



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

MÔNICA BARAÚNA DE ASSUMPÇÃO

**COMPARAÇÃO DAS CEPAS DE *Helicobacter pylori* NA PLACA
BACTERIANA DENTAL E MUCOSA GÁSTRICA**

BELÉM
2006

MÔNICA BARAÚNA DE ASSUMPÇÃO

**COMPARAÇÃO DAS CEPAS DE *Helicobacter pylori* NA PLACA
BACTERIANA DENTAL E MUCOSA GÁSTRICA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia das Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Patologia das Doenças Tropicais.

Área de Concentração: Clínica das Doenças Tropicais
Orientadora: Prof. Dra. Tereza Cristina de Oliveira Corvelo

BELÉM
2006

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)-
Biblioteca do Núcleo de Medicina Tropical**

Assumpção, Mônica Baraúna de

Comparação das cepas de *Helicobacter pylori* na placa bacteriana dental e mucosa gástrica / Mônica Baraúna de Assumpção; orientadora, Tereza Cristina de Oliveira Corvelo. - 2006.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Núcleo de Medicina Tropical. Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais. Belém, 2006.

1. Gastrite. 2. *Helicobacter pylori*. 3. Estômago – Úlceras. I. Corvelo, Tereza Cristina de Oliveira, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por Valdenira de Jesus NMT/UFPA

MÔNICA BARAÚNA DE ASSUMPÇÃO

COMPARAÇÃO DAS CEPAS DE *Helicobacter pylori* NA PLACA BACTERIANA DENTAL E MUCOSA GÁSTRICA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia das Doenças Tropicais do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Patologia das Doenças Tropicais.

Área de Concentração: Clínica das Doenças Tropicais

Orientadora: Prof. Dra. Tereza Cristina de Oliveira Corvelo

Data da aprovação:

Banca examinadora:

Tereza Cristina de Oliveira Corvelo – Orientadora
Professora Doutora
Universidade Federal do Pará

Rommel Mario Rodríguez Burbano
Professora Doutora
Universidade Federal do Pará

Edna Aoba Ishikawa
Professora Doutora
Universidade Federal do Pará

Artur Luiz da Costa da Silva – Suplente
Professora Doutora
Universidade Federal do Pará

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Raul e Elisabeth pelo amor e pela oportunidade de educação. Ao meu marido Paulo Assumpção, meu grande incentivador. Aos meus filhos, irmãos e todos da minha família pelo amor e carinho.

À minha orientadora Tereza Cristina Corvelo, pelo conhecimento, paciência e consideração a mim dispensados. Aos membros do Laboratório de Imunogenética, especialmente a Hivana Patrícia Melo, Sintia Almeida e Luiza Martins. Obrigada a todos por terem me permitido a realização deste trabalho.

Ao Hospital Universitário João de Barros Barreto, profissionais desta instituição e aos pacientes que contribuíram tão significativamente para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora pela participação na avaliação deste trabalho. À UFPa, ao NMT pela oportunidade desta pós-graduação e aos funcionários, professores e colegas de turma do mestrado pelos ensinamentos e amizade.

RESUMO

A infecção pela *Helicobacter pylori*, é extremamente frequente em todo o mundo, com prevalência maior em países em desenvolvimento. Está associada à gastrite crônica, úlcera gástrica e duodenal e é considerada um fator de risco para câncer gástrico e linfoma MALT do estômago. As rotas de transmissão desta bactéria ainda não estão completamente esclarecidas, sendo as mais prováveis a oral-oral e fecal-oral. A importância da presença da bactéria da placa dental permanece obscura, podendo constituir-se em fonte de infecção gástrica. Objetivando identificar e correlacionar as cepas da *H. pylori* presentes em biopsias gástricas e em amostras de placa dental, foram avaliados 99 pacientes adultos dispépticos, submetidos a endoscopia digestiva alta no Hospital Universitário João de Barros Barreto, da Universidade Federal do Pará, no ano de 2005. Amostras da placa dental foram obtidas utilizando coletores esterilizados, e analisadas pelo teste da urease e pela Reação em cadeia da polimerase (PCR). Durante a endoscopia, seis biopsias foram retiradas do antro gástrico e analisadas pelo teste da urease, exame histopatológico e PCR, após consentimento informado e aprovação pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário João de Barros Barreto. Os resultados obtidos foram analisados utilizando-se o programa BioEstat 3.0. A bactéria foi identificada em 96% das biopsias gástricas e em 72% das amostras de placas dentais, diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Em relação à idade e sexo, não houve diferença estatística. Todos os pacientes apresentaram alterações gástricas, sendo que 18% apresentaram grau maior de severidade, com lesões ulceradas à endoscopia e/ou lesão pré-maligna do tipo metaplasia intestinal à histopatologia, nestes houve concomitância de infecção na placa dental e mucosa gástrica em 82,4%. Dentre os testes utilizados o de maior sensibilidade foi a PCR, tanto em amostras gástricas como na placa dental. Nos casos de positividade para a bactéria na placa dental (71 casos), houve coincidência entre as cepas da mucosa gástrica e placa dental em 89%. O genótipo mais frequentemente identificado foi *s1bm1 cagA* positivo, tanto na mucosa gástrica, quando na placa dental. As cepas tipo 1, consideradas as mais patogênicas foram encontradas em 63 pacientes na mucosa gástrica e em 58 pacientes na placa dental. A frequência elevada da *H. pylori* na placa dental, pode ser um indicador de que a cavidade oral seria um sítio de colonização deste micro-organismo, a partir do qual poderia ser diretamente disseminada, constituindo-se em um fator de risco para infecção gástrica.

Palavras-Chave: *Helicobacter pylori*, *s1bm1 cagA*, gastrite crônica, úlcera gástrica e úlcera duodenal.

ABSTRACT

Helicobacter pylori infection is extremely frequent over the world, mainly in development countries, including Brazil. It's associated to chronic gastritis, duodenal and gastric ulcer, and is considered as an important risk factor for gastric cancer and gastric MALT lymphoma. The transmission routes remain unclear, but oral-oral and fecal-oral routes seem to be the most probable ones. The value of the presence of the bacteria on the dental plaque also remains unclear, and it maybe a source for gastric infection. Aiming in identifying and correlating the *H. pylori* stains found in gastric mucosa and dental plaque of 99 adult dyspeptic patients submitted to upper digestive endoscopies at Hospital Universitário João de Barros Barreto, in 2005 were evaluated. Samples from dental plaque were collected by sterile sticks and urease test and polymerase (PCR) chain reaction were undertaken. During the endoscopic procedure 6 pieces were collected from antrum and investigated by urease test, histopathology and PCR, after obtaining informed consent. The results were analyzed using BioEstat 3.0 package. The bacteria was found in 96% of gastric samples and in 72% of dental plaque samples, and this difference was statistically significant ($p < 0,001$). There weren't statistically significant differences related to age or gender. Every patient presented gastric diseases. In 18% of the cases lesions considered as of higher severity such as ulcers or pre-malignant lesions, as intestinal metaplasia, were found, and, among these, there were 82.4% of cases with both gastric and dental plaque infection. PCR was the most efficient test either on dental plaque and gastric mucosa samples. Among the 71 cases where the dental plaque samples were positive for the presence of the bacteria, the stains were identical to the gastric mucosa *H. pylori* stains in 89%. The most common genotype was *s1bm1cagA* positive, either at dental plaque and gastric mucosa. The type 1 strains, considered the most pathogenic ones, were found in 63 patients on gastric mucosa and in 58 patients on dental plaque. The high frequency of *H. pylori* found on dental plaque might indicate the oral cavity as a colonizing locus for this bacteria and a risk factor for gastric infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, *cagA s1bm1*, chronic gastritis, gastric ulcer, duodenal ulcer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Micrografia Eletrônica da *H. pylori*, demonstrando sua morfologia curvada e seus flagelos.....14
- Figura 2** – Diagrama da co-agregação bacteriana na superfície dental, proposta por Rickard et al., 200332
- Figura 3** – Bactéria embebida no biofilme mostrando uma distribuição não uniforme de atividade fisiológica (verde) e as demais espécies bacterianas no biofilme independente de sua atividade (vermelho)33
- Figura 4** – Proporção de positividade ao DNA da *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental, de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 200546
- Figura 5** – Diagnóstico das doenças gástricas em pacientes com infecção da *H. pylori*, de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.....49
- Figura 6** – Frequência das cepas *H. pylori cagA* na mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 200552
- Figura 7** – Distribuição genotípica de *vacA / cagA* em mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 200553
- Figura 8** – Frequências das cepas da *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 200554

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Iniciadores utilizados na amplificação do DNA bacteriano.....	44
Tabela 2 – Prevalência da detecção do DNA da <i>H. pylori</i> na mucosa gástrica e placa dental nos pacientes estudados, de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005	45
Tabela 3 – Distribuição de frequências da detecção do DNA da <i>H. pylori</i> no estômago e placa dental de acordo com as características de idade e sexo de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.....	47
Tabela 4 – Relação entre a detecção do DNA da <i>H. pylori</i> na placa dental e o desenvolvimento de doenças gástricas associadas com a presença da <i>H. pylori</i> no estômago de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005	48
Tabela 5 – Resultados dos diferentes testes diagnósticos na detecção da <i>H. pylori</i> em espécimes de mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.....	50
Tabela 6 – Comparação entre os tipos de cepas em espécimes de mucosa gástrica e placa dental, pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR) de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.....	52
Tabela 7 – Perfil das cepas <i>H. pylori cagA</i> na mucosa gástrica e placa dental, de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.....	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 A BACTÉRIA <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	11
1.1.1 Histórico	11
1.1.2 Morfologia	13
1.1.3 Fatores de Virulência	15
1.1.3.1 Citotoxina associada ao gene A (CagA)	17
1.1.3.2 Citotoxina vacuolizante (VacA)	18
1.1.4 Diagnóstico da <i>H. pylori</i>	20
1.1.5 Epidemiologia da infecção pela <i>H. pylori</i>	23
1.1.5.1 Prevalência	23
1.1.5.2 Rotas de transmissão	25
1.1.6 Associação com afecções gástricas	27
1.2 A PLACA DENTAL	28
1.2.1 Classificação e composição da placa dental	28
1.2.2 A infecção pela bactéria <i>H. pylori</i> na placa dental	34
1.3 OBJETIVOS	35
1.3.1 Geral	35
1.3.2 Específicos	35
2 MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1 CASUÍSTICA	37
2.2 QUESTÕES ÉTICAS	37
2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO NO ESTUDO	38

2.4 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	38
2.4.1 Biópsia gástrica.....	38
2.4.2 Placa dental	38
2.5 DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS LABORATORIAIS.....	39
2.5.1 Detecção Histopatológica da <i>Helicobacter pylori</i>	39
2.5.2 Detecção da <i>Helicobacter pylori</i> utilizando teste da urease	40
2.5.3 Diagnóstico e genotipagem da bactéria <i>H. pylori</i>	40
2.5.3.1 Extração de DNA bacteriano	40
2.5.3.2 Condições do PCR.....	42
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
3 RESULTADOS.....	45
3.1 IDENTIFICAÇÃO DA <i>H. PYLORI</i> DO ANTRO GÁSTRICO E DA PLACA DENTAL POR PCR	45
3.2 ASSOCIAÇÃO DA <i>H. PYLORI</i> NA PLACA DENTAL E ESTÔMAGO, COM IDADE E SEXO	46
3.3 O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS GÁSTRICAS E O DIAGNÓSTICO DA <i>H. PYLORI</i> NA MUCOSA GÁSTRICA E PLACA DENTAL	47
3.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS TESTES USADOS PARA DETECÇÃO DA BACTÉRIA <i>H. PYLORI</i>	49
3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS CEPAS DA <i>H. PYLORI</i> DETECTADAS NO ESTÔMAGO E NA PLACA DENTAL	50
4 DISCUSSÃO	55
5 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
APÊNDICE.....	80
APÊNDICE A	80
APÊNDICE B	83

1 INTRODUÇÃO

1.1 A BACTÉRIA *Helicobacter pylori*

1.1.1 Histórico

Desde o final do século XIX bactérias de forma espiralada vêm sendo descritas, no estômago de humanos e de animais, porém durante muito tempo, foram classificadas como micro-organismos comensais (MARSHALL; WARREN, 1983).

Ao longo do tempo outros autores também observaram a presença de micro-organismos espiralados em estômagos de homens e animais, como Balfour (1906 apud MARSHALL; WARREN, 1984, p. 1311) que mostrou a presença da bactéria em úlceras de cães e macacos e Krienitz (1906 apud MARSHALL; WARREN, 1984, p.1311) que descreveu a presença de micro-organismos similares em biopsias gástricas e vômito de pacientes com câncer gástrico.

No ano de 1975, Steer; Colin-Jones, estudando amostras de biópsias gástricas da região antral, observaram que 80% dos pacientes portadores de úlcera, por eles estudados, apresentavam bacilos Gram-negativos, então descritos como pertencentes ao gênero *Pseudomonas*.

O patologista Robin Warren, também descreveu a presença de uma bactéria curva na superfície das células epiteliais gástricas em pacientes portadores de úlcera péptica, porém pouco se conhecia sobre a bactéria devido às dificuldades de isolamento. Somente em 1983, Marshall e Warren, conseguiram, pela primeira vez, isolar em cultura a bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), aplicando método de isolamento similar ao gênero *Campylobacter* e puderam relacionar a sua presença

na mucosa gástrica humana com a ocorrência de doenças (MARSHALL; WARREN, 1984).

A comprovação da participação da bactéria na patogênese da gastrite foi demonstrada, de maneira irrefutável, em experimento, no qual os pesquisadores se submeteram à ingestão de uma cultura de *H. pylori*, seguida da demonstração histológica de gastrite crônica ativa, além da ocorrência de sintomas dispépticos, não observados anteriormente à ingestão da cultura (MARSHALL et al., 1985).

As descobertas de Marshall e Warren revolucionaram o conhecimento da patogênese de doenças gástricas, conduzindo a mudanças em condutas terapêuticas e diagnósticas na gastroenterologia, conferindo-lhes recentemente o prêmio Nobel de medicina de 2005 (VAN DER WEYDEN et al., 2005).

A *H. pylori* foi inicialmente denominada *Campylobacter pyloridis* em função de sua similaridade com as bactérias do gênero *Campylobacter* e de sua localização na região do antro ou piloro gástrico. Após estudos sobre a morfologia e fisiologia ficou evidente que a espécie não se enquadrava no gênero *Campylobacter*, fazendo-se então necessária a criação do novo gênero, denominado *Helicobacter* (VANDAMME; GOOSENS, 1992).

Em 1994, durante conferência do Instituto Nacional de Saúde nos Estados Unidos da América, concluiu-se ser a *H. pylori* uma das principais causas de úlceras pépticas (NIH, 1994).

Após evidências epidemiológicas e experimentais de sua participação na gênese do adenocarcinoma gástrico, a bactéria *H. pylori* foi classificada como carcinógeno humano de grau I, pela Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC, 1994).

No entanto para melhor entendermos a patologia desta bactéria, necessitamos esclarecimentos sobre as rotas de transmissão da infecção e a distribuição da bactéria no trato gastrintestinal, incluindo a cavidade oral. Há evidências de que a bactéria seja encontrada também na cavidade oral, porém questões como qual a relação entre a presença da bactéria da cavidade oral e a infecção no estômago, permanecem obscuras (SONG et al., 2000c).

A primeira documentação da presença da *H. pylori* na cavidade oral ocorreu em 1989, quando a bactéria foi cultivada da placa dental de um paciente com doença gástrica associada a *H. pylori* (KRAJDEN, 1989).

Estudos comparativos relacionando cepas da bactéria da cavidade oral e da mucosa gástrica vêm sendo realizados, não havendo, no entanto uniformidade de métodos e conseqüentemente de resultados. Alguns autores sugerem que a bactéria não esteja consistentemente presente na cavidade oral, mas transitoriamente por meio de alimentos ingeridos ou devido a refluxo gastroesofágico (ISHIHARA et al., 1997).

O papel da bactéria no desenvolvimento e recorrência de úlceras duodenais e gástricas é bem documentado (DOWSETT; KOWOLIK, 2003), porém a importância clínica da presença da *H. pylori* na cavidade oral permanece indefinida, tornando necessários estudos adicionais, especialmente utilizando técnicas que adequadamente permitam definir as cepas existentes da cavidade oral e relacioná-las à infecção ou reinfecção gástrica (SONG et al., 2000c).

1.1.2 Morfologia

A *H. pylori* (figura 1) é bactéria Gram-negativa, pertencente ao filo Proteobacteria, classe Epsilonproteobacteria, ordem Campylobacterales, família Helicobacteraceae, gênero Helicobacter e espécie *H. pylori*, que coloniza a mucosa gástrica, especialmente o antro. Possui forma de S ou espiralada, medindo 1,5 a 5 µm de comprimento e 0,3 a 1,0 µm de espessura. Sua motilidade é assegurada pela presença de 2 a 6 flagelos unipolares, os quais permitem motilidade e facilitam sua penetração no muco gástrico (DUNN et al., 1997).

Em culturas, cresce preferencialmente em atmosferas com concentrações reduzidas de oxigênio (5 a 15%), acrescidas de gás carbônico, e com temperatura em torno de 37°C (DUNN et al., 1997; RAVEL, 1997; VELAZQUEZ; FEIRTAG, 1999).



Figura 1. Micrografia Eletrônica da *H. pylori*, demonstrando sua morfologia curvada e seus flagelos (SUTON, 2001).

Pode se apresentar com as seguintes formas: a espiralada e a cocoide (CHAN et al., 1994; COLE et al., 1997; ENROTH et al., 1999). Acredita-se que a forma cocoide seja morfologia de resistência, capaz de suportar condições adversas do meio ambiente, podendo retornar à forma espiralada, em condições favoráveis. Desta maneira, poderia participar da transmissão de doenças (CAVE, 1997; COLE et al., 1999; HULTÉN et al., 1996).

Contudo, as características da forma cocoide, tais como, sua estrutura, viabilidade e processo de transformação para a forma espiralada permanecem obscuros. Alguns estudos descrevem a forma cocoide como uma estrutura de morte bacteriana, não viável (KUSTERS et al., 1997). Outros trabalhos demonstram que seria uma forma viável (REN, 1999; SAITO et al., 2003). Segal et al. (1996) sugerem que a forma cocoide poderia ser capaz de se ligar e induzir modificações celulares da mesma maneira que ocorre com a forma espiralada.

1.1.3 Fatores de virulência

A *H. pylori* possui diversos fatores de virulência importantes para a colonização e sua sobrevivência no estômago do hospedeiro, e fatores que causam danos à mucosa gastroduodenal (MARSHALL, 1994; COVACCI et al., 1999; TORRES et al., 2000). Dentre esses fatores, destaca-se a enzima urease, responsável pela degradação da ureia em bicarbonato e amônia, elevando o pH ao redor da bactéria, criando um ambiente propício à colonização da mucosa gástrica (MARSHALL, 1994), por aumentar a ligação da bactéria ao epitélio do estômago, além de ser importante indutor da resposta do hospedeiro à bactéria. (PANCHAL et al., 2003).

A presença de flagelos polares e a forma espiralada conferem à bactéria eficiente motilidade no muco gástrico, permitindo que alcance o epitélio gástrico (DUNN et al., 1997; ISRAEL; PEEK, 2001).

A *H. pylori* possui adesinas, importantes no processo de colonização. Estas são responsáveis pela interação entre a bactéria e receptores celulares, estruturas glicoconjugadas, presentes na mucosa gástrica (DUNN et al., 1997; COVACCI et al., 1999).

Os mecanismos de adesão da bactéria ainda não estão totalmente esclarecidos. Acredita-se que esta ligação seja mediada por antígenos de grupos sanguíneos Lewis b (Leb) e H tipo 1, os quais são expressos na superfície dos eritrócitos e de células da mucosa gástrica (COVACCI et al., 1999; KANDEL, 2000).

A adesina bacteriana melhor caracterizada é a proteína BAB A, codificada pelo gene *BabA2*, a qual se liga ao antígeno de grupo sanguíneo Leb no epitélio gástrico (ILVER et al., 1998; COVACCI et al., 1999). O referido gene não está presente em todas as cepas de *H. pylori*. As cepas *BabA2* positivas estão associadas a risco aumentado de úlcera péptica e adenocarcinoma gástrico (ISRAEL; PEEK, 2001).

Os lipopolissacarídeos (LPS), glicolipídios tóxicos fosforilados, presentes na parede celular bacteriana, atuam como principal antígeno de superfície. São também importantes no processo de escape da bactéria ao sistema imune do hospedeiro. Em algumas cepas da *H. pylori*, os lipopolissacarídeos simulam estruturas semelhantes aos antígenos de grupos sanguíneos Lewis (Lex, Ley, Lea, Leb), expressos normalmente na mucosa gástrica. Este mimetismo pode resultar em tolerância autoimune contra os antígenos da bactéria ou induzir a produção de autoanticorpos que reconhecem células epiteliais da mucosa gástrica (SHIMOYAMA; CRABTREE, 1998; COVACCI et al., 1999). O mimetismo camufla a bactéria, permitindo que o patógeno sobreviva e escape do reconhecimento da resposta imune do hospedeiro, contribuindo para a cronicidade da infecção (DUNN et al., 1997).

Nos últimos anos, duas proteínas têm sido extensivamente estudadas como marcadores de virulência da *H. pylori*: a citotoxina vacuolizante (*VacA*), que provoca vacuolização celular, e a citotoxina associada ao gene A (*CagA*) (CENSINI et al., 1996).

A expressão destas proteínas relaciona-se à diversidade genética bacteriana. Estudos de Xiang et al. (1995) consistiram na separação de cepas de *H. pylori*, segundo sua patogenicidade em dois grupos: cepas do tipo I as mais virulentas, devido a sua positividade para os antígenos *CagA*, e as cepas do tipo II que não expressam *CagA* (TELFORD et al., 1994; CENSINI et al., 1996; ROCHA et al., 2000).

Os tipos de cepas estão intimamente relacionados a diferentes manifestações clínicas, à intensidade da inflamação e a danos na mucosa gástrica (CENSINI et al., 1996).

1.1.3.1 Citotoxina associada ao gene A (Cag A)

Um importante fator de virulência da *H. pylori* está associado à ilha de patogenicidade *cag* (*cag*-PAI). Sua presença é indicada pelo gene *cagA*, que codifica uma proteína de alto peso molecular, a **CagA**. Situa-se em lócus contendo genes que potencialmente codificam o sistema de secreção do tipo IV (CENSINI et al., 1996; GATTI et al., 2004). Sua presença tem sido utilizada como critério para classificar as cepas em patogênicas e não patogênicas: Tipo I, contendo o gene *cagA* e Tipo II, que não contem o referido gene (ALI et al., 2005).

A **CagA** é expressa na superfície externa da membrana bacteriana, e em função de sua alta imunogenicidade, induz a forte processo inflamatório, caracterizado por denso infiltrado de neutrófilos, levando a severos danos à mucosa gástrica (TELFORD et al., 1994; CENSINI et al., 1996; COVACCI et al., 1999).

O sistema de secreção tipo IV propicia o transporte da **CagA** para o interior das células epiteliais gástricas, onde sofre fosforilação, resultando em uma cascata de sinalizações, que está associada a rearranjo do citoesqueleto. Ocorre aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias, das quais a interleucina 8 tem papel importante, causando inflamação crônica no estômago de indivíduos infectados (PANCHAL et al., 2003; BLOMSTERGREN et al., 2004).

Eventos relacionados a transdução de sinal em resposta a *H. pylori* regulam a resposta inflamatória e de fatores de crescimento da célula epitelial gástrica, podendo ativar o receptor do fator de crescimento epidérmico, sendo que as cepas *cagA* positivas induzem à ativação mais pronunciada do que as cepas *cagA* negativas (PANCHAL et al., 2003).

A habilidade de cepas *cagA* positivas ativarem receptores de fatores de crescimento em células epiteliais gástricas parece importante no estímulo à proliferação celular, além de outras respostas inflamatórias à infecção pela bactéria (PANCHAL et al., 2003).

Diversos estudos têm associado a presença desta citotoxina à ocorrência de determinadas afecções gástricas como úlcera péptica e adenocarcinoma (TELFORD et al., 1994; ALI et al., 2005).

1.1.3.2 Citotoxina vacuolizante (Vac A)

O gene *vacA* codifica uma pró-toxina de aproximadamente 140 kDa de massa, que é processada antes de ser secretada, para exercer assim o seu papel na infecção da mucosa gástrica. Seu processamento originará a formação de uma toxina com peso de aproximadamente 88 kDa, a **VacA** (TELFORD et al., 1994).

Alguns estudos têm demonstrado que a **VacA** possui a capacidade de ligar-se a diferentes tipos de receptores, apresentando múltiplos sítios de ligação na superfície celular (MONTECUCCO et al., 2001).

Experimentos têm demonstrado que a inserção da toxina **VacA** na membrana plasmática leva à formação de canais ânion seletivos (TOMBOLA et al., 1999; CZAJKOWSKY et al., 1999), alterando a permeabilidade para pequenas moléculas orgânicas e íons, como, Fe^{3+} e Ni^{2+} , essenciais para o crescimento da bactéria (PAPINI et al., 1998, MONTECUCCO et al., 2001). O mecanismo deste processo ainda não foi identificado, mas sabe-se que está ligado à presença da **VacA** (PAPINI et al., 1998, MONTECUCCO et al., 2001).

A citotoxina **VacA** é capaz de causar vacuolização citoplasmática nas células eucarióticas. Alguns estudos descrevem que o processo de vacuolização citoplasmática é consequência da formação de canais na membrana citoplasmática da célula alvo (PAPINI et al., 1998, MONTECUCCO et al., 2001).

A toxina apresenta dois domínios (P58 e P37) que estariam envolvidos na capacidade de inserir-se na membrana plasmática da célula alvo e na formação de canais condutores de íons. O domínio P58 seria responsável pela interação com a membrana plasmática e pela inserção do domínio P37 na porção transmembrana. O domínio P37, capaz de suportar a ação dos lisossomos, seria importante na

manutenção dos canais, já que esse sofre endocitose e é transportado para o citoplasma dentro de um endossoma (TOMBOLA et al., 1999). No endossoma a toxina *VacA* aumenta a permeabilidade de ânions deste compartimento, ativando a bomba de prótons ATPase, que leva a introdução de hidrogênio no endossoma, que na presença da amônia, em particular a gerada pela urease da *H. pylori*, leva ao acúmulo de íons acidotróficos (NH₄⁺), o que estimula o fluxo de água para dentro da célula, sendo essencial para a formação dos vacúolos (COVER et al., 1994, PAPINI et al., 1993, TOMBOLA et al., 1999).

Todas as cepas da bactéria secretam **VacA**, no entanto há variações entre as cepas em relação à atividade da toxina. O polimorfismo alélico do gene em questão está presente em duas regiões, na sequência sinal (s), envolvida no transporte da toxina, podendo ocorrer os alelos s1 e s2 e outra na região mediana do gene (m), ocorrendo os alelos m1 e m2 (ATHERTON, 1995; VAN DOORN et al., 1998a; GATTI et al., 2004).

Todas as possíveis combinações dessas regiões têm sido identificadas. A virulência da bactéria pode variar de acordo com as diferentes combinações destes alelos, sendo o tipo s1m1 associado a maior atividade vacuolizante, s1m2 com toxicidade intermediária, s2m2 sem toxicidade detectável. A combinação s2m1 raramente ocorre. (ATHERTON, 1995; PAPINI, et al., 1998; GATTI et al., 2004).

Embora *H. pylori* seja cosmopolita, pouco se sabe sobre a distribuição geográfica das diferenças cepas na população global (VAN DOORN et al., 1999). Trabalhos procedentes da Argentina mostram predominância os alelos *vacAs1bm1* (CATALANO et al., 2001). No Brasil, cepas isoladas de crianças revelaram que o alelo s1 está mais relacionado à úlcera péptica e o genótipo *s1bm1cagA* positivo é o mais frequente em adultos brasileiros (ASHOUR et al., 2002). Estudo mais recente realizado com população do norte do Brasil mostrou maior prevalência do genótipo *s1bm1cagA* positivo em pacientes portadores de úlcera duodenal (MARTINS et al., 2005).

Estudos mostraram que cepas contendo alelos s1 estão mais relacionadas à doença ulcerosa, sugerindo participação na patogênese (ATHERTON et al., 1995; VAN DOORN, 1998b; PAPINI et al., 1998).

1.1.4 Diagnóstico da *H. pylori*

O diagnóstico da infecção da *H. pylori* na mucosa gástrica é feito por diferentes métodos, seja por técnica endoscópica, com fragmentos retirados durante endoscopia, seja por técnicas não endoscópicas (COELHO, 2001).

Os mais utilizados na prática clínica, realizados com fragmentos de biópsias, consistem na identificação da bactéria por exame histopatológico, no teste da urease e menos frequentemente, na cultura da bactéria (WILCOX et al., 1996).

As provas sorológicas podem ser utilizadas por serem relativamente mais simples, de baixo custo e obtidas sem a necessidade de exames endoscópicos. Existem testes de ELISA com elevada sensibilidade e especificidade (MARSHALL, 1994). Entretanto, métodos sorológicos baseados em anticorpos do tipo IgG, não devem ser utilizados para monitorar a erradicação bacteriana, visto que os títulos destes anticorpos anti-*H. pylori* específicos diminuem lentamente durante 6 a 12 meses após a erradicação com antibióticos (DUNN et al., 1997; BROWN, 2000; BRADEN et al., 2000). Portanto, a identificação destes anticorpos não implica em infecção ativa (RAYMOND et al., 2000).

Tem sido avaliado teste diagnóstico, baseado na detecção de antígenos bacterianos nas fezes, especialmente para o diagnóstico de infecção pela *H. pylori* na infância (ODERDA et al., 2001).

Outro método amplamente utilizado é o teste respiratório com carbono marcado. Trata-se de método não agressivo, simples e seguro, tanto para utilização no diagnóstico inicial da infecção pela *H. pylori*, quanto no controle terapêutico (MARSHALL; SURVEIOR, 1988).

Análises moleculares empregando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) têm sido bastante utilizadas. Têm boa sensibilidade e permitem o diagnóstico

de fatores de virulência, como alelos *cagA* e *vacA*, dentre outros (MONSTEIN; ELLNEBO-SVEDLUND, 2002; RAUTELIN et al., 2003). Utilizado, com maior frequência, na detecção bacteriana na placa dental (DUNN et al., 1997; TORRES et al., 2000).

A detecção da *H. pylori* na placa dental poderia fundamentar o papel da cavidade oral na transmissão da bactéria, porém a falta de metodologia padronizada torna necessária cautela na interpretação dos resultados publicados (DOWSETT et al., 1999).

O teste da urease e o teste respiratório, baseados na capacidade da produção de urease pela *H. pylori*, permitem a confirmação da presença da bactéria de maneira rápida, e segura, por ser a *H. pylori* a única bactéria produtora de urease no estômago (KILMARTIN, 2002). No entanto, na cavidade oral, existem outras bactérias produtoras de urease como *Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp. e *Actinomyces* spp., tornando inapropriado concluir pela presença de *H. pylori* na cavidade oral, utilizando-se exclusivamente estes métodos (PYTKO-POLONCZYK et al., 1996; DESAI et al., 1991; BUTT et al., 1999; AVCU et al., 2001).

A histopatologia, habitualmente empregada na mucosa gástrica, baseia-se na morfologia da bactéria. Entretanto, fator limitante para seu emprego na cavidade oral, é a ocorrência de outras bactérias na boca que impedem a afirmação diagnóstica da *H. pylori* considerando-se, apenas o critério morfológico. Resultados destes estudos deveriam ser considerados com prudência (BUTT et al., 2001).

O método diagnóstico aceito como ideal para comprovação da *H. pylori*, é a cultura. Entretanto, a realização de cultura da *H. pylori* na cavidade oral é difícil, quando comparada ao emprego deste método na mucosa gástrica. As dificuldades decorrem da variada microflora oral, além da natureza da bactéria que requer ambiente microaerófilo, meio suplementar e da presença de formas cocoides, que não são cultiváveis. Diante destas condições o crescimento de outras espécies orais pode ocorrer e inibir o crescimento da *H. pylori*, in vitro (ISHIHARA et al., 1997; KILMARTIN, et al., 2002; DOWSETT, et al., 1999; NDIP et al., 2003).

A forma cocoide não é cultivável pelas técnicas convencionais, e se acredita predominar em condições desfavoráveis (ISHIHARA et al., 1997). Não tem sido associada à doença, no entanto, está demonstrado que pode ocorrer reversão para forma infecciosa quando em condições favoráveis. Portanto, sua presença pode ser considerada clinicamente significativa (DOWSETT et al., 1999).

A primeira documentação da presença da *H. pylori* na cavidade oral ocorreu em 1989, quando a bactéria foi cultivada da placa dental de um, dentre vinte e nove pacientes com doença gástrica associada a *H. pylori* (KRAJDEN et al., 1989).

Estudos comparativos relacionando as cepas presentes da cavidade oral e na mucosa gástrica vêm sendo realizados, não havendo, entretanto uniformidade de métodos e conseqüentemente de resultados. A importância clínica da presença da *H. pylori* na cavidade oral permanece indefinida, tornando necessários estudos adicionais, especialmente utilizando técnicas que adequadamente permitam definir as cepas existentes da cavidade oral e relacioná-las à infecção gástrica (DOWSETT; KOWOLIK, 2003).

Young et al. (2001) utilizaram microscopia eletrônica e não encontraram diferenças morfológicas entre cepas obtidas de biópsias gástricas e de placa dental, e relataram a ocorrência de formas cocoides.

Com a tecnologia da biologia molecular as dificuldades no diagnóstico da *H. pylori* da cavidade oral têm sido minimizadas pelo uso da reação em cadeia da polimerase. A PCR permite a rápida detecção mesmo na eventualidade de baixo número de bactérias e da ocorrência das formas não cultiváveis (DOWSETT; KOWOLIK, 2003).

Por meio da PCR, a *H. pylori* tem sido detectada com maior frequência em amostras orais, no entanto, os resultados têm sido discrepantes. Diferenças metodológicas podem ser responsáveis pelas variações entre os estudos. Deve ser considerada a diversidade em relação à população estudada, coleta da amostra oral e procedimento laboratorial de detecção (DOWSETT et al., 1999).

Quanto à extração e purificação do DNA e escolha dos iniciadores para a PCR, pode haver variações, com repercussões na sensibilidade e especificidade.

Portanto, o método mais apropriado para a detecção de *H. pylori* ainda deve ser estabelecido. A sensibilidade e a especificidade podem aumentar com uso de “nested” PCR (LU et al., 1999; SONG et al., 1999).

Diferentes métodos foram usados para o diagnóstico da infecção gástrica e detecção da *H. pylori* oral, com variações na sensibilidade e especificidade. Correlação mais consistente entre *H. pylori* oral e gástrico é obtida por tipagem molecular e demonstra serem as cepas idênticas ou próximas (KHANDAKER et al., 1993; PARSONNET et al., 1999) e contestado por Song et al., (2000c).

O genoma da *H. pylori* tem considerável diversidade, e a identificação de cepas idênticas, ou próximas em um ou mais sítios ou indivíduos, poderia sugerir transmissão entre esses sítios ou uma origem comum de infecção. A identificação de uma mesma cepa na boca e no estômago suportaria a hipótese do papel da cavidade oral como um reservatório para a infecção gástrica pela *H. pylori* (TAYLOR et al., 1998).

1.1.5 Epidemiologia da infecção pela *H. pylori*

1.1.5.1 Prevalência

A infecção pela *H. pylori* apresenta uma distribuição universal, sendo considerada a segunda infecção bacteriana mais comum do mundo, superada somente pela infecção de cárie dental por *Streptococcus mutans* (TELFORD et al., 1997).

Sabe-se que a prevalência da infecção varia de acordo com a área geográfica. Aproximadamente metade da população dos países desenvolvidos encontra-se infectada. Nos países em desenvolvimento a taxa de infecção pode variar de 70% a 90% (Bardhan, 1997). Esta prevalência apresenta-se diretamente

relacionada a fatores ambientais, tais como as condições socioeconômicas e sanitárias das regiões (TELFORD et al., 1997).

A alta prevalência da *H. pylori* nos países em desenvolvimento é constatada em adultos e crianças, provavelmente devido ao baixo nível socioeconômico, facilitando a transmissão do micro-organismo, pelas precárias condições de higiene, aglomerados urbanos e por contato mais íntimo entre as crianças e os adultos, aumentando o risco da contaminação infantil (COVACCI et al. 1999).

Em países desenvolvidos a infecção infantil é rara antes dos 10 anos, atingindo aproximadamente 10% da população (DUNN et al., 1997).

Estudos realizados no Brasil demonstraram variações de prevalência entre as regiões geográficas. Na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, observou-se a ocorrência da infecção precocemente na infância com uma taxa de prevalência de 34,1%. Nos indivíduos adultos, a prevalência observada foi de 65% e 85% (OLIVEIRA et al., 1994). Na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, a prevalência encontrada foi de 24,86% em pacientes pediátricos do Hospital de Clínicas da cidade (SOUSA et al., 2001). Em Belém, Guimarães (1999) constatou prevalência em torno de 80% em crianças. Em adultos, a prevalência foi em torno de 64 a 74% de pacientes com distúrbios gástricos (SAGICA, 2000; AGUIAR et al., 2002) e de 82% em indivíduos com diagnóstico de úlcera gástrica (MARTINS, 2001) e ainda com relação às crianças paraenses infectadas, aproximadamente 87% apresentavam a cepa virulenta *cagA* positiva (GUIMARÃES, 2003).

A prevalência de *H. pylori* na placa supragengival decresce do molar para o pré-molar e desta para a região dos incisivos (SONG et al., 2000a), sugerindo uma distribuição distinta dentro da cavidade oral. Tem sido detectado na placa supragengival, (ALLAKER et al., 2002; SONG et al., 2000a,b), na placa subgengival (PUSTORINO et al., 1996; DOWSETT et al., 1999; RIGGIO; LENON, 1999), na saliva e em lesões orais (MRAVAK-STIPETIC et al., 1998; BIREK et al., 1999) e na mucosa oral (MRAVAK-STIPETIC et al., 1998; DOWSETT et al. 1999; ALLAKER et al., 2002).

Estudo realizado em Belém do Pará com dois grupos sócios econômicos diferentes demonstrou maior prevalência da infecção pela *H. pylori* no grupo de baixo nível sócio econômico, sendo que 69% das mães e 91% das crianças foram soropositivas para pesquisa de IgG- *H. pylori* específico. No grupo de melhor nível econômico (médio e alto), foi observada taxa de infecção de 32% tanto nas mães quanto nas crianças (BARILE, 2003).

Outro estudo realizado em Belém, relatou alta frequência da infecção por cepas bacterianas virulentas, positivas para o gene *cagA* e com os alelos *m1s1b* do gene *vacA*, em pacientes adultos com doenças gástricas da região (MARTINS, 2005).

1.1.5.2 Rotas de transmissão

Apesar da ampla distribuição da infecção pela *H. pylori* no mundo, o exato modo de transmissão permanece não esclarecido completamente (DUNN et al., 1997; COVACCI et al., 1999). A evidência universalmente aceita é de que a bactéria apenas consegue alcançar a mucosa gástrica através da boca, pois se trata de um microrganismo não invasivo (KODAIRA et al., 2002), e que o local de colonização e estabelecimento bacteriano é o estômago (DUNN et al., 1997).

Algumas rotas de transmissão têm sido sugeridas, como a rota oral-oral, a fecal-oral e a iatrogênica (MEGRAUD, 1995; DUNN et al., 1997).

Em consideração a rota fecal oral, não obstante a identificação do DNA da *H. pylori* nas fezes por PCR, (MAPSTONE et al., 1993; LI et al., 1996; NAMAVAR et al., 2001), a viabilidade desta bactéria não foi provada, e a cultura da *H. pylori* nas fezes, apesar de reportada, é de difícil obtenção (THOMAS et al., 1992; KELLY et al., 1994).

A transmissão fecal oral tem sido defendida por trabalhos sugerindo que o suprimento de água possa abrigar a bactéria (KLEIN et al., 1991; HULTEN et al., 1996; BELLACK et al., 2006), e por outros mostrando que o consumo de vegetais

crus estaria associado a risco aumentado da infecção (HOPKINS et al., 1993). A detecção da bactéria por PCR em insetos voadores domésticos poderia ter algum papel na transmissão fecal oral (GRUBEL et al., 1998; DOWSETT et al., 1999).

Na hipótese da transmissão oral, a cavidade oral tem sido sugerida como um possível reservatório da *H. pylori*, no qual o suco gástrico transportaria organismos viáveis à boca durante regurgitação (CHECCHI et al., 2000). Transmissão oral-oral tem sido defendida por trabalhos mostrando prevalência aumentada de *H. pylori* em crianças, filhas de mães africanas as quais faziam pré-mastigação dos alimentos antes de oferecê-los aos filhos (MEGRAUD, 1995). Publicação de Chow et al., em 1995 demonstrou maior prevalência de infecção pela bactéria em situações em que o uso de utensílios para alimentação eram compartilhados.

A rota de transmissão iatrogênica também tem sido documentada. Profissionais que entram em contato com secreções gástricas e orais infectadas, ou ainda com equipamentos de endoscopia ou odontologia utilizados em pacientes infectados poderiam infectar-se, infectar pacientes sadios e causar reinfecção (DUNN et al., 1997). Estudo prospectivo com profissionais da área de odontologia mostra risco aumentado de infecção pela *H. pylori* (MATSUDA; MORIZANE, 2005).

Embora a bactéria tenha sido isolada em animais, como macacos e gatos domésticos, em geral, é restrita à mucosa gástrica de humanos (NEWELL, et al., 1988; BRONSDSON; SCHOENKNECHT, 1998).

Apesar de uma fonte externa de infecção não poder ser excluída, a transmissão de pessoa a pessoa aparentemente é a mais comum. Existe alta prevalência de infecção entre aqueles que vivem em instituições (PEREZ-PEREZ et al., 1990) e entre membros da família (MALATY et al., 1991).

A associação entre a infecção pela *H. pylori* e fatores como classe social e condições de moradia na infância são bem documentadas (GRAHAM et al., 1991; WEBB et al., 1994).

1.1.6 Associação com afecções gástricas

A infecção pela *H. pylori* é considerada hoje um dos maiores fatores na patogênese de um amplo espectro de afecções gástricas, como a gastrite crônica, úlceras pépticas, adenocarcinoma gástrico e linfoma não Hodkin da mucosa gástrica associada a tecido linfoide - MALT (DUNN et al., 1997; PERRI et al., 1997; SMOOT, 1997; COVACCI et al., 1999; SOUZA et al., 2001, MULLER et al., 2005).

O acometimento pela bactéria provoca um processo inflamatório na mucosa gástrica, cujo grau de inflamação no hospedeiro, varia de acordo com o tipo de cepa, de seus fatores de virulência e com fatores genéticos inerentes ao hospedeiro, conferindo diferentes níveis de susceptibilidade à infecção (COVACCI et al., 1999).

Aproximadamente metade das pessoas infectadas pela bactéria, adultos ou crianças, pode permanecer como portadores assintomáticos durante toda a vida. Este fato está relacionado, principalmente, à infecção por cepas não virulentas, ou Tipo II (RAVEL, 1997). Entretanto, após a infecção primária, aproximadamente metade dos indivíduos infectados poderá apresentar sintomas de gastrite aguda, tais como náuseas, vômitos, digestão difícil (EVERHART, 2000), e em crianças observamos a infecção relacionada a dores abdominais recorrentes, diarreia crônica e baixa estatura (KODAIRA et al., 2002). Alguns autores demonstraram a ocorrência, em crianças infectadas, de deficiência de crescimento quando comparadas a crianças não portadoras da bactéria, possivelmente decorrentes de hipocloridria causada pela bactéria (PATEL et al., 1994; MENDAL; NORTHFIELD, 1995), além de outras gastropatias relacionadas a perdas proteicas, ocasionando a baixa estatura e má nutrição (PATEL et al., 1994).

Embora evidências demonstrem a importância da *H. pylori* na patogênese das doenças ulcerosas, os mecanismos envolvidos ainda não estão inteiramente esclarecidos (MARTINS et al., 2002).

Tanto no câncer gástrico, como na úlcera péptica, nem todos os indivíduos estão infectados pela bactéria, e nem todas as pessoas infectadas

desenvolvem esta neoplasia. Na natureza multifatorial do câncer, a infecção pela *H. pylori* é apenas um dos fatores participantes do seu desenvolvimento (FRIEDMAN; PETERSON, 1998).

O papel da *H. pylori* na carcinogênese gástrica, ainda não está totalmente esclarecido. Foi inicialmente relacionado apenas ao adenocarcinoma tipo intestinal de Lauren. Entretanto, extensos estudos epidemiológicos e biológicos demonstraram a participação desta bactéria na ocorrência de ambos os tipos histológicos, intestinal e difuso (ASSUMPÇÃO; BURBANO, 2005).

Indivíduos infectados podem desenvolver doenças na dependência do tempo de infecção, tipo de cepa, resposta imune do hospedeiro e dos fatores de risco aos quais estiverem expostos (TELFORD et al., 1997; TORRES et al., 2000).

1.2 A PLACA DENTAL

1.2.1 Classificação e composição da placa dental

A placa dental é um biofilme, formada por uma comunidade microbiana de multiespécies, associada a uma ampla variedade de diversos ecossistemas, aderida à superfície do dente ou a qualquer outro material duro não descamativo (LANG et al., 1997).

A comunidade do biofilme é formada inicialmente por interações bacterianas com o dente. Posteriormente, ocorrem interações físicas e fisiológicas entre diferentes espécies dentro da massa microbiana. Este fenômeno comum de co-agregação bacteriana, inicialmente reconhecida entre bactérias isoladas da placa dental humana, consiste em um processo altamente específico de adesão entre bactérias geneticamente distintas mediado por uma proteína (adesina) (RICKARD et al., 2003). Este mecanismo é parcialmente controlado por um mecanismo de

comunicação interbacteriana, que é dependente da densidade populacional e está associado com mudanças no padrão de expressão proteica (SAUER et al., 2002).

Sabe-se que, a fisiologia e o metabolismo das comunidades do biofilme são complexos, pois os micro-organismos exibem uma atividade de cooperação metabólica que é maior do que aquelas das espécies isoladas, permitindo que cada uma das bactérias da cavidade oral cresça, onde nenhuma isoladamente cresceria. Evidentemente, a eficiência deste consórcio ajuda a manter a diversidade das espécies, característica das comunidades do biofilme. Os biofilmes bacterianos são difíceis de serem rotineiramente diagnosticados e são considerados “santuários” bacterianos, pois são protegidos das defesas dos hospedeiros e das terapias antibióticas. Ao mesmo tempo, o biofilme facilita a disseminação da resistência aos antibióticos pela transferência horizontal dos genes (FUX et al., 2005).

A placa dental adere-se à superfície do dente, ou a outra estrutura dura dentro da cavidade bucal, inclusive restaurações fixas ou removíveis. Localiza-se na superfície dental, onde é chamada de supragengival, ou abaixo da margem gengival, entre o dente e o tecido gengival do sulco, chamada subgengival (HAAKE, 2004).

Formada por micro-organismos, principalmente bactérias (outros micro-organismos não bacterianos encontrados incluem espécies de micoplasma, fungos, protozoários e vírus), e por uma matriz intercelular constituída particularmente por glicoproteínas. Estas são importantes componentes da película que inicialmente recobrem a superfície do dente limpo, e incorporam-se ao biofilme em desenvolvimento. Os componentes inorgânicos predominantes na placa são cálcio e fósforo, com pequenas quantidades de outros minerais, como sódio, potássio e flúor (HAAKE, 2004).

A placa é uma estrutura heterogênea com canais preenchidos por fluido que circula, na matriz. A matriz gera um ambiente especializado, diferenciando as bactérias existentes no biofilme, daquelas que flutuam livres em soluções como a saliva ou o fluido gengival (COSTERTON et al., 1999).

Após um dia ou mais, sem higiene bucal a placa pode ser visualizada nos dentes. O movimento natural dos tecidos e alimentos sobre os dentes resulta na

remoção mecânica da placa, sendo particularmente eficientes nos dois terços coronários da superfície do dente. Desta forma, a placa é tipicamente observada no terço gengival da superfície dental (LANG et al., 1997).

Os depósitos de placa também se formam em fendas, sulcos e fissuras na estrutura dental, abaixo de restaurações com excessos, e ao redor de dentes mal alinhados. A localização e o ritmo de formação variam entre indivíduos, de acordo com a higiene bucal e fatores do hospedeiro, como dieta, composição e quantidade do fluxo salivar. Pequenas quantidades de placa que não estejam discerníveis na superfície dental podem ser detectadas utilizando-se explorador periodontal ou solução evidenciadora (HAAKE, 2004).

A formação da placa dental representa uma sucessão ecológica ordenada e previsível. Ocorre nas seguintes fases: a formação da película sobre a superfície do dente, a colonização inicial por bactérias e a colonização secundária e maturação da placa (RICKARD et al., 2003).

A formação da película dental na superfície do dente é a fase inicial no desenvolvimento da placa. Todas as superfícies da cavidade bucal, inclusive das restaurações fixas e removíveis são cobertas com uma película de glicoproteína. Esta película representada por componentes salivares, do fluido gengival, da produção de células bacterianas e dos tecidos do hospedeiro, funciona como uma barreira protetora, provendo lubrificação para as superfícies e prevenindo o ressecamento tecidual. Entretanto, a película também fornece um substrato no qual as bactérias do meio aderem e acumulam-se progressivamente formando a placa dental (HAAKE, 2004).

No desenvolvimento do biofilme ocorrem eventos de adesão e multiplicação. Os primeiros organismos a aderir são os colonizadores primários. Esta colonização é mediada por interações físico-químicas com componentes do biofilme. Se as condições forem favoráveis, os colonizadores primários podem se multiplicar no substrato e formar microcolônias. As condições ambientais modificam-se e o substrato se tornará recoberto por bactérias. Colonizadores secundários estarão aptos a aderir aos colonizadores primários, e o biofilme desenvolver-se-á com uma comunidade formada por múltiplas espécies. Elevado grau de especificidade é

encontrado nas interações entre bactérias na placa dental, como demonstrado pelos estudos de co-agregação entre diferentes espécies (RICKARD et al., 2003).

As bactérias que colonizam inicialmente a superfície esmaltada do dente são predominantemente microrganismos facultativos Gram-positivos, tais como *Actinomyces viscosus*. Dentro das primeiras 4 horas de formação da placa temos primariamente, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis* e *Streptococcus oralis* (RICKARD et al., 2003).

A massa da placa então amadurece com o crescimento das espécies aderidas, bem como pela colonização e o crescimento de espécies adicionais (figura 2), presentes em proporções menores incluindo *Actinomyces naeslundii*, *Veillonella atypica*, *Fusobacterium nucleatum*, entre outras (RICKARD et al., 2003).

Nesta sucessão ecológica do biofilme, existe uma transição do meio ambiente aeróbico inicial caracterizado por espécies Gram positivas para um meio altamente privado de oxigênio, no qual os microrganismos Gram negativos anaeróbicos predominam (HAAKE, 2004).

Interações fisiológicas ocorrem entre os diferentes microrganismos da placa, e entre o hospedeiro e os microrganismos. Estas interdependências nutricionais são, provavelmente, críticas para o crescimento e sobrevivência de microrganismos na placa dental, e podem explicar, parcialmente, as interações estruturais altamente específicas observadas entre as bactérias na placa (FUX et al., 2005).

Cocos e bacilos Gram-positivos predominam na superfície dental, enquanto bacilos e filamentos Gram-negativos predominam na superfície externa da massa da placa bacteriana (HAAKE, 2004).

Colonizadores secundários aderem às células de bactérias presentes na massa da placa. Estudos de co-agregação documentam a habilidade de diferentes espécies e gêneros de microrganismos da placa em aderir umas às outras (figura 2). Nos últimos estágios de formação da placa, a co-agregação entre diferentes espécies Gram-negativas parece predominar (HAAKE, 2004).

Fusobacterium nucleatum, é a espécie gram-negativa mais numerosa na placa dental, nos sítios saudáveis e aumenta marcadamente nos casos de doenças periodontais. Localiza-se entre os colonizadores iniciais e secundários, e têm a capacidade de coagregar com todos os colonizadores, tanto os precoces, como com os tardios, agindo como uma ponte entre estes colonizadores, o que pode particularmente explicar o porquê são tão numerosos em sítios tanto saudáveis como doentes (KOLENBRANDER et al. 2002).

A potencial habilidade que tem a *H. pylori* em colonizar a cavidade oral, através de aderência seletiva ao *Fusobacterium* spp., possibilita a hipótese de que a placa dental poderia ser um reservatório para este patógeno fora do estômago (ANDERSEN et al., 1998).

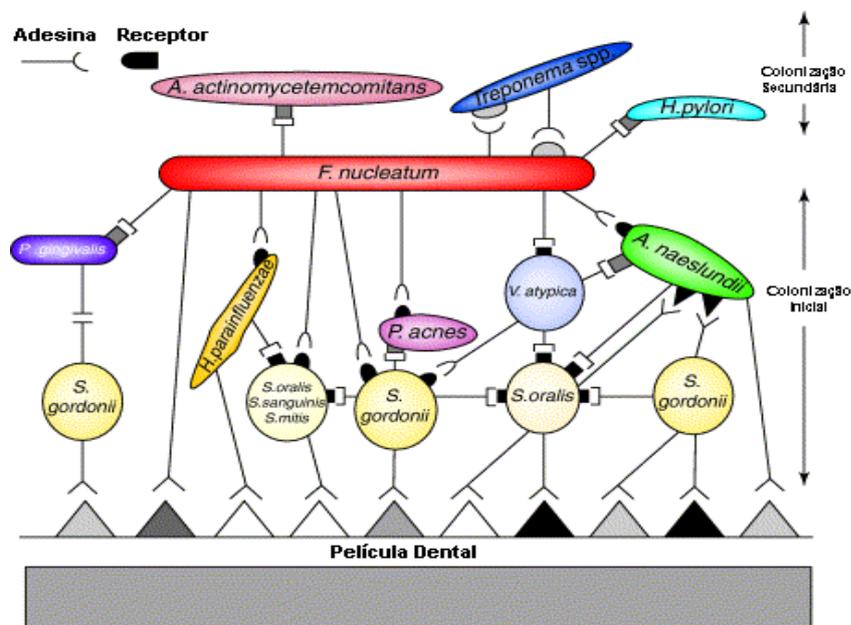


Figura 2. Diagrama da co-agregação bacteriana na superfície dental, proposta por Rickard et al., 2003.

As comunidades multiespécies de micro-organismos na cavidade oral mostram uma estrutura tridimensional complexa com diversos microambientes diferindo com relação à osmolaridade, suprimento nutricional e densidade celular (figura 3). Esta heterogeneidade produz uma variedade de fenótipos. A resistência

bacteriana para agentes antimicrobianos é significativamente aumentada no ambiente do biofilme, podendo estar relacionada à limitada difusão de substâncias dentro da matriz do biofilme, ao padrão lento de crescimento celular no meio ambiente do biofilme e possivelmente às propriedades bacterianas alteradas em resposta ao crescimento sobre uma superfície (COSTERTON et al., 1999).

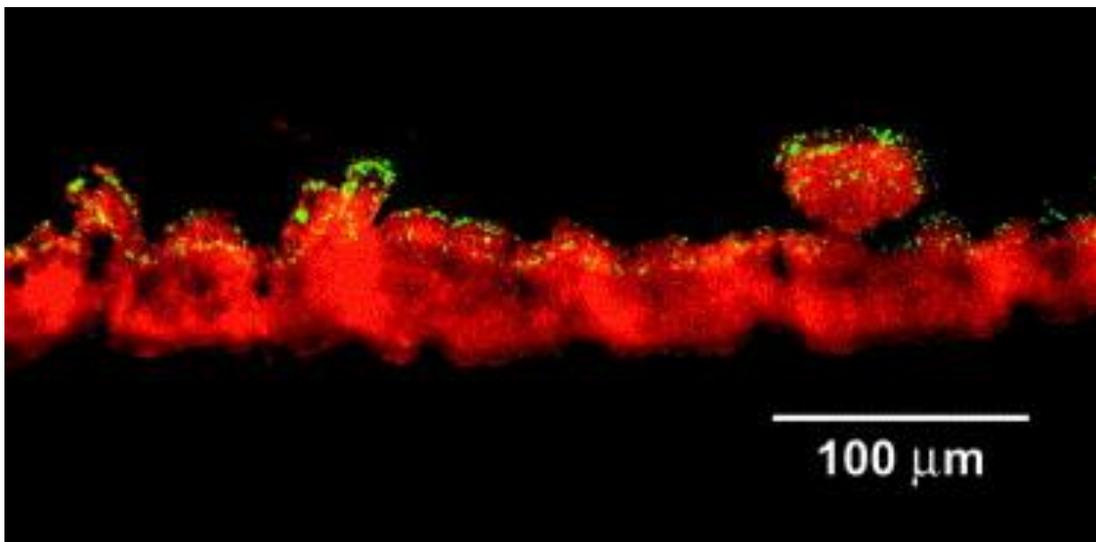


Figura 3. Bactéria embebida no biofilme mostrando uma distribuição não uniforme de atividade fisiológica (verde) e as demais espécies bacterianas no biofilme independente de sua atividade (vermelho) (Fonte: Cedido por Ruifang Xu apud Fux et al., 2005.)

A formação da placa dental representa uma estratégia para facilitar a sobrevivência, transmissão e/ou evolução microbiana, que por um processo de co-agregação se mantém em equilíbrio dinâmico, proporcionando um ambiente favorável e conseqüentemente, promove vantagem seletiva para certos patógenos (FUX, et al., 2005; HALL-STOODLEY; STOODLEY, 2005).

1.2.2 A infecção pela bactéria *H. pylori* na placa dental

A *H. pylori* na placa dental é muito frequente em crianças e em adultos saudáveis indianos (MAJMUDAR et al., 1990; DESAI et al., 1991) e não é raro em pacientes com dispepsia nos países desenvolvidos (OLSSON et al., 1993; MAPSTONE et al., 1993; KHANDEKAR et al., 1993). Madmujar et al. (1990) na Índia, mostraram a presença da *H. pylori* na placa dental em 100% (40/40) dos voluntários saudáveis.

Desai et al., (1991), detectaram a *H. pylori* na placa dental, corpo gástrico e mucosa antral em 98, 70 e 67% respectivamente de 43 pacientes com dispepsia. 20% tinham a bactéria na placa dental na ausência da bactéria na mucosa gástrica. Terapia tríplice (bismuto, tinidazol e amoxicilina ou doxiciclina) administrada por 15 dias a 24 pacientes, eliminou a bactéria da mucosa gástrica de todos eles e em nenhum caso da placa dental. Com estes dados, concluíram que a placa dental é um reservatório importante e permanente da *H. pylori*, já que o mesmo não responde à terapia sistêmica.

A bactéria na placa dental pode ser responsável pela recorrência da infecção na mucosa gástrica, baseando-se nos relatos de Shames et al. (1989), os quais afirmaram que a reinfecção ocorre com a mesma cepa, já que isolaram cepas idênticas na mucosa gástrica e placa dental de um mesmo paciente. Entretanto, Krajden et al. (1989), no Canadá, conseguiram isolar, por cultura a *H. pylori* da placa dental em apenas um dos 71 (3,4%) pacientes, dos quais 29 (40,8%) foram positivos em biópsias gástricas e em nenhuma das amostras da saliva, concluindo que nem a saliva nem a placa dental poderiam ser implicadas como reservatórios significativos da *H. pylori* em países desenvolvidos.

Banatvala et al. (1993), usando a técnica de PCR na placa dental, detectaram a bactéria em 18/21 (86%) dos indivíduos adultos dispépticos que apresentaram cultura positiva e em 66% (10/15) daqueles com cultura negativa.

É relevante considerar a ineficácia dos esquemas terapêuticos clássicos na erradicação da *H. pylori* da cavidade oral (GURGUZ, 2003), especialmente

considerando-se que a infecção gástrica pela *H. pylori* é mais comum no homem (GOODWIN et al., 1997), acometendo aproximadamente metade da população mundial (MITCHELL, 1999; CZINN, 2005), e os crescentes relatos de resistência terapêutica e reinfecção do estômago após tratamento (COELHO et al., 2005).

Investigar o significado da presença da *H. pylori* na cavidade oral e suas possíveis implicações na patogênese da infecção gástrica faz-se necessário, principalmente, em função da inconsistência das publicações sobre este tópico, caracterizadas por grande variabilidade de resultados, frequentemente conflitantes, e possivelmente decorrentes de diferenças metodológicas e diversidade de populações estudadas.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Geral

Identificar e correlacionar a presença das cepas de *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental por reação em cadeia da polimerase, em pacientes com afecções gastroduodenais, e fornecer subsídios ao entendimento da eventual participação da *H. pylori* dental na infecção gástrica.

1.3.2 Específicos

- a) Identificar a presença de *H. pylori* através da detecção de DNA em amostras de biópsias gástricas e placa dental;

- b) Investigar a ocorrência de cepas *cagA* positivas na placa dental e mucosa gástrica;
- c) Descrever os alelos do gene *vacA* da bactéria na placa dental e mucosa gástrica;
- d) Comparar a frequência dos tipos de cepas entre a mucosa gástrica e a placa dental.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CASUÍSTICA

Foram incluídos neste estudo 99 pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta, no Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB), localizado na cidade de Belém, Estado do Pará, no ano de 2005.

De cada paciente foram coletadas amostras de biópsias gástricas por endoscopia, da placa dental, e informações pertinentes ao estudo, através do emprego de um questionário padrão (APÊNDICE A).

2.2 QUESTÕES ÉTICAS

Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto.

Previamente, todos os indivíduos participantes do estudo foram informados sobre a pesquisa de maneira acessível. Foi solicitada a sua participação através da assinatura de um Termo de Esclarecimento e Consentimento Livre, conforme rege a Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, sobre aspectos éticos envolvendo a pesquisa com seres humanos, assim autorizando a coleta dos dados e do material biológico (APÊNDICE B).

2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO NO ESTUDO

- Não apresentar deficiência de natureza mental;
- Assinar o Termo de Esclarecimento e Consentimento Livre.
- Indicação clínica de exame endoscópico.
- Qualquer paciente que não cumpra, ou não se enquadre, a qualquer uma das exigências descritas acima, será excluído do estudo.

2.4 COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

2.4.1 Biópsia gástrica

Foram coletadas seis amostras de biópsia da mucosa gástrica, do antro, durante o exame de endoscopia digestiva alta, utilizando pinça de biópsia. Destas, duas foram armazenadas em microtubo estéril e congeladas, para posterior extração de DNA bacteriano, duas encaminhadas para análises histopatológicas cabíveis, em frasco contendo formal a 10% e duas para realização de teste da urease, em frasco contendo meio apropriado (Uretest, RENYLAB).

2.4.2 Placa dental

De cada paciente foram coletadas amostras de placa dental cumulativas, antes de iniciar o exame endoscópico, mediante a raspagem dos depósitos da

porção gengival e dos sulcos dos dentes superiores e inferiores, com dois coletores. O material coletado foi colocado em recipiente com meio específico para teste da urease e em microtubo estéril, que foi congelado até a extração do DNA.

2.5 DESCRIÇÃO DAS TÉCNICAS LABORATORIAIS

2.5.1 Detecção Histopatológica da *Helicobacter pylori*

As biópsias gástricas foram desidratadas em banhos sequenciais de etanol 70%, 80%, 90%, 100%, clarificadas em xilol, embebidas e incluídas em parafina histológica, posteriormente foram feitos cortes histológicos sequenciais de aproximadamente 4-5 μ m de espessura e dispostos em lâminas histológicas e coradas pela hematoxilina-eosina (HE) para o diagnóstico histopatológico das doenças gástricas. Na detecção da *H. pylori* será utilizado o método Gram modificado e microscopia óptica convencional, identificando a bactéria mediante suas características morfológicas, forma curva e espiralada, e coloração azul intensa (STEVENS; LOWE, 1998).

2.5.2 Detecção da *Helicobacter pylori* utilizando teste da urease

Foram coletadas duas biopsias do antro gástrico e imediatamente acondicionadas em frasco tipo “eppendorf”, contendo 0,5 ml do meio rico em uréia (Uretest, do fabricante Renylab). O teste é baseado no princípio de que a urease produzida pelos micro-organismos nos fragmentos gástricos, desdobra a ureia presente no meio e libera amônia, elevando o pH, o que é detectado por indicador, alterando a cor do meio de amarelo para rosa, interpretado como resultado positivo. O teste pode tornar-se positivo dentro de minutos, considerando-se como positiva a mudança da cor ocorrida em até 12 h, sendo o resultado final aferido após 12h (NIH, 1994).

2.5.3 Diagnóstico e genotipagem da bactéria *H. pylori*

2.5.3.1 Extração de DNA bacteriano

O DNA foi extraído de amostras de biópsias gástricas da região antral e placa dental congeladas, utilizando a técnica de fenol-clorofórmio (SAMBROOK et al., 1989).

- a) Adicionar a cada eppendorf contendo as biópsias gástricas de um paciente, 300 μ L de solução de lise celular (100 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, 200 mM NaCl, 1% dodecilsulfato de sódio, 0,2% β mercaptoethanol) e 20 μ L de proteinase K.
- b) Agitar no vórtex e incubar em banho-maria a 58 °C por 12 horas.
- c) Inativar a proteinase K, colocando os eppendorf em água fervente (100°C) por 5 minutos.
- d) Adicionar a cada eppendorf 300 μ L de tampão saturado de fenol e 300 μ L de clorofórmio, agitar por 10 minutos em agitador gangorra e centrifugar por 4 minutos a 14000 rotações por minuto (rpm), retirar o sobrenadante e transferir para um tubo limpo. Repetir esse procedimento mais uma vez.
- e) Retirar o sobrenadante e transferir para um tubo limpo. Preparar solução contendo clorofórmio e isopropanol (diluição 24:1) e adicionar a cada eppendorf 500 μ L dessa solução, agitar por 10 minutos e centrifugar por 4 minutos a 14000 rpm, retirar o sobrenadante e transferir para um tubo limpo. Repetir esse procedimento mais uma vez.
- f) Retirar o sobrenadante e transferir para um tubo limpo. Adicionar 900 μ L de álcool isopropílico. Centrifugar por 6 minutos a 14000 rpm, lavar o tubo com 200 μ L de etanol a 70%, esperar o etanol evaporar e adicionar 200 μ L de água estéril, para hidratar o DNA. Após hidratação o DNA foi congelado a -20°C, para posterior análise.

2.5.3.2 Condições do PCR

A amplificação pela PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi realizada em um termociclador. Os pares de oligodesoxinucleotídeos iniciadores (primers) que foram usados para caracterização das linhagens virulentas da *H. pylori* estão listados na tabela 1. As misturas de PCR tiveram um volume final de 25 μ L, contendo 0,5 mM de cada primer, 1 X PCR tampão, 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,2 mM de cada base nitrogenada, 1,25 U de Taq. Polimerase, 2 μ l de amostra de DNA e água estéril.

Para detecção do DNA da bactéria, foram utilizados os primers P1 e P2, descrito por Hammar et al, 1992, que amplifica um fragmento gênico de 298 bp presente em todas as cepas da *H. pylori*. Somente os pacientes que foram positivos para esses primers (P1 e P2) foram tipificados para os alelos *vacA* e para o gene *cagA*.

Para os primers P1/P2, VA3-F/VA3-R, VA4-F/VA4 e F1/B1, as condições utilizadas foram: a temperatura inicial de desnaturação foi: 94°C por 2 minutos; seguida de 40 ciclos (repetições), onde a temperatura de desnaturação foi a 95°C por 1 minuto, de anelamento à 58°C por 1 minuto, de extensão 72°C por 1 minuto; e por fim a temperatura de extensão final foi de 72°C por 10 minutos.

Para os primers SS1-F, SS2-F, SS3-F/VA1-R, as condições utilizadas foram: a temperatura inicial de desnaturação será 94°C por 2 minutos; seguida de 40 ciclos (repetições), onde a temperatura de desnaturação foi a 95°C por 1 minuto, de anelamento à 63°C por 1 minuto, de extensão 72°C por 1 minuto; e por fim a temperatura de extensão final foi de 72°C por 10 minutos. Os produtos das PCRs foram aplicados no gel de agarose a 2% corado com brometo de etidium a 5%, que foram submetidos a um campo elétrico de 100V, durante meia hora. Foi utilizado um padrão de peso molecular para DNA, que serviu de referência para determinar o peso das regiões amplificadas. Em seguida foi visualizado num transiluminador sob luz ultravioleta.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram empregados testes estatísticos adequados para detectar ou não diferenças significantes, mediante o programa de computador BioEstat 3.0 (AYRES et al., 2003), com emprego dos testes do Qui-quadrado, teste G, teste binomial, entre outros, escolhidos de acordo com a natureza do conjunto de dados. A significância estatística aceita foi de 95%.

Tabela 1 – Iniciadores utilizados na amplificação do DNA bacteriano

Região amplificada	Designação do iniciador	Sequência do iniciador	Tamanho do produto esperado	Fonte de referência
Ag	P1	5'-TGGCGTGTCTATTGACAGCGAGC-3'	298	Hammar et al, 1992
	P2	5'-CCTGCTGGGCATACTTCACCATG-3'		
m1	VA3-F	5'-GGTCAAATGCGGTCATGG-3'	199	
	VA3-R	5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAC-3'		
m2	VA4-F	5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAC-3'	290	
	VA4-R	5'-GGAGCCCCAGGAAACATTG-3'		
s2	VA1-F	5'-ATGGAAATACAACAAACCACAC-3'	259	Atherton et al, 1995
	VA1-R	5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'		
s1a	SS1-F	5'-GTCAGCATCACACCGCAAC-3'	190	
	VA1-R	5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'		
s1b	SS3-F	5'-AGCGCCATACCGCAAGAG-3'	187	
	VA1-R	5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'		
<i>CagA</i>	F1	5'-GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG-3'	349	
	B1	5'-CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA-3'		

3 RESULTADOS

3.1 IDENTIFICAÇÃO DA *H. PYLORI* DO ANTRO GÁSTRICO E DA PLACA DENTAL POR PCR

Dos 99 pacientes analisados, a bactéria *H. pylori* foi encontrada na mucosa gástrica de 95 (96%) pacientes e foi positiva na placa dental de 71 (72%) destes pacientes, quando analisados pela técnica da PCR. Apenas 4 (4%) dos 28 pacientes com *H. pylori* negativo na placa dental foram também negativos na biópsia do antro gástrico (Figura 4). A prevalência desta infecção nas amostras do antro gástrico foi diferente da placa dental (Tabela 2), observando-se uma discordância altamente significativa entre a existência da infecção gástrica pela *H. pylori* e a positividade ao DNA de *H. pylori* na placa dental, podendo-se admitir que a ocorrência da *H. pylori* na mucosa gástrica é superior a da placa dental, com valor de $p < 0,001$.

Tabela 2 – Prevalência da detecção do DNA da *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUUJBB, Belém, Pará, 2005.

Mucosa Gástrica	Placa dental		Total
	HP Positivo	HP Negativo	
HP positivo	71	24	95
HP negativo	0	4	4
Total	71	28	99

Teste McNemar = χ^2 (b/c) = 22,04; $p=0,0001$

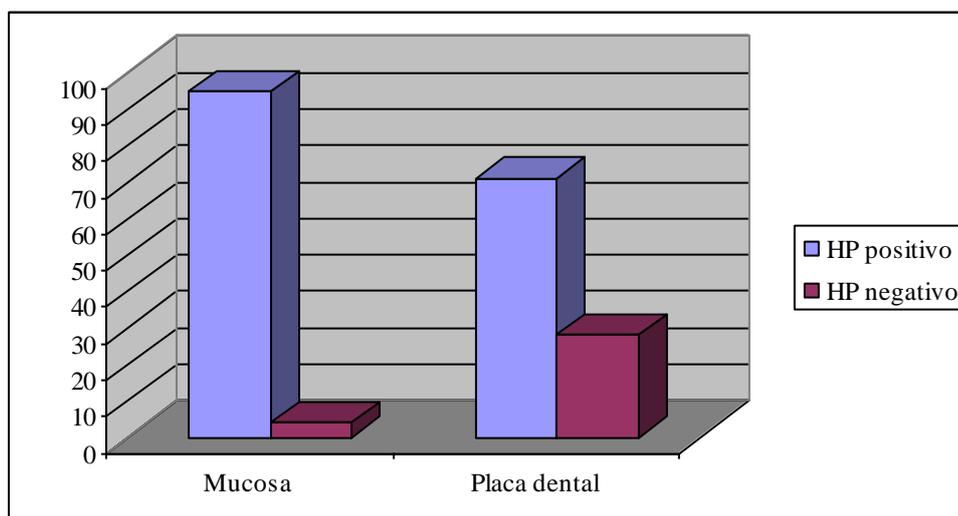


Figura 4 – Proporção de positividade ao DNA da *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental, de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

3.2 ASSOCIAÇÃO DA *H. PYLORI* NA PLACA DENTAL E ESTÔMAGO, COM IDADE E SEXO

A idade dos pacientes incluídos neste estudo variou de 17 a 82 anos com média de $37,4 \pm 11,9$ anos. A tabela 3 mostra a relação entre a presença do DNA de *H. pylori* no antro gástrico e placa dental com a idade e o sexo dos pacientes estudados. As prevalências de infecção gástrica e da detecção na placa dental da *H. pylori* não foram significativamente diferentes entre os grupos de distintas faixas etárias (estômago: Teste G Williams = 0,70; $p = 0,70$ / Placa dental: $G_{Williams} = 0,43$; $p = 0,81$). Assim como, na amostra constituída por 30 homens e 69 mulheres, as pacientes femininas tinham uma frequência da bactéria na placa dental e de

infecção gástrica pelo *H. pylori*, cujos desvios não diferiram significativamente daquelas entre os homens (estômago: Teste $G_{(Yates)} = 0,10$; $p = 0,75$ / Placa dental: $G_{(Yates)} = 0,10$; $p = 0,71$). Do mesmo modo, em relação à idade e sexo dos pacientes estudados, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos amostrais com ou sem positividade ao DNA de *H. pylori*, simultaneamente na mucosa gástrica e placa dental.

Tabela 3 – Distribuição de frequências da detecção do DNA da *H. pylori* no estômago e placa dental de acordo com as características de idade e sexo de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

Variáveis	Mucosa gástrica / placa dental						Total
	+ /+		+ /-		-/-		
Faixa etária ¹	n	%	n	%	n	%	
17-39	43	69	16	26	3	4,8	62
40-59	25	73,5	8	23,5	1	3	34
>60	3	100	0	0	0	0	3
Sexo²							
Masculino	21	70	8	27	1	3	30
Feminino	50	72	16	23	3	4	69
Total	71	72	24	24	4	4	99

1. Teste $G_{(Williams)} = 0,86$; $p=0,93$; g. l. = 4

2. Teste $G_{(Williams)} = 0,16$; $p=0,92$; g. l. = 2

3.3 O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS GÁSTRICAS E A PRESENÇA DA *H. PYLORI* NA MUCOSA GÁSTRICA E PLACA DENTAL

Todos os pacientes apresentaram alterações à endoscopia digestiva alta. A presença da *H. pylori* esteve associada a diversos achados endoscópicos, incluindo: gastrites enantematosas, gastrites erosivas e úlceras. Dentre estes

pacientes, 18% (17/95) apresentavam maior grau de severidade representado pela presença de lesões ulceradas à endoscopia e/ou alterações pré-malignas, do tipo metaplasia intestinal à histologia (figura 5). Na tabela 4 estão especificadas as frequências dos casos de doenças gástricas desenvolvidas pelos pacientes, de acordo com a presença de DNA de *H. pylori* no antro e placa dental. A concomitância de *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental foi de 80% nos pacientes com gastrite (lesões menos severas) e de 20% naqueles com úlcera e/ou gastrite associada à metaplasia intestinal (lesões mais severas). Dentre os pacientes com positividade ao DNA de *H. pylori* exclusivamente na mucosa gástrica, as lesões menos severas ocorreram em 87,5% e as mais severas em 12,5%. Nenhuma associação significativa foi observada relacionada à severidade de doença gástrica e a presença de *H. pylori* na placa dental.

Tabela 4 – Relação entre a detecção do DNA da *H. pylori* na placa dental e mucosa gástrica e a severidade de doenças gástricas de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

<i>H. pylori</i>		Gastrite	Úlcera e/ou metaplasia intestinal	Total
Mucosa gástrica	Placa dental			
+	+	57 (80%)	14 (20%)	71
+	-	21(87,5%)	3 (12,5%)	24
Total		78	17	95

Teste binomial: duas proporções ($p_1=0,20$; $p_2=0,13$); $Z=0,80$; $p_{(unilateral)} = 0,21$

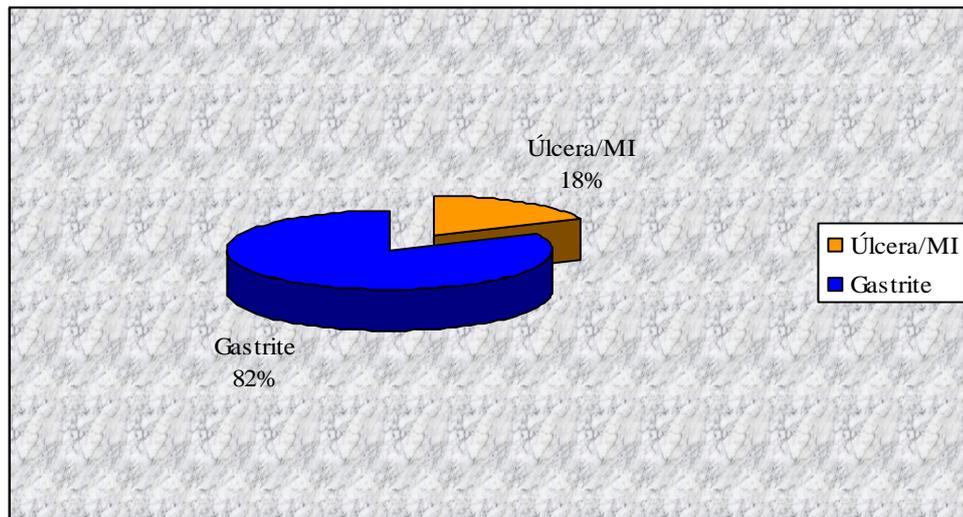


Figura 5 – Ocorrência de doenças gástricas em pacientes com infecção da *H. pylori*, no HUIBB, Belém, Pará, 2005.

3.4 COMPARAÇÃO ENTRE OS TESTES USADOS PARA DETECÇÃO DA BACTÉRIA *H. PYLORI*

Os resultados obtidos nesta investigação, envolvendo espécimes de mucosa gástrica, demonstraram que 95 (96%) pacientes tinham DNA de *H. pylori* positivo pela PCR, 39 (48%) pacientes foram positivos no exame histopatológico, enquanto 47 (49%) eram também positivos para o teste da urease (tabela 5). A diferença entre a PCR e o histopatológico ou entre a PCR e o teste da urease dos dados acima mencionados foi estimado como sendo menor do que 0,001. Contudo, os resultados dos histopatológicos para infecção por *H. pylori* não foram significativamente diferentes daqueles obtidos pelo teste da urease, ambos realizados em biópsia gástricas.

Na placa dental, foram testados 93 pacientes pelo teste da urease e houve positividade para a infecção pela *H. pylori* em 52% (48/93) dos espécimes. Por PCR na placa dental, o DNA da bactéria foi detectado em 72% (71/99) dos pacientes (tabela 5). A diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0.001$).

Tabela 5 – Resultados dos diferentes testes diagnósticos na detecção da *H. pylori* em espécimes de mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUJBB, Belém, Pará, 2005.

Técnicas usadas nos espécimes	<i>H. pylori</i>				Total
	Positivo		Negativo		
	n	%	n	%	
Placa dental¹					
PCR	71	72	28	28	99
Urease	48	52	45	48	93
Mucosa gástrica²					
PCR	95	96	4	4	99
Histológico	39	48	43	52	82
Urease	47	49	49	51	96

1: Teste G ($_{Yates}$) = 7,39; p=0,006

2: Teste G ($_{Williams}$) = 76,82; p=0,0001 (PCR / Histológico / Urease)

Teste G ($_{Yates}$) = 57,14; p=0,0001 (PCR / Histológico)

Teste G ($_{Yates}$) = 58,48; p=0,001 (PCR / Urease)

Teste G ($_{Yates}$) = 0,001; p=0,97 (Urease / Histológico)

3.5 CARACTERIZAÇÃO DAS CEPAS DA *H. PYLORI* DETECTADAS NO ESTÔMAGO E NA PLACA DENTAL

Foram estimadas as frequências genotípicas e fenotípicas dos marcadores de virulência bacteriana, identificados na mucosa gástrica e na placa dental, considerando as variantes do gene *vacA*: o alelo s, relacionado a sequência sinal, podendo ocorrer s1 (s1a e s1b) ou s2 e o alelo m, relacionado a região mediana do gene, podendo ocorrer m1 e m2 e a presença ou ausência do gene *cagA* (tabela 6).

Em relação ao gene *vacA*, o genótipo s1m1 caracterizava 54% (51/95) e 59% (42/71) dos espécimes de biópsia gástrica e placa dental

respectivamente, enquanto que 34% (32/95) em amostras gástricas e 18% (13/71) em placa dental apresentavam a combinação alélica *s2m2*. A presença simultânea dos tipos *s1m1/s2m2* representava 12% (12/95) na biópsia gástrica e 23% (16/71) na placa dental.

Dentre as cepas encontradas nos espécimes de mucosa gástrica, 67 foram *cagA* positivas, e 28 *cagA* negativas, enquanto que na placa dental, 58 foram *cagA* positivas e 13 *cagA* negativas (figura 6). Esta diferença observada não foi estatisticamente significativa, sendo a prevalência deste fator de virulência, Cag A, semelhante nas amostras da placa dental e da mucosa gástrica (tabela 7).

Na mucosa gástrica a cepa mais prevalente foi a *s1bm1cagA* positivo, presente em 35 pacientes, seguido da cepas *s2m2/cagA* negativa presente em 28 pacientes. Os tipos *s1am1cagA* positivo e as infecções mistas genotipadas como *s1bm1/s2m2cagA* positivas, foram isoladas de 16 e 12 pacientes respectivamente e a cepa *s2m2cagA* positivas em 4 pacientes (figura 7).

Na placa dental, a cepa mais frequente foi a *s1bm1cagA* positiva, assim como nas amostras gástricas e estavam presentes em 26 pacientes, seguidas pelas cepas *m1s1acagA* positivas em 16 pacientes e *s1bm1/s2m2cagA* positivas, em 16 pacientes. As cepas *s2m2cagA* negativas estavam presentes em 9 pacientes e cepas *s2m2/s1bcagA* negativas em 4 pacientes, sendo que estas só foram encontradas na placa dental (figura 7).

A cepa *s1m1cagA* positiva, considerada a mais patogênica, independente dos subtipos *s1a* e *s1b*, foi encontrada na mucosa de 63 pacientes e na placa dental de 58 pacientes.

As cepas encontradas na placa dental foram iguais às cepas encontradas na mucosa gástrica em 63 pacientes, diferentes em 24 pacientes e em 8 pacientes foram detectadas cepas múltiplas (figura 8).

A análise em conjunto desses marcadores genéticos da bactéria demonstrou que, a placa dental e a mucosa gástrica dos pacientes possuíam cepas idênticas, em 89% (dos 71 pacientes positivos na placa, 63 tinham cepas com genótipo iguais na mucosa gástrica). Não houve diferença significativa entre as frequências genótípicas das cepas da *H. pylori* na placa dental e mucosa gástrica dos pacientes.

Tabela 6 – Comparação entre os tipos de cepas dos espécimes de mucosa gástrica e placa dental, pelo método da reação em cadeia da polimerase (PCR) de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

Tipos de cepas Fenótipo	Genótipo		Mucosa gástrica		Placa dental	
	<i>VacA</i>	<i>CagA</i>	N	%	n	%
Tipo 1	<i>s1am1</i>	+	16	17	16	22
	<i>s1bm1</i>	+	35	37	26	37
	<i>s2m2</i>	+	4	4	0	0
	<i>s1bm1/s2m2</i> (mista)	+	12	13	16	22
Tipo 2	<i>s2m2</i>	-	28	29	9	13
	<i>s1bm2/s2m2</i> (mista)	-	0	0	4	6
Total			95	100	71	100

Teste Mann-Whitney: U = 15,00; Z (U) = 0,48; p=0,63

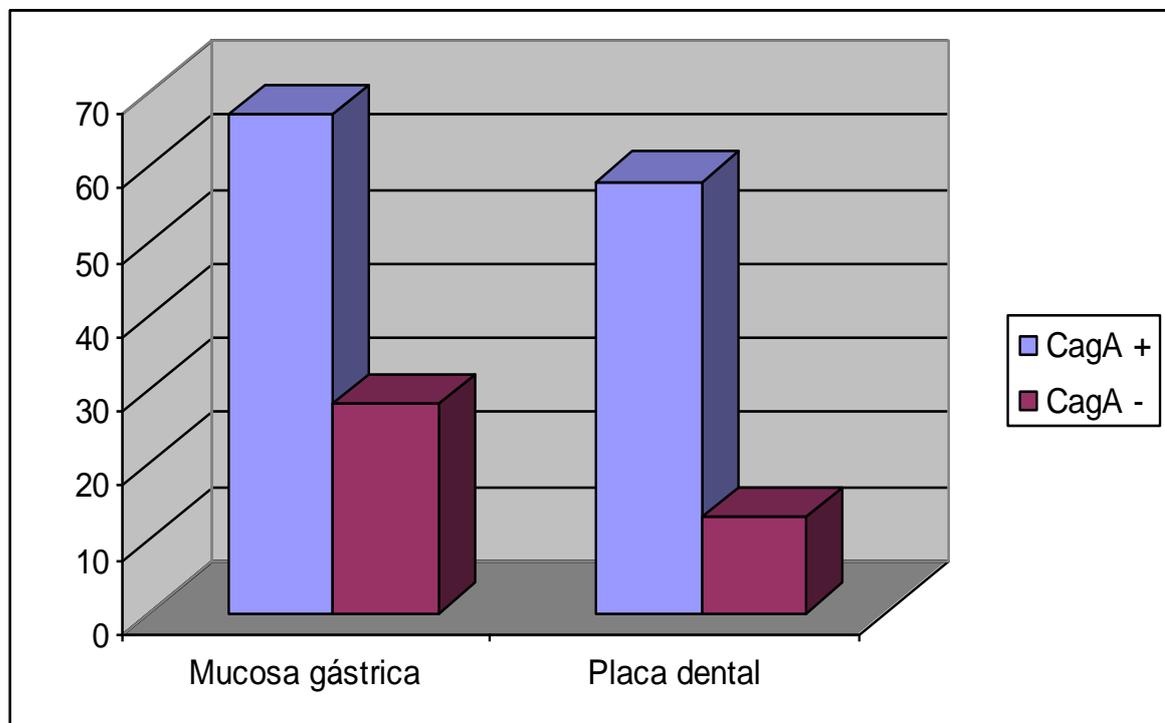


Figura 6 – Frequência das cepas *H. pylori cagA* na mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

Tabela 7 – Perfil das cepas *H. pylori cagA* na mucosa gástrica e placa dental, de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

Gene <i>cagA</i>	Espécimes			
	Mucosa gástrica		Placa dental	
Positivo	67	(71%)	58	(82%)
Negativo	28	(29%)	13	(18%)
TOTAL	95		71	

$G_{(Yates)} = 2,19; p=0,13$

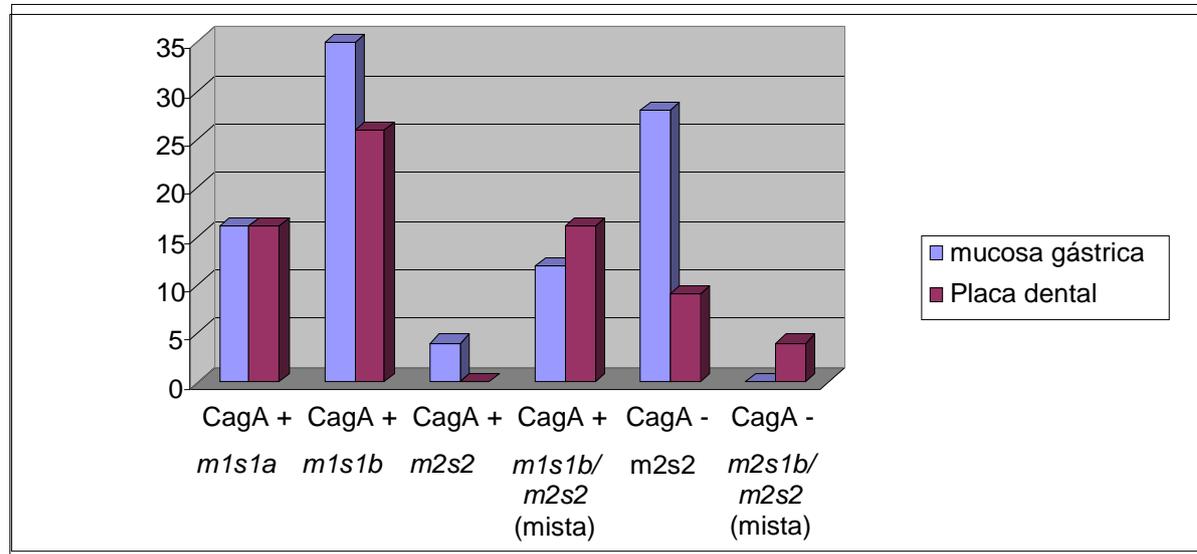


Figura 7 – Distribuição genotípica de *vacA* / *cagA* em mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

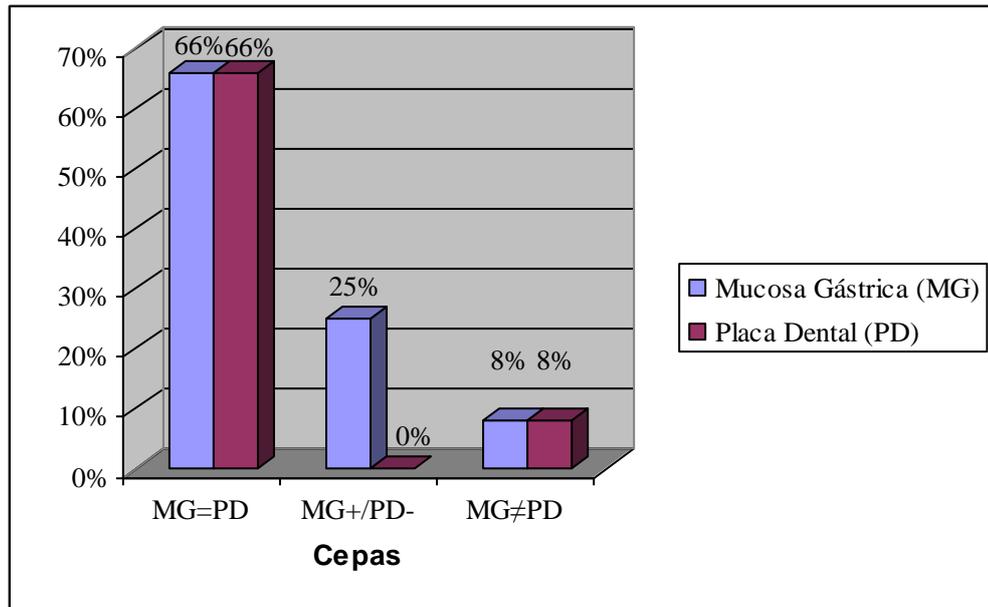


Figura 8 – Associação das cepas da *H. pylori* na mucosa gástrica e placa dental de pacientes do HUIBB, Belém, Pará, 2005.

4 DISCUSSÃO

A infecção pela bactéria *H. pylori* no estômago é uma das mais frequentes no mundo (DUNN et al., 1997; EATON et al., 2001), porém o preciso modo de transmissão e o reservatório natural da *H. pylori* não estão ainda completamente elucidados (CAVE 1996). As rotas de transmissão mais frequentemente sugeridas têm sido a oral-oral e fecal-oral (MITCHELL, 1999). Entretanto, a viabilidade da transmissão oral-oral depende da ocorrência da bactéria na cavidade bucal. Ressalta-se ainda, que permanece obscuro se a cavidade oral teria condições suficientemente favoráveis para o crescimento da bactéria e se seria, portanto uma fonte para infecções gástricas, a partir da boca, saliva e placa dental (KILMARTIN, 2002; PATTHY et al., 2002).

O presente estudo detectou a *H. pylori* em 95 dos espécimes do estômago e em 71 amostras de placa dental dentre 99 pacientes estudados. A cavidade oral tem sido proposta como um reservatório para infecção baseados em dados de cultura e PCR, com resultados não uniformes. Nesta literatura revisada, os dados são inconsistentes, com taxas de positividade para *H. pylori* na cavidade oral variando de 0% a 100% (KRAJDEN et al., 1989; MADMUJAR et al., 1990; MAPSTONE et al., 1993; NGUYEN et al., 1995; Li et al., 1996; MADINIER et al., 1997; THOMAS et al., 1997; BERROTERAN et al., 2002; UMEDA et al., 2003; AL-HAWAJRI et al., 2004; PEREIRA et al., 2005; OLIVIER et al., 2006).

Alguns estudos têm relatado frequente detecção da *H. pylori* de espécimes orais, principalmente placa dental (BANATVALA et al., 1993; DOWSETT et al., 1999). Enquanto outros têm mostrado apenas detecção ocasional (MAPSTONE et al., 1993) e outros nem mesmo têm detectado a presença deste micro-organismo na boca (BERNANDER et al., 1993; LUMAN et al., 1996). Os resultados conflitantes obtidos por diversos grupos de pesquisa, em relação à incidência da *H. pylori* na placa dental, podem ser explicados pelas diferenças nos métodos usados na coleta e processamento das amostras e nas diversas técnicas de detecção e ainda devido à contaminação oral causada por refluxo gastroesofageano e o tipo de população estudada (SONG et al., 2000a, b; KILMARTIN, 2002; DOWSETT; KOWOLIK, 2003).

Assim, a elevada prevalência da detecção na placa dental e no estômago da *H. pylori* nos pacientes deste estudo, poderia refletir as condições da população e estar associada a condições sanitárias básicas e nível sócio econômico.

A frequência elevada da *H. pylori* na placa dental, poderia ser um indicador de que a cavidade oral seria um sítio de colonização deste micro-organismo, de onde poderia ser diretamente disseminada de pessoa a pessoa, constituindo-se em um fator de risco para infecção gástrica ou reinfecção.

Nos pacientes estudados, em relação à variável idade, observou-se um elevado número de indivíduos no grupo de faixa etária mais jovem (18 a 39 anos), perfazendo 59% do total de casos analisados. Entretanto, não houve diferença na taxa de infecção gástrica da *H. pylori* entre os grupos adultos das diversas faixas etárias. Similarmente, quando estes grupos foram testados estatisticamente para a positividade do DNA de *H. pylori* na placa dental, o valor da probabilidade também não foi significativa. Desta forma, estes conjuntos de dados, corroboram as evidências de que a infecção pela *H. pylori* é adquirida predominantemente na infância. Dados epidemiológicos mostram que nos países desenvolvidos as taxas de infecção gástrica pela *H. pylori* são menores do que nos países em desenvolvimento, onde as prevalências são elevadas (MALATY et al., 1991), sendo que o período de aquisição da bactéria ocorre nos primeiros anos de vida, declinando progressivamente após os 5 anos de idade (FELDMAN et al., 1997; ROWLAND et al., 2006).

Paralelamente, no que se refere ao gênero da amostra estudada, constata-se que a proporção de mulheres (69%) foi significativamente maior do que de homens no estudo, porém quanto à presença da infecção gástrica pela *H. pylori*, a diferença na frequência entre homens e mulheres infectados pela *H. pylori* não foi significativa. Igualmente, quando analisada a placa dental, não foi encontrada diferença significativa entre a proporção de homens e mulheres com positividade ao DNA da *H. pylori*. Estes achados apoiam e concordam com os resultados descritos por Gasbarrini et al., (1995), onde a soroprevalência da *H. pylori* foi igual entre ambos os sexos. Estudo de BERROTERAN et al., (2002) detectou índice de positividade maior em amostras gástricas de mulheres do que de homens, porém na placa dental, esta diferença não foi observada. Por outro lado, outros estudos, como

o realizado em uma comunidade rural dos Andes colombiano, descreveram taxa elevada desta infecção em homens jovens (GOODMAN et al., 1996).

Todos os pacientes investigados apresentavam patologias gástricas associadas à presença da *H. pylori*, com exceção de 4 pacientes, que eram *H. pylori* negativo. Úlceras e metaplasia intestinal, consideradas como lesões mais agressivas, foram observadas em 18% (17/95) destes pacientes. Nenhuma associação significativa foi verificada entre a ocorrência de lesões de maior ou menor severidade (gastrite x úlcera e/ou MI) e a presença do DNA da *H. pylori* na placa dental. Entretanto, os dados obtidos confirmam a forte associação entre a presença da *H. pylori* no estômago e o desenvolvimento de doenças gástricas, e consequentemente reforçam as observações anteriormente publicadas de que pessoas infectadas pela *H. pylori* desenvolve doenças gástricas, com ou sem sintomas clínicos, embora seu epitélio gástrico claramente mostre sinais de inflamação (MORRIS et al., 1991; BLASER; PARSONNET, 1994). Ao longo do tempo, aproximadamente 10% das pessoas infectadas, podem desenvolver úlcera gástrica ou duodenal (PARSONNET, 1995; VAN AMSTERDAM et al., 2006).

Para a detecção da *H. pylori* na mucosa gástrica, diversos métodos estão disponíveis e são frequentemente empregados. Dentre os testes utilizados são citados o teste da urease, o histopatológico e a cultura da bactéria, tida como “padrão ouro” (revisados em KILMARTIN et al., 2002; DOWSETT; KOWOLIK, 2003). Outro método utilizado, a PCR, permite a amplificação de regiões espécie-específicas de DNA, para subsequente detecção pela eletroforese em gel de agarose. As dificuldades encontradas com o cultivo da *H. pylori*, servem como um estímulo ao uso da PCR (RAUTELIN et al., 2003).

Ressalta-se que na literatura revisada, vários aspectos fundamentais são citados recomendando maior prudência com os dados e a aplicação destes métodos no uso do diagnóstico da *H. pylori* em amostras da cavidade oral (DOWSETT; KOWOLIK, 2003).

Em relação à aplicação do teste da urease nas amostras bucais, existem várias espécies de micro-organismos produtoras de urease na cavidade oral, sendo portanto inapropriado concluir que atividade de urease elevada é indicativa da presença oral da *H. pylori* (PYTKO-POLONCZYK et al., 1996; BUTT et al., 1999; AVCU et al., 2001). Quanto ao exame histológico de amostras orais, onde

espiroquetas, incluindo *Treponema* spp, são comumente encontrados, torna-se provável os resultados falso-positivos, devido à baixa especificidade deste método (BUTT et al., 2001). Outra dificuldade é o cultivo da *H. pylori* de amostras orais, sendo consistentemente atribuídas à complexidade da microflora oral, com mais de 350 espécies de micro-organismos (SCHEIN; MERYN, 1994), que juntamente com as exigências de condições apropriadas ao crescimento da *H. pylori*, favoreceriam simultaneamente o crescimento de outras espécies orais, e que possivelmente atuariam como um fator limitante ao crescimento direto da *H. pylori* (ISHIHARA et al., 1997; DOWSETT et al., 1999; KILMARTIN et al., 2002; NDIP et al., 2003), que por sua vez, poderia assumir uma forma de resistência, dita cocoide, que não é cultivável por técnicas convencionais (BODE et al., 1993). Considera-se ainda, que o número de bactérias insuficientes nas amostras orais, raramente permite o seu cultivo (SONG et al., 2000a).

Certamente, algumas dessas peculiaridades inerentes ao cultivo da *H. pylori*, perdem o significado com o uso da PCR, que possibilita rápida detecção mesmo com um número pequeno de bactérias nas amostras orais. Desta forma, a identificação oral da *H. pylori* tem sido mais frequente do que aquelas descritas com as técnicas de cultivo (SONG et al., 1999; 2000a).

Hammar et al., (1992) detectaram por PCR a presença da *H. pylori* em quatro biópsias que foram negativas por cultura. Clayton et al. (1992) reportaram que a *H. pylori* foi detectada por PCR em 15 de 23 biópsias gástricas e que somente 7 destas amostras foram positivas para a bactéria na cultura. Mapstone et al. (1993) detectaram a bactéria por PCR em 8 amostras gástricas consideradas histologicamente normais.

Um estudo realizado por Donmez-Altuntas; Guven (2002), detectou maior especificidade e sensibilidade da PCR em relação ao teste da urease, com 93,8% de positividade para a PCR, que foi significativamente maior que 65,6% de positividade para o teste da urease. Zsikia et al. (2006) mostraram que a *H. pylori* pode ser detectada, por PCR em até 20% dos pacientes histologicamente negativos em biopsias gástricas, com características inflamatórias.

Apesar disto, um dos pontos críticos dos estudos utilizando a PCR, é a ausência de uniformidade dos resultados, devido ao estabelecimento de distintos procedimentos laboratoriais (DOWSETT; KOWOLIK, 2003). Uma das possíveis

razões destas discordâncias envolve o uso de controlos inapropriados na PCR, de iniciadores com sensibilidade e especificidades diferentes, bem como a contaminação amostral (LU et al., 1999; SONG et al., 1999).

O interessante é que ainda não existe e, portanto se faz necessária, uma padronização metodológica apropriada, particularmente com relação à extração e purificação do DNA e a escolha de iniciadores para a PCR, que sistematicamente seja usada na detecção oral da *H. pylori* (DOWSETT; KOWOLIK, 2003).

A análise deste estudo indicou que a PCR é uma técnica eficiente para a detecção da *H. pylori* em ambos os espécimes, gástrico e de placa dental, demonstrando maior sensibilidade e especificidade com relação tanto ao teste da urease na placa dental e biópsias gástricas quanto ao exame histopatológico da mucosa gástrica. Nestes termos, a interpretação dos resultados obtidos no presente estudo, com a comparação das técnicas empregadas, como o exame histopatológico, o teste da urease e a PCR, em biópsia gástrica e/ou placa dental, foi concordante e compatível com os comentários detalhadamente discriminados acima e com os estudos da literatura, também já referidos neste texto.

Se indubitavelmente, a *H. pylori* pode ser detectada na cavidade bucal por PCR, as implicações destes achados são importantes e devem ser avaliados. Em princípio, posto que, possibilita a detecção não só de um número baixo de organismos, como também de bactérias não viáveis, as quais por definição nestes casos não seriam suficientemente capazes de causar infecção e, portanto sem qualquer efeito sobre a mucosa gástrica (SONG et al., 2000a). Entretanto, pode estar realmente identificando isolados viáveis e em quantidades suficientes para ter significado patogênico e clínico (DOWSETT; KOWOLIK, 2003). Por esta razão, a aplicação dos testes moleculares para avaliar a viabilidade e caracterizar cepas da *H. pylori* na cavidade oral poderia servir como um recurso complementar e auxiliar no diagnóstico da infecção gástrica (PEREIRA et al., 2000).

Permanece obscuro, na transmissão da *H. pylori*, se a cavidade oral poderia ser uma fonte potencial de infecção gástrica (HARDO et al., 1995; CZESNIKIEWICZ-GUZIK et al., 2004). Particularmente, uma possível transmissão por contato íntimo oral-oral é sugerida indiretamente pelo fato de parentes (cônjuges e filhos) de indivíduos infectados com *H. pylori* serem mais frequentemente

soropositivos do que indivíduos com menor grau de parentesco (MEGRAUD, 1995; ROTHENBACHER et al., 1999).

Caracterização molecular da *H. pylori* tanto da boca como do estômago foi inicialmente realizada por Shames et al. (1989), que relataram ser o isolado da placa dental de um paciente indistinguível do isolado gástrico. Estes resultados foram posteriormente confirmados por outros (FERGUSON et al., 1993; KHANDAKER et al., 1993; CELLINI et al., 1995; OSHOWO et al., 1998; PARSONNET et al., 1999; HU et al., 2002). Entretanto Song et al. (2000c) usando “nested PCR” seguido pelo sequenciamento do DNA do amplicon demonstraram que em 3 dos pacientes estudados, as cepas da *H. pylori* detectadas na boca diferiam das gástricas.

Como a *H. pylori* apresenta uma enorme diversidade genética (TAYLOR et al., 1992; VAN DER ENDE et al., 1996; de VRIES et al., 2002; ARAS et al., 2003), cepas isoladas de pacientes são diferenciadas por métodos moleculares como a PCR. Assim, neste estudo, foram identificados os tipos de cepas na placa dental e estômago do mesmo paciente. A caracterização molecular dos fatores de virulência da *H. pylori*, **CagA** e **VacA**, revelou, em alguns pacientes, a existência de cepas indistinguíveis em ambos espécimes, sugerindo uma fonte comum de infecção pela *H. pylori*, sendo as cepas mais prevalentes na placa dental e na mucosa gástrica, do tipo *m1s1b cagA* positiva.

Estudos da distribuição geográfica dos alelos da *vacA* e *cagA* em amostras gástricas, mostraram predominância do alelo *s1b* na Espanha e Portugal, e em outras regiões da Europa houve predominância do subtipo *s1a*. Na América do Norte, os alelos *s1a* e *s1b* foram equivalentes e na América Central e América do Sul o subtipo *s1b* foi predominante (VAN DOORN et al., 1999). Na Ásia estudos mostraram que o subtipo mais prevalente foi *s1cm1b*, porém este subtipo parece ser raro em outras partes do mundo (VAN DOORN et al., 1998a; ZHOU et al., 2004).

No Brasil, estudo na população de Belém (PA), sobre a prevalência dos genes *cagA* e *vacA* em biopsias gástricas, detectou maior prevalência de cepas *s1b cagA* positivas em pacientes portadores de doença ulcerosa péptica (MARTINS et al., 2005). Em Recife, também houve predominância do subtipo *s1b*, tanto em pacientes portadores de úlceras como em pacientes portadores de gastrite (BRITO et al., 2003).

Na placa dental, poucos estudos foram encontrados em relação à genotipagem da bactéria. Hu et al. (1999) descrevem prevalência de 3,2% de pacientes *cagA* positivos em portadores de doença gástrica e de 3,3% dos pacientes com periodontite.

Considerando-se que mais de uma cepa da *H. pylori* pode estar presente no estômago, van der Ende et al (1996), encontraram 13% de cepas múltiplas da *H. pylori* detectadas simultaneamente no estômago e na placa dental, com perfil genotípico idêntico. Martins et al. (2005) encontraram em sua casuística a presença de 3,4% de cepas múltiplas na infecção gástrica pela *H. pylori* enquanto, Ribeiro et al. (2002) observaram 4,2% de infecção mista em seu estudo. Coinfecção também foi observada por Gatti et al. (2004), com prevalência de 13%.

Em contrapartida, o estômago poderia ser a fonte da *H. pylori*, que atingiu a boca via vômitos ou refluxo gástrico. Certamente esta rota de transmissão gastro-oral tem sido relatada e merece ser investigada (AXON, 1995).

Neste contexto, como afirmaram Nguyen et al. (1995), o reconhecimento de cepas idênticas da *H. pylori* na boca e no estômago indica que, a colonização desta bactéria não se limita à mucosa gástrica, e que o nicho bucal poderia ser considerada como uma fonte de reinfecção gástrica.

A influência da *H. pylori* oral no sucesso da terapia contra a bactéria no estômago, foi estudada por Miyabayashi et al. (2000) que demonstrou que a bactéria na cavidade oral afeta a evolução da terapia de erradicação e foi associada com recorrência de infecção gástrica. Se a mucosa gástrica for recolonizada por *H. pylori* da cavidade oral, a qual não é acessível à antibioticoterapia sistêmica, o controle da placa dental e outros procedimentos periodontais deveriam ser recomendados aos pacientes com gastrite (BERROTERAN et al., 2002).

Desta forma, a *H. pylori* participaria da microflora oral (SONG et al., 2000b) e novos métodos de detecção oral da *H. pylori* reforçariam a sua função nesta rota de transmissão (YOUNG et al., 2001). Entretanto, o presente estudo não detectou a *H. pylori* colonizando a placa dental em todos os indivíduos portadores de infecção gástrica pela bactéria. Esta observação, faz supor que diferenças entre a suscetibilidade do hospedeiro, e as condições diversas do seu microambiente oral, bem como a variabilidade genética das cepas, tenham um papel significativo na

colonização oral da *H. pylori*. Conseqüentemente, os fatores que são responsáveis pelo comportamento de crescimento típico e padrão de colonização da *H. pylori* na placa dental carecem, ainda, de melhor definição.

Finalmente, estudos adicionais bem planejados, são indispensáveis para entender a colonização da *H. pylori* na cavidade oral e sua relação com a infecção gástrica ou reinfecção após antibioticoterapia

5 CONCLUSÕES

- A frequência de detecção da *H. pylori* na placa dental e no estômago foi elevada.
- Houve associação entre a ocorrência de infecção gástrica pela *H. pylori* e a ocorrência da bactéria na placa dental.
- A prevalência da infecção no antro gástrico pela *H. pylori* foi maior do que da placa dental.
- Não houve diferença entre a taxa de infecção pela *H. pylori*, no estômago e na placa dental, em relação ao sexo dos pacientes e às diversas faixas etárias.
- Todos os pacientes com infecção gástrica pela *H. pylori* apresentaram doenças gástricas associadas, embora não tenha sido encontrada a presença da *H. pylori* na placa dental em todos os pacientes.
- O método de diagnóstico pela PCR, aplicado em espécimes de biópsia gástrica e placa dental, apresentou maior sensibilidade e especificidade do que os testes da urease e detecção histológica.
- O perfil genotípico, *vacA* e *cagA* das cepas da *H. pylori* foi indistinguível na placa dental e mucosa gástrica, na maioria dos pacientes estudados.
- A cepa *m1s1cagA* positivo, considerada a mais patogênica, foi o tipo mais prevalente tanto na mucosa gástrica quanto na placa dental.
- A frequência elevada da *H. pylori* na placa dental poderia ser um indicador de que este é um dos sítios de colonização, a partir do qual esta bactéria seria disseminada de pessoa a pessoa, constituindo-se em um fator de risco para a infecção e reinfecção gástrica.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. C. F., CORVELO, T. C. O., ARAÚJO, M., CRUZ, E. M., DAIBES, S., ASSUMPÇÃO, M. B. Expressão dos antígenos ABH e Lewis na gastrite crônica e alterações pré-neoplásicas da mucosa gástrica. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 39, n. 4, p. 222-232, 2002.
- AL-HAWAJRI, A. A., KERET, D., SIMHON, A., ZLOTKIN, A., FISHMAN, Y., BERCOVIER, H., RAHAV, G. *Helicobacter pylori* DNA in dental plaques, gastroscopy, and dental devices. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. (7-8), p. 1091-4, 2004.
- ALI, M., KHAN, A. A., TIWARI, S. K., AHMED, N., RAO, L. V., HABIBULLAH, C. M. Association between cag-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. **World journal of gastroenterology**, v. 11, n. 43, p. 6815-22, nov. 2005.
- ALLAKER, R. P., YOUNG, K. A., HARDIE, J. M., DOMIZIO, P., MEADOWS, N. J. Prevalence of *Helicobacter pylori* at oral and gastrointestinal sites in children: evidence for possible oral-to-oral transmission. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 312-317, apr. 2002.
- ANDERSEN, A. P., ELLIOTT, D. A., LAWSON, M., BARLAND, P., HATCHER, V. B., PUSZKIN, E. G. Growth and morphological transformations of *Helicobacter pylori* in broth media. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, p. 2918-2922, 1997.
- ANDERSEN, R. N., [GANESHKUMAR, N.](#), [KOLENBRANDER, P. E.](#) *Helicobacter pylori* adheres selectively to Fusobacterium spp. **Oral microbiology and immunology**, v. 13, n. 1, p. 51-4, feb. 1998.
- ARAS, R. A., KANG, J., TSCHUMI, A. I., HARASAKI, Y., BLASER, M. J. Extensive repetitive DNA facilitates prokaryotic genome plasticity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, p. 13579-13584, 2003.
- ASHOUR, A. A., MAGALHAES, P. P., MENDES, E. N., COLLARES, G. B., DE GUSMAO, V. R., QUEIROZ, D. M., NOGUEIRA, A. M., ROCHA, G. A., DE OLIVEIRA, C. A. Distribution of *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 33, p. 173-178, 2002.
- ASSUMPÇÃO, P. P.; BURBANO, R. R. **Genética e câncer gástrico. In: Atualização em câncer gástrico**. 1. ed. São Paulo: Tecmed, 2005, p. 95-107.
- ATHERTON, J. C., CAO, P., PEEK JR, R. M., TUMMURU, M. K., BLASER, M. J., COVER, T. L. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 30, p. 17771-7, 1995.

AVCU, N. AVCU, F., BEYAN. C., URAL, A. U., KAPTAN, K., OZYURT, M., NEVRUZ, O., YALCIN, A. The relationship between gastric-oral *Helicobacter pylori* and oral hygiene in patients with vitamin B12-deficiency anemia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology; Endodontics*, v. 92, n. 2, p. 166-169, aug. 2001.

AXON, A.T.R. Is *Helicobacter pylori* transmitted by the gastro-oral route? *Alimentary Pharmacology; Therapeutics*, v. 9, p. 585–588. 1995.

AYRES, M., AYRES, M. J., AYRES, D. L., SANTOS, A. S. **Bio Estat 3.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq, 2003.

BANATVALA, N. LOPEZ, C. R., OWEN, R., ABDI, Y., DAVIES, G., HARDIE, J., FELDMAN, R. *Helicobacter pylori* in dental plaque. *Lancet*, v. 341, n. 8841, p. 380. feb. 1993.

BARDHAN, P. K. Epidemiological Features of *Helicobacter pylori* Infection in Developing Countries. *Clinical Infectious Diseases*, n.25, p. 973-978, 1997.

BARILE, K. A .S. Estudo soropidemiológico da infecção pela *Helicobacter pylori* na população infantil de Belém Pará: transmissão intrafamiliar, aspectos socioeconômicos e grupos sanguíneos. 2003. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Pará. 64p. Belém-Pará.

BELLACK, N. R., KOEHOORN, M. W., MACNAB, Y. C., MORSHED, M.G. A conceptual model of water's role as a reservoir in *Helicobacter pylori* transmission: a review of the evidence. *Epidemiology and Infection*, v. 134, n. 3, p. 439-49, jun. 2006.

BERNANDER, S., DALEN, J., GASTRIN, B., HEDENBORG, L., LAMKE, L. O., OHRN, R. Absence of *Helicobacter pylori* in dental plaques in *Helicobacter pylori* positive dyspeptic patients. *European Journal of Clinical Microbiology; Infectious Diseases*, v. 12, n. 4, p. 282-5, apr. 1993.

BERROTERAN, A., PERRONE, M., CORRENTI, M., CAVAZZA, M. E., TOMBAZZI, C., GONÇALVES, R., LECUNA, V. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the oral cavity and gastroduodenal system of a Venezuelan population. *Journal of Medical Microbiology*, v. 51, n. 9, p. 764-70, sep. 2002.

BIREK, C., GRANDHI, R., MCNEILL, K., SINGER, D., FICARRA, G., BOWDEN, G. Detection of *Helicobacter pylori* in oral aphthous ulcers. *Journal of Oral Pathology; Medicine*, n. 28, p.197-203, may. 1999.

BLASER, M.J.; PARSONNET, J. Parasitism by the 'slow' bacterium *Helicobacter pylori* leads to altered gastric homeostasis and neoplasia. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 94, p. 4–8, 1994.

BLOMSTERGREN, A., LUNDIN, A., NILSSON, C., ENGSTRAND, L., LUNDEBERG, J. Comparative analysis of the complete *cag* pathogenicity island sequence in four *Helicobacter pylori* isolates. *Gene*, v. 328, p. 85-93, mar. 2004.

- BODE, G., MAUCH, F., MALFERTHEINER, P. The coccoid forms of *Helicobacter pylori*. Criteria for their viability. **Epidemiology and Infection**, v. 111, p. 483-490, 1993.
- BRADEN, B. TEUBER, G., DIETRICH, C. F., CASPARY, W. F., LEMBCKE, B. Comparison of new faecal antigen test with ¹³C-urea breath test for detection *Helicobacter pylori* infection and monitoring eradication treatment: prospective clinical evaluation. **British Medical Journal**, v. 320, n. 7228, p. 148, 2000.
- BRITO, C. A., SILVA, L. M., JUCA, N., LEAL, N. C., DE SOUZA, W., QUEIROZ, D., CORDEIRO, F., SILVA, N. L. Prevalence of *cagA* and *vacA* genes in isolates from patients with *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal diseases in Recife, Pernambuco, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 817-21, sep, 2003.
- BRONSDON, M. A.; SCHOENKNECHT, F. D. *Campylobacter pylori* isolated from the stomach of the monkey, *Macaca nemestrina*. **Journal of Clinical Microbiology**, n. 26, p. 1725-1728, 1998.
- BROWN, L. M. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. **Epidemiologic Reviews**, v. 22, n. 2, p. 283-97, 2000.
- BUTT, A. K., KHAN, A. A., BEDI, R. *Helicobacter pylori* in dental plaque of Pakistanis. **Journal of the International Academy of Periodontology**, v. 78, p. 78–82, 1999.
- BUTT, A. K., KHAN, A. A., SULEMAN, B. A., BEDI, R. Randomized clinical trial of *Helicobacter pylori* from dental plaque. **British Journal of Surgery**, n.88, p.206, 2001.
- CATALANO, M., MATTEO, M., BARBOLLA, R.E., JIMÉNEZ VEGA, D. E., CRESPO, O., LEANZA, A. G., TOPPOR, J., ANTELO, P. *Helicobacter pylori vacA* genotypes, *cagA* status and ure A-B polymorphism in isolates recovered from an Argentinean population. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 41, p. 205-210, 2001.
- CAVE, D. R. How is *Helicobacter pylori* transmitted? **Gastroenterology**, v. 113, p. S9-S14, 1997.
- CAVE, D. R. Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. **The American Journal of Medicine**, v. 100, p. 12s–18s, 1996.
- CELLINI, L., ALLOCATI, N., PIATTELLI, A., PETRELLI, I., FANCI, P., DAINELLI, B. Microbiological evidence of *Helicobacter pylori* from dental plaque in dyspeptic patients. **Microbiologica**, v. 18, p. 187–192, 1995.
- CENSINI, S., LANGE, C., XIANG, Z., CRABTREE, J. E., GHIARA, P., BORODOVSKY, M., RAPPUOLI, R., COVACCI, A. *CagA* pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 25, p.14648-53, dec. 1996.

CHAN, W. Y., HUI, P. K., LEUNG, K., M; CHOW, J; KWOK, F. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* in the human stomach. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 102, p. 503-507, 1994.

CHECCHI, L., FELICE, P., ACCIARDI, C., RICCI, C., GATTA, L., POLACCI, R., HOLTON, J., VAIRA, D. Absence of *Helicobacter pylori* in dental plaque assessed by stool test. **The American Journal Gastroenterology**, n. 95, v. 10, p. 3005-6, oct. 2000.

CHOW, T. K., LAMBERT, J. R., WAHLQVIST, M. L., HSU-HAGE, B. H. *Helicobacter pylori* in Melbourne Chinese immigrants: evidence for oral-oral transmission via chopsticks. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 10, n. 5, p. 562-569, sep-oct. 1995.

CLAYTON, C. L., KLEANTHOUS, H., COATES, P. J., MORGAN, D. D., TABAQCHALI, S. Sensitive detection of *Helicobacter pylori* by using polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, p. 192–200, 1992.

COELHO, L.G.V. **Gastrites**. In: Gastroenterologia essencial. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p. 137-148.

COELHO, L.G.V. MORETZSOHN, L. D., VIEIRA, W. L. S., GALLO, M. A., PASSOS, M. C. F., CINDR, J. M., CERQUEIRA, M. C., VITIELLO, L., RIBEIRO, M. L., MENDONÇA, J., PEDRAZZOLI-JUNIOR, J., CASTRO, L. P. New once-daily, highly effective rescue triple therapy after multiple *Helicobacter pylori* treatment failures: a pilot study. **Alimentary Pharmacology; Therapeutics**, v. 21, n. 6, p. 783–7, mar. 2005.

COLE, S. P; KHARITONOV, V. F; GUINEY, D. G. Effect of nitric oxide on *Helicobacter pylori* morphology. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 180, n. 5, p. 1713-1717, 1999.

COSTERTON, J. W., STEWART, P. S., GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, n. 284, p.1318, 1999.

COVACCI, A., TELFORD, J. L., GIUDICE, G. D., PARSONNET, J., RAPPUOLI, R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. **Science**, v. 284, n. 5418, p.1328-33, may. 1999.

COVER, T. L., TUMMURU, M. K., CAO, P., THOMPSON, S. A., BLASER, M. J. Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among *Helicobacter pylori* strains. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 14, 10566-73, 1994.

CZAJKOWSKY, D. M., IWAMOTO, H., COVER, T. L., SHAO, Z. The vacuolating toxin from *Helicobacter pylori* forms hexameric pores in lipid bilayers at low pH. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 5, p. 2001-2006, 1999.

CZESNIKIEWICZ-GUZYK, M., KARCZEWSKA, E., BIELANSKI, W., GUZYK, T.J., KAPERA, P., TARGOSZ, A., KONTUREK, S.J., LOSTER, B. Association of the presence the *Helicobacter pylori* in the oral cavity and in the stomach. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 255 (suppl), p. 105-15. 2004.

CZINN, S. J. *Helicobacter pylori* infection: detection, investigation, and management. **The Journal of Pediatrics**, v. 146 (3 suppl), p. S21-26, mar. 2005.

de VRIES, N., DUINSBERGEN, D., KUIPERS, E. J., POT, R. G., WIESENEKKER, P., PENN, C. W., van VLIET, A. H., VENDENBROUCKE-GRAUTS, C. M., KUSTERS, J. G. Transcriptional phase variation of a type III restriction-modification system in *Helicobacter pylori*. **Journal of Bacteriology**, 184: 6615–6623. 2002.

DESAI, H. G., GILL, H. H., SHANKARAN, K., MEHTA, P. R., PRABHU, S. R. Dental plaque: a permanent reservoir of *Helicobacter pylori*? **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.26, n. 11, p. 1205-1208, nov. 1991.

DONMEZ-ALTUNTAS, H., GUVEN, K. Detection of *Helicobacter pylori* using nested polymerase chain reaction and rapid urease test in gastric biopsy samples. The Turkish **Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 2, p. 94-7, jun. 2002.

DOWSETT, S. A., ARCHILA, L., SEGRETO, V. A., GONZALEZ, C. R., SILVA, A., VASTOLA, K. A., BARTIZEK, R. D., KOWOLIK, M. J. *Helicobacter pylori* infection in indigenous families of Central America: serostatus and oral and fingernail carriage. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 8, p. 2456-2460, aug. 1999.

DOWSETT, S. A., KOWOLIK, M. J. Oral *Helicobacter pylori*: can we stomach it? Critical Reviews in Oral Biology; **Medicine, review**, v. 14, n. 3, p. 226-33, 2003.

DUNN, B. E.; COHEN, H.; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*. **Reviews. Clinical Microbiology**, v.10, n.4, p. 720-41, oct. 1997.

EATON, K. A., KERSULYTE, D., MEFFORD, M., DANON, S. J., KRAKOWKA, S. BERG, D. E. Role of *Helicobacter pylori* *cag* region genes in colonization and gastritis in two animal models. **Infection Immunology**, v. 69, p. 2902–2908, 2001.

EVERHART, J. E. KRUSZON-MORAN, D., PEREZ-PEREZ, G. I., TRALKA, T. S., MCQUILLAN, G. Seroprevalence and ethnic differences in *Helicobacter pylori* infection among adults in the United States. **The Journal of Infectious Diseases**, v.181, v. 4, p.1359-1363, apr. 2000.

FELDMAN, R. A., ECEERSLEY, A. J. P., HARDIE, J. M. Transmission of *Helicobacter pylori*. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 1 (13 suppl), p. 8-12, 1997.

FERGUSON JR., D. A., LI, C., PATEL, N. R., MAYBERRY, W. R., CHI, D. S., THOMAS, E.. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 10, p. 2802-4, oct. 1993.

FRIEDMAN, L. S.; PETERSON, W. L. **Úlcera péptica e distúrbios relacionados**. In: HARRISON, T. R. (ed.). Medicina Interna. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, p. 1699-1721, 1998.

FUX, C. A., COSTERTON, J. W., STEWART, P. S., STOODLEY, P. Survival strategies of infectious biofilms. **Trends in Microbiology**. v. 13, n. 1, p. 34-40, 2005.

GASBARRINI, G., PRETOLANI, S., BONVICINI, F., GATTO, M. R. A., TONELLI, E., MEGRAUD, F., MAYO, K., GHIRONZI, G., GIULIANELLI, G., GRASSI, M. A population based study of *Helicobacter pylori* infection in a European country: the San Marino study. Relations with gastrointestinal diseases. **Gut**, v. 36, n. 6, p. 838–844, 1995.

GATTI, L. L., BURBANO, R. R., SMITH, M. A. C., PAYAO, S. L. M. *Helicobacter pylori*: marcadores de patogenicidade e predisposição ao desenvolvimento de doenças gástricas / *Helicobacter pylori*: virulence markers of pathogenicity and predisposition for gastric diseases. **Revista Paraense de Medicina**, v. 2, n.18, p.33-38, abr.-jun. 2004.

GOODMAN, K. J., CORREA, P., TENGANÁ AUX, H. J., et al. *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. **American Journal of Epidemiology**, v. 144, p. 290–299, 1996.

GOODWIN, C. S.; MENDWLL, M. M.; NORTHFIELD, T. C. *Helicobacter pylori* infection. **Lancet**, v. 349, p. 265-269, 1997.

GRAHAM, D.Y., MALATY, H. M., EVANS, D. G., EVANS JR., D. J., KLEIN, P. D., ADAM, E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race and socioeconomic status. **Gastroenterology**, v.100, p.1495-1501, 1991.

GRUBEL, P., HUANG, L., MASUBUCHI, N., STUTZENBERGER, F. J., CAVE, D. R., Detection of *Helicobacter pylori* DNA in houseflies (*Muscadomestica*) on three continents. **Lancet**, v. 352, n. 9130, p. 788-789, sep. 1998.

GUIMARÃES, J. O sorodiagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* associado aos antígenos de grupos sanguíneos ABO e Lewis em uma amostra infantil de Belém-Pará. 1999. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas)-Universidade Federal do Pará. Centro de Ciências Biológicas, 50p. Belém-Pará.

GUIMARÃES, J. O sorodiagnóstico da infecção por *Helicobacter pylori* e a associação com o estado nutricional e os grupos sanguíneos ABO e LEWIS associado aos antígenos de grupos sanguíneos ABO em uma amostra infantil de Belém-Pará. 2003. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Pará. 115p. Belém-Pará.

GURBUZ, A. K., OZEL, A. M., YAZGAN, Y., CELIK, M., YILDIRIM, S. Oral colonization of *Helicobacter pylori*: risk factors and response to radication therapy. **Southern Medical Journal**, v. 96, n. 3, p. 244-7, mar. 2003.

HAAKE, S.K. **Microbiologia periodenal**. In: Carrazan's periodontia clínica. 9 ed. Rio de Janeiro Guanabara Koogan, 2004. p.86-100.

HALL-STOODLEY, L., STOODLEY, P. Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 7-10, 2005.

HAMMAR, M., TYSZIEWICZ, T., WADSTRÖM, T., O'TOOLE, P. W. Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 54-58, 1992.

HARDO, P. G., TUGNAIT, A., HASSAN, F., LYNCH, D. A., WEST, A. P., MAPSTONE, N. P., QUIRKE, P., CHALMERS, D. M., KOWOLIK, M. J., AXON, A. T. *Helicobacter pylori* infection and dental care. **Gut**, v. 37, p. 44-46, 1995.

HOPKINS, R. J., VIAL, P. A., FERRECCIO, C., OVALLE, J., PRADO, P., SOTOMAYOR, V., RUSSELL, R. G., WASSERMAN, S. S., MORRIS JR., J. G. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: vegetables may serve as one route of transmission. **The Journal of Infectious Diseases**, v.168, n. 1, p.222-226, 1993.

HU, W., CAO, C., MENG, H. *Helicobacter pylori* in dental plaque of periodontitis and gastric disease patients. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, v. 34, n. 1, p. 49-51, jan. 1999.

HU, W., CAO, C., MENG, H., ZHANG, J., M. A., D., ZHANG, L. Detection and analysis of *Helicobacter pylori* in oral cavity and stomach from chronic gastritis patients. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 82, n. 15, p. 1037-41, 2002.

HULTEN, K., HAN, S. W., ENROTH, H., KLEIN, P. D., OPEKUN, A. R., GILMAN, R. H., EVANS, D. G., ENGSTRAND, L., GRAHAM, D. Y., EL-ZAATARI, F. A. *Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru. **Gastroenterology**, v. 110, n. 4, p. 1031-1035, apr. 1996.

ILVER, D. ARNQVIST, A., OGREN, J., FRICK, I. M., KERSULYTE, D., INCECIK, E. T., BERG, D. E., COVACCI, A., ENGSTRAND, L., BOREN, T. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo- blood group antigens revealed by retagging. **Science**, v. 279, n. 5349, p. 373-77, jan. 1998.

ISHIHARA, K., MIURA, T., KIMIZUKA, R., EBIHARA, Y., MIZUNO, Y., OKUDA, K., Oral bacteria inhibit *Helicobacter pylori* growth. **FEMS Microbiology Letters**, v. 152, n. 2, p.355-361, jul. 1997.

ISRAEL, D. A.; PEEK, R. M. Review article: pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation. Division of Gastroenterology, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, USA and Department of Veterans Affairs Medical Center. Nashville, USA. **Alimentary Pharmacology; Therapeutics**, v. 15, p. 1271-1290, 2001.

KANDEL, G. *Helicobacter pylori* and disease: still more questions than answer. **Canadian Journal of Surgery**, v. 43, n. 5, p. 339-46, 2000.

KELLY, S. M., PITCHER, M. C., FARMERY, S. M., GIBSON, G. R. Isolation of *Helicobacter pylori* from patients in the UK. Confirmation of culture identity by PCR. **Gastroenterology**, v. 106, p. A105, 1994.

KHANDAKER, K., PALMER, K. R., EASTWOOD, M. A., SCOTT, A. C., DESAI, M., OWEN, R. J. DNA fingerprints of *Helicobacter pylori* from mouth and antrum of patients with chronic ulcer dyspepsia (letter). **Lancet**, v. 342, p. 751, 1993.

KILMARTIN, C.M. Dental implications of *Helicobacter pylori*. Dental implications of *Helicobacter pylori*. Review. **Journal Canadian Dental Association**, v. 68, n. 8, p. 489-93, sep. 2002.

KLEIN, P.D. GRAHAM, D. Y., GAILLOUR, A., OPEKUN, A. R., SMITH, E. O. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. **Lancet**, v. 337, n. 8756, p.1503-1506, jun. 1991.

KODAIRA, M. S., ESCOBAR, A. M. U., GRISI, S. Aspectos epidemiológicos da *Helicobacter pylori* na infância e adolescência. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 356-69, 2002.

KOLENBRANDER, P. E., ANDERSEN, R. N., BLEHERT, D. S., EGLAND, P. G., FOSTER, J. S., PALMER JR., R. J. Communication among Oral Bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 486-505, sep. 2002.

KRAJDEN, S., FUKSA, M., ANDERSON, J., KEMPSTON, J., BOCCIA, A., PETREA, C., BABIDA, C., KARMALI, M., PENNER, J. L. Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for *Campylobacter pylori*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 6, 1397–1398, jun. 1989.

KUSTERS, J. G., GERRITS M. M., VAN STRIJP, J. A., VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. **Infection and Immunity**, v. 65, p. 3672-3679, 1997.

LANG, N.P.; MOMBELLI, A.; ATTSROM, R. **Placa e cálculos dentais**. In: Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, p. 66-91.

LI, C., H. A, T., FERGUSON JR, D. A., CHI, D. S., ZHAO, R., PATEL, N. R, KRISHNASWAMY, G., THOMAS, E. A newly developed PCR assay of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of *Helicobacter pylori* in saliva supports oral transmission. **Digestive Diseases Sciences**, v. 41, p. 2142–2149, 1996.

LU, J., PERNG, C., SHYU, R., CHEN, C., LOU, Q., CHONG, S. K. F., LEE, C. H. Comparison of five PCR methods for detection of *Helicobacter pylori* DNA in gastric tissues. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 772–774, mar. 1999.

LUMAN, W., ALKOUT, A. M., BLACKWELL, C. C., WEIR, D. M., PALMER, K. R. *Helicobacter pylori* in the mouth—negative isolation from dental plaque and saliva. **European Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 8, n. 1, p. 11–14, jan. 1996.

MADINIER, I. M., FOSSE, T. M., MONTEIL, R. A. Oral carriage of *Helicobacter pylori*: A review. **Journal of Periodontology**, v. 68, n. 1, p. 2–6, jan. 1997.

MADMUJAR, P., SHAH, S. M., DHUNJIBHOY, K. R., DESAI, H. G. Isolation of *Helicobacter pylori* from dental plaques in healthy volunteers. **Indian Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 4, p.271-2, oct. 1990.

MALATY, H. M. GRAHAM, D. Y., KLEIN, P. D., EVANS, D. G., ADAM, E., EVANS,

D. J. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. Studies in families of healthy individuals. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 26, n. 9, p. 927-932, sep. 1991.

MAPSTONE, N. P., LYNCH, D. A. F., LEWIS, F. A., AXON, A. T. R., TOMPKINS, D. S., DIXON, M. F., QUIRKE, P. Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. **Journal of Clinical Pathology**, v. 46, p. 540–543, 1993.

MARSHALL, B. J.; WARREN, J. R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. **The Lancet**, p. 1273-1275, 1983.

MARSHALL, B. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **The Lancet**, v.323, p.1311-1315, 1984.

MARSHALL, B. J. ARMSTRONG J. A., MCGECHIE, D. B., GLANCY, R. J. **Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric Campylobacter**. The Medical Journal of Australia, v.142, n. 8, p. 436-440, apr. 1985. 1985.

MARSHALL, B. J., SURVEYOR, I. Carbon-14 urea breath test for the diagnosis of Campylobacter pylori associated gastritis. **J Nucl Med**, v.29, p. 11-17, 1988.

MARSHALL, B. J. *Helicobacter pylori*. Review. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 89 (8 suppl) p. S116-S128, aug. 1994.

MARTINS, L. C. Infecção pelo *Helicobacter pylori*: Diagnóstico de cepas virulentas e interações genéticas com o hospedeiro. 2005. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Pará. 215p. Belém-Pará.

MARTINS, L. C. Soroprevalência de anticorpos contra antígeno *CagA* da *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera gástrica. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, EMBRAPA, 84 p. Belém-Pará.

MARTINS, L. C., CORVELO, T. C. O., OTI, H. T., BARILE, K. A. S. Soroprevalência de anticorpos contra antígeno *CagA* da *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera gástrica na região Norte do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v 35, n. 4, p 307-10, 2002.

MARTINS, L. C., CORVELO, T. C., DEMACHKI, S., ARAÚJO, M. T., ASSUMPÇÃO, M. B., VILAR, S. C., FREITAS, F. B., BARBOSA, H. P., FECURY, A. A., DO AMARAL, R. K., DOS SANTOS, S. E. Clinical and pathological importance of *vacA* allele heterogeneity and *cagA* status in peptic ulcer disease in patients from North Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 875-881. dec. 2005.

MATSUDA, R., MORIZANE, T. *Helicobacter pylori* infection in dental professionals: a 6-year prospective study. **Helicobacter**. v. 10, n. 4, p. 307-11. aug. 2005.

MÉGRAUD, F. Transmission of *Helicobacter pylori*: faecal-oral versus oral-oral route. **Alimentary Pharmacology; Therapeutics**, v. 9 (suppl), n. 2, p. 85-91, 1995.

MENDAL, M. A.; NORTHFIELD, T.C. Transmission of *Helicobacter pylori* infection. **Gut**, v. 37, n. 1, p. 1-3, 1995.

MITCHELL, H. M. The epidemiology of *Helicobacter pylori*. Review. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 241: p. 11–30, 1999.

MIYABAYASHI, H., FURIHATA, K., SHIMIZU, T., UENO, I., AKAMATSU, T. Influence of oral *Helicobacter pylori* on the success of eradication therapy against gastric *Helicobacter pylori*. **Helicobacter**. v. 5, p. 30–37, 2000.

MONSTEIN, H. J., ELLNEBO-SVEDLUND, K. Molecular Typing of *Helicobacter pylori* by Virulence-Gene Based Multiplex PCR and RT-PCR Analysis. **Helicobacter**. v. 7, n. 5, p. 287-96. oct. 2002.

MONTECUCCO, C., DE BERNARD, M., PAPINI, E., ZORATTI, M. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: cell intoxication and anion-specific channel activity. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 257, p. 113-129, 2001.

MORRIS, A. J., ALI, M. R., NICHOLSON, G. I., PEREZ-PEREZ, G. I., BLASER, M. J. Long-term follow-up of voluntary ingestion of *Helicobacter pylori*. **Annals of Internal Medicine**, v. 114, p. 662–663, 1991.

MRAVAK-STIPETIC, M., GALL-TROSELJ, K., LUKAC, J., KUSIC, Z., PAVELIC, K., PAVELIC, J. Detection of *Helicobacter pylori* in various oral lesions by nested polymerase chain reaction (PCR). **Journal of Oral Pathology; Medicine**, v. 27, n. 1, p.1-3, jan. 1998.

MUELLER, A., O'ROURKE, J., CHU, P., CHU, A., DIXON, M. F., BOULEY, D. M., LEE, A., FALKOW, S. The role of antigenic drive and tumor-infiltrating accessory cells in the pathogenesis of helicobacter-induced mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. **American Journal of Pathology**, v. 167, n. 3, p. 797-812, sep. 2005.

NAMAVAR, F., ROOSENDAAL, R., KUIPERS, E.J. DE GROOT, P., VAN DER BIJL, MW., PENA, A. S., DE GRAS, J.. Presence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity, esophagus, stomach and faeces of patients with gastritis. **European Journal of Clinical Microbiology; Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 234–237, mar. 2001.

NDIP, R. N. MACKAY, W. G., FARTHING, M. J., WEAVER, L. T. Culturing *Helicobacter pylori* from Clinical Specimens: Review of Microbiologic Methods. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 36, n. 5, p. 616-22, may. 2003. Erratum in: **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 37, n. 2, p. 218, aug. 2003

NEWELL, D. G. G., HUDSON, M. J., BASKERVILLE, A. Isolation of a gastric campylobacter-like organism from the stomach of four Rhesus monkeys, and identification as *Campylobacter pylori*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 27, p. 41-44, 1988.

NGUYEN, A. M., EL-ZAATARI, F. A., GRAHAM, D. Y. *Helicobacter pylori* in the oral cavity. A critical review of the literature. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology; Endodontics**, v. 79, n. 6, p. 705-9. 1995.

NIH - National Institute of Health - Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. **JAMA**, v. 272, p. 720-41, 1994

ODERDA, G, RAPA, A., MARINILLO, D., RONCHI, B., ZAVALLONE, A. Usefulness of *Helicobacter pylori* stool antigen test to monitor response to eradication treatment in children. *Alimentary Pharmacology; Therapeutics*, v. 15, n. 2, p. 203-06, feb. 2001.

OLIVEIRA, A. M. R., QUEIROS, D. M. M., ROCHA, G. A. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte, Brazil. **American Journal of Gastroenterology**, v. 89, p. 2201-4, 1994.

OLIVIER, B. J., BOND, R. P, VAN ZYL, W. B., DELPORT, M., SLAVIK, T., ZIADY, C., TERHAAR SIVE DROSTE, J. S., LASTOVICA, A., VAN DER MERWE, S. W. Absence of *Helicobacter pylori* within the oral cavities of members of a healthy South African community. **Journal of clinical microbiology**. v. 44, n. 2, 635-636, feb. 2006.

OLSSON, K., WADSTROM, T., TSYKIEWICZ, T. *Helicobacter pylori* in dental plaques. **Lancet**., v. 341, n. 8850, p. 956-7, apr. 1993.

ORIOLE, R., LE PENDU, J., MOLLICONE, R. Genetics of ABO, H, Lewis, X and Related Antigens. **Vox Sang**, v. 51, p. 161-171, 1986.

OSHOWO, A., TUNIE, M., GILLAM, D., BOTHA, A. J., HOLTON, J., BOULOS, P., HOBBSLEY, M. Oral colonization is unlikely to play an important role in *Helicobacter pylori* infection. **British Journal of Surgery**, v. 85, n. 6, p. 850-852, jun. 1998.

PANCHAL, P.C., FORMAN, J. S., BLUMBERG, D. R., WILSON, K. T. *Helicobacter pylori* infection: pathogenesis. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 19, n. 1, p. 4-10, jan. 2003.

PAPINI, E., SATIN, B., NORAIS, N., DE BERNARD, M., TELFORD, J. L., RAPPUOLI, R., MONTECUCCO, C. Selective increase of the permeability of polarized epithelial cell monolayers by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 102, n. 4, p. 813-820, aug. 1998.

PARSONNET, J. SHMUELY, H., HAGGERTY, T. Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. *Journal of the American Medical Association*, v. 282, n. 23, p.2240-2245, dec. 1999.

PARSONNET, J. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology; Therapeutics*, v. 9(suppl 2), p. 45-51, 1995.

PATEL, P., MENDALL, M. A., KHULUSI, S., NORTHFIELD, T. C., STRACHAN, D. P. *Helicobacter pylori* infection in childhood: risk factors and effect on growth. **British Medical Journal**, v. 309, n. 6962, p. 1119-23, oct. 1994.

PATTHY, A., RAKOCZI, G., VEGH, A. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection from dental plaque. **Fogorv Sz.** v. 95, n. 1, p. 33-4. 2002.

PEREIRA, A. P. S., MEDEIROS, A. C., SOARES, M. S. M. KÜSTNER, E. C., BARRETO, R. C., LOVERA, M. P. Detección de *Helicobacter pylori* en placa dental y en mucosa gástrica de pacientes sometidos a endoscopia digestiva. **Acta Odontológica Venezolana**, v. 43, n. 2, p. 113-118. 2005.

PEREIRA, G. A. S., SAMPAIO, M. C. C., COSTA, L. J., BARRETO, R. C., ROCHA, H. A. C. Incidência de *Helicobacter pylori* na placa dentária e mucosa gástrica. **Anais da Faculdade da UFPE**, v. 45, p. 2462-7. 2000.

PEREZ-PEREZ, G. I., TAYLOR, D. N., BODHIDATTA, L., WONGSRICHANALAI, J., BAZE, W. B., DUNN, B. E., ECHEVERRIA, P. D., BLASER, M. J. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infections in Thailand. **The Journal of Infectious Diseases**, v.161, n. 6, p.1237-1241, jun. 1990.

PERRI, F., PASTORE, M., LEANDRO, G., CLEMENTE, R., GHOOS, Y., PEETERS, M., ANNESE, V., QUITADAMO, M., LATIANO, A., RUTGEERTS, P., ANDRIULLI, A. *Helicobacter pylori* infection and growth delay in older children. **Archives of Disease in Childhood**, v. 77, n. 1, p. 46-49, jul. 1997.

PUSTORINO, R., NICOSIA, R., D'AMBRA, G., DI PAOLA, M., BRUGNOLETTI, O., GRIPPAUDO, G., PAPARO, BS. The mouth-stomach crossing of *Helicobacter pylori*. **Rivista Europea Per le Scienze Mediche e Farmacologiche**, v.18, n. 5-6, p.183-186, sep-dec. 1996.

PYTKO-POLONCZYK, J., KONTUREK, S. J., KARCZEWSKA, E., BIELANSKI, W., KACZMARCZYK-STACHOWSKA, A. Oral cavity as a permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potential source of reinfection. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 47, n. 1, p.121-129, 1996.

RAUTELIN, H., LEHOURS, P., MÉGRAUD, F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v. 8 (suppl. 1), p. 13-20, 2003.

RAVEL, R. **Doenças infecciosas bacterianas**. In: Laboratório Clínico: aplicações clínicas dos dados laboratoriais. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 171p.

RAYMOND, J., SAUVESTRE, C., KALACH, N., BERGERET, M., DUPONT, C. Immunoblotting and serology for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 19, n. 2, p. 118-21, feb. 2000.

REN, Z. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* can be viable. **Microbios**, v. 97, p. 153-163, 1999.

RIBEIRO, L. M., GODOY, A. P. O., BENVENGO, Y. H. B., MENDONÇA, S., PEDRAZZOLI, J. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA* and *iceA* genotypes of *Helicobacter pylori* in Brazilian clinical isolates. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.36, p. 181-185, 2003.

RICKARD, A. H., GILBERT, P., HIGH, N. J., KOLENBRANDER, P. E., HANDLEY, P. S. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 220, n. 1, p.133-40, mar. 2003.

RIGGIO, M. P.; LENNON, A. Identification by PCR of *Helicobacter pylori* in subgingival plaque of adult periodontitis patients. **Journal of Medical Microbiology**, v. 48, p. 317-322, 1999.

ROCHA, G. A., OLIVEIRA, A. M., QUEIROZ, D. M., CARVALHO, A. S., NOGUEIRA, A. M. Immunoblot analysis of humoral immune response to *Helicobacter pylori* in children with and without duodenal ulcer. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 5, p. 1777-81, may. 2000.

ROTHENBACHER, D., BODE, G., BERG, G., KNAYER, U., GONSER, T., ADLER, G., BRENNER, H. *Helicobacter pylori* among preschool children and their parents evidence of parent-child transmission. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 179, n. 2, p. 398-402, feb. 1999.

ROWLAND, M., DALY, L., VAUGHAN, M., HIGGINS, A., BOURKE, B., DRUMM, B. Age-specific incidence of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, v. 130, p. 65-72, 2006.

SAGICA, F.E.S. Perfil imuno-histoquímico da mucosa gástrica no desenvolvimento do câncer gástrico. 2000. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, EMBRAPA, 120 p. Belém-Pará.

SAITO, N., KONISHI, K., SATO, F., KATO, M., TAKEDA, H., SUGIYAMA, T., ASAKA, M. Plural transformation processes from spiral to coccoid *Helicobacter pylori* and its viability. **Journal of Infection**, v. 46, p. 49-55, 2003.

SAMBROOK, J., FRITSH, E. F., MANIATIS, T. **Analysis and cloning of eukaryotic genomic DNA**. Molecular cloning: a laboratory manual, v. 9, p. 16–19, 1989.

SAUER, K., CAMPER, A. K., EHRLICH, G. D., COSTERTON, J. W., DAVIES, D. G. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. **Journal of Bacteriology**, v. 184, n. 4, p. 1140-54, 2002.

SCHEIN, W., MERYN, S. *Helicobacter pylori* and the mouth cavity--overview and perspectives. **Wien Klin Wochenschr**, v. 106, n. 17, p. 547-9, 1994.

[SEGAL, E. D.](#), FALKOW, S., TOMPKINS, L. S. *Helicobacter pylori* attachment to gastric cells induces cytoskeletal rearrangements and tyrosine phosphorylation of host cell proteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 3, p. 1259-64, feb. 1996.

SHAMES, B., KRAJDEN, S., FUKSA, M., BABIDA, C., PENNER, J. L. Evidence for the occurrence of the same strain of *Campylobacter pylori* in the stomach and the dental plaque. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 12, p. 2849-2850, dec. 1989.

SHIMOYAMA, T.; CRABTREE, J. E. Bacterial factors and immune pathogenesis in *Helicobacter pylori* infection. **Gut**, v.43, p. S2-S5, 1998.

SMOOT, D.T. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, v. 113, n.6, p. S31-S34, 1997.

SONG, Q., LANGE, T., SPAHR, A., ADLER, G., BODE, G. Characteristic distribution pattern of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva detected with nested PCR. **Journal of Medical Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 349-353, apr. 2000b.

SONG, Q., HALLER, B., SCHMID, R. M., ADLER, G., BODE, G. *Helicobacter pylori* in dental plaque: A comparison of different primer sets. **Digestive Diseases Sciences**, v. 44, p. 479-484, 1999.

SONG, Q., HALLER, B., ULRICH, D., WICHELHAUS, A., ADLER, G., BODE, G. Quantification of *Helicobacter pylori* in dental plaque samples by competitive Polymerase Chain Reaction. **Journal of Clinical Pathology**, v. 53, p. 218-22, 2000a.

SONG, Q., SPAHR, A., SCHMID, R. M., ADLER, G., BODE, G. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: high prevalence and great DNA diversity. **Digestive Diseases Sciences**, v. 45, n. 11, p. 2162-2167, nov. 2000c.

SOUSA, M. B., LUZ, L. P., MOREIRA, D. M., BACHA, O. M., CHULTZ, R. M., EDELWEISS, M. I. Prevalência da infecção por *Helicobacter pylori* em crianças avaliadas no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS, Brasil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 38, n. 2, p. 132-37, jun. 2001.

STEER, H.W.; COLIN-JONES, D. G. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. **Gut**, v.16, p. 590-97, 1975.

STEVES, A., LOWE, J. **Patologia** 2º ed. São Paulo: Manole Ltda, 1998, 224 p.

SUTTON, P. *Helicobacter pylori* vaccines and mechanisms of effective immunity: Is mucus the key? **Immunology and Cell Biology**, v. 79, n. 1, p. 67-73, feb. 2001.

TAYLOR, D. E., EATON, M., CHANG, N., SALAMA, S. M. Construction of a *Helicobacter pylori* genome map and demonstration of diversity at the genome level. **Journal of Bacteriology**, v. 174, p. 6800-6806, 1992.

TAYLOR, D. E., RASKO, D. A., SHERBURNE, R., HO, C., JEWELL, L. D. Lack of correlation between Lewis antigen expression by *Helicobacter pylori* and gastric epithelial cells in infected patients. **Gastroenterology**, v.115, p. 1113-22, 1998.

TELFORD, J. L. COVACCI, A., RAPPUOLI, R., CHIARA, P. Immunobiology of *Helicobacter pylori* infection. **Current Opinion in Immunology**, v. 9, n. 4, p. 498-503, aug. 1997.

TELFORD, J. L., GHIARA P, DELL'ORCO M, COMANDUCCI M, BURRONI D, BUGNOLI M, TECCE MF, CENSINI S, COVACCI A, XIANG Z, et al. Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its Key Role in Gastric Disease. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 179, n. 5, p. 1653-58, may. 1994.

THOMAS, E., JIANG, C., CHI, D. S., LI, C., FERGUSON JR, D. A. The role of the oral cavity in *Helicobacter pylori* infection. **American Journal of Gastroenterology**, v. 92, p. 2148-2154, 1997.

THOMAS, J. E., GIBSON, G. R., DARBOE, M. K., DALE, A., WEAVER, L. T.

Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. **Lancet**, v. 340, n. 8829, p. 1194-1195, nov. 1992.

TOMBOLA, F., CARLESSO, C., SZABO, I., DE BERNARD, M., REYRAT, J. M., TELFORD, J. L., RAPPUOLI, R., MONTECUCCO, C., PAPINI, E., ZORATTI, M. *Helicobacter pylori* vacuolating toxin forms anion-selective channels in planar lipid bilayers: possible implications for the mechanism of cellular vacuolation. **Biophysical Journal Experimental Medicine**, v. 76, n. 3, p. 1401-1409, mar. 1999.

TORRES, J. PEREZ-PEREZ, G., GOODMAN, K. J., ATHERTON, J. C., GOLD, B. D., HARRIS, P. R., LA GARZA, A. M., GUARNER, J., MUNOZ, O. A comprehensive review of the natural history of *Helicobacter pylori* infection in children. **Archive Medical Research**, v. 31, n. 5, p. 431-69, sep-oct. 2000.

UMEDA, M., KOBAYASHI, H., TAKEUCHI, Y., HAYASHI, J., MOROTOME-HAYASHI, Y., YANO, K., AOKI, A., OHKUSA, T., ISHIKAWA, I. High prevalence of *Helicobacter pylori* detected by PCR in the oral cavities of periodontitis patients. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 1, p. 129-134, jan. 2003.

van AMSTERDAM, K., van VLIET, A. H., KUSTERS, J. G., van der ENDE, A. Of microbe and man: determinants of *Helicobacter pylori*-related diseases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, n. 1, p. 131-56, 2006.

van der ENDE, A., RAUWS, E. A., FELLER, M., MULDER, C. J., TYTGAT, G. N., DANKERT, J. Heterogeneous *Helicobacter pylori* isolates from members of a family with a history of peptic ulcer disease. **Gastroenterology**, v. 111, p. 638-647, 1996.

van DOORN, L. J., FIGUEIREDO, C., MEGRAUD, F., PENA, S., MIDOLO, P., QUEIROZ, D. M., CARNEIRO, F., VANDERBORGHT, B., PEGADO, M. D., SANNA, R., DE BOER, W., SCHNEEBERGER, P. M., CORREA, P., NG, E. K., ATHERTON, J., BLASER, M. J., QUINT, W. G. Geographic distribution of *vacA* allelic types of *Helicobacter pylori*. **Gastroenterology**, v. 116, n. 4, p. 823-30, apr. 1999.

van DOORN, L. J., FIGUEIREDO, C., SANNA, R., PENA, S., MIDOLO, P., NG, E.K. ATHERTON, J. C., BLASER, M. J., QUINT, W. G. Expanding Allelic Diversity of *Helicobacter pylori vacA*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 2597-603, sep, 1998a.

VAN DOORN, N. E., VAN REES, E. P., NAMAVAR, F., DE GRAAFF, J. J. Local cellular immune response in the acute phase of gastritis in mice induced chemically and by *Helicobacter pylori*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 47, n. 10, p. 863-70, oct. 1998b.

VAN DER WEYDEN, M. B., ARMSTRONG, R. M., GREGORY, A. T. The 2005 Nobel Prize in Physiology or Medicine. **The Medical Journal of Australia**, n.183, p.612-614. 2005.

VANDAMME, P., GOOSSENS, H. Taxonomy of Campylobacter, Arcobacter, and Helicobacter: a review. **Zentralbl Bakteriol**, v. 276, p. 447-72, 1992.

VELÁZQUEZ, M.; FEIRTAG, J. M. *Helicobacter pylori*: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water.

International Journal of Food and Microbiology, p. 53, p. 95-104, 1999.

WEBB, P.M., KNIGHT, T., GREAVES, S., WILSON, A., NEWELL, D. G., ELDER, J., FORMAN, D. Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood: evidence for person to person transmission in early life. **British Medical Journal**, v. 308, n. 6931, p. 750-753, mar. 1994.

WILCOX, M.H., DENT, T. H., HUNTER, J. O., GRAY, J. J., BROWN, D. F., WIGHT, D. G., WRAIGHT, E. P. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection--a comparison of eight kits. **Journal of Clinical Pathology**, v. 49, n. 5, p. 373-76, may. 1996.

XIANG, Z. CENSINI, S., BAYELI, P. F., TELFORD, J. L., FIGURA, N., RAPPUOLI, R., COVACCI, A. Analysis of expression of *CagA* and *VacA* virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that *CagA* is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. **Infection Immunology**, v. 63, n. 1, p. 94-8, jan. 1995.

YOUNG, K. A., ALLAKER, R. P., HARDIE, J. M. Morphological analysis of *Helicobacter pylori* from gastric biopsies and dental plaque by scanning electron microscopy. **Oral Microbiology And Immunology**, v. 16: n. 3, p. 178-81, 2001.

ZHOU, W., YAMAZAKI, S., YAMAKAWA, A., OHTANI, M., ITO, Y., KEIDA, Y., HIGASHI, H., HATAKEYAMA, M., SI, J., AZUMA, T. The diversity of *vacA* and *cagA* genes of *Helicobacter pylori* in East Asia. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**. v. 40, n. 1, p. 81-7, jan. 2004.

ZSIKLA, V., HAILEMARIAM, S., BAUMANN, M., MUND, M. T., SCHAUB, N., MEIER, R., CATHOMAS, G. Increased rate of *Helicobacter pylori* infection detected by PCR in biopsies with chronic gastritis. **American Journal of Surgical Pathology**. v. 30, n. 2, p. 242-8, feb. 2006.

APÊNDICES**APÊNDICE A**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

I – IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: () Masc. () Fem. Estado civil: () Solteiro () Casado

Profissão:

Naturalidade: _____ Data de nascimento ____/____/____

Residência atual: _____

Escolaridade: _____**II - CONDIÇÕES HABITACIONAIS:**

Saneamento: () Adequado () Inadequado

Despejo dos dejetos: () Fossa negra () Fossa sanitária

Fonte de água: () Poço () Encanada () Rios ou lagos () Outros

III- HIGIENE BUCAL: SIM NÃO

1- Escovação: () ()

2- Número de escovações ao dia: _____

3- Última visita ao dentista: _____

III - ANTECEDENTES PESSOAIS: SIM NÃO

1- Gastrite: () ()

2 - Úlcera: () ()

3 - Cirurgias anteriores () ()

4 - Reincididas de úlceras () ()

5- Câncer gástrico () ()

6- Outros _____

IV - OUTRAS DOENÇA

V - HÁBITOS: SIM NÃO

1 - Álcool () ()

2 - Fumo () ()

OBS: _____

VI - MEDICAMENTOS FREQUENTE MENTE UTILIZADOS:

VII- PADRÃO DIETÉTICO:

No de refeições: _____

Dieta: _____

(Observar: excesso de sal, temperos, condimentos, teor de fibras, frutas, verduras, conservas, farinhas, leite e derivados, enlatados, defumados)

VIII - EXAMES REALIZADOS (RESULTADOS DIGNOS DE NOTA):

IX - TRATAMENTOS REALIZADOS:

Principalmente para gastrite/ se realizou gastrectomia:

Paciente proveniente hospital/ clínica:

Médico que realizou endoscopia:

Observações macroscópicas:

Número e local das biópsias retiradas:

Responsável pela coleta:

APÊNDICE B

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

TERMO DE ESCLARECIMENTO E CONSENTIMENTO LIVRE

Esta pesquisa possui como principal objetivo estudar a prevalência das diferentes cepas da *H. pylori* entre os pacientes com afecções gástricas, e comparar as cepas existentes na placa dental e mucosa gástrica. Para tanto é necessário coletar material da placa dental e realizar biópsias gástrica (apenas de pacientes com indicação), além de responder a um questionário epidemiológico padrão. Com essa finalidade prestamos os seguintes esclarecimentos:

- 1 Serão realizados exames da placa dental e das biópsias gástricas para identificar a cepa do *H. pylori*.
- 2 É necessário responder ao questionário epidemiológico, para maiores informações sobre a pessoa que participa da pesquisa.
- 3 A pesquisa não oferece riscos para quem participa.
- 4 O benefício para quem participa da pesquisa é a realização de um exame da placa dental para o diagnóstico da *H. pylori*, além de um maior conhecimento sobre a infecção causada por esta bactéria em nossa cidade.
- 5 Os exames realizados pela pesquisa serão gratuitos, não necessitando nenhum custo por parte do participante para sua realização.
- 6 Os resultados dos exames realizados pela pesquisa serão usados como dados da pesquisa, omitindo-se a identidade do participante.
- 7 O material coletado para a pesquisa será usado exclusivamente para este fim, assim como o questionário e, após o término da pesquisa, serão descartadas de acordo com as normas de biossegurança.

8 Somente o pesquisador responsável e o médico ficarão sabendo da participação e se for necessário, autoridades de saúde poderão ser informadas para tomar medidas que beneficiem o participante da pesquisa ou outras pessoas.

9 Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como poderá se retirar dela no momento que desejar, sem qualquer prejuízo pessoal. Solicitamos assim, a sua autorização para efetuarmos o referido exame e realizarmos uma entrevista, sendo que a mesma é confidencial; para desenvolvermos o estudo em questão.

CONSENTIMENTO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo do mesmo, assim como seus benefícios. Declaro ainda que por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, //

ASSINATURA DO PACIENTE