3strico. Nas crianç3as, a atrofia foi maior naquelas n3o infectadas (15,3% x 12,5%). 3 sabido que a presenç3a de atrofia em est3mago tamb3m est3 relacionada a outras condiç3es como anemia pernicioso, embora desconhecemos informes cl3nicos deste paciente em quest3o.

A presença de tecido de tipo MALT, isto é, folículos/agregados linfóides, mostrou significância apenas quando localizado em antro gástrico de adultos ($p < 0,005$), embora o folículo linfóide possa persistir até 03 meses após o tratamento (DIXON, 1996).

Crianças não apresentaram metaplasia intestinal, encontrada apenas em pacientes adultos e não guardou relação com *H. pylori*.

Em crianças infectadas, não houve diferença quanto ao sexo, o mesmo não acontecendo com adultos, em que houve um predomínio de pacientes do sexo feminino.

A detecção das lesões pré-neoplásticas como atrofia e metaplasia intestinal é de extrema importância em nosso meio, que possui uma alta taxa de câncer gástrico e também tem relação com a bactéria. O surgimento de tecido linfóide na mucosa, ou seja, MALT adquirido, apesar de presente em antro e corpo gástricos de adultos e crianças, só guardou significância em antro de adultos, corroborando com estudos de Jaskiewicz (2000) em que os folículos linfóides aumentou com a idade.

6 CONCLUSÕES

1. O exame histopatológico é essencial no diagnóstico de bactérias espiraladas no estômago, e quando comparado à cultura, ofereceu maior sensibilidade na pesquisa do microorganismo e permitiu observar alterações gástricas pertinentes.
2. O crescimento bacteriano à cultura demonstrou estar relacionado com a densidade da colonização gástrica.
3. A presença do *Helicobacter pylori* esteve relacionada à inflamação crônica no estômago e à gastrite em atividade em antro, tanto em adultos como em crianças. Quando associados a intensidade da cronicidade com a densidade de bactérias, somente antro de adultos mostrou correlação significativa e a presença de bactéria no corpo sempre se acompanhou da bactéria no antro.
4. A presença de MALT só se correlacionou à bactéria em região antral de pacientes adultos.
5. Em adultos infectados, houve maior preponderância em pacientes do sexo feminino, o mesmo não acontecendo com crianças, que guardou proporções iguais.
6. A cultura de *Helicobacter pylori* oferece dificuldades práticas para a sua realização como exame de rotina diagnóstica embora

seja um método que permita a correta classificação do microorganismo;

7. Devido às dificuldades encontradas no manejo da cultura no momento atual, em nosso meio, talvez a sua maior indicação seja para pacientes refratários ao tratamento, em que se possa aplicar o antibiograma, e desta forma obter melhores resultados terapêuticos ou em pacientes que necessitam do máximo de especificidade farmacológica em seu tratamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANIM JT, AL-SOBKIE N, PRASAD A, JOHN B, SHARMA PN, AL-HAMAR I. Assessment of different methods of staining *Helicobacter pylori* in endoscopic gastric biopsies. *Acta Histochem*, 102(2):129-37, May, 2000.

ANSORG, R et al, *J clin. MICROBIOLOGY*, 29: 51-53, 1991;

ATHERTON JC., PEEK JR RM., THAM KT., COVER TL., BLASER MJ. Clinical and pathological importance of heterogeneity in *vacA*, the *vacuolating* cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 112:92-99, 1997.

AVENAUD P, MARAIS A, MONTEIRO L, LE VAIL B, BIOLAC SAGE P, BALABAUD C, MEGRAUD F. Detection of *Helicobacter* species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. *Cancer*, 1;89(7):1431-9. Oct. 2000.

BARBOSA AJA., QUEIROZ DMM., MENDES EN., ROCHA GA., LIMA JR GF., OLIVEIRA CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med.*, 112:523-25, May, 1988.

BERQUÓ E. et AL, *Bioestatística*, EPU,SP, 1980.

BLASER MJ. Hypotheses on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology*, 102:720-727, 1992.

BURNENS AP., NICOLET J. Three supplementary diagnostic test for *Campylobacter* species and related organisms. J. Clin Microbiol, 31(3):708-10, Mar. 1993.

CARVALHO AST., QUEIROZ DMM., MENDES EN, ROCHA GA., PENNA, FJ. Diagnosis and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of symptomatic children. J Med Biol Res, 24:163-66, 1991.

CHELIMSKY, G, CZINN, SJ. *Helicobacter pylori* infection in children: update. Curr Opin Pediatr, 12(5):460-2, Oct., 2000.

COHEN MC, CUETO RUA E, BALCARCE N, DONATONE J, DRUT R. Assessment of the Sydney System in *Helicobacter pylori* associated gastritis in children. Acta Gastroenterol Latinoam, 30(1)35-40, 2000.

CRABTREE JE, COVACCI A, FARMERY SM, XIANG Z, TOMPKINS DS, PERRY S, LINDLEY IJD, RAPPUOLI. *Helicobacter pylori* induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with *CagA* positive phenotype. J Clin Pathol 48:41-45, 1995.

CRABTREE JE., TAYLOR JD., WYATT JI., HEATLEY RV., SHALLCROSS TM., TOMPKINS DS., RATHBONE BJ. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. The Lancet, 338:332-35, Aug. 1991.

CRIADO RF, CRIADO PR, SITTART JÁ, PIRES MC, DE MELL,WT. Urticária and systemic diseases, Rev Assoc Med Bras, Oct-Dec; 45(4):349-56, 1999.

DE GUSMAO VR, NOGUEIRA ME, DE MAGALHAES QDM, AGUIAR RG, CAMARGOS RAM, RAMADAN AAA, TELES CAS. *VacA* genotypes in

Helicobacter pylori strains isolated from children with and without duodenal ulcer in Brazil. J. Clin. Microbiol, 38(8):2853-7, Aug. 2000.

DIXON MF, GENTA RM, YARDLEY JH, CORREA P. Classification and grading of gastritis: The Updated Sydney System. Am J Surg Pathol, 20(10):1161-1181. Oct. 1996.

DOENGES JL. Spirochetes in gastric glands of macacus rhesus and humans without definite history of related disease. In.: Proceedings of the society for experimental biology and medicine, v. 38, feb/jun, New York, 1938.

ECK M., SCHMAUBER B., HAAS R., GREINER A., CZUB S., MULLER-HERMELINK HK. Malt-type lymphoma of the stomach is associated with *Helicobacter pylori* strains expressing the *CagA* protein. Gastroenterology, 112:1482-86, 1997.

ERNST PB, GOLD, BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Ann Rev Microbiol, 54:615-640, Jan/2000.

FENNELL, CL., TOTTEN, PA., QUINN, TC., PATTON, DL., HOLMES, KK, STAMM, WE. Characterization of *Campylobacter*-like organisms isolated from homosexual men. The Journal of Infectious Diseases, v. 149, n. 1,58-60, January, 1984.

FERGUSON JR DA., LI C., PATEL NR., MAYBERRY WR., CHI DS., THOMAS E. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. J. Clin Microbiol, 31(10):2802-04, Oct. 1993.

FRELAND C., DRUGEON HB. *Campylobacter pyloridis*: etude bactériologique et sensibilité aux antibiotiques. Sem Hop Paris, 64(19):1299-1304, 1988.

GDALEVICH M, COHEN D, ASHKENAZI I, MIMOUNI D, SHPIBERG O, KARK JD. *Helicobacter pylori* infection and subsequent peptic duodenal disease among young adults. Int J Epidemiol, 29(3):592-5. Jun. 2000.

GENTA RM, GURER IE, GRAHAM DY,. Geographical pathology of *Helicobacter pylori* infection: is there more than one gastritis?. Ann Med 27 595-599, 1995

GENTA, RM, ROBASON,GO, GRAHAM DY Inflammatory responses and intensity of *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal and gastric ulcer: histopathologic analysis with a new stain. Acta Histochem. Vol 28,no 1 67-72, 1995

GLASBRENNER B, WEILER S, ELLENRIEDER V, MULLER P, ADLER G. Relationship between *Helicobacter pylori* infection, histological gastritis, and functional dyspepsia. Hepatogastroenterology, 45(24):2238-43, Nov/Dec, 1998.

GOODWIN CS., ARMSTRONG JA., CHILVERS T., PETERS M., COLLINS MD., SLY L., McCONNEL W., HARPER WES. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. Journal Systematic Bacteriology, 39(4):397-405, Oct. 1989.

GOODWIN CS., BLINCOW ED., WARREN JR., WATERS TE., SANDERSON, CR., EASTON L. Evaluation of cultural techniques for isolating

Campylobacter pyloridis from endoscopic biopsies of gastric mucosa. J. Clin Pathol, 38(10):1127-1128., Oct. 1985

GUNN MC, STEPHENS JC, STEWART JAD, RATHBONE BJ WEST KP. The significance of *cagA* and *vacA* subtypes of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. J Clin Pathol, 51: 761-764, 1998.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER *Schistosomes*, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, vol6, Lyon: IARC,1994.

HAZELL SL., ANDREWS RH., MITCHELL HM., DASKALOPOULOUS G. Genetic relationship among isolates of *Helicobacter pylori*: evidence for the existence of a *Helicobacter pylori* species-complex. FEMS Microbiology Letters 150:27-32, 1997.

HENIHAN RDJ., STUART RC., NOLAN N., GOREY TF., HENNESSY TPJ., O'MORAIN CA. Barrett's esophagus and the presence of *Helicobacter pylori*. Am J Gastroenterol, 93:542-46, 1998.

IGARASHI M, KITADA Y, YOSHIMA H, TAKAGI A Ammonia as na accelerator of tumor necrosis alpha-induced apoptosis of gastric epithelia *Helicobacter pylori* Infection.

JANKOWSKI, J. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. British Medical Journal, n. 6785, v. 302,1534, June, 1991.

JASKIEWICZ K, KOBIERSKA G. Lymphoid aggregates in gastric biopsies: relationship to other mucosal lesions. Arch Immunol Ther Exp, 48(3):201-4, 2000.

JIANG, Q., HIRATSUKA, K, TAYLOR, D. E. Variability of gene order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. Molecular Microbiology, 20(4):833-842, 1996.

JIMENEZ-GUERRA F, SHETTY P, KURPAD A. Prevalence of and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in school children in México. Amm Epidemiol, 1;10(7)474, Oct. 2000.

KELLY SM., PITCHER MCL., FARMERY SM., GIBSON, GR. Isolation of *Helicobacter pylori* from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. Gastroenterology, 107:1671-74, 1994.

KHULUSI S., MENDALL MA., PATEL P., LEVY J., BADVE S., NORTHFIELD TC. *Helicobacter pylori* infection density and gastric inflammation in duodenal ulcer and non-ulcer subjects. Gut, 37:319-24, 1995.

KLEIN PD., GILMAN RH., LEON-BARUA R., DIAZ F., SMITH E O., GRAHAM DY. The epidemiology of *Helicobacter pylori* in peruvian children between 6 and 30 months of age. American Journal of Gastroenterology, v. 89, n. 12. 1994.

KLEIN PD., GRAHAM DY., GAILLOUR A., OPEKUN AR., SMITH E O. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in peruvian children. Lancet, 337:1503-06, 1991.

KOSHIDA Y, KOIZUMI W, SASABE M, KATOH Y, OKAYASU I. Association of *Helicobacter pylori*-dependent gastritis with gastric carcinomas in young Japanese patients: histopathological comparison of diffuse and intestinal type cancer cases. *Histopathology*, 37(2):124-30. Aug., 2000.

KRAJDEN S., FUKSA M., ANDERSON J., KEMPSTON J., BOCCIA A., PETREA C., BABIDA C., KARMALI M., PENNER JL. Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for *Campylobacter pylori*. *J. Clin Microbiol*, 27(6):1397-98, June, 1989.

KREUNING J, LINDEMAN J, BIEMOND I, LAMERS CBH. Relation between IgG and IgA antibody titres against *Helicobacter pylori* in serum and severity of gastritis in asymptomatic subjects. *J Clin Pathol*, 47:227-231, 1994.

KUIPERS EJ., PEÑA, AS., VAN KAMP G., UYTERLINDE AM., PALS G., PELS NFM., KURZ-POHLMANN E., MEUWISSEN SGM. Seroconversion for *Helicobacter pylori*. *Lancet*, 342:328-31, Aug., 1993.

LADAS SD, ROKKAS T, GEORGOPOULOS S, KITSANTA P, LIATSOS C, EUSTATHIADOU P, KARAMERIS A, SPILIADI C, RAPTIS SA. Predictive factors and prevalence of follicular gastritis in adults with peptic ulcer and nonulcer dyspepsia. *Dig Dis Sci*, 44(6):1156-60, Jun. 2000.

LAHEIJ RJ, DE BOER WA, JANSEN JB, VAN LIER HJ, SNEEBERGER PM, VERBEEK AL. Diagnostic performance of biopsy-based methods for determination of *Helicobacter pylori* infection without a reference standard. *J Clin Epidemiol*, 53(7):742-6, Jul. 2000.

LIN CW, CHANG YS, LAI PY, CHENG KS. Prevalence and heterogeneity of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies of patients with gastroduodenal diseases. *J Microbiol Immunol Infect*, 30(2):61-71, May. 1997.

MARSHALL, B.J, WARREN, J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet*, June, 16:1311-15, 1984.

MARSHALL, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The Lancet*, June 4, 1273, 1983.

MASCAREL A., DUBUS P., BELLEANNÉE G., MEGRAUD F., MERLIO JP. Low prevalence of monoclonal B cells in *Helicobacter pylori* gastritis patients with duodenal ulcer. *Human Pathology* 29(8):784-790, Aug., 1998.

McCOLL, KEL., EL-NUJUMI, A., MURRAY, L., EL-OMAR, E., GILLEN, D., DICKSON, A., KELMAN, A., HILDITCH, TE. The *Helicobacter pylori* breath test: a surrogate marker for peptic ulcer disease in dyspeptic patients. *Gut* 40:302-306, 1997.

MIHARA M, HARUMA K, KAMADA T, KOMOTO K, YOSHIHARA M, SUMII K, KAJIYAMA G. The role of endoscopic findings for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: evaluation in a country with high prevalence of atrophic gastritis. *Helicobacter*, 4(1):40-8, Mar, 1999.

MITCHELL HM., LI YY, HU PJ., LIU Q., CHEN M., DU GG., WANG ZJ., LEE A., HAZELL SL. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in southern China: identification of early childhood as the critical period for acquisition *Journal Infectious Diseases*, 166:149-53, 1992.

NOGUEIRA, A.M.M.F., CABRAL, M. M. D. A., CARVALHO, A. S.T., OLIVEIRA, C. A., QUEIROZ, D. M.M., OLIVEIRA, A.M.R., ROCHA, G.A., MENDES, E.N., MAGALHÃES, P.P., CASTRO, A.C.G., PATURLE, P. Gastrite associada ao *Helicobacter pylori* em adultos e crianças: estudo comparativo. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 36, n. 2 p. 110-117, abr/jun. 2000.

NOGUEIRA C, FIGUEIREDO C, CARNEIRO F, GOMES AT, BARREIRA R, FIGUEIRA P, SALGADO C, BELO L, PEIXOTO A, BRAVO JC, BRAVO LE, REALPE, JL, PLAISIER AP, QUINT WGV, RUIZ B, CORREA P,DOORN LJ. *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am J Pathol* vol 158, no.2, 647-654, 2001

OHKUSA T, FUJIKI K, TAKASHIMIZU I, KUMAGAI J, TANIZAWA T, EISHI Y. Endoscopic and histological comparison of nonulcer dyspepsia with and without *Helicobacter pylori* infection evaluated by the modified Sydney system. *Am J Gastroenterol*, 95(9):2195-9, Sep/2000.

OLIVEIRA, AMR., QUEIROZ, DMM., ROCHA GA., MENDES EN. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte-Brazil. *American Journal of Gastroenterology*, v. 89, n. 12.,2201-2203, 1994.

OTA H., KATSUYAMA T., NAKAJIMA S., EL-ZIMAITY H., KIM JG., GRAHAM DY., GENTA RM. Intestinal metaplasia with adherent *Helicobacter pylori*: a hybrid epithelium with both gastric and intestinal features. *Human Pathology* 29(8):846-850, Aug., 1998

OWEN DA. Normal histology of the stomach. Am J Surg Pathol, 10(1):48-61, 1986.

OWEN RJ., MARTIN SR., BORMAN P. Rapid urea hydrolysis by gastric *Campylobacters*. Lancet, n. 12, p. 111, 1985.

PALMER, E.D. Investigation of the gastric mucosa spirochetes of the human. Gastroenterology, vol 27 no2 , 218-220, 1954.

PARSONNET J., FRIEDMAN GD., ORENTREICH N., VOGELMAN H. Risk for gastric cancer in people with *CagA* positive or *CagA* negative *Helicobacter pylori* infection. Gut, 40:297-301, 1997.

PARSONNET J., VANDERSTEEN D., GOATES J., SIBLEY RK., PRITIKIN J., CHANG Y. *Helicobacter pylori* infection in intestinal and diffuse type gastric adenocarcinomas. J Natl Cancer Inst, 83:640-643, 1991.

PUB MED, TAXONOMIA, Disponível em <[http:// www. Ncbi. Nlm. Nih.gov:80/htbin-post...e&id=7229&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock](http://www.Ncbi.Nlm.Nih.gov:80/htbin-post...e&id=7229&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock)>, acesso em 14/02/2001.

QUDDUS MR., HENLEY JD., SULAIMAN RA., PALUMBO TC., GNEPP DR. *Helicobacter pylori* infection and adenocarcinoma arising in Barrett's esophagus. Human Pathology, vol 8, no9, September,1997

RICAURTE O., FLEJOU JF., VISSUZAIN C., GOLDFAIN D., ROTENBERG A., CADIOT G., POTET F. *Helicobacter pylori* infection in patients with Barrett's oesophagus: a prospective immunohistochemical study. J. Clin. Pathol, 49:176-77, 1996.

RUSSELL, RG., WASSERMAN SS., O'DONNOGHUE JM., TAYLOR DN., BOSLEGO J., MORENO JG., HOPKINS RJ., DETOLLA LJ., MORRIS JR JG. Serologic response to *Helicobacter pylori* among children and teenagers in northern Chile. Am. J. Trop. Med. Hyg., 49(2):189-191, 1993.

STEER HW. Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. J. Clin. Path, 28:639-646, 1975.

STEER HW, COLIN-JONES DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. Gut, 16, 590-597, 1975

TEE W., FAIRLEY S., SMALLWOOD R., DWYER B. Comparative evaluation of three selective media and a nonselective medium for the culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies. J. Clin Microbiol, 29(11):2587-89, Nov. 1991.

TELFORD J., GHIARA P., DELL'ORCO M., COMANDUCCI M., BURRONI D., BUGNOLI M., TECCE M.F., CENSINI S., COVACCI A., XIANG Z., PAPINI E., MONTECUCCO C., PARENTE L., RAPPUOLI R. Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. J. Exp. Med., v. 179, p. 1653-58, May., 1994.

VERSALOVIC J., LEWANDROWSKI K. *Helicobacter pylori* Update. Clinical Microbiology Newsletter, v. 20, n. 13 July, 1998.

WESTON AP, CHERIAN R, HORVAT RT, LAWRINENKO V, DIXON A, MCGREGOR D. Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) in Barrett's esophagus: prospective evaluation and association with gastric MALT, MALT

lymphoma, and *Helicobacter pylori*. American Journal of Gastroenterology, v. 92, n. 5, p. 800-804, 1997.

YAMAMURA F, YOSHIKAWA N, AKITA Y, MITAMURA K, MIYASAKA N. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and histologic features of gastritis in biopsy specimens in gastroduodenal diseases, including evaluation of diagnosis by polymerase chain reaction assay. J Gastroenterol, 34(4):461-6, Aug/1999.

ANEXOS

ANEXO I

EXAME HISTOPATOLÓGICO

Procedimento para coloração por Giemsa

- ↳ Fixação com formaldeído a 10% durante 6 h;
- ↳ Desidratação por imersão em álcool etílico em concentrações de 70%, 90% e 100%, durante 1h em cada um;
- ↳ Diafanização em 3 mudanças de xileno durante 1 h cada;
- ↳ Embebição em parafina para cortes histológicos, ponto de fusão 56° a 60°C, em 3 mudanças durante 1 hora em cada;
- ↳ Inclusão em parafina para cortes histológicos;
- ↳ Realização de microtomia com micrótomo rotatório com cortes de 5µm;
- ↳ Desparafinização em xileno;
- ↳ Hidratação em álcool em percentagens crescentes de 80%, 90% e 100%;
- ↳ Lavagem em água destilada;
- ↳ Coloração com Solução de Giemsa a 2% durante 30 minutos;
- ↳ Lavagem em água corrente;
- ↳ Desidratação em álcool a 95% e álcool absoluto;
- ↳ Desparafinização em xileno;
- ↳ Aplicação de Bálsamo do Canadá
- ↳ Montagem da lâminula.

ANEXO II

EXAME HISTOPATOLÓGICO

Procedimento para coloração H-E (Hematoxilina-Eosina)

- ↳ Fixação com formaldeído a 10% durante 6 h;
- ↳ Desidratação por imersão em álcool etílico em concentrações de 70%, 90% e 100%, durante 1h em cada um;
- ↳ Diafanização em 3 mudanças de xileno durante 1 h cada;
- ↳ Embebição em parafina para cortes histológicos, ponto de fusão 56° a 60°C, em 3 mudanças durante 1 hora em cada;
- ↳ Inclusão em parafina para cortes histológicos;
- ↳ Realização de microtomia com micrótomo rotatório com cortes de 5µm;
- ↳ Desparafinização em xileno;
- ↳ Hidratação em álcool em percentagens crescentes de 80%, 90% e 100%;
- ↳ Lavagem em água destilada;
- ↳ Coloração com hematoxilina de Harris durante 2 minutos;
- ↳ Lavagem em água corrente durante 20 minutos;
- ↳ Coloração com Eosina por 1 a 2 minutos;
- ↳ Desidratação em 2 passagens por álcool à 95% e álcool absoluto;
- ↳ Desparafinização em xileno;
- ↳ Aplicação de Bálsamo do Canadá;
- ↳ Montagem da lâminula.

ANEXO III

1. Meio para transporte

Brain Heart Infusion (BHI) -----1,85 g

Água destilada -----50 ml

Autoclavar e distribuir assepticamente 0,5 ml do meio em cada tubo (ependoff).

2. Meio de cultura

Meio Belo Horizonte (BHM)

Composição:

➤ Meio Base

Brucella Ágar (BBL) -----37g

Ágar bacteriológico-----10g

Água destilada-----900ml

Sangue de carneiro-----100ml

2,3,5, cloreto de trifeniltetrazólico-----40mg

Anfotericina B-----5mg

Vancomicina-----6mg

Ácido nalidíxico-----20mg

Indicador/Suplementos

1. Cloreto de Trifeniltetrazólico

40mg-----1000 ml

pesar 0,04g

4mg-----100 ml

40mg----10ml(mãe)

0,4mg-----10 ml

4mg/ml

Tirar 0,1ml para 10 meio

0,2ml para 20 meio

T = 0,04mg/ml

2. Anfotericina B

5mg-----1000 ml

pesar 0,05g

0,5mg-----100 ml

(5mg/ml)

0,05mg-----10 ml

(10ug) 0,01ml - 10 ml meio

(20 ug) 0,02 - 20 ml meio

T = 0,005mg/ml