

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO
HELICOBACTER PYLORI ATRAVÉS DO TESTE DO
ANTÍGENO FECAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Magali Dalla Nora

**Santa Maria, RS, Brasil
2015**

PPGCS/UFSM, RS

DALLA NORA, Magali

Mestre

2015

IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI* ATRAVÉS DO TESTE DO ANTÍGENO FECAL

Magali Dalla Nora

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, Área de concentração Métodos e Técnicas Diagnósticas e Terapêuticas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências da Saúde.**

Orientador: Prof. Dr. Renato Borges Fagundes

Co-orientadora: Profa. Dra. Rosmari Hörner

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Da Saúde**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI*
ATRAVÉS DO TESTE DO ANTÍGENO FECAL**

elaborada por
Magali Dalla Nora

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências da Saúde

COMISSÃO EXAMINADORA:

Renato Borges Fagundes, Dr.
(Presidente/Orientador)

Alexandre Vargas Schwarzbald, Dr.

Sydney Hartz Alves, Dr.

Melissa Orlandin Premaor, Dra.

Santa Maria, 19 de Janeiro de 2015.

Dalla Nora, Magali

Identificação da infecção pelo
Helicobacter pylori através do teste do antígeno fecal/

Magali Dalla Nora. -2015.

50 p.; 30 cm

Orientador: Renato Borges Fagundes

Coorientadora: Rosmari Hörner

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde, RS, 2015

1. *Helicobacter pylori* 2. Diagnóstico 3. Antígeno fecal

I. Borges Fagundes, Renato II. Hörner, Rosmari III. Título.

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Magali Dalla Nora. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: maguifarma99@mail.ufsm.br

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

Aos meus pais, Flory e Celita, pelo amor, incentivo, exemplo e motivação incondicional. Que sempre me ensinaram a ter fé na vida e me impulsionaram em direção às vitórias dos meus desafios.

A minha família, pelo constante apoio emocional, amizade e carinho.

Ao meu namorado, Ronaldo, pelo carinho, incentivo constante, compreensão e apoio.

À Universidade Federal de Santa Maria, por proporcionar minha formação profissional e pessoal. Além de possibilitar o meu aperfeiçoamento através da pós-graduação.

Ao Professor Renato, por acreditar que eu era capaz e pela orientação. Mesmo chegando sem me conhecer direito, abriu as portas e me acolheu nesta oportunidade. Só tenho a agradecer aos seus ensinamentos, orientações, palavras de incentivo, paciência e dedicação.

À Professora Rosmari, pelo incentivo, amizade e dedicação. Você esteve ao meu lado desde o início da minha caminhada como mestrande e não mediu esforços para me ajudar. Agradeço por me receber em seu laboratório e sempre estar à disposição.

Aos Médicos e Residentes Médicos da Gastroenterologia, Alexandre, João, Rosa, Eduardo, Aldomar, Everton e Raquel pela disponibilidade e apoio no desenvolvimento do projeto, bem como pelo auxílio desde a triagem dos pacientes nos Ambulatórios até a realização das endoscopias e coleta das biópsias dos pacientes selecionados.

Ao Serviço de Patologia da Universidade Federal de Santa Maria pela parceria na realização do exame histológico das biópsias gástricas de todos os pacientes envolvidos no estudo.

À Equipe de Enfermagem da Gastroenterologia, João e Carlos, pela disponibilidade em ajudar no desenvolvimento do trabalho, desde o auxílio na seleção dos pacientes até o encaminhamento das amostras ao setor de Patologia. Além de, desde o início, acreditarem que chegaríamos aos 100 pacientes, sempre me motivando.

Aos demais funcionários da Gastroenterologia, pela colaboração e ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Aos alunos da Medicina, Caroline Kavalco, Caroline Klein, Lucas, Djeison, Guilherme, aos alunos da Farmácia, Luísa, Guilherme, Dirceu e à minha colega de mestrado Carina, obrigada pela ajuda, empenho e companheirismo.

Aos colegas da Farmácia de Quimioterapia e aos colegas do Laboratório da Hematologia-Oncologia, que me acompanharam diariamente nessa caminhada, sempre me incentivando. E aos demais amigos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho. Muito obrigada a todos!

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas, o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Universidade Federal de Santa Maria

IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI* ATRAVÉS DO TESTE DO ANTÍGENO FECAL

AUTORA: MAGALI DALLA NORA
ORIENTADOR: PROF. DR. RENATO BORGES FAGUNDES
CO-ORIENTADORA: PROFa. DRa. ROSMARI HÖRNER

Santa Maria, 19 de Janeiro de 2015

Introdução: O diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) pode ser realizado por métodos invasivos e não invasivos. A identificação através do teste do antígeno fecal (TAF) é um método não invasivo, simples, fácil e relativamente barato. O objetivo deste estudo foi determinar o desempenho diagnóstico do TAF imunocromatográfico na identificação da infecção pelo *H. pylori*. **Métodos:** A pesquisa de antígenos fecais do *H. pylori* foi realizada através do ImmunoCard STAT! HpSA em pacientes dispépticos submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA) com coleta de biópsias para histopatologia e teste da urease, utilizados como padrão ouro. **Resultados:** Participaram do estudo 100 pacientes, 80% eram mulheres e 20% homens, com média de idade de 52,7±11,8 anos. A prevalência da infecção pelo *H. pylori* foi de 48%. O TAF imunocromatográfico apresentou as seguintes medidas de desempenho diagnóstico: especificidade 96,2% (IC95% 89,1-98,9), sensibilidade 64,6% (IC95% 56,9-67,6), valor preditivo positivo 93,9% (IC95% 82,8-98,3) e valor preditivo negativo 74,6% (IC95% 69,1-76,8). A acurácia foi de 80% (IC95% 74-84). A razão de chances de prevalência para TAF positivo foi 45,6 (IC95% 10,7-188,5). **Conclusão:** O TAF imunocromatográfico apresentou elevada especificidade e valor preditivo positivo. Porém, devido sua baixa sensibilidade seria adequado testá-lo em um período pós-tratamento na avaliação da erradicação do *H. pylori*.

Palavras chave: *Helicobacter pylori*, teste fecal, diagnóstico.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Graduate Program in Health Sciences
Federal University of Santa Maria

IDENTIFICATION OF INFECTION *HELICOBACTER PYLORI* ANTIGEN THROUGH FECAL TEST

AUTHOR: MAGALI DALLA NORA
ADVISOR: PROF. DR. RENATO BORGES FAGUNDES
CO-GUIDANCE: PROF. DRa. ROSMARI HÖRNER
Santa Maria, January, 19, 2015

Introduction: The diagnosis of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection can be performed by non-invasive and invasive methods. The identification through test of fecal antigen (FAT) method is a non-invasive, simple, and relatively inexpensive. The aim of this study was to determine the diagnostic performance of immunoassay FAT in the identification of *H. pylori* infection. **Methods:** *H. pylori* antigens were identified in the stools of dyspeptic patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy (UGE). The identification of *H. pylori* antigens was carried out through the ImmunoCard STAT! HpSA. Histopathology and urease test were the gold standard. **Results:** We studied 100 patients, 80% women and 20% men, with mean age of 52.7 ± 11.8 years. The prevalence of *H. pylori* infection was 48%. The FAT immunoassay showed the following measures of diagnostic performance: specificity of 96% (95%CI 89.1-98.9); sensitivity of 65% (95%CI 56.9-67.6); positive predictive value of 94% (95%CI 82.8-98.3) and negative predictive value of 75% (95%CI 69.1-76.8). The accuracy was 80% (95%CI 74-84) and the prevalence odds ratio was 45,6 (95%CI 10,7-188,5). **Conclusion:** The FAT immunoassay presented high specificity and high positive predictive value. However, due to low sensitivity it would be appropriate to test it in a post-treatment period to assess the eradication of *H. pylori*. **Keywords:** *Helicobacter pylori*, fecal test, diagnosis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CagA - Cytotoxin associated gene A

CO₂ – Dióxido de Carbono

EDA – Endoscopia Digestiva Alta

EIA – Ensaio Imunoenzimático

H. pylori – Helicobacter pylori

HUSM - Hospital Universitário de Santa Maria

IARC - Agência Internacional de Pesquisa do Câncer

IBP - Inibidor de Bomba de Prótons

ICC - Insuficiência Cardíaca Congestiva

IgA – Imunoglobulina de classe A

IgG – Imunoglobulina de classe G

IgM – Imunoglobulina de classe M

MALT - Linfoma de Tecido Linfoide Associado à Mucosa

pH - Potencial Hidrogeniônico

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

TAF – Teste do Antígeno Fecal

TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido

UFSC – Universidade Federal de Santa Maria

VacA - Vacuolating cytotoxin A

VPN – Valor Preditivo Negativo

VPP – Valor Preditivo Positivo

WB – Western Blot

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1 JUSTIFICATIVA	14
2 QUESTÃO NORTEADORA DA PESQUISA	15
3 HIPÓTESE	15
4 OBJETIVOS	15
4.1 Objetivo geral	15
4.2 Objetivos específicos	15
5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
5.1 <i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>)	16
5.1.1 Epidemiologia.....	17
5.1.2 Métodos diagnósticos.....	19
5.1.2.1 Métodos invasivos.....	19
5.1.2.1.1 Histopatologia.....	19
5.1.2.1.2 Teste da urease.....	20
5.1.2.1.3 Cultura.....	21
5.1.2.2 Métodos não invasivos.....	21
5.1.2.2.1 Teste respiratório da ureia.....	21
5.1.2.2.2. Testes sorológicos.....	22
5.1.2.2.3. Teste do antígeno fecal (TAF).....	23
6 REFERÊNCIAS	26
7 ARTIGO - ANTÍGENO FECAL NA IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO POR <i>H. PYLORI</i> NA REGIÃO CENTRAL DO RS	34
8 CONCLUSÕES	49
9 PERSPECTIVAS PARA NOVOS ESTUDOS	50

INTRODUÇÃO

Helicobacter pylori (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa, microaerófila, cujo habitat é a mucosa gástrica humana (1). Esse microrganismo destaca-se entre outros patógenos bacterianos pela sua capacidade de persistir e estabelecer infecção crônica (2). Para resistir ao ambiente hostil no interior do estômago essa bactéria desenvolveu mecanismos sofisticados a fim de estabelecer infecção ao longo da vida, caso não erradicada terapêuticamente (3).

A presença desse microrganismo na mucosa gástrica pode induzir distúrbios inflamatórios e é considerado um fator de risco para o desenvolvimento de úlceras gástricas, doenças neoplásicas malignas como linfoma de tecido linfóide associado à mucosa (MALT) e câncer gástrico (4).

Na espécie humana a infecção pelo *H. pylori* é uma das infecções mais comuns. No Brasil, a prevalência por esta infecção é muito maior do que a média da população mundial, com variabilidade dependendo da área geográfica e do nível de desenvolvimento da população. Em populações com condições socioeconômicas precárias, residentes em áreas urbanas e rurais, a prevalência da infecção pode chegar a 70% em crianças, atingindo mais de 80% da população adulta (3).

Devido à patogenicidade e à elevada prevalência do *H. pylori*, a detecção precisa é essencial para o manejo de pacientes e para a erradicação da bactéria após o tratamento. Desde a descoberta desse microrganismo, vários métodos de diagnóstico tornaram-se disponíveis para a determinação da presença de *H. pylori* (5).

Os métodos de diagnóstico para a infecção pelo *H. pylori* são classificados como invasivos e não invasivos. Os testes invasivos, incluindo histopatologia, teste da urease e cultura, requerem realização de endoscopia digestiva alta (EDA) para obter a amostra de diagnóstico. Por outro lado, os métodos não invasivos incluem o teste respiratório da ureia, a sorologia e o teste do antígeno fecal (TAF) (4).

O TAF é um método capaz de detectar antígenos de *H. pylori* nas fezes, através de anticorpos policlonais e monoclonais. Existem dois métodos de TAFs para o diagnóstico de infecção pelo *H. pylori*, um baseado em ensaio imunoenzimático (EIA) e outro em um teste imunocromatográfico (6).

O TAF imunocromatográfico envolve uma técnica de cromatografia de fluxo lateral com anticorpos monoclonais e tem sido desenvolvido para a detecção qualitativa *in vitro* de antígenos de *H.pylori* em matéria fecal humana. A aplicação desse teste é bastante ampla, pois além de ser um teste rápido que permite a leitura do resultado em até 5 minutos, descarta a utilização de equipamentos de laboratório e possibilita avaliações iniciais, tanto para o diagnóstico da infecção em pacientes com sintomas dispépticos, quanto para a determinação da cura após a erradicação num período pós-tratamento (7, 8).

1 JUSTIFICATIVA

No Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), ainda não são utilizados na rotina métodos diagnósticos não invasivos para identificar o *H. pylori*. Além disso, até o presente momento, existem poucos estudos brasileiros que avaliam o desempenho desses métodos, especialmente o TAF.

Assim, levando-se em consideração as indicações para o uso de métodos não invasivos, tais como as dificuldades de obtenção de biópsias; a avaliação da erradicação do *H. pylori* e a possibilidade da utilização desses métodos em estudos epidemiológicos vislumbrou-se a importância de avaliar o desempenho diagnóstico de um método não invasivo como o TAF.

2 QUESTÃO NORTEADORA DA PESQUISA

Qual é a acurácia da pesquisa de antígenos fecais no diagnóstico da infecção por *H. pylori*?

3 HIPÓTESE

A pesquisa de antígenos fecais do *H. pylori* é tão acurada quanto o exame histológico e o teste da urease.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar a acurácia da pesquisa de antígenos fecais no diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar as medidas de desempenho diagnóstico (acurácia, sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo) da pesquisa de antígenos fecais do *H. pylori*;
- Determinar a prevalência da infecção pelo *H. pylori* em indivíduos dispépticos encaminhados para a realização de EDA no Serviço de Gastroenterologia do HUSM.

5 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)

Em 1984, Marshall e Warren (1) relataram a descoberta de uma bactéria gram-negativa, em forma de espiral, microaerófila, a qual foi subsequentemente denominada de *H. pylori* (9), cujo habitat é a mucosa gástrica humana (5).

H. pylori destaca-se entre outros patógenos bacterianos gram-negativos em sua capacidade de persistir e estabelecer infecção crônica (2). Para resistir ao meio ambiente hostil no interior do estômago essa bactéria desenvolveu mecanismos sofisticados a fim de estabelecer infecções ao longo da vida, caso não erradicada terapêuticamente (10).

Durante a infecção a maioria das bactérias presentes na mucosa gástrica permanece na forma bacilar e, como mecanismo de proteção, quando a bactéria perde a integridade da membrana, ela assume a forma cocoide, permitindo a sobrevivência desse microrganismo na mucosa gástrica (11).

Além disso, *H. pylori* é capaz de produzir a enzima urease que é responsável pela hidrólise da ureia em bicarbonato e amônia, gerando uma alcalinização no ambiente pericelular, que facilita permanência da bactéria no interior do estômago (2). Devido à exibição desses mecanismos *H. pylori* é considerado um dos patógenos bacterianos mais bem sucedidos (10).

O *H. pylori* apresenta trofismo pelo epitélio gástrico, tanto do estômago quanto de áreas de metaplasia gástrica fora do estômago. Pode distribuir-se de maneira focal, segmentar ou difusa na mucosa gástrica, localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio, em íntimo contato com a membrana das células epiteliais que revestem a mucosa (12).

A presença desse microrganismo na mucosa gástrica determina alterações inflamatórias de diferentes intensidades. *H. pylori* induz gastrite em todos os pacientes infectados, mas apenas uma minoria, aproximadamente 10-15%, sofre de sintomas clínicos (13, 14). Apesar disso, a gastrite é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de úlceras gástricas (15), doenças neoplásicas malignas

como linfoma de tecido linfoide associado à mucosa (MALT) e câncer gástrico (16, 17).

É reconhecido que o *H. pylori* é agente etiológico em aproximadamente 63% das neoplasias gástricas (18). Devido essa relação com o câncer gástrico e a existência de evidências epidemiológicas e histológicas suficientes, em 1994 a Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classificou *H. pylori* como um carcinógeno grupo I - definido (19).

5.1.1 Epidemiologia

Na espécie humana a infecção pelo *H. pylori* é uma das infecções mais comuns, considerada uma questão de saúde pública na população mundial (20). Por ser uma bactéria de distribuição universal e em razão da impossibilidade de detectar-se o início da infecção, sua incidência é determinada de forma indireta, com base em dados de prevalência (21).

A prevalência da infecção por *H. pylori* e o modo de transmissão variam entre grupos populacionais. Globalmente, estima-se que cerca de um pouco mais da metade da população esteja acometida pelo *H. pylori*. Entre adultos de meia idade, nos países desenvolvidos ela é menor que 40% (22, 23), acometendo cerca de um terço das pessoas dos Estados Unidos e da Europa Ocidental (21, 24). Já nos países em desenvolvimento, as taxas de infecção alcançam a média de 80 a 90% (22, 23), acometendo uma elevada proporção da população nos países Asiáticos e demais países subdesenvolvidos, incluindo México, Américas Central e do Sul (21, 24).

No Brasil, a prevalência é muito maior do que a média da população mundial com variabilidade dependendo da área geográfica e do nível de desenvolvimento da população. Em populações com condições socioeconômicas precárias, residentes em áreas urbanas e rurais, a prevalência da infecção pode chegar a 70 % das crianças com 5 anos de idade, atingindo mais de 80% dos indivíduos após os 20 anos (3).

Estudo realizado na Região Central do Rio Grande do Sul identificou a prevalência da infecção na população estudada de 76% (25), situando-se entre os

níveis mais altos encontrados se comparados a estudos anteriores realizados no Brasil, cujos relatos têm variado de 34,1% a 80% (26-28).

Os principais fatores de risco para a aquisição de *H. pylori* no Brasil estão relacionados com as condições de vida desfavoráveis durante a infância, incluindo a baixa renda familiar, baixa escolaridade, instalações sanitárias precárias, aglomerações familiares, hábitos impróprios de higiene pessoal e serviços públicos de saúde deficientes (29-34).

Além das diferenças nas condições socioeconômicas e educacionais das populações de países desenvolvidos e de países em desenvolvimento, a variação nas taxas de prevalência também pode ser explicada pela grande variabilidade de métodos diagnósticos e espécimes clínicos utilizados (22, 23).

Igualmente, a idade da população também é um fator que influencia a incidência e prevalência da infecção pelo *H. pylori*, havendo predomínio da infecção por esse microrganismo na infância (35), especialmente nos países em desenvolvimento (21), o que pode ser decisivo para a morbidade e mortalidade associada com infecção crônica na população adulta (36-38).

Com relação à transmissão, a mesma ocorre normalmente em pessoas com idade mais jovem e muitos estudos destacam a importância da transmissão intrafamiliar e das más condições socioeconômicas na aquisição do *H. pylori*. Em países desenvolvidos a transmissão direta pessoa-pessoa parece predominar, enquanto em países em desenvolvimento a rota fecal-oral e a água contaminada têm maior impacto (39, 40).

Dentre as vias de transmissão, podemos citar a via oral-oral, a qual ocorre devido à presença da bactéria no suco gástrico. Assim, o vômito e o refluxo esofágico são considerados meios de propagação do microrganismo, além de indícios da permanência do *H. pylori* em placa dentária e saliva (24). Já a rota de transmissão fecal-oral aparece como a mais prevalente, especialmente em regiões com condições socioeconômicas e sanitárias insatisfatórias (41). A via iatrogênica é a menos comum, constituindo-se na transmissão da bactéria através de endoscópicos, tubos ou materiais que tenham contato com a mucosa gástrica de um indivíduo infectado e, devido à má higienização, podem causar contaminação em outro paciente (21).

5.1.2. Métodos diagnósticos

A detecção precisa do *H. pylori* é essencial para o manejo de pacientes e para verificar a erradicação da bactéria após o tratamento. Desde a descoberta desse microrganismo vários métodos diagnósticos tornaram-se disponíveis (5).

Os métodos diagnósticos para essa infecção são geralmente classificados como invasivos e não invasivos. As invasivas, incluindo histopatologia, teste da urease e cultura, requerem EDA com obtenção de biópsia para o diagnóstico. Por outro lado, as não invasivas incluem o teste respiratório da ureia, a sorologia e o TAF (4) que, além da simplicidade de execução, são capazes de fornecer resultados de testes dentro de alguns minutos após sua realização (5).

Para definir o valor ou utilidade de um teste de diagnóstico, cada ensaio deve ser comparado a um padrão de ouro (42), que pode ser a associação do resultado de dois ou mais testes diagnósticos, visto que não há um único teste para a detecção do *H. pylori* que possa ser utilizado como padrão ouro isolado na identificação da infecção (43, 44). Isso ocorre, entre outros fatores, devido à distribuição desigual do *H. pylori* na mucosa gástrica, onde o exame do tecido de biópsia pode produzir resultados falsos negativos (45) e, por isso, não deve ser utilizado isoladamente para a detecção da infecção.

Atualmente, vários testes diagnósticos estão disponíveis para detectar a infecção pelo *H. pylori*, no entanto, todos eles apresentam vantagens e desvantagens (46), as quais devem ser avaliadas no momento da escolha do mesmo.

5.1.2.1 Métodos invasivos

5.1.2.1.1 Histopatologia

Esta técnica é realizada após a EDA, obtendo-se dois ou mais fragmentos da região do corpo e antro gástrico, que serão corados para identificação da bactéria (24, 47). A bactéria pode ser detectada pela coloração habitual de hematoxilina-eosina, assim como pela coloração de Giemsa (48).

No tecido, *H. pylori* é reconhecido pela sua aparência como bacilo curvo, curto ou em forma de espiral, presente na superfície do epitélio, na camada de muco ou na profundidade das glândulas (49).

A principal vantagem do estudo histológico reside no fato de que, além de informações sobre a presença da bactéria, esse método evidencia dados sobre o estado da mucosa gástrica (24, 48), como mudanças morfológicas associadas à infecção (24).

No entanto, essa técnica apresenta um limite de detecção histológico para o *H. pylori*, variando em torno 53-90% tanto na sensibilidade quanto na especificidade. Essa variação está diretamente associada à dependência do número de biópsias obtidas, sítio clínico avaliado, densidade de bactéria presente no tecido, uso de antimicrobianos (50, 51), assim como a existência de variabilidade interobservador na avaliação (52, 53), visto que os resultados da histopatologia são baseados na interpretação subjetiva de diferentes características e classificações (5).

5.1.2.1.2 Teste da urease

Este teste é baseado na atividade da enzima urease produzida pelo *H. pylori*, a qual degrada a ureia em bicarbonato e amônia, que por sua vez aumentam o potencial hidrogeniônico (pH) da solução teste. É detectada a presença de *H. pylori* quando ocorre alteração do pH, indicada pelo vermelho de fenol que muda de coloração, passando da cor amarela para a cor vermelha (47, 54).

Em comparação com a histopatologia e a cultura, o teste da urease apresenta maior agilidade, menor custo e sensibilidade semelhante (55, 56).

A sensibilidade do exame direto em amostras de biópsia varia de 75% a 95%, entretanto, a especificidade é próxima a 100%, sendo que este método permite detectar a presença da urease produzida pelo *H. pylori* em curto intervalo de tempo.

Além disso, um estudo concluiu que a melhor associação para a acurácia da infecção por *H. pylori* é a associação do teste da urease com a histopatologia (57).

5.1.2.1.3 Cultura

A cultura é um teste diagnóstico que requer amostras de biópsia gástrica obtidas através da EDA. Essa técnica é capaz de caracterizar a presença de *H. pylori* com alta especificidade (100%), assim como determinar a sensibilidade da bactéria aos antimicrobianos (49).

O *H. pylori* é um microrganismo fastidioso e afetado por diversas condições ambientais, por isso a cultura de amostras de biópsia necessita de um longo período de incubação (quatro a sete dias), além de condições especiais de microaerofilia (58).

Considerando a fragilidade desse microrganismo, muitas falhas ocorrem no cultivo decorrentes de impropriedades como: número inadequado de biópsias, transporte dos espécimes clínicos, meios de cultura utilizados, tempo de processamento da amostra, uso prévio de antimicrobianos e inibidores de bomba de prótons (IBPs) (49).

Devido a dificuldades no cultivo *in vitro* dessa bactéria, a sensibilidade do método é baixa. Em 2006, Gisbert e Abraria relataram três estudos com sensibilidade para a cultura de 45% e especificidade de 98% (59).

5.1.2.2 Métodos não invasivos

5.1.2.2.1 Teste respiratório da ureia

O princípio desse teste é baseado na atividade da enzima urease, presente no estômago de indivíduos infectados por *H. pylori*. Pacientes ingerem ureia marcada com carbono C_{13} ou C_{14} e a hidrólise da ureia na camada de muco resulta

na produção de dióxido de carbono (CO₂) marcado, o qual se difunde no epitélio dos vasos sanguíneos e é detectado na respiração dos pacientes (49).

O teste respiratório da ureia apresenta elevada sensibilidade e especificidade no diagnóstico não invasivo de *H. pylori*, tornando-se um dos mais valiosos testes para o diagnóstico da infecção, assim como na avaliação de erradicação da infecção por esse microrganismo (60).

Apesar de apresentar natureza não invasiva e bom desempenho diagnóstico, esse teste pode levar a resultados falsos negativos em pacientes tratados com drogas bacteriostáticas contra *H. pylori*, como os IBPs (61, 62). Além disso, o custo elevado do ensaio, a necessidade de um longo período de tempo e de pessoal médico treinado para sua realização, são fatores que limitam a utilidade desse método (63).

5.1.2.2.2 Testes sorológicos

Os testes sorológicos para identificação de infecção pelo *H. pylori* têm sido úteis em estudos epidemiológicos de prevalência, modo de transmissão e eliminação espontânea da infecção, permitindo o desenvolvimento de medidas de prevenção de infecção no início da vida (64, 65).

Esses ensaios diferem em algumas características como a composição de antígenos, devido às diferentes estirpes de *H. pylori* em função das variações geográficas, fonte de antígenos, protocolos de purificação, classes de imunoglobulinas detectadas: imunoglobulinas de classe A (IgA), imunoglobulinas de classe M (IgM) e imunoglobulinas de classe G (IgG), origem das amostras (soro, saliva, urina) e fontes do teste (comercial ou teste *in-house*) (66).

Os testes à base de anticorpos apresentam algumas vantagens como simplicidade em sua execução, baixo custo e o mínimo desconforto ao paciente. No entanto, os resultados desses testes não podem ser utilizados por si só para o diagnóstico de infecção por *H. pylori* ou para monitorizar o sucesso da terapia, pois existe uma ampla variação de sensibilidade e especificidade na detecção de anticorpos IgA, IgM e IgG (66). Além disso, esses testes não conseguem diferenciar

uma infecção atual a partir de uma exposição passada, indicando somente a exposição ao *H. pylori*, sem distinguir entre infecção ativa ou não (67, 68).

Os modelos mais comuns de teste de detecção à base de anticorpos incluem EIA e a técnica de Western Blot (WB). Embora o EIA provou ser eficaz para detectar a exposição ao *H. pylori* em adultos, em crianças tem mostrado sensibilidade e especificidade variáveis (4, 69, 70). Por outro lado, o WB permite a visualização direta de anticorpos de ligação para determinado antígeno do *H. pylori*, incluindo as proteínas de virulência altamente imunogênicas *cytotoxin associated gene A* (CagA) e *vacuolating cytotoxin A* (VacA) (71).

A resposta imune sistêmica contra *H. pylori* normalmente mostra uma elevação transitória dos anticorpos IgM, seguido por um aumento no nível de anticorpos IgG e IgA, que persistem durante a infecção, o que não é verificado com os anticorpos IgM contra *H. pylori*, os quais são detectados apenas transitoriamente e apresentam pouco valor para o diagnóstico sorológico da infecção (72). Portanto, testes diagnósticos têm sido desenvolvidos para a detecção de anticorpos de *H. pylori* específicos para IgG e IgA, em amostras como soro, saliva e urina (73).

Para a pesquisa de anticorpos específicos IgG no soro, duas meta-análises foram realizadas na população em geral. A primeira meta-análise (21 estudos) avaliou apenas testes EIA e relatou uma sensibilidade e especificidade de 85% e 79%, respectivamente (74). A segunda meta-análise (36 estudos) avaliou o desempenho de vários testes comerciais para a detecção de IgA, IgG e IgM contra antígenos de *H. pylori* e relatou sensibilidade de 92% e especificidade de 83% (75).

Já a detecção de anticorpos de *H. pylori* específicos para IgA e IgG em amostra de saliva mostrou sensibilidade de 80% e especificidade de 70% (73, 76), e a pesquisa de anticorpos específicos IgG na urina apresentou sensibilidade de 95,5% e especificidade de 83% (77, 78).

5.1.2.2.3 Teste do Antígeno Fecal (TAF)

O TAF é um método não invasivo capaz de detectar antígenos de *H. pylori* nas fezes, através de anticorpos policlonais e monoclonais. A utilização desse teste

é apropriada na avaliação clínica e em estudos epidemiológicos que envolvam a infecção por *H. pylori* (79, 80). Além disso, é um processo analítico simples, de baixo custo, se comparado com a EDA e a histopatologia (81) e pode ser facilmente aplicado em pacientes idosos e crianças (60).

Considerando a importância diagnóstica dos TAFs, em 2005, a Associação Americana de Gastroenterologia recomendou o TAF para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* em pacientes com dispepsia (82-84) e, em 2007, o Consenso de Maastricht/Florence IV recomenda o teste como um método simples, fácil e útil para detectar a presença ou a erradicação desse microrganismo (81).

Os TAFs podem ser baseados em métodos imunoenzimáticos ou imunocromatográficos (6).

O TAF baseado no método imunoenzimático tem como base, geralmente, anticorpos policlonais. Esse teste proporciona resultados confiáveis para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, no entanto, resultados controversos foram observados na avaliação pós-erradicação devido à existência de falsos positivos (84, 85). O Premier Platinum HpSA é um exemplo de teste que utiliza anticorpos policlonais anti-*H. pylori* em amostra fecal humana.

De acordo com evidências de alguns estudos, o uso desses testes para a detecção de antígenos de *H. pylori* nas fezes são menos confiáveis, quando comparados aos testes que utilizam anticorpos monoclonais, devendo ser evitados na prática clínica (59, 80). Além disso, os testes que utilizam os anticorpos policlonais apresentam uma variabilidade intra-teste importante, devido à variação na composição antigênica, fonte dos anticorpos, considerando a variabilidade geográfica das cepas de *H. pylori* (86).

TAFs que utilizam métodos imunocromatográficos, baseados em anticorpos monoclonais, mostram-se mais precisos do que aqueles que utilizam anticorpos policlonais apresentando, geralmente, uma maior especificidade (87). Em uma meta-análise os resultados para a especificidade desses testes chegou a 97% (59).

O TAF imunocromatográfico é de fácil realização e útil para o diagnóstico rápido de infecção por *H. pylori* (88), além de não requerer equipamentos especializados, sendo, portanto, útil nos países em desenvolvimento (89). Ambas as orientações, europeias e japonesas, indicaram que TAFs com anticorpos

monoclonais são úteis para o diagnóstico primário, bem como para a avaliação da terapia de erradicação do *H. pylori* (90).

O Immuno Card STAT! HpSA é um exemplo de teste imunocromatográfico baseado em uma técnica de cromatografia de fluxo lateral, com anticorpos monoclonais, e tem sido desenvolvido para a detecção qualitativa *in vitro* de antígenos de *H.pylori* em matéria fecal humana (91).

A aplicação do Immuno Card STAT! HpSA é bastante ampla, pois além de ser um teste rápido que permite a leitura do resultado em 5 minutos, descarta a utilização de equipamentos de laboratório e possibilita avaliações iniciais, tanto para o diagnóstico da infecção em pacientes com sintomas dispépticos, quanto para a determinação da cura após a erradicação num período pós-tratamento (7, 8).

A avaliação dos resultados do Immuno Card STAT! HpSA quando comparado com testes considerados padrões, como histopatologia e teste respiratório da ureia, tem apresentado um desempenho promissor (92-94).

Apesar da extensa aplicabilidade dos TAFs, existem fatores que podem influenciar os resultados dos testes, dentre eles, a presença de hemorragia digestiva, a consistência do material (amostra fecal líquida pode propiciar uma diluição dos antígenos específicos do *H. pylori* e comprometer o resultado do teste). Portanto, fezes aquosas não devem ser utilizadas, particularmente na determinação dos resultados da terapia de erradicação (95). Além disso, a temperatura e o intervalo entre a coleta da amostra fecal e a realização do teste podem afetar os resultados. Sendo assim, as amostras de fezes devem ser armazenadas a uma temperatura baixa e devem ser testadas num curto período de tempo. Ainda, para manter a antigenicidade por um período mais longo as amostras devem ser armazenadas a -80 ° C (89).

Como outros métodos diagnósticos, os TAFs podem ser influenciados pelo uso de medicamentos (96). Assim, para a realização desses testes deve ser readequada a utilização de fármacos que levam a diminuição na densidade ou na migração das bactérias ao longo do trato digestivo como IBPs, sais de bismuto e antibióticos. Portanto, é necessário que transcorram pelo menos duas semanas da cessação da terapia com IBP e 4 semanas do tratamento com antibióticos ou sais de bismuto (97).

6 REFERÊNCIAS

- (1) Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984 Jun 16;1(8390):1311-5.
- (2) Salama NR, Hartung ML, Muller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen *Helicobacter pylori*. *Nat Rev Microbiol*. 2013 Jun;11(6):385-99.
- (3) Coelho LG, Maguinilk I, Zaterka S, Parente JM, do Carmo Friche PM, Moraes-Filho JP. 3rd Brazilian Consensus on *Helicobacter pylori*. *Arq Gastroenterol*. 2013 Apr;50(2).
- (4) Dzierzanowska-Fangrat K, Lehours P, Megraud F, Dzierzanowska D. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2006 Oct;11 Suppl 1:6-13.
- (5) Aktepe OC, Ciftci IH, Safak B, Uslan I, Dilek FH. Five methods for detection of *Helicobacter pylori* in the Turkish population. *World J Gastroenterol*. 2011 Dec 21;17(47):5172-6.
- (6) Korkmaz H, Kesli R, Karabagli P, Terzi Y. Comparison of the diagnostic accuracy of five different stool antigen tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2013;18(5):384-91.
- (7) Schwarzer A, Lottspeich C, Rüssmann H, Ossiander G, Koletzko S. Evaluation of a novel rapid one-step monoclonal chromatographic immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* in stool from children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26(7):475-80.
- (8) Blanco S, Forné M, Lacomá A, Prat C, Cuesta MA, Latorre I, et al. Comparison of stool antigen immunoassay methods for detecting *Helicobacter pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;61(2):150-5.
- (9) Goodwin CS, Armstrong JA. Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1990 Jan;9(1):1-13.
- (10) Posselt G, Backert S, Wessler S. The functional interplay of *Helicobacter pylori* factors with gastric epithelial cells induces a multi-step process in pathogenesis. *Cell Commun Signal*. 2013;11:77.
- (11) Windsor HM, O'Rourke J. Bacteriology and taxonomy of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am*. 2000 Sep;29(3):633-48.
- (12) Ladeira MSP, Salvadori DMF, Rodrigues MAM. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. *J Bras Patol Med Laboratorial*. 2003;39:335-42.

- (13) Machado JC, Figueiredo C, Canedo P, Pharoah P, Carvalho R, Nabais S, et al. A proinflammatory genetic profile increases the risk for chronic atrophic gastritis and gastric carcinoma. *Gastroenterology*. 2003 Aug;125(2):364-71.
- (14) El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000 Mar 23;404(6776):398-402.
- (15) Wroblewski LE, Peek RM, Jr., Wilson KT. Helicobacter pylori and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clin Microbiol Rev*. 2010 Oct;23(4):713-39.
- (16) Blaser MJ, Atherton JC. Helicobacter pylori persistence: biology and disease. *J Clin Invest*. 2004 Feb;113(3):321-33.
- (17) Peek RM, Jr., Crabtree JE. Helicobacter infection and gastric neoplasia. *J Pathol*. 2006 Jan;208(2):233-48.
- (18) Peek RM, Jr. Orchestration of aberrant epithelial signaling by Helicobacter pylori CagA. *Sci STKE*. 2005 Mar 29;2005(277):14.
- (19) Lamb A, Chen LF. Role of the Helicobacter pylori-induced inflammatory response in the development of gastric cancer. *J Cell Biochem*. 2013 Mar;114(3):491-7.
- (20) Santos IS, Boccio J, Santos AS, Valle NC, Halal CS, Bachilli MC, et al. Prevalence of Helicobacter pylori infection and associated factors among adults in Southern Brazil: a population-based cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2005;5(1):118.
- (21) Kodaira MS, Escobar AMU, Grisi S. Aspectos epidemiológicos do Helicobacter pylori na infância e adolescência. *Rev Saude Publica*. 2002;36(3):356-69.
- (22) Ahmed KS, Khan AA, Ahmed I, Tiwari SK, Habeeb MA, Ali SM, et al. Prevalence study to elucidate the transmission pathways of Helicobacter pylori at oral and gastroduodenal sites of a South Indian population. *Singapore Med J*. 2006;47(4):291.
- (23) Azevedo NF, Huntington J, Goodman KJ. The epidemiology of Helicobacter pylori and public health implications. *Helicobacter*. 2009;14(s1):1-7.
- (24) Siqueira JS, Lima PS, Barreto AS, Quintans-Júnior LJ. Aspectos gerais nas infecções por Helicobacter pylori-revisão. *RBAC*. 2007;39(1):9-13.
- (25) Muller LB, Fagundes RB, Moraes CC, Rampazzo A. Prevalence of Helicobacter pylori infection and gastric cancer precursor lesions in patients with dyspepsia. *Arq Gastroenterol*. 2007 Apr;44(2):93-8.
- (26) Carvalho AS, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Penna FJ. Diagnosis and distribution of Helicobacter pylori in the gastric mucosa of symptomatic children. *Rev Bra Pesq Med Biol*. 1990;24(2):163-6.

- (27) Oliveira AM, Queiroz DM, Rocha GA, Mendes EN. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte, Brazil. *Am J Gastroenterol*. 1994;89(12): 2201-4.
- (28) Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, Oliveira AM, Moura SB, Silva RJ. Source of *Helicobacter pylori* infection: studies in abattoir workers and pigs. *Am J Gastroenterol*. 1992;87(10):1525.
- (29) Braga AB, Fialho AM, Rodrigues MN, Queiroz DM, Rocha AM, Braga LL. *Helicobacter pylori* colonization among children up to 6 years: results of a community-based study from Northeastern Brazil. *J Trop Pediatr*. 2007;53(6):393-7.
- (30) Dattoli VCC, Veiga RV, Da Cunha SS, Pontes de Carvalho LC, Barreto McL, Alcântara-Neves NM. Seroprevalence and potential risk factors for *Helicobacter pylori* infection in Brazilian children. *Helicobacter*. 2010;15(4):273-8.
- (31) Fialho AM, Braga AB, Queiroz DM, Rodrigues MN, Herbster ID, Braga LL. The association between *Helicobacter pylori* infection and height in children from an urban community in north-east Brazil. *Ann Trop Paediatr*. 2007;27(1):55-61.
- (32) Fialho A, Braga AB, Braga Neto MB, Carneiro JG, Rocha A, Rodrigues MN, et al. Younger Siblings Play a Major Role in *Helicobacter pylori* Transmission Among Children From a Low-Income Community in the Northeast of Brazil. *Helicobacter*. 2010;15(6):491-6.
- (33) Gomes BC, de Martinis EC. Fate of *Helicobacter pylori* artificially inoculated in lettuce and carrot samples. *Braz J Microbiol*. 2004;35(1-2):145-50.
- (34) Kignel S, Almeida Pina F, André EA, Alves Mayer MP, Birman EG. Occurrence of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva of dyspeptic patients. *Oral Dis*. 2005;11(1):17-21.
- (35) Blaser MJ, Nomura A, Lee J, Stemmerman GN, Perez-Perez GI. Early-life family structure and microbially induced cancer risk. *PLoS Med*. 2007;4(1):7.
- (36) Escobar-Pardo ML, Godoy APOD, Machado RS, Rodrigues D, Fagundes Neto U, Kawakami E. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and intestinal parasitosis in children of the Xingu Indian Reservation. *J Pediatr (Rio J)*. 2011;87(5):393-8.
- (37) Miranda ACP, Machado RS, Silva EMK, Kawakami E. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection among children of low socioeconomic level in São Paulo. *Sao Paulo Med J*. 2010;128(4):187-91.
- (38) Queiroz DM, Carneiro JG, Braga-Neto MB, Fialho AB, Fialho AM, Goncalves MH, et al. Natural History of *Helicobacter pylori* Infection in Childhood: Eight-Year Follow-Up Cohort Study in an Urban Community in Northeast of Brazil. *Helicobacter*. 2012;17(1):23-9.
- (39) Kivi M, Tindberg Y. *Helicobacter pylori* occurrence and transmission: A family affair? *Scand J Infect Dis*. 2006;38(6-7):407-17.

- (40) Magalhães Queiroz DM, Luzza F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2006;11(s1):1-5.
- (41) Quaglia NC, Dambrosio A, Normanno G, Celano GV. Evaluation of a Nested-PCR assay based on the phosphoglucosamine mutase gene (glmM) for the detection of *Helicobacter pylori* from raw milk. *Food Control*. 2009;20(2):119-23.
- (42) Guarner J, Kalach N, Elitsur Y, Koletzko S. *Helicobacter pylori* diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009. *Eur J Pediatr*. 2010 Jan;169(1):15-25.
- (43) Frenck RW, Jr., Fathy HM, Sherif M, Mohran Z, El MH, Francis W, et al. Sensitivity and specificity of various tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* in Egyptian children. *Pediatrics*. 2006 Oct;118(4):1195-1202.
- (44) Vaira D, Gatta L, Ricci C, Miglioli M. Review article: diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002 Mar;16 Suppl 1:16-23.
- (45) Morris A, Ali MR, Brown P, Lane M, Patton K. *Campylobacter pylori* infection in biopsy specimens of gastric antrum: laboratory diagnosis and estimation of sampling error. *J Clin Pathol*. 1989 Jul;42(7):727-32.
- (46) Pourakbari B, Ghazi M, Mahmoudi S, Mamishi S, Azhdarkosh H, Najafi M, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by invasive and noninvasive tests. *Braz J Microbiol*. 2013;44(3):795-8.
- (47) Mincis M. *Helicobacter pylori*: vinte anos após sua redescoberta. *Rev Bras Med*. 2003;60(3):97-100.
- (48) Custódio RDO, Daher RR, Ximenes YR, Silvério ADO, Custódio NRDO. Identificação do *Helicobacter pylori* pela citologia do escovado gástrico: comparação com o método histológico. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(4):322-5.
- (49) Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2007;21(2):299-313.
- (50) El-Zimaity HM, Graham DY, Al-Assi MT, Malaty H, Karttunen TJ, Graham DP, et al. Interobserver variation in the histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. *Hum Pathol*. 1996;27(1):35-41.
- (51) Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon MF. Histological identification of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. *J Clin Pathol*. 2000;53(10):756-9.
- (52) Talebkhan Y, Mohammadi M, Rakhshani N, Abdirad A, Fayaz Moughadam K, Fereidooni F. Interobserver variations in histopathological assessment of gastric pathology. *Pathology*. 2009;41(5):428-32.
- (53) Aydin O, Egilmez R, Karabacak T, Kanik A. Interobserver variation in histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. *World J Gastroenterol*. 2003;9(10):2232-5.

(54) Ferreira LEVVD, Meirelles GDSP, Vieira RLR, Bragagnolo Jr MA, Chebli JMF, Souza AFMD. Alterações no teste ultra-rápido da urease e no exame anatomopatológico para *Helicobacter pylori* induzidas por drogas anti-secretoras. *Arq Gastroenterol.* 2001;38(1):03-8.

(55) Monteiro L, de Mascarel A, Sarrasqueta AM, Bergey B, Barberis C, Talby P, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: noninvasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *Am J Gastroenterol.* 2001 Feb;96(2):353-8.

(56) Tseng CA, Wang WM, Wu DC. Comparison of the clinical feasibility of three rapid urease tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci.* 2005;50(3):449-52.

(57) Ogata SK, Kawakami E, Patricio FR, Pedroso MZ, Santos AM. Evaluation of invasive and non-invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic children and adolescents. *Sao Paulo Med J.* 2001 Mar;119(2):67-71.

(58) Rüssmann H, Kempf VA, Koletzko S, Heesemann J, Autenrieth IB. Comparison of fluorescent in situ hybridization and conventional culturing for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 2001;39(1):304-8.

(59) Gisbert JP, Abaira V. Accuracy of *Helicobacter pylori* diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis. *The Am J Gastroenterol.* 2006;101(4):848-63.

(60) Kodama M, Murakami K, Okimoto T, Fukuda Y, Shimoyama T, Okuda M, et al. Influence of proton pump inhibitor treatment on *Helicobacter pylori* stool antigen test. *World J Gastroenterol.* 2012 Jan 7;18(1):44-8.

(61) Murakami K, Sato R, Okimoto T, Watanabe K, Nasu M, Fujioka T, et al. Influence of anti-ulcer drugs used in Japan on the result of ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol.* 2003;38(10):937-41.

(62) Adachi K, Fujishiro H, Mihara T, Komazawa Y, Kinoshita Y. Influence of lansoprazole, famotidine, roxatidine and rebamipide administration on the urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003;18(2):168-71.

(63) Hooton C, Keohane J, Clair J, Azam M, O'Mahony S, Crosbie O, et al. Comparison of three stool antigen assays with the ¹³C- urea breath test for the primary diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring treatment outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006 Jun;18(6):595-9.

(64) Haggerty TD, Perry S, Sanchez L, Perez-Perez G, Parsonnet J. Significance of transiently positive enzyme-linked immunosorbent assay results in detection of *Helicobacter pylori* in stool samples from children. *J Clin Microbiol.* 2005 May;43(5):2220-3.

- (65) Perez-Perez GI, Sack RB, Reid R, Santosham M, Croll J, Blaser MJ. Transient and persistent *Helicobacter pylori* colonization in Native American children. *J Clin Microbiol*. 2003 Jun;41(6):2401-7.
- (66) Leal YA, Flores LL, Garcia-Cortes LB, Cedillo-Rivera R, Torres J. Antibody-based detection tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: a meta-analysis. *PLoS One*. 2008;3(11):3751.
- (67) Rahman SH, Azam MG, Rahman MA, Arfin MS, Alam MM, Bhuiyan TM, et al. Non-invasive diagnosis of *H. pylori* infection: evaluation of serological tests with and without current infection marker CIM. *World J Gastroenterol*. 2008 Feb 28;14(8):1231-6.
- (68) Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Landi F, Ali' A, et al. New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 1999 Jul;45 Suppl 1:I23-I27.
- (69) Bourke B, Ceponis P, Chiba N, Czinn S, Ferraro R, Fischbach L, et al. Canadian *Helicobacter* Study Group Consensus Conference: Update on the approach to *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents-an evidence-based evaluation. *Can J Gastroenterol*. 2005 Jul;19(7):399-408.
- (70) Oderda G, Rapa A, Bona G. Diagnostic tests for childhood *Helicobacter pylori* infection: invasive, noninvasive or both? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004 Nov;39(5):482-4.
- (71) Shimoyama T, Crabtree JE. Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 1998 Jul;43 Suppl 1:S2-5.
- (72) Herbrink P, Van Doorn LJ. Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring of eradication therapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000 Mar;19(3):164-73.
- (73) Reilly TG, Poxon V, Sanders DS, Elliott TS, Walt RP. Comparison of serum, salivary, and rapid whole blood diagnostic tests for *Helicobacter pylori* and their validation against endoscopy based tests. *Gut*. 1997 Apr;40(4):454-8.
- (74) Loy CT, Irwig LM, Katelaris PH, Talley NJ. Do commercial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy? A meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 1996 Jun;91(6):1138-44.
- (75) Laheij RJ, Straatman H, Jansen JB, Verbeek AL. Evaluation of commercially available *Helicobacter pylori* serology kits: a review. *J Clin Microbiol*. 1998 Oct;36(10):2803-9.
- (76) Sonmezoglu M, Baysal B, Ergen A, Barut SG. Detection and evaluation of salivary antibodies to *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients. *Int J Clin Pract*. 2005 Apr;59(4):433-6.
- (77) Fujisawa T, Kaneko T, Kumagai T, Akamatsu T, Katsuyama T, Kiyosawa K, et al. Evaluation of urinary rapid test for *Helicobacter pylori* in general practice. *J Clin Lab Anal*. 2001;15(3):154-9.

- (78) Alemohammad MM, Foley TJ, Cohen H. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* in urine by an enzyme immunoassay method. *J Clin Microbiol*. 1993 Aug;31(8):2174-7.
- (79) Kalach N, Nguyen VB, Bergeret M, Boutros N, Dupont C, Raymond J. Usefulness and influence of age of a novel rapid monoclonal enzyme immunoassay stool antigen for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005;52(2):157-60.
- (80) Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter*. 2004 Aug;9(4):347-68.
- (81) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. 2007;56(6):772-81.
- (82) Talley NJ, Vakil NB, Moayyedi P. American gastroenterological association technical review on the evaluation of dyspepsia. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1756-80.
- (83) Talley NJ. American Gastroenterological Association medical position statement: evaluation of dyspepsia. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1753-5.
- (84) Odaka T, Yamaguchi T, Koyama H, Saisho H, Nomura F. Evaluation of the *Helicobacter pylori* stool antigen test for monitoring eradication therapy. *Am J Gastroenterol*. 2002;97(3):594-9.
- (85) Veijola L, Oksanen A, Löfgren T, Sipponen P, Karvonen AL, Rautelin H. Comparison of three stool antigen tests in confirming *Helicobacter pylori* eradication in adults. *Scand J Gastroenterol*. 2005;40(4):395-401.
- (86) Makristathis A, Barousch W, Pasching E, Binder C, Kuderna C, Apfalter P, et al. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *J Clin Microbiol*. 2000;38(10):3710-4.
- (87) Deguchi R, Matsushima M, Suzuki T, Mine T, Fukuda R, Nishina M, et al. Comparison of a monoclonal with a polyclonal antibody-based enzyme immunoassay stool test in diagnosing *Helicobacter pylori* infection after eradication therapy. *J Gastroenterol*. 2009;44(7):713-6.
- (88) Shimoyama T, Sawaya M, Ishiguro A, Hanabata N, Yoshimura T, Fukuda S. Applicability of a rapid stool antigen test, using monoclonal antibody to catalase, for the management of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol*. 2011;46(4):487-91.
- (89) Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*. 2013 Dec 7;19(45):8188-91.
- (90) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut*. 2012;61(5):646-64.

- (91) Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, Axon AT. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by HpSA test. European *Helicobacter pylori* HpSA Study Group. *Lancet*. 1999 Nov 13;354(9191):1732.
- (92) Chisholm SA, Watson CL, Teare EL, Saverymuttu S, Owen RJ. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult dyspeptic patients by stool antigen detection: does the rapid immunochromatography test provide a reliable alternative to conventional ELISA kits? *J Med Microbiol*. 2004;53(7):623-7.
- (93) Antos D, Crone J, Konstantopoulos N, Koletzko S. Evaluation of a novel rapid one-step immunochromatographic assay for detection of monoclonal *Helicobacter pylori* antigen in stool samples from children. *J Clin Microbiol*. 2005;43(6):2598-601.
- (94) Nares-Cisneros J, Jaramillo-Rodriguez Y, Martínez-Ordaz VA, Velasco-Rodríguez VM, Madero A, Mena-Arias G, et al. Immunochromatographic Monoclonal Test for Detection of *Helicobacter pylori* Antigen in Stool is Useful in Children from High-Prevalence Developing Country. *Helicobacter*. 2007;12(4):354-8.
- (95) Saez J, Belda S, Santibanez M, Rodriguez JC, Sola-Vera J, Galiana A, et al. Real-time PCR for diagnosing *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding: comparison with other classical diagnostic methods. *J Clin Microbiol*. 2012 Oct;50(10):3233-7.
- (96) Erzin Y, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, Dirican A, et al. Evaluation of two enzyme immunoassays for detecting *Helicobacter pylori* in stool specimens of dyspeptic patients after eradication therapy. *J Med Microbiol*. 2005;54(9):863-6.
- (97) Gargallo C, Aranguren García P, Gomollón F. Infección por *Helicobacter pylori*. *Medicina-Programa Formación Médica Continuada Acreditado*. 2012;11(2):90-6.

7 ARTIGO

Target Journal: Journal of Clinical Microbiology

IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *HELICOBACTER PYLORI* ATRAVÉS DO TESTE DO ANTÍGENO FECAL

Magali Dalla Nora¹, Rosmari Hörner², Renato Borges Fagundes^{1,3}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, ² Laboratório de Microbiologia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, ³ Serviço de Gastroenterologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Maria, RS

Correspondência: Dr. Renato Borges Fagundes - Departamento de Clínica Médica / Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Maria – Campus Universitário – 97105-900 – Santa Maria, RS. E-mail: fagundesrb@gmail.com

Resumo

Introdução: O diagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) pode ser realizado por métodos invasivos e não invasivos. A identificação através do teste do antígeno fecal (TAF) é um método não invasivo, simples, fácil e relativamente barato. O objetivo deste estudo foi determinar o desempenho diagnóstico do TAF imunocromatográfico na identificação da infecção pelo *H. pylori*. **Métodos:** A pesquisa de antígenos fecais do *H. pylori* foi realizada através do ImmunoCard STAT! HpSA em pacientes dispépticos submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA) com coleta de biópsias para histopatologia e teste da urease, utilizados como padrão ouro. **Resultados:** Participaram do estudo 100 pacientes, 80% eram mulheres e 20% homens, com média de idade de $52,7 \pm 11,8$ anos. A prevalência da infecção pelo *H. pylori* foi de 48%. O TAF imunocromatográfico apresentou as seguintes medidas de desempenho diagnóstico: especificidade 96,2% (IC95% 89,1-98,9), sensibilidade 64,6% (IC95% 56,9-67,6), valor preditivo positivo 93,9% (IC95% 82,8-98,3) e valor preditivo negativo 74,6% (IC95% 69,1-76,8). A acurácia foi de 80% (IC95% 74-84). A razão de chances de prevalência para TAF positivo foi 45,6 (IC95% 10,7-188,5). **Conclusão:** O TAF imunocromatográfico apresentou elevada especificidade e valor preditivo positivo. Porém, devido sua baixa sensibilidade seria adequado testá-lo em um período pós-tratamento na avaliação da erradicação do *H. pylori*.

Palavras-chave: *Helicobacter pylori*, teste fecal, diagnóstico.

Abstract

Introduction: The diagnosis of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection can be performed by non-invasive and invasive methods. The identification through test of fecal antigen (FAT) method is a non-invasive, simple, and relatively inexpensive. The aim of this study was to determine the diagnostic performance of immunoassay FAT in the identification of *H. pylori* infection. **Methods:** *H. pylori* antigens were identified in the stools of dyspeptic patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy (UGE). The identification of *H. pylori* antigens was carried out through ImmunoCard STAT! HpSA. Histopathology and urease test were the gold standard. **Results:** We studied 100 patients, 80% women and 20% men, with mean age of 52.7 ± 11.8 years. The prevalence of *H. pylori* infection was 48%. The FAT immunoassay showed the following measures of diagnostic performance: specificity of 96% (95%CI 89.1-98.9); sensitivity of 65% (95%CI 56.9-67.6); positive predictive value of 94% (95%CI 82.8-98.3) and negative predictive value of 75% (95%CI 69.1-76.8). The accuracy was 80% (95%CI 74-84) and the prevalence odds ratio was 45.6 (95%CI 10.7-188.5). **Conclusion:** FAT immunoassay presented high specificity and high positive predictive value. This suggests the test could be a useful screening tool in populations with high prevalence of *H. pylori* infection. However, due to its low sensitivity it would be appropriate to test it in post-treatment to assess the eradication of *H. pylori*.

Key words: *Helicobacter pylori*, fecal test, diagnosis.

Introdução

Os métodos para a detecção da infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) são divididos em métodos invasivos, os quais requerem endoscopia digestiva alta (EDA) para obtenção de biópsias gástricas e métodos não invasivos que dispensam a realização de EDA. Os métodos invasivos compreendem a histopatologia, teste da urease e cultura. Os métodos não invasivos incluem o teste respiratório com ureia marcada, testes sorológicos e o teste do antígeno fecal (TAF) (1).

Tendo em vista o caráter invasivo da EDA para obtenção de biópsias da mucosa gástrica, existe um interesse crescente na utilização de métodos não invasivos (2). Dentre os métodos não invasivos, o teste respiratório da ureia tem sido considerado o mais confiável no diagnóstico da infecção por *H. pylori* devido sua elevada sensibilidade e especificidade (3). No entanto, esse teste apresenta limitações, como a necessidade de equipamentos laboratoriais onerosos, além da possibilidade de fornecer resultados falsos negativos (4). Por outro lado, os testes sorológicos detectam marcadores de exposição a *H. pylori*, mas não indicam a existência de uma infecção ativa, pois os anticorpos contrários a *H. pylori* podem permanecer presentes por muito tempo após a erradicação do patógeno (2).

Os TAFs são utilizados para diagnosticar infecção ativa por *H. pylori* por meio da detecção de antígenos dessa bactéria através de anticorpos policlonais e monoclonais em amostra fecal humana (5). O primeiro TAF foi introduzido em 1997 e utilizava anticorpos policlonais como anticorpos de detecção (6). Atualmente, muitos dos TAFs utilizam anticorpos monoclonais e podem ser baseados em ensaios imunoenzimáticos ou imunocromatográficos (2). Os TAFs por imunocromatografia que utilizam anticorpos monoclonais mostram-se mais precisos e apresentam maior especificidade do que os que utilizam os anticorpos policlonais (7), além de possibilitarem tanto o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, quanto a determinação da erradicação pós-tratamento (4, 8).

O TAF imunocromatográfico é um teste rápido e considerado rentável, visto que não necessita de instrumentos adicionais para sua execução e pode ser utilizado em clínicas de atenção primária (9-11). Tendo em vista essas facilidades, a utilização do TAF imunocromatográfico em países em desenvolvimento como Brasil torna-se bastante adequada. No entanto, foram encontrados apenas oito estudos brasileiros nos últimos dez anos que avaliaram o desempenho dos TAFs em

humanos (5, 12-18), dentre esses, apenas um avaliou o desempenho diagnóstico do TAF imunocromatográfico (5).

O objetivo desse estudo foi identificar a infecção por *H. pylori* em indivíduos dispépticos e determinar as medidas de desempenho diagnóstico (acurácia, sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo) do TAF imunocromatográfico tendo como padrão ouro o desempenho conjunto do exame histológico e teste da urease.

Métodos

Pacientes adultos dispépticos com indicação de EDA atendidos no Ambulatório de Gastroenterologia do HUSM, no período de março de 2013 a junho de 2014, foram selecionados para participar da pesquisa. O estudo foi aprovado pelo Comitê Ética em Pesquisa da Instituição, sob o número CAAE 11979613.7.0000.5346. Foram excluídos do estudo pacientes tratados com antibióticos nos últimos 30 dias ou inibidores de bomba de prótons (IBPs) nas últimas duas semanas (19), assim como pacientes com câncer gástrico, gastrectomizados, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), insuficiência cardíaca congestiva (ICC), insuficiência renal e insuficiência hepática.

Na EDA foram coletadas seis biópsias gástricas de cada paciente, duas de antro, uma de *incisura angularis* e duas de corpo, para a realização do exame histológico, e uma biópsia de antro para o teste da urease. As biópsias gástricas foram armazenadas em frascos contendo formol a 10% e enviadas para o Laboratório de Patologia. O diagnóstico histológico foi classificado de acordo com o sistema de Sydney (20, 21). Para o teste rápido da urease foi utilizado o kit comercial (Luckman, Florianópolis, SC, Brasil registro na ANVISA nº. 1.03084-9). O teste rápido da urease foi realizado de acordo com as orientações do fabricante.

Amostras fecais foram trazidas pelos pacientes em condições ideais de armazenamento (mantidas de 2-8°C) e posteriormente congeladas a -20°C até a realização do teste. Foi utilizado o TAF imunocromatográfico ImmunoCard STAT! HpSA (Meridian Bioscience, Ohio, EUA). Após homogeneização da amostra, uma alíquota de 5-6 mm de fezes foi recolhida e transferida para um frasco com diluente, homogeneizada e após foram dispensadas quatro gotas da suspensão na área de

aplicação no dispositivo de teste. Após 5 minutos de incubação do teste, a temperatura ambiente (20-26°C), a leitura foi realizada dentro de um minuto com base no aparecimento de linhas coloridas na janela central, uma linha controle (C) na cor azul e uma linha teste (T) na cor rósea-avermelhada, indicando teste positivo. O aparecimento de apenas uma linha C indicava teste negativo e o não aparecimento da linha C, na presença ou ausência da linha T, indicava teste inválido. O resultado do TAF foi lido por um observador “cego”, que classificou o resultado das amostras como negativo, positivo ou inválido. Todos os exames foram realizados sem o conhecimento dos resultados do exame histológico e teste da urease.

Para determinar a precisão do TAF no diagnóstico da infecção por *H. pylori* foi realizada uma comparação do resultado do teste da urease associado ao resultado do exame histológico. Assim, consideramos como padrão ouro no diagnóstico da infecção, ou um teste da urease positivo ou um exame histológico positivo, ou ambos os testes positivos.

Os dados foram analisados com o auxílio do programa SPSS. Os resultados dos testes foram organizados em tabelas de contingência 2x2 para o cálculo da acurácia, sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) do TAF na identificação da infecção por *H. pylori*. A significância estatística foi acessada pelo teste Exato de Fisher e foi utilizado o coeficiente kappa de Cohen para avaliar a concordância entre o TAF e a combinação do exame histológico e teste da urease.

Resultados

Foram incluídos no estudo 100 pacientes, com idade média de 52,7±11,8 anos, 20% homens e 80% mulheres. A prevalência da infecção por *H. pylori* nesta amostra foi de 48%. De acordo com o padrão de referência adotado (histopatologia + teste da urease), 48 amostras foram positivas para a pesquisa do *H. pylori* e 52 negativas.

Na avaliação do TAF imunocromatográfico, 31 amostras fecais apresentaram resultado verdadeiro positivo e 2 amostras apresentaram resultado falso positivo, enquanto 50 apresentaram resultado verdadeiro negativo e 17 apresentaram

resultado falso negativo para a detecção do *H. pylori* em amostra fecal. Esses dados estão detalhados na tabela de contingência 2X2 (quadro 1), de onde foram extraídas as medidas de desempenho diagnóstico do TAF imunocromatográfico. A acurácia do teste foi de 80,0% (IC 95% 74,0-84,0), a especificidade 96,2% (IC 95% 89,1-98,9), a sensibilidade 64,6% (IC 95% 56,9-67,6), VPP 93,9% (IC 95% 82,8-98,3) e VPN 74,6% (IC 95% 69,1-76,8). A razão de chances de prevalência para TAF positivo foi 45,6 (IC 95% 10,7-188,5). O índice kappa foi 0,63 ($p < 0,01$) indicando boa concordância entre os testes.

Discussão

A prevalência de infecção por *H. pylori* na população estudada foi 48%. O desempenho diagnóstico do TAF imunocromatográfico demonstrou alta especificidade (96,2%) que aponta para uma baixa taxa de valores falsos positivos. A sensibilidade apresentou valor relativamente baixo (64,6%), o que determinou a probabilidade de alta taxa de valores falsos negativos, no entanto, o VPP apresentou valor elevado (93,9%) e o VPN valor moderado (74,6%). A razão de chances de prevalência para um TAF positivo foi de 45,6, indicando que pacientes com resultados positivos no TAF têm 45,6 vezes mais chances de apresentar infecção por *H. pylori*.

A prevalência de infecção pelo *H. pylori* de 48% ainda pode ser considerada elevada se comparada a países desenvolvidos, no entanto, em países em desenvolvimento como o Brasil a prevalência pode chegar a 70-80% da população (22). Estudo prévio realizado em nossa região encontrou prevalência de 76% em uma população de 2.019 pacientes (23). A queda na prevalência que observamos neste estudo, em pacientes da mesma região, pode ser atribuída ao tratamento de erradicação sistemático a que são submetidos os pacientes infectados pela *H. pylori*. Considerando a patogenicidade do *H. pylori* e sua capacidade de levar a doenças crônicas gastrointestinais, dentre elas o câncer gástrico (24), esta prevalência de 48% é considerada alta e mostra a importância da utilização de métodos diagnósticos confiáveis tanto para a determinação da infecção como na avaliação da erradicação desse microrganismo (11).

A alta especificidade demonstrada pelo TAF imunocromatográfico indica que o teste é capaz de fornecer alto percentual de resultados corretos quando os indivíduos não apresentam infecção por *H. pylori*. Essa alta especificidade determina a probabilidade de que o teste não classificará erroneamente pessoas não infectadas. Já a sensibilidade mais baixa demonstra a incapacidade do teste em fazer o diagnóstico quando o paciente apresentar a infecção pelo *H. pylori*.

Os valores preditivos de um teste não são propriedades exclusivas do teste. Além de serem determinados pela sensibilidade e especificidade, seus valores dependem da prevalência da doença na população. O VPP de 93,9% indica que um paciente com teste positivo tem alta probabilidade de apresentar a infecção. O VPN de 74,6% do TAF indica que o teste tem probabilidade moderada de prever a não existência da infecção quando ela não existe, apontando para resultados falsos negativos.

Essas medidas de desempenho aliadas à alta prevalência da infecção em nosso meio reforçam o desempenho razoável do TAF como método de rastreamento para a infecção por *H. pylori*, assim como a razão de chances de prevalência aponta para uma probabilidade de 45 vezes mais chances de um paciente apresentar a infecção quando apresentar um TAF positivo. Esse dado não é absoluto e pode ser discutível uma vez que o intervalo de confiança é muito amplo suscitando alguma dúvida na interferência do acaso neste resultado. Porém, o valor da razão de chances, mesmo superestimado, indica uma alta possibilidade de um paciente com teste positivo apresentar infecção por *H. pylori*.

Uma vez que os pacientes suspenderam a utilização de IBPs por pelo menos 15 dias, assim como o uso de antibióticos e sais de bismuto por pelo menos um mês antes da realização da EDA e da coleta das fezes, a causa dos resultados falsos negativos não está relacionada com a inibição temporária do desenvolvimento do microrganismo. No entanto, a existência de uma baixa colonização na mucosa gástrica, e, conseqüentemente, uma baixa concentração de antígenos de *H. pylori* nas fezes, a qual não é suficiente para reagir no TAF, pode estar relacionada com os resultados falsos negativos encontrados (5). Já, os resultados falsos positivos podem ter ocorrido devido à presença da forma cocoide do *H. pylori*. Essa forma é uma manifestação morfológica de morte celular bacteriana que não significa risco de infecção, mas pode permitir a detecção de antígenos desse microrganismo (5).

Nossos resultados concordam com os achados de Korkmaz et al. (2), que ao avaliarem o desempenho do TAF imunocromatográfico em 198 pacientes dispépticos encontraram uma sensibilidade de 68,9%, especificidade de 92,6%, VPP de 88,6%, VPN de 78,1% e acurácia de 81,8. Da mesma forma, Hooton et al. (25) ao avaliarem este mesmo teste em 102 pacientes dispépticos, encontraram valores um pouco superiores aos nossos, com as seguintes medidas de desempenho diagnóstico: sensibilidade 79% (IC 95%: 66-68), especificidade 96,3% (IC 95%: 87-99), VPP 95% (IC 95%: 83-99), VPN 83,9% (IC 95%: 73-91) e acurácia de 89,5. Calvet et al. (26), na avaliação do desempenho do TAF imunocromatográfico no diagnóstico da infecção primária em pacientes dispépticos, encontraram uma baixa sensibilidade, a qual variou de 69%-74% e uma especificidade de 89-90%.

O desempenho dos TAFs é mais irregular do que outros métodos e a precisão diagnóstica dos diferentes testes usados até hoje varia grandemente (26). As diferenças na antigenicidade das cepas de *H. pylori* podem afetar a precisão dos TAFs em diferentes populações. Assim, a sensibilidade desses testes deve ser testada em cada população antes da sua utilização na identificação da infecção pelo *H. pylori* (4). A existência de resultados equívocos pode estar associada à interpretação do resultado do TAF. Para o TAF imunocromatográfico isso pode ser devido a uma banda mais fraca na zona de teste, assim como problemas de afinidade na ligação antígeno-anticorpo e sensibilidade analítica insuficiente (27). Apesar dessas possíveis limitações, a concordância do teste fecal utilizado foi boa comparada com o padrão de referência (histopatologia + teste da urease) utilizado, que são os métodos invasivos mais empregados para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*.

Entre os testes fecais monoclonais já foram observadas grandes diferenças de precisão, incluindo avaliações de pacientes dispépticos (26). Alguns autores sugerem que o TAF imunocromatográfico tem alcançado resultados irregulares entre pacientes dispépticos no momento do diagnóstico primário e bons resultados em um período pós-erradicação.

Veijola et al. (28) ao analisarem o TAF imunocromatográfico no pré e pós-tratamento, encontraram um melhor desempenho do teste no período pós-tratamento, no entanto, o VPP foi inferior passando de 94% (pré-tratamento) para 75% (pós-tratamento). Nesse estudo, a redução no VPP foi associada à redução nas

taxas de prevalência da infecção no grupo tratado, considerando a concordância do resultado negativo do TAF imunocromatográfico com o padrão ouro adotado.

Calvet et al. (29) e Quesada et al. (30) ao avaliarem o TAF imunocromatográfico em pacientes no período pós-tratamento encontraram as seguintes medidas de desempenho diagnóstico: sensibilidade 90% e 91%, especificidade 94,9% e 97%, VPP 69,2% e 77%, VPN 98,7% e 99%, respectivamente. Esses achados sugerem que o TAF imunocromatográfico apresenta melhor desempenho diagnóstico quando utilizado em um período pós-tratamento, se comparado à avaliação de desempenho para determinar a infecção primária.

Um dos possíveis vieses do nosso estudo foi a pequena amostragem, a qual pode ter comprometido o desempenho do teste, principalmente com relação a sensibilidade diagnóstica. Outra limitação está associada à falta de um método de referência que possa ser adotado isoladamente para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*. Assim, uma associação dos resultados de métodos invasivos ou não invasivos é utilizada como padrão ouro. Em nosso estudo, a combinação de testes adotada incluiu a histopatologia e o teste da urease. No entanto, esse padrão é diferente de padrões adotados em estudos prévios, os quais utilizaram teste respiratório da ureia, cultura e sorologia (27, 28). Portanto, a utilização de métodos de referência distintos também pode estar associada à existência de resultados conflitantes na avaliação de desempenho dos TAFs. Outro possível viés pode estar relacionado ao fato da amostra ter uma média mais elevada de idade e ser composta em sua maioria por mulheres, onde a ocorrência de constipação intestinal é maior, o que pode determinar uma maior chance de degradação do antígeno do *H. pylori* (31).

Conclusão

O TAF imunocromatográfico apresentou uma sensibilidade baixa, a qual indica a incapacidade do teste em fazer o diagnóstico primário quando o paciente apresentar a infecção. Em função desse desempenho não ideal, seria importante testá-lo em um período pós-tratamento, a fim de aferir o seu desempenho diagnóstico na erradicação da *H. pylori*.

Com relação à concordância, o TAF apresentou uma concordância substancial com os métodos invasivos mais utilizados na prática clínica diária.

Referências

- (1) Zhou X, Su J, Xu G, Zhang G. Accuracy of stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: A meta-analysis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2014 Mar 11. doi: 10.1016 / j.clinre.2014.02.001.
- (2) Korkmaz H, Kesli R, Karabagli P, Terzi Y. Comparison of the diagnostic accuracy of five different stool antigen tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2013;18(5):384-91.
- (3) Kodama M, Murakami K, Okimoto T, Fukuda Y, Shimoyama T, Okuda M, et al. Influence of proton pump inhibitor treatment on *Helicobacter pylori* stool antigen test. *World J Gastroenterol*. 2012 Jan 7;18(1):44-8.
- (4) Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol*. 2013 Dec 7;19(45):8188-91.
- (5) Silva JMK, Villares CA, Monteiro MS, Colaúto C, Santos AF, Mattar R. Validation of a rapid stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Rev Inst Med Trop de São Paulo*. 2010;52:125-8.
- (6) Trevisani L, Sartori S, Rossi MR, Ruina M, Matarese V, Gullini S, et al. Evaluation of a new rapid immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* in faeces: a prospective pilot study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005 Feb 15;21(4):485-9.
- (7) Deguchi R, Matsushima M, Suzuki T, Mine T, Fukuda R, Nishina M, et al. Comparison of a monoclonal with a polyclonal antibody-based enzyme immunoassay stool test in diagnosing *Helicobacter pylori* infection after eradication therapy. *J Gastroenterol*. 2009;44(7):713-6.
- (8) Shimoyama T, Sawaya M, Ishiguro A, Hanabata N, Yoshimura T, Fukuda S. Applicability of a rapid stool antigen test, using monoclonal antibody to catalase, for the management of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol*. 2011;46(4):487-91.
- (9) Schwarzer A, Lottspeich C, Rüssmann H, Ossiander G, Koletzko S. Evaluation of a novel rapid one-step monoclonal chromatographic immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* in stool from children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26(7):475-80.
- (10) Blanco S, Forné M, Lacoma A, Prat C, Cuesta MA, Latorre I, et al. Comparison of stool antigen immunoassay methods for detecting *Helicobacter pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;61(2):150-5.
- (11) Jekarl DW, An YJ, Lee S, Lee J, Kim Y, Park YJ, et al. Evaluation of a newly developed rapid stool antigen test using an immunochromatographic assay to detect *Helicobacter pylori*. *Jpn J Infect Dis*. 2013;66(1):60-4.

- (12) Cardinali LCC, Rocha GA, Rocha AMC, de Moura SB, de Figueiredo Soares T, Esteves AMB, et al. Evaluation of [13C]Urea Breath Test and Helicobacter pylori Stool Antigen Test for Diagnosis of H. pylori Infection in Children from a Developing Country. *J Clin Microbiol.* 2003 Jul 1;41(7):3334-5.
- (13) Chehter EZ, Bacci MR, Fonseca FL, Gonçalves JA, Buchalla G, Shiraichi SA, et al. Diagnosis of the infection by the Helicobacter pylori through stool examination: Method standardization in adults. *Clin Biochem.* 2013 Oct;46(15):1622-4.
- (14) Miranda ACP, Machado RS, Kawakami E. Spontaneous elimination of Helicobacter pylori infection in a cohort of asymptomatic school children by enzyme-linked immunosorbent assay polyclonal antigen in stool. *J Clin Gastroenterol.* 2008;42(2):143-6.
- (15) Parente JM, da Silva BB, Palha-Dias MP, Zaterka S, Nishimura NF, Zeitune JM. Helicobacter pylori infection in children of low and high socioeconomic status in northeastern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;75(3):509-12.
- (16) Queiroz DM, Saito M, Rocha GA, Rocha AM, Melo FF, Checkley W, et al. Helicobacter pylori infection in infants and toddlers in South America: concordance between [13C]urea breath test and monoclonal H. pylori stool antigen test. *J Clin Microbiol.* 2013 Nov;51(11):3735-40.
- (17) Ragusa D, Machado RS, Ogata SK, Granato CF, Patrício FR, Kawakami E. Validation of a monoclonal stool antigen test for diagnosing Helicobacter pylori infection in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;50(4):400-3.
- (18) Ragusa D, Granato CF, Kawakami E. Evaluation of the stool antigen test for Helicobacter pylori in children and adolescents. *Dig Dis Sci.* 2005;50(3):453-7.
- (19) Gargallo C, Aranguren García P, Gomollón F. Infección por Helicobacter pylori. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 2012;11(2):90-6.
- (20) Sipponen P, Kekki M, Siurala M. The Sydney System: epidemiology and natural history of chronic gastritis. *J Gastroenterol Hepatol.* 1991;6(3):244-51.
- (21) Stolte M, Meining A. The updated Sydney system: classification and grading of gastritis as the basis of diagnosis and treatment. *Can J Gastroenterol.* 2001;15(9):591-8.
- (22) Coelho LG, Maguinilk I, Zaterka S, Parente JM, do Carmo Friche PM, Moraes-Filho JP. 3rd Brazilian Consensus on Helicobacter pylori. *Arq Gastroenterol.* 2013 Apr;50(2).
- (23) Muller LB, Fagundes RB, Moraes CC, Rampazzo A. Prevalence of Helicobacter pylori infection and gastric cancer precursor lesions in patients with dyspepsia. *Arq Gastroenterol.* 2007 Apr;44(2):93-8.

- (24) Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. Helicobacter pylori-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett.* 2014 Apr 10;345(2):196-202.
- (25) Hooton C, Keohane J, Clair J, Azam M, O'Mahony S, Crosbie O, et al. Comparison of three stool antigen assays with the ¹³C- urea breath test for the primary diagnosis of Helicobacter pylori infection and monitoring treatment outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006 Jun;18(6):595-9.
- (26) Calvet X, Lario S, Ramirez-Lazaro MJ, Montserrat A, Quesada M, Reeves L, et al. Comparative accuracy of 3 monoclonal stool tests for diagnosis of Helicobacter pylori infection among patients with dyspepsia. *Clin Infect Dis.* 2010 Feb 1;50(3):323-8.
- (27) Wu DC, Wu IC, Wang SW, Lu CY, Ke HL, Yuan SS, et al. Comparison of stool enzyme immunoassay and immunochromatographic method for detecting Helicobacter pylori antigens before and after eradication. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006 Dec;56(4):373-8.
- (28) Veijola L, Oksanen A, Löfgren T, Sipponen P, Karvonen AL, Rautelin H. Comparison of three stool antigen tests in confirming Helicobacter pylori eradication in adults. *Scand J Gastroenterol.* 2005;40(4):395-401.
- (29) Calvet X, Lario S, Ramirez-Lazaro MJ, Montserrat A, Quesada M, Reeves L, et al. Accuracy of Monoclonal Stool Tests for Determining Cure of Helicobacter pylori Infection After Treatment. *Helicobacter.* 2010 Jun 1;15(3):201-5.
- (30) Quesada M, Calvet X, Dosal A, Calvet V, Sanfeliu I, Ribera L, et al. Evaluation of four different fecal tests for determination of cure after Helicobacter pylori treatment. *J Clin Gastroenterol.* 2006;40(9):790-4.
- (31) Kamel HY, Abd-Al-Atty MF, El-Banoby MH, El-Baz AA, Sakr MA, Ahmed NS, et al. Stool antigen test in diagnosis of Helicobacter pylori in older adults with dyspepsia. *J Am Geriatr Soc.* 2011 Sep;59(9):1769-70.

Quadro 1. Desempenho do TAF imunocromatográfico para diagnóstico da infecção por *H. pylori* comparado ao padrão de referência (histopatologia + teste da urease)

		HISTOPATOLOGIA/ UREASE	
		POSITIVO	NEGATIVO
TAF imunocromatográfico	POSITIVO	31	2
	NEGATIVO	17	50

p<0,001

ACURÁCIA.....	0,800 (IC 95% 0,740-0,840)
ESPECIFICIDADE.....	0,962 (IC 95% 0,891-0,989)
SENSIBILIDADE:.....	0,646 (IC 95% 0,569-0,676)
VALOR PREDITIVO POSITIVO.....	0,939 (IC 95% 0,828-0,983)
VALOR PREDITIVO NEGATIVO.....	0,746 (IC 95% 0,691-0,768)
PREVALENCE ODDS RATIO	45,59(IC95% 10,75-188,53)

8 CONCLUSÕES

Em relação à concordância com o padrão ouro, o TAF apresentou uma concordância substancial com os métodos invasivos mais utilizados na prática clínica diária. Além disso, o TAF imunocromatográfico apresentou um bom desempenho quanto à especificidade diagnóstica.

No entanto, o TAF imunocromatográfico apresentou uma sensibilidade baixa, a qual indica a incapacidade do teste em fazer o diagnóstico primário quando o paciente apresentar a infecção. Em função desse desempenho não ideal, seria importante testá-lo em um período pós-tratamento, a fim de aferir o seu desempenho diagnóstico na erradicação da *H. pylori*.

9 PERSPECTIVAS PARA NOVOS ESTUDOS

A partir dos valores de desempenho diagnóstico do TAF imunocromatográfico encontrados neste estudo, assim como a concordância dos resultados desse teste com o método padrão adotado (histopatologia + teste da urease), a realização de novos estudos poderá definir melhor os resultados de acurácia diagnóstica do TAF imunocromatográfico.

Assim, para estudos futuros, o delineamento de uma amostra populacional maior é importante, bem como a necessidade de divisão dessa amostra em um período pré e pós-tratamento, a fim de avaliar o desempenho diagnóstico do teste com relação à sensibilidade e sua aplicação na avaliação pós-tratamento de erradicação do *H. pylori*.