

# Desempenho diagnóstico entre os métodos histopatológico e molecular na detecção de *Helicobacter pylori*

## *Diagnostic performance between histopathological and molecular methods in the detection of Helicobacter pylori*

Lucas Luiz L. Silva<sup>1</sup>; Igor M. C. Calassa<sup>1</sup>; Ana Karoline S. Oliveira<sup>1</sup>; Amanda F. P. L. Ramos<sup>1</sup>; Jaqueline C. Pontes<sup>1</sup>; Daniela M. M. Cardoso<sup>2</sup>; Lucas T. Rasmussem<sup>3</sup>; Lilian Carla Carneiro<sup>1</sup>; Monica S. Barbosa<sup>1</sup>

1. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. 2. Hospital das Clínicas, Goiânia, Goiás, Brasil. 3. Faculdade de Medicina de Marília, Marília, São Paulo, Brasil.

### RESUMO

**Introdução:** *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria Gram negativa considerada o agente etiológico de várias doenças gástricas. A prevalência da infecção bacteriana varia de acordo com idade, localização geográfica, etnia e *status* socioeconômico. A infecção crônica ocasionada por esse microrganismo pode favorecer o desenvolvimento de patologias severas, como o adenocarcinoma gástrico. Nesse sentido, o diagnóstico precoce é essencial para um melhor prognóstico e o sucesso terapêutico. Vários métodos de diagnóstico realizados com técnicas invasivas e não invasivas, com diferentes sensibilidade e especificidade, têm sido utilizados na detecção de *H. pylori*. **Objetivo:** Comparar o desempenho das técnicas molecular e histopatológica utilizadas no diagnóstico da infecção por *H. pylori*. **Métodos:** Setenta e seis amostras de tecido gástrico foram coletadas de pacientes dispépticos e submetidas ao diagnóstico molecular e histopatológico. A detecção molecular foi realizada utilizando o gene ribossomal (rRNA 16S) por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). **Resultados:** O método molecular de diagnóstico com base na PCR detectou a bactéria em 63,1% das amostras, enquanto o teste histopatológico identificou o microrganismo em apenas 38,1% das biópsias gástricas. Os dados demonstram que a técnica de PCR apresentou cerca de 1,6 vezes mais sensibilidade que a técnica histopatológica. **Conclusão:** A técnica de PCR foi o método de diagnóstico mais eficiente para detecção de *H. pylori* e pode ser implementada na rotina laboratorial como teste complementar para detecção precoce de *H. pylori*.

**Unitermos:** bactérias; biologia molecular; histologia; patologia.

### ABSTRACT

**Introduction:** *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is a Gram negative bacterium considered to be the etiologic agent of various gastric diseases. The prevalence of bacterial infection varies according to age, geographic location, ethnicity and socioeconomic status. The chronic infection caused by microorganism can favor the development of severe pathologies such as gastric adenocarcinoma. In this sense, early diagnosis is essential for a better prognosis and therapeutic success. Several diagnostic methods performed using invasive and non-invasive techniques, with different sensitivity and specificity, have been used in the detection of *H. pylori*. **Objective:** To compare the performance of the molecular and histopathological technique used in the diagnosis of *H. pylori* infection. **Methods:** 76 gastric tissue samples were collected from dyspeptic patients who underwent molecular and histopathological diagnosis. Molecular detection was performed using the ribosomal gene (16S rRNA) using the polymerase chain reaction (PCR) technique. **Results:** The PCR-based molecular diagnostic method detected the bacterium in 63.1% of the samples, while the histopathological test identified the microorganism in only 38.1% of gastric biopsies. The data demonstrated that the PCR technique was about 1.6 times more sensitive than the histopathological technique. **Conclusion:** The PCR technique was the most efficient diagnostic method for detecting *H. pylori* and can be implemented in the laboratory routine as a complementary test for the early detection of *H. pylori*.

**Key words:** bacteria; molecular biology; histology; pathology.

## RESUMEN

**Introducción:** *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria Gram negativa considerada agente etiológico de diversas enfermedades gástricas. La prevalencia de la infección bacteriana varía según la edad, la ubicación geográfica, la etnia y el nivel socioeconómico. La infección crónica provocada por esos microorganismos puede favorecer el desarrollo de patologías graves como el adenocarcinoma gástrico. Por esa razón, el diagnóstico precoz es fundamental para un mejor pronóstico y éxito terapéutico. En la detección de *H. pylori* se han utilizado varios métodos de diagnóstico realizados mediante técnicas invasivas y no invasivas, con diferentes sensibilidad y especificidad. **Objetivo:** Comparar el desempeño de las técnicas moleculares e histopatológicas utilizadas en el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. **Métodos:** Se recolectaron 76 muestras de tejido gástrico de pacientes dispépticos y se las sometieron a diagnóstico molecular e histopatológico. La detección molecular se realizó mediante el gen ribosómico (ARNr 16S) mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). **Resultados:** El método molecular de diagnóstico basado en PCR detectó la bacteria en el 63,1% de las muestras, mientras que la prueba histopatológica identificó el microorganismo en solo el 38,1% de las biopsias gástricas. Los datos demostraron que la técnica de PCR era aproximadamente 1,6 veces más sensible que la técnica histopatológica. **Conclusión:** La técnica de PCR fue el método diagnóstico más eficaz para la detección de *H. pylori* y puede implementarse en la rutina del laboratorio como prueba complementaria para la detección precoz de *H. pylori*.

**Palabras clave:** bacteria; biología molecular; histología; patología.

## INTRODUÇÃO

A *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria Gram negativa, ubíqua, espiral, pleomórfica, flagelada e microaerófila. A bactéria foi descoberta em 1983 por Marshall e Warren, que estabeleceram uma relação entre a infecção por microrganismos e as doenças gastrointestinais<sup>(1)</sup>. Esses achados levaram ao Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia concedido por pesquisadores em 2005<sup>(2)</sup>.

A infecção por *H. pylori* tem distribuição cosmopolita e afeta cerca de 50% da população mundial<sup>(3)</sup>. A taxa de prevalência da infecção é maior nos países emergentes, variando de 20% a 90%, dependendo da região geográfica. No Brasil, a prevalência varia de 50% a 80%, semelhante a África, onde a prevalência é de 70% a 90%<sup>(4)</sup>.

É necessária uma relação de desequilíbrio parasita-hospedeiro para que ocorra a infecção por *H. pylori*. As principais formas de transmissão aceitas são as vias oral-oral, gástrico-oral, fecal-oral e iatrogênica<sup>(3-6)</sup>. No entanto, foram propostas outras formas de transmissão, como a zoonótica e a sexual<sup>(7)</sup>.

*H. pylori* é considerada o agente etiológico de várias patologias gástricas, como gastrite, úlcera, atrofia, metaplasia, linfoma e adenocarcinoma gástrico. Devido ao seu alto potencial carcinogênico, a bactéria foi classificada como carcinogênica tipo I pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), subsidiada pela Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>(8)</sup>. Além disso, a infecção bacteriana está associada a doenças extragástricas, como púrpura trombocitopênica imune, anemia por deficiência de ferro e vitamina B12<sup>(9)</sup>.

Os métodos usados para rastrear a infecção por *H. pylori* podem ser divididos em invasivos e não invasivos. Os métodos invasivos são aqueles que envolvem o exame de endoscopia digestiva alta para a retirada de fragmento de tecido gástrico. Dentre os invasivos, estão cultura, teste da urease, reação em cadeia da polimerase (PCR) e exame histopatológico, considerado o padrão-ouro pelo IV Consenso Brasileiro sobre infecção por *Helicobacter pylori*. A PCR pode ser usada em várias amostras biológicas, e vários genes constitutivos como *ureA*, *glmM*, *ureC* e ácido ribonucleico ribossomal 16S (RNAr 16S) (*hpx*) têm sido alvos para a detecção da bactéria. Os métodos não invasivos não dependem de biópsia gástrica e envolvem testes como: teste com ureia marcada, sorológico e teste de antígenos fecais<sup>(10)</sup>.

O uso de técnicas adequadas com alta sensibilidade e especificidade são de extrema importância para um diagnóstico confiável da infecção. O diagnóstico precoce está associado a uma melhor qualidade de vida do paciente, uma vez que a presença da bactéria no trato gastrointestinal pode induzir várias patologias, entre elas, o adenocarcinoma<sup>(11-13)</sup>. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi comparar o desempenho da técnica molecular e histopatológica utilizada no diagnóstico da infecção por *H. pylori*.

## MÉTODOS

### Considerações éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de um Hospital Universitário (CAAE: 83422017.7.0000.5078),

publicado sob o número 2.519.032. Todos os pacientes inscritos leram e assinaram o Termo de Consentimento.

## Pacientes e amostras

Foram excluídos deste estudo os pacientes em uso de antibióticos, inibidores da bomba de prótons (IBP), imunossuppressores, participantes menores de 18 anos, grávidas, lactantes, indivíduos com diagnóstico de sangramento gastrointestinal e história de gastrectomia, além daqueles que não puderam acessar o resultado do diagnóstico histopatológico.

A coleta das amostras foi realizada em um Hospital Universitário de Goiânia, Goiás, Brasil, entre novembro de 2017 e setembro de 2018. O procedimento para obtenção das amostras gástricas seguiu as recomendações da Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Dois fragmentos do antro e dois do corpo gástrico foram retirados de cada paciente e enviados para o próprio laboratório de patologia clínica do hospital para análise histopatológica e para o Núcleo de Estudo da *Helicobacter pylori* (NEHP) para análise molecular.

## Exame histopatológico

A avaliação histológica dos espécimes foi realizada para verificar a presença do microrganismo e a alteração histológica. Os cortes histológicos do corpo e do antro gástrico tinham cerca de 0,6 × 0,3 × 0,2 cm de diâmetro, e a fixação das amostras foi realizada em formalina tamponada a 10% corada com Giemsa. O Sistema de Classificação Sidney foi utilizado para análise de infiltrado inflamatório<sup>(14)</sup>. As lâminas foram analisadas por um patologista experiente que não teve acesso aos dados moleculares.

## Diagnóstico molecular

A extração do ácido desoxirribonucleico (DNA) e as análises moleculares foram realizadas pelo NEHP. A extração do DNA das amostras do tecido gástrico seguiu o protocolo do kit QIAamp<sup>®</sup> (Qiagen, Valencia, CA, Estados Unidos). Uma alíquota de 10 µl foi reservada para quantificação de DNA, com a utilização do equipamento NanoDrop<sup>®</sup> (ND-1000 UV-Vis).

O DNA genômico foi amplificado pelo método de PCR descrito por Nevoa *et al.* (2017)<sup>(15)</sup>. A detecção molecular foi realizada com base no gene RNA ribossomal 16S, usando a amplificação do *primer*

*hpx/hpx1*. As sequências de oligonucleotídeos, as condições de amplificação e o tamanho do fragmento são descritos na **Tabela 1**.

A amplificação foi realizada em um termociclador Amplitherm<sup>®</sup> TX96 e cada reação consistiu em 33,5 µl de água Milli-Q, 5 µl de tampão de PCR 10×, contendo MgCl<sub>2</sub> (1,5 mM), 2 µl de dNTP (2,5 mM), 2 µl de cada par de oligonucleotídeo (10 pmol cada), 5 µl de amostra de DNA (50 ng) e 0,5 µl de Taq DNA polimerase (2,5 unidades), totalizando um volume de 50 µl por reação. Foram usados para cada reação o controle negativo e o controle positivo.

Para avaliação da amplificação gênica, os componentes da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, utilizando o corante para ácido nucleico BlueGreen (Lab Biotechnology) e o marcador de massa molecular DNA de 100 pares de bases (Cellco). A visualização ocorreu através do equipamento transiluminador sob luz ultravioleta (UV), e amostras que amplificaram um fragmento de 150 bp (pares de bases) foram consideradas positivas.

## Análise dos dados

Foi utilizado o *software* GraphPad Prism 8 para análise dos dados, aplicando-se o teste Qui-quadrado, considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

Foram coletadas amostras de 117 tecidos gástricos de pacientes dispépticos e 41 foram excluídas por não atenderem aos critérios de inclusão. Das amostras analisadas, 60/76 (78,94%) foram do sexo feminino e 16/76 (21,05%), do sexo masculino; a idade dos participantes variou de 18 a 83, com média de 46,6 anos.

As amostras para detecção de *H. pylori* foram analisadas pela técnica PCR e análise histopatológica. Foram consideradas positivas quando a bactéria foi detectada em pelo menos um dos testes e negativas quando o microrganismo estava ausente em ambos os testes. As amostras positivas submetidas à amplificação do gene RNAr 16S geraram um fragmento de 150 bp (**Figura 1**). Os resultados mostraram que 55/76 (72,3%) eram positivas e 21/76 (27,7%) negativas para *H. pylori*. Entre as amostras positivas, 43/55 (78,2%) eram do sexo feminino e 12/55 (21,8%), do masculino; a maioria tinha entre 18 e 40 anos (45,5%) (**Tabela 2**).

TABELA 1 – Condições de amplificação e *primers* de sequência usados para detecção de *H. pylori*

Gene	Primer	Sequência (5' → 3')	Condições de amplificação	pb	Referência
RNAr 16S	<i>hpx</i>	CTGGAGARACTAAGYCCTCC	94°C 5', 40 ciclos 94°C 1'	150	Luscenti e Gatti (2008) <sup>(16)</sup>
	<i>hpx1</i>	GAGGAATACTCATTGCGAAGGCGA	59°C 1'/72°C 1' e 72°C 7'		

RNAr: ácido ribonucleico ribossomal.

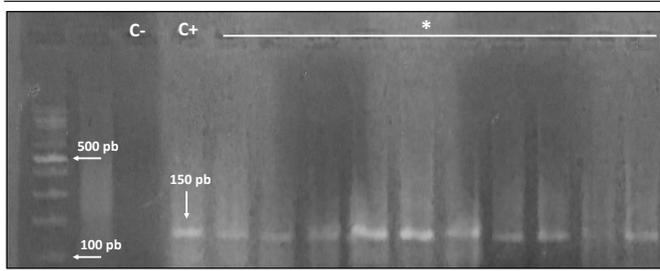


FIGURA 1 – Eletroforese em gel de agarose dos produtos amplificados por PCR do gene do RNA ribossomal 16S (hpx/hpx1)

M: marcador de DNA molecular de 100 pb; C-: controle negativo; C+: controle positivo; \*DNA proveniente de amostras de tecido gástrico de pacientes dispépticos; PCR: reação em cadeia da polimerase; DNA: ácido desoxirribonucleico.

TABELA 2 – Perfil dos pacientes dispépticos segundo gênero e faixa etária

Variáveis	Total (n = 76)		<i>H. pylori</i> positivo (n = 55)		<i>H. pylori</i> negativo (n = 21)	
	n	%	n	%	n	%
<b>Gênero</b>						
Feminino	60	78,9	43	78,2	17	80,9
Masculino	16	21,1	12	21,8	4	19,1
<b>Faixa etária</b>						
18-40	27	35,5	25	45,4	2	9,5
41-60	35	46,1	21	38,2	14	66,7
> 60	14	18,4	9	16,4	5	23,8

As amostras submetidas à análise histopatológica foram positivas quando evidenciaram a presença de *H. pylori* pela coloração de Giemsa (Figura 2).

Os resultados mostraram que 26 (34,2%) amostras deram positivas por meio da técnica PCR e negativas para análise histopatológica, enquanto apenas sete (9,2%) deram positivas para análise histopatológica e negativas para a PCR. Além disso, 22 (28,9%) amostras foram positivas e 21 (27,6%) negativas para ambos os testes (Tabela 3).

A técnica PCR foi aproximadamente 1,6 vezes mais sensível que o diagnóstico histopatológico. Os resultados mostraram que a ferramenta molecular detectou 48/76 (63,1%) amostras positivas, enquanto a análise histológica apenas 28/76 (38,1%). As análises estatísticas mostraram uma diferença significativa entre os métodos ( $p < 0,05$ ) (Figura 3).

As patologias gástricas foram classificadas de acordo com o diagnóstico endoscópico e histopatológico. Mais de um resultado clínico pode ser encontrado no mesmo paciente infectado. Os resultados mostraram que 1/79 (1,2%) dos pacientes tinha adenocarcinoma gástrico; 4/79 (5%), atrofia; 11/79 (15,1%), duodenite; 8/79 (10,1%), esofagite; 43/79 (55,6%), gastrite; 2/79 (2,5%), úlcera; 2/79 (2,5%), metaplasia e 7/79 (7,5%) apresentavam diagnóstico endoscópico normal (Tabela 4).

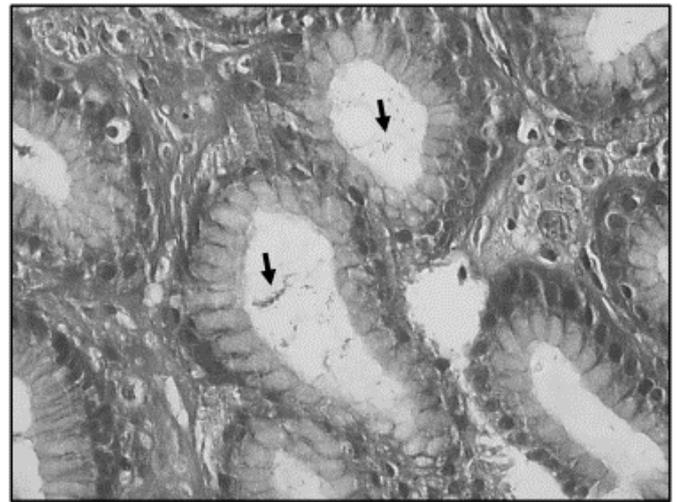


FIGURA 2 – Corte histológico da imagem do antro gástrico (aumento 400×), corado pela técnica de Giemsa, evidenciando a presença de *H. pylori*. A seta indica a presença de *H. pylori*.

TABELA 3 – Comparação dos resultados positivos e negativos de acordo com os testes moleculares e histopatológicos

PCR	Padrão-ouro		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	22	26	48
Negativo	7	21	28

PCR: reação em cadeia da polimerase.

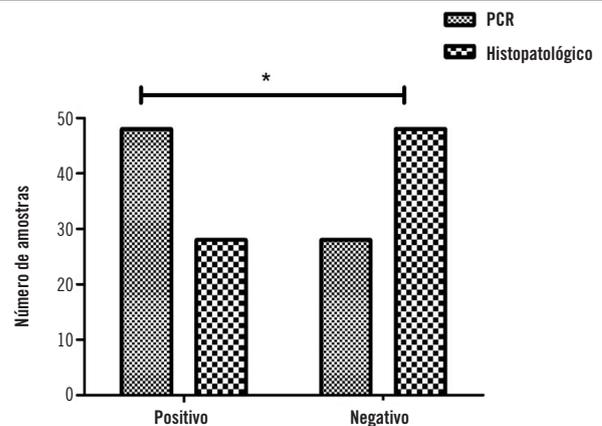


FIGURA 3 – Comparação dos resultados obtidos pelo método PCR e exame histopatológico PCR: reação em cadeia da polimerase.

TABELA 4 – Desfechos clínicos obtidos a partir do diagnóstico endoscópico e da análise histopatológica em pacientes *H. pylori* positivos

Desfechos clínicos (n = 79)	n	%
Adenocarcinoma gástrico	1	1,3
Atrofia	4	5,1
Duodenite	12	15,2
Esofagite	8	10,1
Gastrite	44	55,7
Úlcera	2	2,5
Metaplasia	2	2,5
Normal	6	7,6

## DISCUSSÃO

No presente estudo, a prevalência de infecção foi de 55/76 (72,3%), semelhante a outros países em desenvolvimento. Outro estudo<sup>(15)</sup> realizado na região central do Brasil com amostra semelhante apresentou prevalência de infecção de 77,6%, semelhante ao presente estudo. Vários métodos diagnósticos são usados para rastrear a infecção por *H. pylori*; para escolher o melhor teste, é necessário avaliar os parâmetros de sensibilidade e especificidade, o custo e a condição clínica do paciente. Portanto, são de extrema importância estudos que avaliem a eficácia diagnóstica<sup>(16-18)</sup>. Neste estudo, 78,1% dos pacientes eram do sexo feminino, corroborando o estudo de Ortiz *et al.* (2011)<sup>(19)</sup>, que utilizou amostra semelhante, identificando que 65,3% dos indivíduos eram mulheres. A pesquisa de Nevoa *et al.* (2017)<sup>(15)</sup> analisou as biópsias gástricas de 85 pacientes, sendo a maioria do gênero feminino (65,8%). A maior prevalência de mulheres infectadas pode ser explicada pelo fato de elas procurarem com maior frequência o serviço público de saúde. A idade dos participantes deste estudo variou de 18 a 83, com média de 46,6 anos, dado semelhante ao estudo de Nevoa *et al.* (2017)<sup>(15)</sup>, no qual a variação foi de 15 a 89 anos, com média de 40,77 anos.

O método histopatológico é considerado há décadas o exame mais comum para identificar a infecção<sup>(10)</sup>. Esse método diagnóstico foi considerado o padrão-ouro pelo IV Consenso Brasileiro sobre Infecção por *Helicobacter pylori* para detectar a presença da bactéria e avaliar as condições da mucosa gástrica. Alguns estudos mostraram que a sensibilidade do teste histopatológico é superior a diversas técnicas utilizadas para detectar o microrganismo. Além disso, a técnica padrão-ouro não é dispendiosa e simples de ser executada<sup>(20-23)</sup>. Por outro lado, estudos anteriores mostraram a inconveniência dessa técnica, como a capacidade do profissional em analisar as lâminas, além da ocorrência de resultados falso negativos, quando o fragmento coletado não contiver a bactéria. Isso se deve à distribuição irregular do microrganismo na mucosa gástrica, sendo necessária a retirada de dois fragmentos do corpo e dois do antro do estômago para minimizar esse evento<sup>(10, 20, 21)</sup>.

A análise histopatológica também pode ser afetada pelo uso recente de medicamentos, como sais de bismuto, IBPs e antibióticos, que levam à redução da densidade bacteriana. Após o tratamento de erradicação, essa metodologia apresenta uma diminuição da sensibilidade, podendo ser ainda menor do que o teste da urease, no entanto, o exame histopatológico é comumente usado para monitorar as lesões inflamatórias após o tratamento<sup>(10, 19)</sup>. Neste estudo, foram excluídos os pacientes que estavam em tratamento ou em uso de IBP e antibióticos, portanto, a técnica histológica pode não ter sido influenciada por esses fatores.

Nas últimas décadas, a detecção molecular mudou dramaticamente o tratamento clínico de muitas doenças

infecciosas<sup>(21)</sup>. A PCR é um dos melhores métodos moleculares usados em uma ampla gama de aplicações clínicas, apresentando simplicidade de execução, alta sensibilidade e especificidade, permitindo a genotipagem de diferentes cepas e a identificação de genes de virulência e resistência a antibióticos<sup>(24, 25)</sup>. O presente estudo avaliou 76 amostras, das quais 48 foram positivas por meio da técnica PCR; apenas 29 foram detectadas pelo diagnóstico histopatológico, demonstrando que a melhor detecção do *H. pylori* é por meio da ferramenta molecular. Esses dados corroboram o estudo de Ruparella *et al.* (2013)<sup>(26)</sup> que avaliou diversos parâmetros dos testes convencionais e da PCR, apontando uma maior precisão da metodologia molecular. A pesquisa de Rasmussen *et al.* (2010)<sup>(27)</sup> também mostrou uma melhor detecção da bactéria *H. pylori* usando a PCR, em comparação com o teste histológico, no entanto, a eficácia da PCR foi menor em comparação com o uso da técnica de Southern Blotting.

Um estudo recente de Nevoa *et al.* (2017)<sup>(15)</sup> comparou a sensibilidade do teste rápido da urease entre a técnica de PCR, usando o gene ribossomal *hpx1/hpx2* e o gene constitutivo da urease *h5/h6*. Os autores demonstraram que independentemente do gene da *H. pylori* utilizado para amplificação, a técnica PCR demonstrou melhor sensibilidade em relação ao teste da urease.

O estudo de Ortiz *et al.* (2011)<sup>(19)</sup> mostrou aumento da sensibilidade de 80,3% com o exame histopatológico e de 90,3% com o uso da metodologia molecular. Além disso, os autores mostraram que o teste molecular combinado com o teste histológico apresentou maior sensibilidade do que o teste rápido da urease, quando combinado com a PCR ou o teste histológico<sup>(26)</sup>. Nossos resultados demonstraram que, individualmente, a técnica histológica apresentou positividade de 38,1%, a PCR, de 63,1% e, quando combinadas, 72,3% de positividade. Além disso, observou-se que 26 (34,2%) amostras foram positivas exclusivamente para a técnica molecular e sete (9,2%) exclusivamente para o exame histopatológico. Apesar das vantagens da PCR, a técnica pode apresentar algumas limitações, como coleta inadequada das amostras e presença de inibidores de reação. Além disso, a PCR pode detectar DNA de bactérias mortas presentes na mucosa gástrica de pacientes após o tratamento, gerando resultados falso positivos<sup>(23, 28, 29)</sup>. Esses dados reforçam a importância de utilização da técnica PCR-histologia, com o objetivo de aumentar a sensibilidade, evitando possíveis casos de resultados falso negativos.

A infecção por *H. pylori* pode se manifestar de forma assintomática; nessa situação, não é possível determinar a presença da bactéria com base em sintomas ou achados clínicos. Nesse sentido, é importante uma ferramenta com alta sensibilidade que permita a detecção da bactéria em indivíduos assintomáticos. Os resultados clínicos da infecção podem ser graves ou não graves e serão determinados de acordo com a relação parasita-hospedeiro.

Este estudo mostrou que a gastrite foi a principal patologia associada à infecção por *H. pylori*, seguida por esofagite e duodenite. O estudo de Barbosa e Schinonni (2011)<sup>(30)</sup> relatou que 95% dos casos de gastrite crônica têm a bactéria *H. pylori* como agente etiológico.

## CONCLUSÃO

O *H. pylori* representa uma das infecções bacterianas mais comuns nos seres humanos, causando graves anomalias,

incluindo a gastrite crônica e o câncer gástrico. Um diagnóstico preciso da infecção por *H. pylori* é o primeiro passo importante para o êxito do tratamento. A PCR foi superior porque apresentou uma sensibilidade aproximadamente 1,6 vezes maior que o exame histopatológico. Atualmente, a PCR não é utilizada na rotina laboratorial devido ao seu alto custo, quando comparada com outras técnicas, inviabilizando seu uso, principalmente no sistema público de saúde. Com relação a esse fato, é necessário continuar nossos esforços para obter testes diagnósticos mais adequados e confiáveis.

## REFERÊNCIAS

- Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev. 1997; 10(4): 720-41. PubMed PMID: 9336670.
- Warren JR. *Helicobacter*: the ease and difficulty of a new discovery (Nobel lecture). Chem Med Chem. 2006; 1(7): 672-85. PubMed PMID: 16902916.
- Miftahussurur M, Nusi IA, Akil F, et al. Gastric mucosal status in populations with a low prevalence of *Helicobacter pylori* in Indonesia. PLoS One. 2017; 12(5): e0176203. PubMed PMID: 28463979.
- Ben Mansour K, Fendri C, Battikh H, et al. Multiple and mixed *Helicobacter pylori* infections: comparison of two epidemiological situations in Tunisia and France. Infect Genet Evol. 2016; 37: 43-8. PubMed PMID: 26518911.
- Aziz RK, Khalifa MM, Sharaf RR. Contaminated water as a source of *Helicobacter pylori* infection: a review. J Adv Res. 2015; 6(4): 539-47. PubMed PMID: 26199743.
- McDaniels AE, Wymer L, Rankin C, et al. Evaluation of quantitative real time PCR for the measurement of *Helicobacter pylori* at low concentrations in drinking water. Water Res. 2005; 39(19): 4808-16. PubMed PMID: 16278002.
- Talaei R, Souod N, Momtaz H, et al. Milk of livestock as a possible transmission route of *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol Hepatol from Bed to Bench. 2015; 8(Sup1): S30-36. PubMed PMID: 26171135.
- IARC. Biological Agents. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012; 100: 1-443. PubMed PMID: 23189750.
- Zhong C, Li KN, Bi JW, et al. Sodium intake, salt taste and gastric cancer risk according to *Helicobacter pylori* infection, smoking, histological type and tumor site in China. Asian Pacific J Cancer Prev. 2012; 13(6): 2481-4. PubMed PMID: 22938408.
- Coelho LGV, Marinho JR, Genta R, et al. IV Brazilian Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Arq Gastroenterol. 2018; 55(2): 97-121. PubMed PMID: 29668771.
- Arismendi-morillo G, Hernández I, Mengual E, et al. Comparison of three methods based on endoscopic gastric biopsies for diagnosis of *Helicobacter pylori* active infection in a clinical setting. Arq Gastroenterol. 2011; 48(3): 190-4. PubMed PMID: 21952704.
- Czinn SJ. *Helicobacter pylori* infection: detection, investigation, and management. J Pediatr. 2005; 146(3 Suppl): S21-6. PubMed PMID: 15758899.
- Kato T, Yagi N, Kamada T, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric mucosa by endoscopic features: a multicenter prospective study. Dig Endosc. 2013; 25(5): 508-18. PubMed PMID: 23369058.
- Dixon MF. Chapter 38: Pathology of gastritis and peptic ulceration. In: Mobley HL, Mendz GL, Hazell SL, editors. *Helicobacter pylori*: physiology and genetics. 1 ed. Washington (DC).
- Nevoa JC, Rodrigues RL, Menezes GL, et al. Molecular technique for detection and identification of *Helicobacter pylori* in clinical specimens: a comparison with the classical diagnostic method. J Bras Patol Med Lab. 2017; 53(1): 13-9.
- Luscenti R, Gatti LL. Diagnóstico molecular da infecção pelo *Helicobacter pylori* em mucosa gástrica. Rev Para Med. 2008; 22(1): 21-26.
- El Khadir M, Alaoui Boukhris S, Benajah DA, et al. *Helicobacter pylori* CagA EPIYA-C motifs and gastric diseases in Moroccan patients. Infect Genet Evol. 2018; 66: 120-9. PubMed PMID: 30244090.
- Miftahussurur M, Yamaoka Y. Diagnostic methods of *Helicobacter pylori* infection for epidemiological studies: critical importance of indirect test validation. Biomed Res Int. 2016; 2016: 4819423. PubMed PMID: 26904678.
- Ortiz JIM, Aldana AA, Ibarra JJS, et al. Evaluación de diferentes pruebas para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. Investig Andin. 2011; 13(23): 297-311.
- Aumpan N, Vilaichone R-K, Chotivitayatarakorn P, et al. High efficacy of rapid urine test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Thai people. Asian Pacific J Cancer Prev. 2019; 20(5): 1525-9. PubMed PMID: 31128058.

21. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, et al. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc.* 1997; 45(6): 463-7. PubMed PMID: 9199901.
22. Leung JK, Gibbon KJ, Vartanian RK. Rapid staining method for *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *J Histotechnol.* 1996; 19(2): 131-2.
23. Sabbagh P, Mohammadnia-Afrouzi M, Javanian M, et al. Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection: ideals, options, and limitations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019; 38(1): 55-66. PubMed PMID: 30414090.
24. Menoni SMF, Bonon SHA, Zeitune JMR, et al. PCR-based detection and genotyping of *Helicobacter pylori* in endoscopic biopsy samples from Brazilian patients. *Gastroenterol Res Pract.* 2013; 2013: 1-8. PubMed PMID: 23401678.
25. Rimbara E, Sasatsu M, Graham DY. PCR detection of *Helicobacter pylori* in clinical samples. *Methods Mol Biol.* 2013; 943: 279-87. PubMed PMID: 23104297.
26. Ruparella JR, Sodagar NR, Patel JS, et al. Comparison of conventional diagnostic modalities with PCR for detection of *Helicobacter pylori* infection in symptomatic patients. *Asian J Med Pharm Res.* 2013; 105-110: 105-10.
27. Rasmussen LT, de Labio RW, Gatti LL, et al. *Helicobacter pylori* detection in gastric biopsies, saliva and dental plaque of Brazilian dyspeptic patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010; 105(3): 326-30. PubMed PMID: 20512249.
28. Kalali B, Formichella L, Gerhard M. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: changes towards the future. *Diseases.* 2015; 3(3): 122-35. PubMed PMID: 28943614.
29. Raggi CC, Pinzani P, Paradiso A, et al. External quality assurance program for PCR amplification of genomic DNA: an Italian experience. *Clin Chem.* 2003; 49(5): 782-91. PubMed PMID: 12709370.
30. Barbosa JA, Schinonni MI. *Helicobacter pylori*: associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. *Rev Ciências Médicas Biológicas.* 2011; 10(3): 254-62.

#### AUTOR CORRESPONDENTE

---

Monica Santiago Barbosa  0000-0001-6964-5219  
e-mail: santiagosant@gmail.com



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.