

**A INFECCÃO POR *Helicobacter pylori* EM POPULAÇÕES
DE ANGOLA**

FRANCISCO BELMIRO ROSA

Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Vida

na Especialidade de Saúde das Populações (Saúde Pública)

Faculdade de Ciências Médicas

JUNHO 2015

A INFECÇÃO POR *Helicobacter pylori* EM POPULAÇÕES DE ANGOLA

FRANCISCO BELMIRO ROSA

Orientador: Professor Doutor Jorge Torgal, Professor Catedrático

Co-orientador: Doutora Maria de Lurdes Paiva Monteiro, Investigadora

**Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Vida na Especialidade de
Saúde das Populações (Saúde Pública)**

JUNHO 2015

A INFEÇÃO POR *Helicobacter pylori* EM POPULAÇÕES DE ANGOLA

FRANCISCO BELMIRO ROSA

Orientador: Professor Doutor Jorge Torgal, Professor Catedrático

Co-orientador: Doutora Maria de Lurdes Paiva Monteiro, Investigadora

**Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Vida na Especialidade de
Saúde das Populações (Saúde Pública)**

JUNHO 2015

Índice

Nota explicativa.....	7
Dedicatória.....	8
Agradecimentos	9
Lista de abreviaturas	11
Lista de figuras, gráficos, e tabelas.....	12
Preâmbulo.....	14
Resumo	17
Summary.....	20
Introdução.....	22
Angola	22
Situação no Sector da Saúde em Angola	24
Informações complementares sobre a situação actual do sector da saúde	27
Política Nacional de Saúde	33
Organização e estrutura da Gastrenterologia em Angola	35
História da descoberta de <i>H. pylori</i>	36
As sucessivas descobertas	38
Epidemiologia da infecção por <i>H. pylori</i>	40
Transmissão da infecção por <i>H. pylori</i>	41
Características da bactéria e sua patogénese	42
Fatores de virulência.....	44
Patologias associadas.....	46
Diagnóstico da infecção por <i>H. pylori</i>	51
Métodos invasivos	52
Métodos não invasivos	55
Terapêutica de erradicação de <i>H. pylori</i>	56
Contexto Angolano da infecção por <i>H. pylori</i>	59
Objectivos.....	62
Objetivos gerais	62
Objetivos específicos.....	62

Material e Métodos	62
Desenho do Estudo	62
Grupo I.....	63
Grupo II	64
Metodologia laboratorial para diagnóstico da infecção por <i>H. pylori</i>	65
Endoscopia digestiva alta	65
Teste rápido da urease	65
Histologia	65
Métodos moleculares.....	66
Teste respiratório com ureia marcada com ¹³ C	70
Pesquisa de antígenos de <i>H. pylori</i> nas fezes	70
Definição de teste padrão “Gold standard”	71
Metodologia de análise estatística	71
Princípios éticos e sua prática.....	71
Resultados.....	72
Grupo I.....	72
Grupo II.	77
Resultados macroscópicos da realização da EDA:.....	78
Avaliação histológica das biópsias:.....	80
Diagnóstico histológico de <i>H. pylori</i>	83
Métodos moleculares.....	84
Discussão.....	92
Limitações	99
Recomendações	100
Referências Bibliográficas.....	102
Anexos.....	113
Anexo 1. Organização da Rede Sanitária de Angola.....	114
Setor público civil.....	115
Setor público militar	119
Setor para-público.....	120
Setor privado	120
Sector tradicional.....	121
Disponibilidade dos Medicamentos Essenciais e Genéricos.....	121

Principais problemas de saúde pública.....	123
Lições aprendidas e perspectivas futuras.....	127
Caracterização dos locais onde foi realizada a amostragem.....	128
Anexo 2. Inquérito Grupo I.....	135
Anexo 3. Inquérito Grupo II.....	137
Anexo 4. Pesquisa de urease em biópsia gástrica – teste rápido (TRU)	140
Anexo 5. Coloração de Giemsa	142
Anexo 6. Coloração Hematoxilina-Eosina	144
Anexo 7. Extração Qiamp DNA mini Kit (Qiagen)	147
Anexo 8. Detecção de mutações pontuais de <i>Helicobacter pylori</i> associadas com a resistência aos Macrólidos por PCR em Tempo Real (LightCycler® System, Roche)	151
Anexo 9. Aplicação da técnica de PCR para a detecção dos genes <i>cagA</i> e <i>vacA</i> de <i>Helicobacter pylori</i> em biópsia gástrica.....	157
Anexo 10. Pesquisa de <i>Helicobacter pylori</i> – HELICOBACTER TEST INFAL.....	160
Anexo 11. Pesquisa de Ag <i>H. pylori</i> nas fezes – Premier Platinum HpSA® Plus.....	169

Nota explicativa

O presente trabalho foi realizado com o apoio das seguintes instituições:

- **Hospital Militar Principal/Instituto Superior:**
 - Serviço de Gastrenterologia
 - Departamento de Anatomia Patológica
 - Departamento de Patologia Clínica
- **Instituto Nacional de Saúde Pública Dr. Ricardo Jorge** para o desenvolvimento das técnicas moleculares utilizadas neste trabalho.
- **Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa**, para orientação da proposta do estudo no âmbito do doutoramento.
- **Direcção dos Serviços de Saúde do Estado Maior General das Forças Armadas Angolanas.**
- **Instituto Nacional de Saúde Pública do Ministério da Saúde de Angola**

Dedicatória

“À Mariana, Quelson, Zeza, Kátia, Sayonara, Gerson, Kiary e a todos os investigadores que se dedicam ao estudo do *H. pylori*”

Agradecimentos

- Aos meus filhos, esposa e irmãos que desde pequenos nos obrigamos ao estudo, trabalho, respeito e amor ao próximo em nome da família.
- Ao Sr. Professor Doutor Mário Gentil Quina, que me permitiu um desenho do perfil da exigência e humanismo na prática médica, bem como na motivação ao estudo do *H. pylori*.
- À Prof.^a Doutora Lurdes Monteiro que logo na primeira abordagem do problema, manifestou o seu apoio, incentivando-me a aprofundar o estudo do *H. pylori* na perspectiva do Doutoramento.
- À Prof.^a Doutora Emília Ribas que desde as primeiras amostras de estudo manteve a sua disponibilidade em manter-se como membro da equipa de trabalho.
- Ao Professor Doutor Jorge Torgal pela sua prontidão e orientação do trabalho, para que tivesse uma abrangência nacional em Angola.
- Ao Prof. Doutor António Sousa Guerreiro, cuja defesa da tese de Doutoramento tive a felicidade de assistir e foi uma das influências para que elaborasse o presente trabalho.
- Ao Prof. Doutor João Luís Baptista, por todo apoio sempre presente, orientações e estratégias no desenvolvimento do trabalho.
- Ao Hospital Militar Principal/Instituto Superior, onde os meus agradecimentos são extensivos aos colegas do Serviço de Gastrenterologia, às Senhoras Enfermeiras e ao pessoal auxiliar que apoiou e muito contribuiu para a concretização do presente trabalho.
- Aos Serviços de Saúde das Forças Armadas Angolanas, instituição onde me formei e firmei como médico e com a qual me identifico.

- Finalmente ao técnico de informática, António Gomes, da Direcção dos Serviços de Saúde do Estado Maior General das FAA, a quem inúmeras vezes recorro para configuração dos trabalhos sobre o estudo de *H. pylori*.

Obrigado Pai!

Obrigado Mãe!

Lista de abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico

CCI-R - Comité de Coordenação Interagências

CPLP – Comunidade de Países de Língua Portuguesa

DNSP – Direcção Nacional de Saúde Pública

DNU – Doença não ulcerosa

DRG - Doença do refluxo Gastresofágico

EDA – Endoscopia Digestiva Alta

EEI - Esfíncter Esofágico Inferior

EHSG - European *Helicobacter pylori* Study Group

ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

H. pylori – *Helicobacter pylori*

HMP/IS – Hospital Militar Principal Instituto Superior

IBP - Inibidor da Bomba de Protões

MALT - Tecido Linfóide Associado à Mucosa

MICS - Inquérito de Indicadores Múltiplos

MINSA – Ministério da Saúde de Angola

ODM - Objectivos do Milénio

OGE - Orçamento Geral de Estado

OMS - Organização Mundial de Saúde

PAI – Ilhéu de Patogenicidade

PAV - Programa Alargado de Vacinação

PCR - Reacção de polimerização em cadeia

PNUD – Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento

Lista de figuras, gráficos, e tabelas

Figuras:

Figura 1. Distribuição das Províncias de Angola.

Figura 2. Distribuição dos grupos étnicos de Angola.

Figura 3. Metodologia de detecção de fluorescência por sondas de hibridação do sistema Lightcycler.

Figura 4. Mecanismo de resistência de *H. pylori* aos macrólidos.

Figura 5. Método do sistema Lightcycler: iniciadores, sondas de ancoragem e de hibridação.

Figura 6. Protocolo de detecção de *H. pylori* em biópsia gástrica por PCR em tempo Real.

Figura 7. Detecção das diferentes mutações pontuais em ADN de estirpe, de *H. pylori*, controlo por análise de curvas de fusão.

Gráficos

Gráfico 1. Distribuição da população segundo a sua proveniência.

Gráfico 2. Distribuição da população em estudo segundo o sexo e a sua proveniência.

Gráfico 3. Distribuição da população em estudo segundo as idades e proveniência.

Gráfico 4. Distribuição dos casos positivos e negativos a *H. pylori* da população em estudo.

Gráfico 5. Distribuição da frequência da infecção por *H. pylori* por região.

Gráfico 6. Distribuição da frequência da infecção, por *H. pylori*, por grupo de idades.

Gráfico 7. Distribuição da frequência da infecção por *H. pylori* no grupo etário dos indivíduos menores de 15 anos.

Gráfico 8. Doentes submetidos a EDA segundo o sexo.

Gráfico 9. Doentes submetidos a EDA segundo antecedentes clínicos.

Gráfico 10. Resultados da avaliação da mucosa por EDA.

Gráfico 11. Distribuição das patologias diagnosticadas por EDA.

Gráfico 12. Tipo de lesões segundo a EDA

Gráfico 13. Localização das úlceras diagnosticadas.

Gráfico 14. Resultados histológicos das biópsias do antro.

Gráfico 15. Resultados histológicos das biópsias do corpo.

Gráfico 16. Avaliação do grau de intensidade das lesões nas amostras do corpo.

Gráfico 17. Resultados histológicos de pesquisa de *H. pylori*.

Gráfico 18. Resultados de PCR em Tempo Real para a detecção da presença de *H. pylori* nas biópsias gástricas.

Gráfico 19. Resultados da pesquisa de *H. pylori* por PCR em Tempo Real.

Gráfico 20. Distribuição dos factores de virulência estudados.

Gráfico 21. Distribuição dos factores de virulência, estudados, em doentes com úlcera.

Gráfico 22. Distribuição dos factores de virulência, estudados, em doentes com gastrite.

Tabelas:

Tabela 1. Resultados da avaliação histológica das biópsias gástricas.

Tabela 2. Resultados da avaliação da infecção por *H. pylori* com os diferentes métodos de diagnóstico. Caracterização das estirpes quanto á sua susceptibilidade aos macrólidos e presença dos genes *cagA* e tipo de mosaicismo do gene *vacA*.

Tabela 3. Relação entre os factores de virulência de *H. pylori* e o tipo de lesões da mucosa gástrica.

Tabela 4. Comparação dos métodos de diagnóstico utilizados a nível hospitalar de acordo com o "Gold Standard" definido.

Preâmbulo

O estudo da infecção por *H. pylori*, bem como a evolução natural da doença gastroduodenal, devem merecer atenção especial pelo esforço dedicado às investigações consecutivas para um melhor entendimento e enquadramento desde a clínica à prevenção, passando pelo diagnóstico e a terapêutica.

Enquanto a epidemiologia da infecção por *H. pylori* nos países desenvolvidos apresenta uma prevalência dependente do efeito coorte da idade, nos países em vias de desenvolvimento, a sua prevalência é maior na infância, tendo como factores de risco, entre outros, a deficiente rede sanitária, os aglomerados familiares numerosos e a deficiente escolaridade.

Sendo Angola um país em vias de desenvolvimento e os factores de risco atrás descritos serem todos enquadrados no âmbito da Saúde Pública, não faria sentido realizar o actual estudo num contexto puramente hospitalar. Em consequência, foram definidos outros três grupos comunitários, nomeadamente da periferia da capital do país (bairro do Sambizanga, escolhido pela elevada densidade populacional e facilidades de contacto) e mais rurais, das Províncias do Bengo (município do Ambriz) e de Cabinda (diferentes aquartelamentos militares). Pensamos que deste modo poderíamos abranger outras realidades da infecção por *H. pylori*, que não só a hospitalar.

Da capital, o bairro do Sambizanga, é um dos seis municípios que constituem a área urbana da Província de Luanda. Tem cerca de 244.000 habitantes e uma superfície de 14,5 km². Tem operativos 4 centros de saúde, onde prestam serviço médicos policlínicos.

Do grupo da periferia da cidade, a Funda é a comuna mais habitada do Município do Cacucaco (Província de Luanda) e situa-se a 50 km da capital. Tem uma população estimada em 60.000 habitantes. A assistência médica é prestada com o apoio da unidade

militar que se encontra aí instalada. A estrutura de saúde civil não possui médico, a população é assistida por enfermeiros, parteiras tradicionais e agentes de saúde de base. Já a Província de Cabinda, onde colhemos amostras para o nosso estudo, tem uma superfície de 7.283 km² e cerca de 265.000 habitantes. O grupo por nós estudado constituiu-se de militares aquartelados em diferentes locais da Província. Com uma estrutura sanitária dependente da Direcção dos Serviços de Saúde do Exército, é dirigida por uma Repartição de Saúde da Região Militar chefiada por médico que tem sob sua direcção um Hospital Militar Regional como unidade de saúde especializada, com as valências de Medicina Interna, Cirurgia, Ortopedia, Cuidados Intensivos e Anestesia e Reanimação. A cobertura sanitária é distribuída por Postos Médicos (unidades com médico) e Postos Sanitários (unidades com enfermeiros), de acordo às estruturas dos agrupamentos militares.

Por fim, na Província do Bengo, foi realizado na comuna do Capulo, pertencente ao município do Ambriz. Zona rural, com 4.204 km² e cerca de 17.000 habitantes. A cobertura sanitária estende-se a todas as comunas do Município do Ambriz, sendo a rede sanitária constituída pelo Hospital Municipal (unidade com médico e capacidade para 37 camas), 1 Centro de Saúde e 8 Postos de Saúde (unidades com enfermeiros) (Anexo1).

Nos países desenvolvidos é geralmente aceite que as lesões malignas ou ulcerosas provocadas pela infecção por *H. pylori*, têm como base o tempo, o grau da infecção e a reacção imunológica do hospedeiro, sendo mais frequentes nas idades superiores aos 50 anos. Em África, onde a esperança de vida é em média até aos 46 anos, a infecção é adquirida na infância, tendo estes factores que ser avaliados, nomeadamente porque a incidência de neoplasias parece ser baixa, talvez pela baixa esperança de vida?

Neste contexto, além de realizarmos um estudo hospitalar baseado em doentes com queixas dispépticas, decidimos realizar um estudo descritivo que mostrasse a prevalência da infecção em diferentes populações de Angola, para que pudéssemos perceber a questão de como e quem tratar, e também quais dos factores conhecidos como intervenientes no processo de infecção, estão presentes neste contexto africano em vias de desenvolvimento.

Resumo

A infecção por *H. pylori*, enquadra-se nas doenças infecciosas gastroduodenais e estima-se que mais de 50% da população mundial esteja infectada.

A história natural da infecção por *H. pylori*, sofre interferências relacionadas com a genética do hospedeiro, a estirpe e as características da toxicidade da bactéria. Associam-se a estes factores, o tempo de exposição à infecção, assim como as condições sociais e higiénico-sanitárias. Paralelamente, o *H. pylori* é considerado o principal agente patogénico das doenças gastroduodenais.

Este estudo teve como objectivo principal caracterizar a infecção por *H. pylori* em populações de Angola e sua avaliação como problema de Saúde Pública. Trata-se de um estudo prospectivo dirigido a dois grupos populacionais, um constituído por indivíduos aparentemente saudáveis, sem queixas gástricas específicas, em ambiente de comunidade, Grupo I, e outro, Grupo II, constituído por doentes que acorreram ao serviço de Gastrenterologia do Hospital Militar Principal de Luanda (HMP).

No que diz respeito ao estudo na comunidade a pesquisa de *H. pylori* foi realizada pelo método ELISA de pesquisa de antígenos nas fezes. Por sua vez, a nível hospitalar, os métodos de diagnóstico da infecção por *H. pylori* foram: a endoscopia digestiva alta para a colheita de biópsias da mucosa gástrica destinadas ao exame anatomopatológico, ao exame citobacteriológico e aos métodos moleculares. Como método não invasivos foi utilizado o teste respiratório com ureia marcada.

Grupo I: o diagnóstico da infecção por *H. pylori*, realizado pela pesquisa de antígenos deste microrganismo nas fezes, revelou uma frequência de 69,6% na população em estudo. Considerando em cada região, verificou-se que a região do Sambizanga possuía o valor mais elevado de frequência, 81,2%, seguida do Dinge com 79,5%, Funda com 78,7% e o Capulo com 39,8% de casos positivos, apresentando diferenças

estatisticamente significativas (p 0,001). A avaliação da distribuição da frequência da infecção por grupo etário, revelou que os indivíduos com idade inferior a 15 anos, possuíam uma frequência de infecção de 63,5% e sendo de 76% nos indivíduos com idade superior a 15 anos. Este estudo permitiu concluir que a frequência da infecção por *H. pylori* nas regiões estudadas, é de 70% à exceção do Capulo, zona litoral em que não obstante as precárias condições de saneamento, a frequência da infecção por *H. pylori* é baixa.

Grupo II: dos 309 doentes avaliados, verificou-se que 22 (7%), apresentavam uma mucosa normal e 287 (93%) uma mucosa alterada. A avaliação histológica das biópsias do antro, em 270 amostras de acordo com o Sistema de Sidney, em 235 (87,0%), revelou a presença de gastrite, 13 (4,8%) a presença de úlcera e em 9 (3,3%), uma lesão tumoral. A avaliação histológica da actividade nas 226 amostras do antro gástrico, verificou-se que 129 (57%) possuíam actividade e 97 (43%) não possuíam. O estudo das 255 biópsias do corpo, revelou em 212 (83,1%), a presença de lesões de gastrite, em 7 (2,7%), observaram-se lesões tumorais e 2 (0,8%) apresentaram úlcera. Dos 263 doentes avaliados histologicamente para pesquisa do *H. pylori*, 148 (58,2%) revelaram a presença positiva desta bactéria e 106 (41,7%) foram negativas. No que diz respeito à susceptibilidade aos macrólidos, do universo de 158 doentes com *H. pylori* positivo, 125 (79,1%) doentes apresentaram estirpes sensíveis aos macrólidos e 33 (20,9%) estirpes resistentes. Em relação aos factores de virulência, na avaliação conjunta dos dois factores de virulência estudados (*cagA* e *vacA*), em relação ao tipo de lesões encontradas na mucosa gástrica, verificou-se que dos 11 doentes com úlcera, 7 (63,6%), apresentavam uma estirpe *cagA* negativa, sendo 6 *vacA s1* (85,7%), uma *s2* e 4 (36,3%) com uma estirpe *cagA* positiva e *vacA s1*. Por sua vez dos 2 doentes com tumor, ambas as estirpes eram *cagA* negativas, sendo uma *vacA s1* e outra *vacA s2*. Em relação aos

factores de virulência nos doentes aos quais se diagnosticou úlcera e tumor apresentavam estirpe *cagA* negativa, *vacAs1*. Em relação às lesões gástricas inflamatórias, os doentes com gastrite apresentavam *cagA* positivo.

Do presente trabalho, em atenção aos resultados obtidos no que concerne a prevalência em populações sem queixas gastroenterológicas, recomenda-se que o mesmo se possa vir a replicar numa abrangência maior, realizando-se, por exemplo, estudos comparativos de prevalência entre as populações residentes no litoral (beira-mar) e as do interior. Pelas características genóticas de *H. pylori*, em correspondência com as lesões encontradas, após novos estudos mais abrangentes, recomenda-se a avaliação de uma terapêutica mais acessível para o doente e que seja de maior eficácia. Face à escassez de médicos especialistas em gastroenterologia em Angola e de meios de diagnóstico, recomenda-se um estudo mais alargado da eficácia do seguimento do doente dispéptico, conforme protocolo avaliado pelo Colégio da Especialidade de Gastroenterologia da Ordem dos Médicos de Angola e já em prática em algumas instituições de saúde.

Summary

H.pylori infection, is part of the gastroduodenal infectious diseases and it is estimated that over 50% of the world population is infected.

The natural history of *H.pylori* infection, is influenced by host genetic, strain type, of bacterial virulence factors, time of exposure to the infection, as well as social and hygienic-sanitary conditions. In parallel, *H.pylori* is considered the main pathogen of gastroduodenal diseases.

This study's main objective was to characterize *H.pylori* infection in populations of Angola and its evaluation as a public health problem. This is a prospective study conducted in two population groups, one in community environment composed by healthy individuals without specific gastric complaints - Group I, and Group II consisting of patients who went to the Gastroenterology Service of the Hospital Military of Luanda (HMP).

As regards to the study in the community detection of *H.pylori* was carried out by antigen search in faeces using ELISA method. At hospital level *H.pylori* infection diagnostic methods were: upper gastrointestinal endoscopy to obtain gastric mucosal biopsies for histology, culture and molecular methods. As a non-invasive breath test with labelled urea was used.

Group I: the diagnosis of *H.pylori* infection, by antigens detection in faeces, revealed a frequency of 69.6% in the study population. Whereas in each region, it was found that the Sambizanga region had the highest frequency of positive cases, 81.2% , followed by Dingo with 79.5%, Funda with 78.7 and Capulo with 39.8% being differences statistically significant ($p=0.001$). The evaluation of the distribution of the infection frequency by age group, revealed that individuals younger than 15 years had a frequency of 63.5% and in individuals older than 15 years, 76%. This study showed that the frequency of *H.pylori* infection in the regions studied was 70% exception due to Capulo, a coastal zone where despite the poor sanitation conditions; the frequency of *H.pylori* infection is lower.

Group II: from the 309 patients evaluated, it was found that 22 (7%) had a normal mucosa and 287 (93%) a modified mucosa. Histological evaluation of antrum biopsies in 270 samples according to the Sydney System revealed the presence of gastritis in 235 (87.0%), the presence of ulcers in 13 (4.8%) and a tumour in 9 (3.3%). Histological assessment of activity in the gastric antrum of 226 samples, revealed that 129 (57%) had activity and 97 (43%) did not. The evaluation of the 255 corpus biopsies showed in 212 (83.1%), the presence of lesions of gastritis, in 7 (2.7%) tumour lesions and in 2 (0.8%) an ulcer. Of the 263 patients histological evaluated for *H.pylori*, 148 (58.2%) revealed the presence of this bacteria and 106 (41.7%) were negative. As regards susceptibility to macrolides from the universe of 158 patients with *H.pylori*, 125 (79.1%) patients had macrolides susceptible strains and 33 (20.9%) resistant strains. Regarding virulence factors (*vacA* and *cagA*), it was found that from the 11 patients with ulcers, 7 (63.6%), had a *cagA* negative strain, being 6 *vacA s1*, (85.7%) one *vacA s2* and 4 (36.3%) with a *cagA* positive strain *vacA s1*. Concerning the 2 patients with tumour, both strains were *cagA* negative, one *vacA s1* and other *vacA s2*. Patients with ulcer and tumour had *cagA* negative strains *vacAs1*.

From this work, considering the prevalence of *H.pylori* obtained in health population, it is recommended that the same study should be performed in larger scale to confirm these results. The results of *H.pylori* genotyping suggest that more comprehensive studies are needed. Given the reduce number gastroenterology specialist in Angola and the lack of diagnostics methods, we recommend a larger study of the effectiveness of follow-up the patient dyspeptic, according to the protocol assessed by the College of Gastroenterology Specialty of the Order of Doctors and Angola already in place in some health institutions.

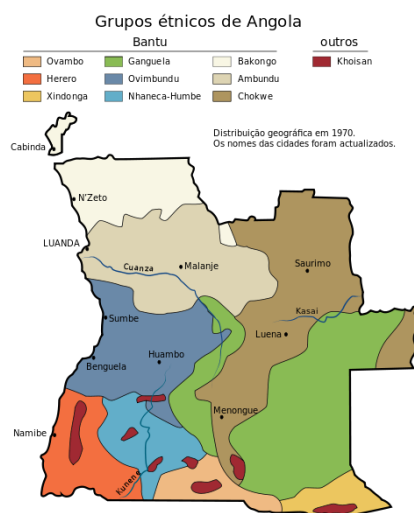


Fig. 2: Distribuição dos grupos étnicos de Angola.

São línguas Étnicas reconhecidas como línguas nacionais: ucôkwe (tchocué), kikongo, quimbundo, umbundo, nganguela, ukwanyama e havendo também inúmeros dialectos (2).

Estima-se que actualmente Angola tenha 24 383 301 habitantes, censo de 2014, sendo 48% do sexo masculino e 52% do feminino, sendo que 62% vivem em áreas urbanas. A densidade média populacional é de 20 habitantes por km²; em Luanda e subúrbios concentra-se cerca de 27% da população do país.

Angola é administrativamente dividida por 18 províncias, 163 municípios e 376 comunas. Com uma distribuição etária predominantemente jovem a nível rural, 50,5% são menores de 15 anos, 42,4% têm entre 15 a 59 e 7,1% com mais de 60 anos; enquanto nas regiões urbanas os menores de 15 anos são 48,6%, a população entre 15 a 59, são de 47,8% e a de 60 anos, 3.6% (83).

Na sequência dos acordos de paz de 2002, Angola assistiu nos últimos anos a uma rápida progressão no desenvolvimento do País, graças às medidas de emergência pós-guerra, de reabilitação, de construção e de educação, num quadro de crescimento económico.

Situação no Sector da Saúde em Angola

A falta de uma Política Nacional de Saúde e de um Plano Estratégico de Médio Prazo para o sector de saúde, até recentemente, dificultavam a liderança do Ministério da Saúde na resolução dos problemas de saúde pública.

Esta situação foi superada com a aprovação da Constituição da República de Angola em Março de 2010, onde se define a coordenação do sector social, incluindo saúde, directamente ao Vice-Presidente da República. Estruturou-se um órgão consultivo de apoio, designada por Comissão Social, para facilitar a coordenação intersectorial e os mecanismos de coordenação entre os níveis centrais e provinciais. Neste processo, reactivou-se o Comité Nacional de Luta contra o SIDA e o Controle de outras Doenças Endémicas e foi aprovada a Política Nacional para os Farmacêuticos. É assim que a Política Nacional de Saúde descreve as principais estratégias e orientações para o sector e em Agosto de 2010 foi adoptada e publicada no Jornal Oficial ao 24 de Novembro de 2010.

Os principais objectivos para o sector de saúde são a redução da mortalidade materna e infantil, o controlo de doenças transmissíveis e não transmissíveis, a melhoria na acessibilidade e na qualidade dos serviços disponibilizados por unidades de saúde de nível primário, o aumento e qualificação dos recursos humanos, a melhoria no encaminhamento dos doentes, e nos sistemas de informação e logística.

Estes processos são programados no âmbito da descentralização político-administrativa até ao nível provincial e municipal, concebidos como meios para melhorar a prestação de serviços. Permitiu-se assim a uma reforma do sistema de saúde baseada nos cuidados primários. Os Municípios estão a transformar-se em executores locais das instruções das Administrações Centrais e Provinciais, em instituições com recursos próprios e com capacidades administrativas e de planeamento (20).

Entretanto para ajudar a alcançar os Objectivos de Desenvolvimento do Milénio (ODM relativos á saúde, dentre outros a redução dos níveis muito elevados de mortalidade materno-infantil), o Ministério da Saúde definiu um "*Plano Estratégico para a Redução Acelerada da Mortalidade Materna e Infantil (2004-2008)*" e uma estratégia para revitalizar o sistema de saúde a nível municipal (20,84).

O Fórum Nacional sobre o sistema municipal de saúde, incluindo a iniciativa acelerada para reduzir a mortalidade materno-infantil, foi realizado em Junho de 2010 com a participação dos Governadores Provinciais, Administradores Municipais e outros parceiros nacionais e internacionais, para chegar a um consenso sobre as estratégias para reforçar os sistemas de saúde municipais.

Em oposição ao cenário económico bastante favorável vivido nos últimos anos, a situação social se bem que melhorada, ainda permanece crítica, com deficiente acesso à alimentação, à água potável, saneamento, à energia eléctrica e outras comodidades sociais básicas com claros reflexos na educação e principalmente na saúde. Segundo os dados da OMS de 2014, referidos a 2012, Angola tem uma taxa bruta de natalidade de 44,8 por 1000 habitantes, uma taxa total de fertilidade, por mulher, de 6, uma taxa bruta de mortalidade, por 1000 habitantes, de 14,4, apresentava uma esperança de vida à nascença, para ambos os sexos, de 51 anos, sendo de 50 para o sexo masculino e de 52 para o feminino, sendo a esperança de vida saudável à nascença de 44 anos; a taxa de mortalidade infantil era, em 2012, de 100 por 1000 nados vivos, a taxa de mortalidade neonatal, por 1000 nascimentos, de 45, e a taxa de mortalidade em crianças com menos de 5 anos de 164, , taxas sempre referidas para ambos os sexos; a taxa de mortalidade materna, em 2013, foi de 460 por 100.000 nascimentos.

A população que utiliza fontes de água potável era de 54%, sendo que 60% utilizava saneamento melhorado, havendo recurso a combustíveis sólidos (responsáveis por grave

patologia pulmonar, especialmente nas crianças) por 56%, dados referidos a 2012., Cerca de metade da população não tem acesso a infraestruturas de cuidados básicos de saúde. A densidade de profissionais de saúde por 10 000 habitantes, em 2013, era baixa, sendo de 1,7 médicos e 16,6 enfermeiros e parteiras. A percentagem da despesa total em saúde no produto interno bruto manteve-se constante entre 2000 e 2011, 3,4%, tendo a parte da despesa governamental no total da despesa com saúde aumentado de 49,5 para 62,6%, no mesmo período (46). Para o Orçamento Geral do Estado de 2015, foi alocado para o Sector Social 34% da sua despesa total, sendo 5,59% para o sector da saúde. O Governo comprometeu-se, no entanto, a dedicar mais recursos para as questões sociais, incluindo a construção de habitações sociais.

O perfil epidemiológico de Angola caracteriza-se por uma elevada prevalência de doenças transmissíveis e parasitárias. A malária em 2011 representou 35% das ocorrências às unidades de saúde, 20% dos internamentos hospitalares, 40% das mortes perinatais e 25% da mortalidade materna (99). A malária apresenta-se como a primeira causa específica de mortalidade, 99 por 100 000, em 2012, seguida da SIDA, 60 por 100 000, no mesmo ano; a tuberculose, apresenta uma taxa de incidência crescente - em 2000, de 250 por 100 000, em 2012, 316 por 100 000; no mesmo ano apresentava uma taxa de mortalidade em pessoas sem VIH de 42 por 100 000. Não obstante o difícil acesso das populações aos serviços de saúde, no domínio da saúde pública alcançou-se uma taxa de cobertura vacinal, de rotina, acima de 80%. Em relação à Poliomielite Angola esteve três anos (2001 a 2004) sem casos; entre 2005 e 2008 deu-se a reintrodução de casos novos. De 2008 a 2011 verificou-se que a transmissão tinha sido restabelecida. A 2 de Julho de 2011 ocorreu o último caso de poliomielite, não existindo retransmissão do vírus desde a referida data.

Informações complementares sobre a situação actual do sector da saúde

O sector da saúde registou progressos nos últimos 10 anos de paz; no entanto, o país vive ainda uma situação frágil, particularmente preocupante:

No que respeita à saúde materno-infantil, uma ainda muito elevada taxa de mortalidade materna de 460 por 100.000 nados-vivos, em 2013, que vem evoluindo muito positivamente, pois era estimada em 1990, em 1400 por 100.000, e no ano 2000, em 1100 por 100.000 nados-vivos;

- Salientando que no período 2006-2013 se estimava que apenas 49% dos partos eram assistidos por profissionais de saúde qualificados. As principais causas de morte maternas registadas são a hemorragia (37%), pré-eclâmpsia e eclâmpsia (15%), malária, rotura uterina (11%), aborto (2%) e septicemia (14%) (21).
- ✓ Como vimos, as taxas de mortalidade infantil e infanto-juvenil ainda permanecem muito elevadas.:
 - As causas de morte mais comuns entre as crianças menores de cinco anos em 2012, eram: infecções respiratórias agudas, (17%), doenças diarreicas (15%), malária (13%), prematuridade (11%), complicações relacionadas com o intraparto (9%), sépsis neonatal (5%), anomalias congénitas (5%), traumatismos (5%), sarampo (1%), HIV (1%), outras doenças (17%).
- ✓ A desnutrição crónica é um factor agravante das patologias infecciosas. Embora as medidas tomadas pelo Governo e o regresso ao campo das populações camponesas tenha permitido uma melhoria da situação alimentar, a persistência da pobreza contribui para manter uma taxa elevada de subnutrição, nomeadamente a crónica.

- ✓ Existe uma forte prevalência das patologias infecciosas nas crianças com mais de 5 anos de idade e nos adultos. As principais morbidades estão ligadas à malária, à tuberculose, ao VIH/SIDA. A raiva tem sido um problema de saúde pública adicional, embora as medidas veterinárias de prevenção e controlo estejam em primeiro plano. Verifica-se, no entanto, uma redução considerável e sustentada da epidemia de cólera e de casos de tétano neonatal. Por fim, o país encontra-se bastante vulnerável a doenças como as febres hemorrágicas víricas (Ébola, Marburg) e à reemergência do vírus da poliomielite selvagem e doenças negligenciadas como a oncocercose, entre outras.
- ✓ Na sequência do isolamento provocado por anos de guerra, o país encontrou-se indirectamente protegido da epidemia do VIH/SIDA, que afecta seriamente os países vizinhos. Embora registe uma das prevalências mais baixas do Continente Africano com uma evolução de 894 para 1195 por 100 000 habitantes, entre 2001 e 2012, com alguns focos de prevalência mais alta, como as Províncias de Cabinda, Luanda e Cunene, o país está em risco do aumento do número de casos como resultado da maior movimentação de pessoas e contactos no interior do país e com os países vizinhos, caso as medidas em curso não sejam efectivas. Em 2012, a cobertura com terapêutica anti-retroviral nas pessoas elegíveis para tratamento era apenas de 42 %.
- ✓ Por outro lado, observa-se uma prevalência crescente das doenças não transmissíveis, ditas do "mundo moderno", como a hipertensão arterial, as doenças cardiovasculares, a diabetes e o cancro. Resultado do aumento exponencial das vias de comunicação e das viaturas, os acidentes rodoviários representam hoje um problema de saúde pública muito preocupante. Estimativas da Organização Mundial de Saúde para o ano de 2008, apontam para que 8,2% dos homens e 8,7% das

mulheres, com mais de 25 anos, tivessem a glicose aumentada em jejum, que 3,8% dos homens e 10,2% das mulheres, com mais de 20 anos, fossem obesos, e que 39,6% dos homens e 33,8% das mulheres, com mais de 25 anos, tivessem a pressão arterial elevada.

✓ Os maiores constrangimentos que se verificam com consequências para a Saúde da população angolana e que, em parte, contribuem para os problemas acima citados, centram-se a vários níveis:

- A população que utiliza fontes de água potável, em 2012, era somente de 54% (em 1990, 42%, em 2000, 46%);
- Apenas 60% da população utilizava, em 2012, instalações com saneamento melhorado (29% em 1990, 42% no ano 2000);
- O uso doméstico de combustíveis sólidos por 56% da população, em 2012, tinha graves repercussões no aparelho respiratório, principalmente das crianças;
- A actualização necessária e urgente do Plano Nacional de Desenvolvimento Sanitário assente na Política Nacional de Saúde e num sistema nacional de informação sanitária funcional e progressivamente digitalizado (86).
- Falta de pessoal qualificado e de equipamentos adequados. Considerando o período de 2006-2013, havia 1,7 médicos e 16,6 enfermeiros e parteiras por 10.000 habitantes; psiquiatras, pessoal de odontologia e farmacêuticos estavam praticamente ausentes nos serviços de saúde de Angola. A cooperação estrangeira e o aumento considerável da cobertura da rede primária tem, no entanto, melhorado a situação, embora as unidades sanitárias ainda desempenhem com dificuldade o seu papel de primeira referência, devido à fraca funcionalidade de alguns serviços, nos quais falta

pessoal qualificado e equipamentos (por exemplo, muitos dos serviços de cirurgia obstétrica não têm equipamentos necessários). Hoje há 2 médicos por 100.000 habitantes.

- Financiamento da Saúde. A baixa dotação de recursos financeiros destinados à saúde e particularmente ao Ministério da Saúde. Enquanto a OMS define 6 a 12% o valor de recursos destinados a saúde, em Angola, as despesas com saúde mantinham-se em apenas 3,4% do PIB, quer em 2000 quer também em 2011. Saliente-se que a parte da despesa total em saúde custeada pelo governo evoluiu de 49,5%, em 2000, para 62,6%, em 2011, percentagem baixa face ao nível de rendimento de grande parte da população. Saliente-se, no entanto, que a despesa governamental com saúde como parte do Orçamento do Estado, evoluiu de 2,9%, em 2000 para 5,6% em 2011.
- A disponibilidade em medicamentos essenciais e genéricos é ainda insuficiente. Muito embora haja disponibilidade de medicamentos nos Hospitais Nacionais e nos Hospitais Provinciais, o fornecimento de medicamentos essenciais nas zonas periféricas é, muitas vezes, ainda irregular.
- A Lei de Base da Saúde estabelece que o Estado é o principal financiador dos cuidados de saúde. Porém, abre a possibilidade a terceiros e a cidadãos em participarem nos custos com a saúde. Segundo a Constituição de Angola, compete ao Estado (seja por via do OGE seja pela mobilização e coordenação da ajuda externa), suportar a maior parte dos custos de implementação da saúde, como um factor de desenvolvimento do país. Segundo estudos realizados pela OMS, o financiamento público corresponde a 65,2% das despesas totais em saúde, seguido das contribuições das famílias

com 22,5%, as empresas públicas e privadas com 8,9% e os parceiros internacionais com 3,4% (99).

- Os Municípios recebem apoio financeiro para a saúde através dos Programas Nacionais, dos Orçamentos Provinciais e, desde 2011, através da atribuição financeira do Ministério das Finanças para os Cuidados Primários de Saúde.
- Paralelamente, o Programa Municipal Integrado de Desenvolvimento Rural e Luta contra a Pobreza, coordenado pela Secretaria para os Assuntos Sociais da Presidência da República, apoia acções complementares no domínio da saúde, do saneamento básico e da nutrição (45).
- ✓ A capacidade de coordenação e liderança intra e intersectorial do Ministério da Saúde, tem vindo a melhorar através dos seguintes mecanismos:
 - Ao nível superior, O Vice-Presidente da República, coadjuvado pelo Ministro de Estado da Casa Civil, coordena as acções do sector da saúde através da Comissão para a Política Social da Comissão Permanente do Conselho de Ministros, tendo como integrante as seguintes entidades:
 - Ministro da Saúde,
 - Ministro da Educação,
 - Ministro da Assistência e Reinserção Social,
 - Ministro dos Antigos Combatentes,
 - Ministro do Ensino Superior,
 - Ministro da Ciência e Tecnologia,
 - Ministro da Cultura,
 - Ministro da Juventude e Desportos,
 - Ministro da Família e Promoção da Mulher,
 - Secretário para os Assuntos Sociais do Presidente da República,

- Assessor para Assuntos Jurídicos do Vice-Presidente da República.
- O Conselho de Direcção do Ministério da Saúde, é o órgão de consulta, assessoria e apoio ao Ministro em matéria de planeamento, gestão, coordenação e orientação dos órgãos que integram o Ministério, é presidido pelo Ministro e integra os Secretários de Estado, Directores Nacionais e Directores dos Hospitais. Reúne uma vez por mês, e extraordinariamente sempre que o Ministro o convoque;
- Foi criado em 2011 o *Comité de Coordenação Interagências* para a revitalização dos serviços municipais de saúde (CCI-R) que tem como objectivos:
 - Contribuir para alcançar os Objectivos do Milénio (ODM)
 - Reforçar a municipalização dos serviços de saúde; e
 - Melhorar a coordenação e a partilha de informação e experiência entre os parceiros.
- A Direcção Geral do Serviço Nacional de Saúde (DGSNS) assegura a preparação e avaliação de planos de assistência de cuidados e a elaboração dos respectivos programas.

Como resultado de todos estes factores, actualmente o grau de desenvolvimento económico e social e o sistema de saúde de Angola não permitem um acesso fácil e atempado a serviços de saúde e a qualidade dos serviços disponíveis apresenta fragilidades não compatíveis com as efectivas necessidades e os direitos constitucionais dos cidadãos angolanos. Acrescem às carências de saneamento, de água potável, às dificuldades económicas de uma parte substancial da população, carências alimentares e dificuldades de transporte rodoviário para acesso aos serviços de saúde disponíveis. São ainda de grande relevância as questões respeitantes aos valores culturais, condicionantes

frequentes de estilos de vida e práticas saudáveis, à prevenção das doenças e ao acesso atempado aos cuidados de saúde disponíveis.

Política Nacional de Saúde

Neste contexto, a nova Política Nacional da Saúde foi finalizada, aprovada e publicada no Diário da República em Novembro de 2010, assim como a nova Política Farmacêutica e o novo estatuto orgânico do Ministério da Saúde em 2011.

A Política Nacional de Saúde define quatro orientações estratégicas para o sector da Saúde:

- ✓ A reorganização do Sistema Nacional de Saúde, que dará prioridade no acesso aos cuidados primários de saúde a toda a população.
- ✓ A redução da taxa de mortalidade materno-infantil e infanto-juvenil, bem como da taxa de mortalidade causada por doenças prioritárias.
- ✓ A promoção e manutenção de um contexto global e de ambiente propício à saúde.
- ✓ A mobilização das famílias e das comunidades para a promoção e protecção da saúde.

Através da implementação destas quatro orientações estratégicas, o Governo propõe-se atingir os seguintes objectivos:

- ✓ Inverter a tendência de aumento da taxa de prevalência do VIH/ SIDA, mantendo-a abaixo de 3%;
- ✓ Reduzir a taxa de incidência de tuberculose para 80 novos casos por cada 100.000 habitantes;
- ✓ Reduzir em 70% a prevalência da tripanossomíase, e a incidência da malária para 7 casos novos por cada 100.000 habitantes;
- ✓ Reduzir em 50% a taxa de mortalidade materno-infantil;

- ✓ Aumentar para 80% a percentagem de partos assistidos por técnicos profissionais de saúde;
- ✓ Atingir o índice de 3 médicos por cada 10 000 habitantes.

A aprovação da Política Nacional de Saúde abre caminho para a elaboração e a aprovação de um Plano Nacional de Desenvolvimento Sanitário a Médio Prazo. Entretanto, o Ministério da Saúde procede à elaboração de planos de acções anuais e as principais estratégias incidem sobre:

- ✓ A melhoria e o aumento da capacidade dos serviços hospitalares;
- ✓ A melhoria da qualidade e da equidade dos serviços de saúde;
- ✓ O reforço dos recursos humanos;
- ✓ Um reforço institucional;
- ✓ A luta contra as grandes endemias e contra o VIH/SIDA;
- ✓ A melhoria da saúde materna e infantil.

No domínio operacional, o Ministério da Saúde adoptou um plano chamado de *Revitalização do Sistema Municipal de Saúde*, inspirado directamente na estratégia dos cuidados de saúde primários. Esse processo assenta na operacionalização das estruturas sanitárias e recursos humanos existentes, a fim de fornecer o pacote de cuidados básicos a toda a população (85).

A necessidade de aceleração e de apoio a este processo foi salientada pelo 20º Conselho Consultivo do Ministério da Saúde e está actualmente implementado em 16 municípios. Com o apoio do Fundo da UNICEF, está a ser progressivamente alargado a outros municípios e outros projectos com financiamento externo inscritos nesta dinâmica.

Os objectivos prioritários de redução da mortalidade materna e infantil, de controlo das grandes endemias e de reforço da capacidade institucional do sector foram reafirmados pelo Vice-Presidente da República na ocasião do Fórum nacional sobre a

municipalização dos serviços de saúde e do lançamento da campanha de redução acelerada da mortalidade materna e infantil.

A municipalização dos serviços de saúde enquadra-se no processo de desconcentração e descentralização dos serviços de saúde de nível primário. O processo está inserido num sistema liderado a nível local e organizado em termos de recursos humanos, infraestruturas, sistema de informação sanitária, logística, planificação e gestão financeira, que vai permitir a expansão da cobertura e a sustentabilidade dos serviços a esse nível (82). Desde 2010, sob iniciativa do Ministério da Saúde, o processo de desconcentração e descentralização administrativa dos serviços de saúde foi reforçado por uma transferência adicional e directa de recursos financeiros para apoiar os cuidados primários de saúde a nível municipal. Foram realizados mapas sanitários em todas as províncias, fornecendo uma base de dados qualitativos e quantitativos de grande importância para a elaboração dos planos de saúde a nível nacional, provinciais e municipais.

Refira-se que o Ministério da Saúde é parte integrante e dinâmica do *Conselho Nacional da Criança*, órgão multisectorial que integra vários ministérios, e que tem vindo a assumir um papel integrador e de promoção do bem-estar da criança a todos os níveis.

Organização e estrutura da Gastreterologia em Angola

A assistência aos doentes do fórum gastreterológico, até 1994, era exercida no Hospital Militar Principal com a participação de especialistas estrangeiros e no Hospital Américo Boavida (instituição hospitalar adestrada à Faculdade de Medicina), por 2 médicos angolanos especialistas em Medicina Interna, com diferenciação para a execução de endoscopia digestiva. É de se referir que as unidades hospitalares com serviço de gastreterologia, têm as áreas de apoio de diagnóstico, nomeadamente, o serviço de

anatomia patológica, patologia clínica e o serviço de imagiologia. Actualmente em todas as unidades hospitalares terciárias, são realizados exames endoscópicos, sendo os doentes acompanhados por gastroenterologistas angolanos e da cooperação estrangeira.

Sob tutela do Ministério da Saúde, em 1999, foi legislado o programa de formação pós-graduada (especialização) como documento reitor para a formação médica pós graduada no país. Devido a não existência dos colégios de especialidade junto da ordem dos médicos, foi criado no Ministério da Saúde, o Conselho Nacional de Especialização e Pós Graduação Médica que orienta, coordena, supervisiona a especialização médica e, ouvida a Ordem dos Médicos, procede ao reconhecimento das especializações efectuadas no exterior do país. Em 2011 foi apresentado à Ordem dos Médicos o Regime do Internato Complementar de Gastroenterologia e em 2012 constituiu-se o colégio da Especialidade junto da Ordem dos Médicos que desenvolve actividade científica integrada na formação de especialistas, exames de titulação, avaliação da idoneidade das instituições de formação de gastroenterologistas e sessões clínicas para actualização. Existem actualmente 14 especialistas e 15 médicos internos de especialidade.

História da descoberta de *H. pylori*

Em 1893 é descrita, mas sem caracterização, a presença de bactérias espiraladas que colonizavam o estômago de mamíferos. (6). Em 1896, após o patologista italiano Bizzozero, ter comunicado a observação de bactérias espiraladas em estômagos de cães, Salomon (110) refere observação semelhante em estômagos de gatos. No entanto, só em 1906 foram feitas referências alusivas à presença destas bactérias em estômagos humanos (56) estando elas presentes quando de tumor ou úlcera gástrica e duodenal

(107) mas sem ser considerada factor causal directo porquanto a sua presença era associada a contaminação originária da cavidade oral.

Luck *et Seth* (66) em 1924 desenvolvem o estudo da urease gástrica, tendo concluído que a acção ureásica é desencadeada pela mucosa gástrica e não pela bactéria. Em 1938 é descrita a presença de bactérias espiraladas similares, em estômagos de macacos e humanos, observadas *post mortem*, pelo método de coloração da hematoxilina/eosina (24). A controvérsia instala-se quando, Freedberg *et Barron* em 1940 (31) confirmam a presença da bactéria em 37% de amostras de tecido gástrico de doentes com úlcera e tumor, enquanto que Palmer (96) num estudo de 1.000 biópsias gástricas humanas, em 1954 afirma não ter sido encontrado as bactérias.

Concomitantemente em continuidade com o estudo da urease gástrica e a sua acção na mucosa gástrica, em 1950, Fitzgerald *et Murphy* (30) após o estudo da urease na mucosa gástrica humana, sugeriram a protecção gástrica contra a acção ácida, tendo utilizado a ureia para tratamento da úlcera e obtiveram neutralização do ácido gástrico. Lieber (62), nove anos depois, demonstrou que a administração de tetraciclina, diminui a urease gástrica, mas foi Delluva *et al.* (22) que em 1968, demonstrou a presença da urease gástrica, associada a bactéria.

Em 1974, Steer *et Colin-Jones* (114 e 115) ao estudarem 50 amostras da mucosa de estômagos ressecados identificaram bactérias associadas à gastrite difusa em 50 e Fung *et al.* (32) em 1981 observaram bactérias na superfície do epitélio da mucosa gástrica.

Mais tarde, em 1981, Barry Marshall, patologista do Royal Perth Hospital, na Austrália, volta a identificar bactérias em biópsias de mucosa gástrica humana, e juntamente com Robin Warren utilizando a coloração de prata, confirmam a presença de bactérias espiraladas, porém sem que tenham obtido a comprovação por cultura.

Em Outubro de 1982, após um tempo de cultura não programado, superior a cinco dias, foram visualizadas colónias de cultura bacteriana (75). Estes resultados são dados a conhecer em 1982 no *Royal Australian College of Medicine*, e em 1983 publicados em que este microorganismo (76, 133) é denominado *Campylobacter pyloridis* - bactéria de coloração Gram negativa, espiralada, microaerófila, encurvada e possuidora de flagelos. A sua denominação foi posteriormente modificada para *Campylobacter pylori* (74).

Em 1989 (36), é proposto um novo género bacteriano denominado *Helicobacter*, com duas espécies diferentes, *Helicobacter mustelae* e *Helicobacter pylori*. Actualmente conhecem-se mais de 20 espécies, enquadradas no mesmo género, as que colonizam o estômago e são produtoras de urease e as que colonizam o intestino, não produtoras de urease.

Com a cultura destas bactérias e a identificação da produção de urease, Langenberg e colaboradores (61) clarificou os estudos anteriores referidos por Delluva *et al.* (22), sobre a presença da urease gástrica, contribuindo assim para o novo conceito na avaliação das doenças gastroduodenais.

As sucessivas descobertas

Após as sucessivas descobertas feitas no estudo da infecção por *H. pylori*, o seu tratamento com a toma de tetraciclina, bem como a acção da urease gástrica, desencadeou-se um novo processo no entendimento da evolução natural da doença gastroduodenal, desde a clínica à prevenção, passando pelo diagnóstico e a terapêutica.

Primeira descoberta - a existência de uma nova bactéria, espiralada, com flagelos, aderente a mucosa gástrica, capaz de resistir ao meio ácido do estômago, denominada de *H. pylori*. Com este novo conhecimento, perdeu-se o pensamento unânime, até então

vigente, de que o estômago humano era um meio estéril bacteriano devido à sua taxa de acidez.

Segunda descoberta - foi a associação da presença de *H. pylori* em amostras de mucosa gástrica de doentes com gastrite, úlcera gástrica e tumor e a afirmação de Marshall (73) em como, a acção ureásica de *H. pylori* constitui uma causa, entre outras, destas patologias. Esta hipótese veio alterar o conceito em como as gastrites e as úlceras gástricas eram provocadas pelo excesso de acidez e alteração no balanço entre a agressão e defesa da mucosa, orientando o seu tratamento na base da toma de antiácidos.

Terceira descoberta - prende-se com a evidência da eficácia do tratamento antibiótico das gastrites e das úlceras do estômago. Warren *et* Marshall, em Outubro de 1981 tinham tratado, com sucesso, a gastrite de um doente com tetraciclina oral, administrada durante 14 dias, baseando-se em trabalhos de Lieber em como a tetraciclina interferia na urease. (62), No entanto, para sustentar a hipótese do carácter patogénico da bactéria, faltava ainda realizar um estudo prospectivo sistemático para definir a sua patogenicidade e capacidade de sobrevivência em meio ácido, como o do estômago, colonizar e sintetizar produtos que desenvolvam lesões na mucosa gástrica.

É em Setembro de 1996, em Maastricht, na I reunião de consenso organizada pelo grupo europeu de estudo de *H. pylori*, que se define o papel deste microrganismo na patologia gastroduodenal, assim como no esclarecimento do diagnóstico e aconselhamento da terapêutica tripla para erradicação, associando-se dois antibióticos a uma bomba de prótons, por sete dias. (133).

Quarta descoberta- foi quando a OMS em 1994, define o papel carcinogénico de *H. pylori* para o homem, (47).

Epidemiologia da infecção por *H. pylori*

A infecção por *H. pylori* enquadra-se nas doenças infecciosas gastrintestinais, estimando-se que cerca de 50% da população mundial esteja infectada (10)

A taxa de incidência nos países desenvolvidos é de 1% ao ano nos adultos e 2 a 3% nas crianças e jovens, com uma taxa de eliminação na infância 2 a 3 vezes superior à dos adultos. A prevalência da infecção varia de país para país, com grandes diferenças entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento devido as condições sócio ambientais e económicas (9-10,79).

A epidemiologia da infecção por *H. pylori* nos países desenvolvidos apresenta uma distribuição da prevalência associada a idade sendo aceite que as lesões malignas ou ulcerosas têm como base o tempo (por isso mais frequentes em idades superiores aos 50 anos), o grau da infecção e a reacção imunológica do hospedeiro. Estima-se que a prevalência da infecção nas crianças se situa entre os 4 e 16%, podendo atingir os 20% nos adolescentes e ultrapassar os 40 a 50% nos adultos e idosos. A taxa de incidência (risco de aquisição de infecção) é de aproximadamente 1% ao ano nos adultos e 2 a 3% ano nas crianças, enquanto que a taxa de reinfeção se situa entre os 0,5 e 1% ano (106). Nos países em vias de desenvolvimento, os factores de risco têm como base a deficiente rede sanitária, os aglomerados familiares numerosos e a deficiente escolaridade. No Peru, Kleim *et al.* acompanharam a seroprevalência da infecção por *H. pylori* em 105 crianças, desde a gestação até aos dois anos e meio e obtiveram taxa de prevalência da infecção de 71,4%, 47,9% e 51,7% nas idades de 6, 18 e 30 meses respectivamente, com uma diminuição da seroprevalência aos 18 meses (54).

Particularmente nos países Africanos e Asiáticos a prevalência é elevada na infância e mantem-se elevada em todos os grupos etários. A infecção aumenta rapidamente na

infância podendo atingir 50% em crianças com idade inferior a 5 anos e ultrapassar os 90% na população adulta. No Brasil, registou-se a incidência de infecção de 4% ao ano em crianças de Belo Horizonte (104).

Em África, onde a esperança de vida é em média de 50 anos, a infecção parece ser adquirida na infância e a incidência de neoplasias é baixa, a infecção por *H. pylori* deve ser enquadrada como um problema de Saúde Pública, faltando uma ideia mais esclarecedora sobre os factores intervenientes, como e quem tratar. Realçam-se aspectos étnicos e culturais como factores de risco. Estudo apresentado nos Estados Unidos da América refere um risco de infecção 2 vezes superior nos afroamericanos e hispânicos em relação aos anglosaxónicos (67).

Refere-se actualmente que nos países desenvolvidos, a prevalência da infecção por *H. pylori*, tende a diminuir, assim como a incidência do cancro gástrico (106, 109).

A diferença que se verifica na prevalência entre os países desenvolvidos e os em vias de desenvolvimento, pode ser notada no mesmo país, entre indivíduos com estrutura económica/social diferente. Não está descrita incidência ou prevalência de infecção, diferente entre homens e mulheres.

Transmissão da infecção por *H. pylori*

A infecção da mucosa gástrica por *H. pylori* depende de factores genéticos do hospedeiro, da estirpe da bactéria, bem como do ambiente. Ocorre por transmissão fecal-oral, oral-oral entre humanos, principalmente na infância. O estômago humano, foi identificado como reservatório natural e o seu nicho ecológico, podendo aí persistir durante anos. A eliminação de *H. pylori* é pelas fezes, podendo ser detectado por amplificação genética (70). Não obstante alguns factores ainda não totalmente esclarecidos, a transmissão fecal-oral constitui a hipótese de maior consenso. Estudos

referem a sua identificação na saliva e em placas dentárias por amplificação genética e cultura (28,71), sustentando a via de transmissão oral-oral, tendo a cavidade bucal como reservatório. A transmissão gastro – oral é entendida como consequência de refluxo (regurgitação) gastro esofágico.

Estudos efectuados no Peru, detectaram a presença de *H. pylori* em água de esgoto e em água tratada para beber podendo ela ser um meio de transmissão (55).

A evolução da infecção depende de factores de virulência da bactéria, factores genéticos do hospedeiro. Segundo Wang *et al.*, (132) os portadores dos grupos sanguíneos A, teriam um risco aumentado para a infecção por possuírem receptores específicos para as adesinas de *H. pylori*.

Em relação aos factores étnicos, um estudo efectuado nos EUA por Malaty (67), refere risco aumentado de infecção nos hispânicos e afro-americanos, em relação aos anglo-saxónicos. Também por Sathar , na África do Sul (111), foi constatada uma prevalência maior de infecção por *H. pylori* em negros do que em brancos.

Condições sociais e culturais, entre as quais, os hábitos alimentares poderão ser questionados como factores intervenientes.

Características da bactéria e sua patogénese

H. pylori é um bacilo de coloração Gram negativa, de forma espiralada (helicoidal) com os extremos arredondados, 3 µm de comprimento e 0,3 µm de largura (42).

Possui uma estrutura de glicocálice que recobre a superfície e permite a sua aderência às microvilosidades com colonização do epitélio gástrico e motilidade (37). Para a sua mobilidade, possui 5 a 6 flagelos unipolares que atravessam a parede celular, e estão ligados á membrana citoplasmática por um disco basal. Nas extremidades os flagelos

têm uma forma de bulbo constituído por uma unidade central com uma camada fosfolipídica que os protege da acidez gástrica (33).

Para o seu crescimento, as condições de pH do nicho ecológico, são controladas pela secreção ácida para o lúmen gástrico. Assim, *H. pylori* não é considerada bactéria acidófila uma vez que o seu metabolismo diminui em ambientes com pH baixo, mas sim um microrganismo que se adaptou ao ambiente ácido do estômago (72). O seu pH óptimo de crescimento varia entre 6 e 7, e não se desenvolve em pH inferior a 3, mesmo na presença de ureia (17).

Possui actividade de catalase, oxidase e urease sendo rápida a degradação da ureia. *H. pylori* bem como as bactérias do género, possui actividade de fosfatase alcalina e gama-glutamyl-transpeptidase e são naturalmente resistentes a alguns antibióticos como a vancomicina, trimetoprim, sulfonamidas e à cefalotina (42).

Não obstante a presença da urease, *H. pylori* desenvolve mecanismos de adaptação em ambiente de pH baixo, utilizando as ATPases de membrana para ajustar as diferenças de potencial entre o interior e o exterior da célula. Igualmente, *H. pylori* tem a capacidade de resistir à agressões oxidativas resultantes do processo inflamatório da mucosa gástrica através da acção das enzimas catalase, superóxido dismutase e a alquil-hidroperóxido redutase. O anião superóxido (tóxico) é convertido em peróxido de hidrogénio pela superóxido dismutase, onde a transformação em água e oxigénio, é catalisada pela enzima catalase (90).

Para a fixação na mucosa gástrica, *H. pylori* possui a capacidade de síntese de adesina, proteína que reconhece as proteínas na mucosa gástrica às quais aderem. Também está descrito em como as lipoproteínas podem igualmente estar relacionadas com a adesão de *H. pylori* às células do epitélio gástrico (119).

A sua acção patogénica é definida pela produção da enzima urease que após hidrólise com a ureia existente no lúmen gástrico liberta amónio e dióxido de carbono. O amónio permite a criação do nicho ecológico próprio com um pH mais elevado e penetração da bactéria na mucosa gástrica, sua colonização, desenvolvimento do processo inflamatório, causando lesões da mucosa.

Definem-se pois como factores para patogenicidade:

a) Capacidade de colonização devido a produção de urease; motilidade devido a existência dos flagelos; a aderência devido a adesina própria com tropismo específico para aderência da bactéria às células epiteliais gástricas; alteração da secreção ácida gástrica, desencadeando uma acção hipoclorídrica transitória condicionando a colonização fácil da mucosa gástrica.

b) Toxicidade por acção da urease; citotoxina Vacuolizante (VacA); Ilhéu de Patogenicidade (PAI); Proteína IceA; Proteína Activadora de Neutrófilos (NAP) (4).

Fatores de virulência

São actualmente identificados diversos genes de virulência devido a mutações ou recombinações. Para a diversidade genómica definem-se acções como a organização de genes em mosaico, a exemplo o gene *vacA* que tem regiões conservadas alternadas com regiões variáveis. O gene *cagA* é um marcador do ilhéu de patogenicidade (PAI) e está presente em grande parte das estirpes. Os genes *cagA* (gene associado à produção de citotoxina) e *vacA* (gene associado à vacuolização), estão envolvidos na virulência da bactéria. A análise da situação clínica resultante da infecção por *H. pylori*, mostrou que as estirpes que possuem o gene *cagA* estão mais associadas à doença ulcerosa e à neoplasia gástrica, ao contrário das estirpes com ausência do gene *cagA* (14).

Yamaoka, refere que os genótipo *sabA* de *H. pylori*, gene que codifica para uma proteína de membrana, são mais agressivos no desenvolvimento da doença gastroduodenal. Correspondendo a afirmação de que em países com alta prevalência da infecção por *H. pylori*, como África, o desenvolvimento de doença ulcerosa ou cancro gástrico é baixo e varia de regiões no mesmo país (136).

Recentemente foram apresentados os genes *sabA* e *hopZ* como possíveis marcadores de virulência para a doença ulcerosa péptica, descrevendo-se que o genótipo *sabA on* em estudos realizados numa população portuguesa, relacionou-se significativamente com a doença não ulcerosa (DNU), enquanto o genótipo *hopZ on* foi mais prevalente em doentes com doença ulcerosa péptica (13). Também se refere a ligação em estirpes pediátricas entre os genótipos *sabA on* e os genótipos *cagA-*, *vacAs2* e *oipA off* o que não se verificou nas estirpes em adultos. Concluindo que nas estirpes pediátricas, o risco para a doença ulcerosa péptica é maior quando se associa o genótipo *sabA off* aos genótipos *cagA+*, *vacAs1* e *cagA+/vacAs1*. Tendo sido identificados vários mecanismos de virulência, relativamente á proteína imuno dominante *cag A*, produzida por cerca de 60% das estirpes ocidentais e mais de 90% das asiáticas em como representa um factor de risco para o desenvolvimento de gastrite atrófica, úlcera péptica e neoplasia gástrica (52).

A citotoxina VacA, produzida por cerca de 50% das estirpes, induz á formação de vacúolos em células eucarióticas. O gene *vac A* está presente em todas as estirpes, com variações nas regiões sinal (tipos *s1* ou *s29*, região média (tipos *m1* ou *m2*) e intermédia (*i1* ou *i2*). A combinação *s1m1* confere elevada actividade citotóxica, *s1m2* intermédia e *s2m2* baixa actividade (128).

A proteína Bab A, codificada pelo gene *bab2*, está implicada na patogenicidade da bactéria, ao facilitar a adesão do *H. pylori* ao epitélio gástrico (7). A sua presença está associada ao desenvolvimento do adenocarcinoma, úlcera péptica e gastrite.

A variabilidade da prevalência e importância etiológica no desenvolvimento das patologias gástricas, motiva o desenvolvimento de estudos que permitam conhecer a realidade de cada região.

Patologias associadas

Para o desenvolvimento da doença pela infecção por *H. pylori*, é necessário que estejam presentes os factores ligados à patogenicidade da bactéria, resposta do hospedeiro à infecção bem como factores genéticos e ambientais.

A patogenicidade da bactéria depende da sua capacidade em:

- Colonizar a mucosa gástrica
- Persistir no estômago, e induzir a uma resposta inflamatória permanente
- Sintetizar produtos capazes de induzir lesões na mucosa gástrica.

Em gastroenterologia, as doenças associadas à infecção por *H. pylori* são enquadradas como gastrite crónica, dispepsia (critério de Roma II), doença ulcerosa péptica, adenocarcinoma gástrico e o linfoma de MALT.

As queixas mais frequentes são caracterizadas por dispepsia que segundo os critérios de Roma II é definida como “dor ou desconforto persistente ou recorrente localizada no abdómen superior que pode ou não estar relacionada com as refeições” (117).

Os doentes referem como queixas cardinais, a saciedade precoce, eructações, epigastralgias sem irradiação ou relação com a ingestão de alimentos, por vezes desencadeadas pelo jejum prolongado. Não pouco frequente, em crianças, às queixas associam-se a diarreia, anemia e alterações no desenvolvimento.

É controverso o enquadramento da dispepsia funcional no contexto de infecção por *H. pylori*. Vários estudos referem uma melhoria sintomática até aos 9 meses, mas com recidiva aos 12 meses. Trespi, num estudo de seguimento de 6 meses, demonstrou uma melhoria sintomática total da dispepsia, após a erradicação de *H. pylori*, porém só verificado nos doentes caracterizados por dispepsia do tipo ulceroso (121).

McCarthy demonstrou uma melhoria dos sintomas às 4 semanas após a terapêutica de erradicação, mesmo nos doentes que se mantiveram *H. pylori* positivos. Ao fim de um ano, na avaliação sintomática, os doentes com erradicação apresentaram um quadro estatístico de controlo sintomático inferior aos que não tinham feito a erradicação (77).

Também Moayeddi publicou um estudo em 2.500 doentes com dispepsia funcional, onde concluiu que aos 6-12 meses, as queixas dispépticas eram inferiores a 9% nos doentes submetidos a terapêutica para a erradicação da infecção por *H. pylori* (91).

A azia, tosse irritativa, sensação de queimação na região retroesternal, inicialmente interpretada como Doença do Refluxo Gastresofágico (DRG), deve também ser entendido, como hiperprodução ácida, hipersensibilidade da mucosa no contexto da diminuição da barreira de defesa constituída pelo muco e prostaglandinas resultante da infecção. Porém não existe consenso na associação etiológica da infecção por *H. pylori* e a DRG. Chegando a questionar-se o seu papel protector nesta patologia por induzir a uma baixa produção ácida e quando da sua erradicação normalizar-se.

Por outro lado, *H. pylori* que tem o seu nicho natural no estômago pode localizar-se no cárdia e a este nível desenvolver alterações no relaxamento do Esfíncter Esofágico Inferior (EEI) (135). A infecção conduz à libertação de vários mediadores inflamatórios, citocinas, óxido nítrico e prostaglandinas que actuando nos neurónios aferentes o que desencadeiam a redução da pressão do EEI conduzindo ao refluxo gastresofágico (135).

Também é defendida a acção directa das enzimas ou toxinas bacterianas a nível do EEI, e desencadear alterações funcionais (131).

No estudo das complicações da doença de refluxo gastro esofágico em grande parte dos investigadores, existe concordância sobre o papel “protector” quando de infecção por *H. pylori*. Vicari *et al.* estudaram a prevalência das estirpes mais virulentas de *H. pylori cagA+*, em 26 controlos, (42.3%), em 30 doentes com esofagite de refluxo (36,7%), 15 doentes com esófago de Barret (13,3%) e 7 doentes com adenocarcinoma/displasia (0%) e concluíram que a infecção por estas estirpes mais virulentas proporcionava uma protecção contra as complicações da doença de refluxo gastro esofágico (131).

A conjugação da hipergastrinémia ao aumento da massa de células parietais que regeneram após a sua erradicação, permite associar uma relação entre a infecção e as alterações da secreção ácida gástrica existentes nesses doentes (112).

A infecção por *H. pylori* origina inicialmente, gastrite aguda que, em poucos dias evolui para gastrite crónica “superficial”. Situação que permanece durante anos. Cerca de 20% dos indivíduos infectados evoluem para gastrite crónica atrófica, doença ulcerosa e, eventualmente, desenvolve adenocarcinoma gástrico. Um outro grupo menor de infectados, pode desenvolver linfoma-MALT (68). A doença ulcerosa gástrica, desenvolve-se na base da gastrite atrófica com metaplasia intestinal em doentes infectados com a estirpe *cagA+*, associado a outros factores determinantes como a urease, o gene *iceA*, genéticos, ambientais e alimentares. O gene *cagA* localizado no ilhéu de patogenicidade (PAI) e o gene *iceA* (*induced by contact with epithelium*), possuem propriedades pró-inflamatórias ao estimularem a produção de IL-8 pelas células epiteliais (57).

Importante avanço no manuseamento e tratamento dos doentes com infecção por *H. pylori* foi a afirmação de 1994 em que o *National Institutes of Health - Consensus*

Development Conference definiu como tratamento dos doentes infectados, a associação de antibióticos ao inibidor da secreção gástrica.

Para uniformização na abordagem dos doentes, o *European Helicobacter pylori Study Group* (EHSG), em 1996, reunido em Maastricht, definiu as novas orientações para o diagnóstico e tratamento da infecção por *H. pylori*, afirmando-se a necessidade da sua erradicação e definida a terapêutica tripla resultante da associação de dois antibióticos e um inibidor da bomba de prótons, durante sete dias (69).

Em 1994, a OMS classificou *H. pylori* como carcinogénico de classe I, com base em estudos epidemiológicos que evidenciam a infecção por *H. pylori* como um factor de risco para o cancro gástrico.

Ainda em estudo, na oncogénese do carcinoma gástrico, a evolução da metaplasia intestinal que tem como base a gastrite atrófica após prolongada infecção por *H. pylori*, desencadeia alteração no processo de proliferação e diferenciação celular. Porém alguns autores referem-se à metaplasia intestinal como sendo um marcador de malignidade e não unicamente um percussor biológico (18).

A presença do gene *cagA* nas estirpes de *H. pylori*, associa-se a uma maior virulência e gravidade das patologias associadas. A região *cagA*-PAI codifica um sistema de secreção de tipo IV, permitindo injectar moléculas nas células do hospedeiro, desencadeando um processo de modulação do metabolismo celular, interferindo nas proteínas do citoesqueleto celular e na produção de proto-oncogénicos (19).

Esta afirmação todavia não é consensual. Trabalhos de Kikuchi, numa população de adultos jovens portadores de cancro gástrico, refere não existir diferença entre as estirpes que infectaram os doentes, isto é *cagA* positivo ou negativo (53).

Estudos Europeus referem claramente a associação entre o gene *cagA*, a doença ulcerosa péptica, cancro do estômago e o linfoma MALT de baixo grau de malignidade.

No entanto esta associação não é argumentada na Ásia, onde a prevalência de infecção e a incidência destas patologias é maior que no mundo ocidental (29).

Não existe um quadro clínico específico da infecção por *H. pylori*. A maioria dos infectados é assintomática ou as queixas pouco valorizadas. Os sintomas traduzem cronicidade da infecção e quando não complicada, caracterizam-se por ardor, dor epigástrica, enfartamento pós-prandial, azia, eructações. O sintoma de realce quando de complicação é a hemorragia digestiva alta por lesão gastroduodenal erosiva ou por úlcera.

Em crianças até aos 5 anos decorre de forma assintomática. Alguns trabalhos referem uma possível relação da gastrite por *H. pylori* com a malnutrição nos primeiros meses e vida, dor abdominal recorrente (102). Advoga-se o risco de diarreia, devido a diminui a secreção ácida do estômago, desencadeando contaminação entérica e consequentemente episódios de diarreia (21). Por outro lado, Barabino refere casos de má absorção e anemia ferropénica refractária, devido a colonização da mucosa gástrica, com deficiente captação de ferro e que regrediu após a erradicação da bactéria.

A possível associação de *H. pylori* e patologia extra-gastroduodenal é ainda controversa e merece investigação profunda.

O resultado da infecção do estômago humano por *H. pylori*, hoje descrito como principal factor na patogénese da doença gastroduodenal, abarca porém um número grande de patologias extra-gastroduodenal que merecem investigação. Não obstante se encontrar correlação nos estudos epidemiológicos, o estudo fisiopatológico não sustenta a afirmação.

Estudos referem a ligação da anemia ferropénica idiopática à infecção por *H. pylori* sendo o mecanismo patogénico baseado na capacidade da bactéria em utilizar ferro para o seu crescimento, bem como devido à colonização gástrica conduzir à deficiência de

ferro por defeito de captação (117). Em indivíduos com diabetes mellitus, colonizados por *H. pylori*, foram descritos valores mais elevados de anticorpos anticélulas parietais e anticélulas dos ilhéus de Langerhans, comparativamente aos não colonizados (121). Na artrite reumatoide, um estudo em quinze doentes infectados por *H. pylori*, teve melhoria clínica sobre a actividade da doença, após erradicação, em comparação aos não colonizados (77). Na urticária crónica, os mecanismos fisiopatológicos assentam na constituição de imunocomplexos circulantes. Pois com a infecção por *H. pylori* aumenta a permeabilidade vascular gástrica conduzindo o indivíduo a uma exposição maior aos alérgenos alimentares (91). A definição de patologias extra-gastroduodenal, eventualmente relacionadas à infecção por *H. pylori*, deve merecer atenção especial, pois poder-se-ão introduzir condutas terapêuticas para erradicação, ainda infundadas.

Diagnóstico da infecção por *H. pylori*

Vários têm sido os testes descritos e amplamente estudados para o diagnóstico da infecção por *H. pylori*, tendo como base o novo entendimento na patogénese das doenças gastroduodenais (134). A sua aplicação tem como objectivo o diagnóstico precoce para a intervenção na evolução natural da doença, tratamento e definição de metodologia de seguimento dos doentes.

Em atenção à alta prevalência, os diferentes métodos de diagnóstico que têm sido desenvolvidos, buscam um maior acesso, menores custos, fiabilidade, adesão, resultados rápidos e aplicação nas diferentes etapas de evolução dos estudos de *H. pylori*.

Os métodos de diagnóstico são habitualmente divididos em dois grandes grupos, designados por métodos invasivos e métodos não invasivos. Qualquer dos métodos

utilizados, têm vantagens e desvantagens na sua aplicação bem com na fiabilidade, mantendo-se como standard o estudo das biópsias gástricas (78).

Métodos invasivos

Estes métodos são assim classificados por ser necessária a realização de EDA para a colheita de biópsia gástrica. Antes da colheita os doentes não devem, num intervalo de duas semanas, ter ingerido fármacos anti-secretores, inibidores da bomba de prótons e antibióticos. Durante a endoscopia, são inicialmente colhidas amostras para o teste de urease, para cultura e para o estudo anatomopatológico, devendo ser colhidas duas amostras do corpo e duas do antro, de acordo ao sistema de Sydney.

Teste rápido da urease

Este teste tem como base o facto de *H. pylori* possuir urease. Ao colocar-se uma biópsia de mucosa gástrica num meio contendo ureia e um indicador de pH, no caso de existir infecção, a urease produzida pela bactéria hidrolisa a ureia formando amónio e bicarbonato. Esta amónia libertada alcaliniza o meio levando à mudança de cor do indicador de pH. A velocidade com que se observa a mudança da cor do meio depende da quantidade de bactérias presentes no fragmento de biópsia, da temperatura de leitura do teste e da concentração de ureia no meio (25).

A sensibilidade é variável, entre os testes existentes, de 70 a 95%. Pode ser diminuída em doentes com terapêutica prévia para erradicação de *H. pylori* ou tenham feito medicação com antibióticos e podem ocorrer resultados falsos positivos devido à presença de outras espécies de *Helicobacter* – *H. helmanii* ou, outras bactérias que também são produtoras de urease, *Pseudomonas spp*, que se encontram em doentes com hipo ou acloridria (25).

A principal vantagem destes testes é a facilidade de execução e a rapidez de obtenção de resultados na própria sala de endoscopia.

Exame anatomopatológico

Diagnóstico com o apoio da endoscopia digestiva alta e a realização de biópsias da mucosa gástrica para o estudo anatomopatológico, e constituiu um dos primeiros métodos para o estudo da presença de *H. pylori*.

Os fragmentos de mucosa gástrica, permitem observar a presença da bactéria sob a forma de bacilo espiralado, à superfície das células epiteliais gástricas. As amostras devem ser fixadas de imediato numa solução de formaldeído a 10% para posterior inclusão, corte e coloração.

As colorações de hematoxilina-eosina e Giemsa modificado, são as mais utilizadas e devem ser aplicadas em simultâneo, pois servem de rectificador nos casos em que, por baixa densidade da bactéria, possam originar resultados duvidosos (126). O exame anatomopatológico, permite igualmente diagnosticar as lesões da mucosa gástrica, gastrite, atrofia, metaplasia intestinal, displasia e lesões malignas. A classificação é descrita de acordo com o Sistema de Sydney que permitiu uniformizar os resultados histológicos, facilitando a sua interpretação.

A sensibilidade do exame anatomopatológico é de 95% quando utilizado como diagnóstico e 88% quando de controlo de terapêutica (134). A distribuição não uniforme da bactéria pela mucosa gástrica é também considerada factor relevante no resultado do estudo.

Exame citobacteriológico

O exame cultural, é não só o método de referência para a detecção de *H. pylori* mas que também possibilita o estudo da susceptibilidade da bactéria aos antibióticos. Para o efeito deverão ser colhidas duas amostras, uma do corpo e uma do antro gástrico.

Dada a sensibilidade deste microrganismo à presença de oxigénio e à dissecação, é necessário ter-se em atenção ao meio de conservação e de transporte. Caso o processamento da biópsia se faça até às 4 horas, após a colheita, esta deve ser colocada em solução salina ou de glucose a 20% e mantidas a 4°C. Para um período superior a 4 horas as amostras devem ser colocadas em meio de *Portagerm pylori*, mantendo a temperatura de 4°C e até um máximo de 48 horas. Para transportes longos ou estudo tardio, as amostras devem ser conservadas em tubo seco à temperatura de -80°C (25).

Após a homogeneização, por trituração, para uma melhor distribuição, as amostras são semeadas e incubadas a 37°C numa atmosfera microaerófila durante um período até 14 dias. Para uma cultura positiva são precisos cerca de 3 a 4 dias de incubação, mas a confirmação, em caso se tratar negativa, é avaliada ao 12º dia. O exame microscópico, é realizado em esfregaços das biopsias gástricas corados com a coloração de Gram (25).

Amplificação genética - PCR (Polymerase Chain Reaction)

A utilização da técnica de PCR desenvolvida em 1987 por Mullis e Faloona, (92) na pesquisa de *H. pylori* permite o estudo sequencial dos genes envolvidos na colonização e patogénese desta bactéria sendo minimizadas as dificuldades resultantes das condições de transporte das biopsias gástricas e permitem a obtenção mais rápida de resultados.

Esta técnica permite quantificar o ADN alvo, presente na amostra, bem como avaliar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos (93) podendo ser estudadas diferentes

amostras biológicas como a saliva, as fezes e o suco gástrico (5, 27, 38). A utilização da técnica de PCR é igualmente importante para a detecção dos marcadores de virulência como o gene *cagA* (44) e o gene *vacA* (4) de *H. pylori* a partir da biopsia gástrica (40) ou da estirpe (58, 127).

Métodos não invasivos

Os métodos de diagnóstico não invasivos, têm a vantagem de não necessitarem de recorrer à EDA e como tal menos incómodos para os doentes. A sua utilização depende do contexto clínico do doente.

Determinação de anticorpos

O teste imuno-enzimático ELISA (*Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay*), é o mais utilizado, de rápida e fácil execução para a detecção de anticorpos anti *H. pylori* no soro do doente.

Os testes actualmente utilizados, têm uma sensibilidade e especificidade de 92%. Devido ao conhecimento da importância do gene *cag* na patogénese da infecção, desenvolveram-se testes de diagnóstico que permitem, em consultório, diagnosticar a presença de anticorpos anti-CagA que se julga estar relacionada com maior gravidade da patologia gástrica (87).

A detecção de anticorpos na saliva e na urina, ainda não difundida na prática clínica, é um método não invasivo com algum interesse, pois permite a detecção de anticorpos anti *H. pylori* do tipo IgG (16, 51). Qualquer destes métodos, no entanto, não permite a correta avaliação da eficácia terapêutica devido ao facto de o título de anticorpos diminuir lentamente.

Detecção de antígenos de *H. pylori* nas fezes

É igualmente um teste imuno-enzimático porém para a detecção de antígenos de *H. pylori*. É um método recentemente desenvolvido, de fácil e rápida execução com elevada sensibilidade e especificidade (124) e aplicável ao seguimento terapêutico e estudos de rastreio. Os resultados no controlo terapêutico para erradicação da infecção, aproximam-se aos do teste respiratório (125).

Teste respiratório com ureia marcada

O teste respiratório com ureia marcada com ^{13}C tem como base a hidrólise da solução de ureia marcada com ^{13}C ingerida pela enzima urease produzida pela bactéria, presente na mucosa gástrica, libertando desta forma amónia e CO_2 marcado, o qual é eliminado pelo ar expirado e analisado. A presença de CO_2 marcado no ar expirado, indicador da presença de *H. pylori* na mucosa gástrica (65).

Os resultados falsamente negativos ocorrem frequentemente quando o teste é realizado em doentes gastrectomizados, devido ao rápido esvaziamento gástrico, em situações de hemorragia digestiva alta, quando realizados a seguir a endoscopia ou em doentes com toma prévia de antibióticos ou anti-secretores gástricos (25). Para a avaliação terapêutica, deve ser solicitado 4 a 6 semanas após o tratamento.

Estudos comparativos efectuados sobre a eficácia do teste respiratório, referem existir uma sensibilidade e especificidade de cerca de 95%.

Terapêutica de erradicação de *H. pylori*

A descoberta de *H. pylori* constituiu factor de nova abordagem no estudo da patogénese, clínica e tratamento da patologia gastroduodenal. A prevalência da infecção, a nível

mundial e a história natural da evolução da doença quando não tratada (gastrite crónica, doença ulcerosa, adenocarcinoma gástrico e linfoma de MALT), tem sido motivo de estudos no sentido de se encontrar o regime terapêutico de melhor acessibilidade para os doentes, mais simples, melhor tolerado e eficaz.

A terapêutica tem como objectivo principal a erradicação da infecção proporcionando alívio dos sintomas e melhoria do doente. Poder-se-ia considerar como ideal, aquela em que a associação custo – eficácia permita obter uma erradicação superior a 85%.

Nos países com alta prevalência da infecção por *H. pylori* e onde as doenças infecciosas são altamente prevalentes, ressalta questionar-se quando tratar e como tratar a infecção por este microrganismo.

O tratamento deve ser orientado pelo diagnóstico, identificada a causa. Neste sentido poder-se-á escalonar em quatro fases:

a) As medidas gerais de suporte. São o conjunto de acções que permitem alguma melhoria sintomática e se destinam a correcção dos hábitos e regimes alimentares (refeições regulares, equilibradas, com poucos condimentos, moderação na ingestão de bebidas alcoólicas, abandono do tabagismo), a fim de se diminuir a agressão à mucosa gástrica. Os corticóides em doses elevadas, bem como a toma de anti-inflamatórios não esteróides, devem ser desaconselhados.

b) O tratamento farmacológico. Para a erradicação da infecção por *H. pylori* os esquemas terapêuticos têm como base as discussões de 1994 quando a *National Institutes of Health* na *Consensus Development Conference* declarou que os doentes infectados por *H. pylori*, necessitavam de ser tratados com antibióticos em associação com anti-secretores. Surgiram assim vários esquemas terapêuticos como o duplo que tinha por princípio a associação de um antissecretor com um antibiótico (amoxicilina ou claritromicina) administrado durante duas semanas. Obtinha-se por este esquema uma

taxa de erradicação de cerca de 50% (59). Em 1966 o EHSG reunido em Maastricht reafirma a necessidade para a erradicação de *H. pylori* recomendando a terapêutica tripla durante sete dias, associando dois antibióticos a um inibidor da bomba de prótons (133). Foram definidas as associações, com a duração de 10 dias e posteriormente reduzidos para sete dias (60).

Os inibidores da bomba de prótons (IBP), tem uma acção de combate contra *H. pylori*, porque ao desencadarem diminuição da secreção ácida, condicionam um ambiente alcalino favorável à penetração dos antibióticos no muco gástrico, desempenhando a sua acção bactericida (63). Com os esquemas terapêuticos triplos: IBP + Amoxicilina 1gr + Claritromicina 500mg, duas vezes ao dia, durante sete dias; IBP + Claritromicina 500mg + Tinidazol 500mg duas vezes ao dia, durante sete dias; IBP + Amoxicilina 1gr + Metronidazol 500mgr duas vezes ao dia, durante sete dias, obtiveram-se taxas de erradicação de 79- 83% (97). Em atenção ao facto de se verificarem resistência aos antibióticos os trabalhos de *Romano M* e de *Toracchio S* sugerem a realização de antibiograma antes do tratamento para a erradicação de *H. pylori* (105, 120). Porém este procedimento foi pouco aceite, pela morosidade dos resultados, necessidade de cultura das amostras de biópsias e os custos envolvidos.

c) O controlo da infecção. O primeiro sinal de sucesso terapêutico, é a ausência de sintomas. A confirmação obtém-se pelo resultado dos exames complementares, onde se realça o teste respiratório, a pesquisa de antígenos anti-*H. pylori* nas fezes, ou a endoscopia digestiva alta com biopsias para estudo histológico (89). Devem ser considerados como elementos para a definição do método, as lesões diagnosticadas inicialmente.

d) A eficácia terapêutica. Não obstante os bons resultados na erradicação da infecção por *H. pylori*, em 5 a 20% dos doentes existe falência terapêutica. Nestes casos são

alterados os antibióticos e o esquema é prolongado por mais tempo (103). Também se refere a terapêutica quadrupla em que se associa o bismuto ao IBP, (15, 98) com eficácia entre os 50 e 95%, sendo preocupantes os efeitos secundários resultantes da toma do bismuto.

Para a eficácia terapêutica devem ser avaliados os factores que intervêm: aderência e acessibilidade por parte do doente, eficácia do esquema terapêutico indicado e a resistência aos antimicrobianos. A duração do tempo de tratamento utilizado nos esquemas terapêuticos, dez ou sete dias, não reúne consenso (12). A escolha dos antibióticos, sempre que possível, deve ter em atenção as resistências da população. Em Portugal num estudo realizado entre 1990-99, encontraram-se taxas de resistência de *H. pylori*, de 30,6% para o metronidazol e 19% para a claritromicina, sem resistência à amoxicilina e à tetraciclina (11).

Avaliando-se a infecção por *H. pylori* como um problema de saúde pública, estudos referem a criação de vacinas terapêuticas já tentada em humanos, porém sem erradicação completa da bactéria (80). Por outro lado desenvolvem-se estudos de fármacos baseados no genoma da bactéria que possam interferir no seu desenvolvimento.

Contexto Angolano da infecção por *H. pylori*

Angola, tem actualmente cerca de 3.900 médicos inscritos na Ordem dos Médicos. Dentre estes, 11 especialistas em gastroenterologia que exercem actividade clínica em seis unidades hospitalares públicas com meios de diagnóstico que permitem a realização de exames endoscópicos e equipadas com serviços de imagiologia, anatomia patológica e patologia clínica. O Hospital Militar conta com 5 especialistas em gastroenterologia.

Tem um serviço de internamento com 6 camas e um índice ocupacional de 80%. Possui uma Unidade de Técnicas de Gastro (UTG), para a realização das técnicas endoscópicas, bem como outras consultas. As outras unidades hospitalares públicas de referência, com especialistas em gastroenterologia, são o Hospital Américo Boavida, com 2 médicos especialistas, serviço de internamento com 15 camas e a UTG. O Hospital Josina Machel (Maria Pia) com dois especialistas. Existe ainda a Clínica Girassol com cinco especialistas e a Clínica Multiperfil com dois especialistas em gastroenterologia. Estas últimas instituições não possuem serviço para internamento de doentes do fórum gastroenterológico. Os doentes são internados no serviço de Medicina. As consultas de gastroenterologia, no HMP/IS segundo relatório estatístico referente ao ano de 2013, representaram 3,4% (2488) do total de consultas de especialidade efectuadas.

Nas unidades de saúde que possuem serviço de gastroenterologia ou gastroenterologistas, os doentes dispépticos são classificados em dois grupos. No primeiro são enquadrados os doentes com o diagnóstico conclusivo da presença de *H. pylori* para os quais a atitude terapêutica obedece ao estabelecido pelo consenso de Maastricht. O segundo grupo é constituído por doentes com queixas dispépticas, residentes em zonas sem meios técnicos para o diagnóstico da presença de *H. pylori*. Neste segundo grupo, após a avaliação do doente em consulta em que o diagnóstico clínico é sugestivo de “gastropatia” (sintomas com menos de 4 semanas de evolução, quadro álgico de baixa intensidade e com idade inferior a 30 anos), inicia-se a terapêutica com antagonistas H₂, associados aos citoprotectores gástricos e antiácidos. Podem igualmente serem associados à terapêutica, medidas de desparasitação, controlo alimentar e a não utilização de AINES. A avaliação do doente é feita às quatro semanas após o fim da terapêutica, e em caso de persistência das queixas e confirmada a toma de antiácidos e antagonistas de H₂, inicia-se a terapêutica para erradicação de *H. pylori*.

Ainda neste segundo grupo, os doentes com idade superior a 40 anos, sintomatologia com tempo de evolução superior a quatro semanas, sem história de toma de AINES, inicia-se a terapêutica com inibidores da bomba de prótons com reavaliação às quatro semanas. Verificando-se a persistência das queixas, deve iniciar o esquema triplo para erradicação do *H. pylori* e os sinais de resposta à terapêutica são avaliados pela clínica. Em caso de persistência das queixas ou sinal de exacerbação, o doente é referenciado para unidade médica com recursos para a confirmação diagnóstica e seguimento. Aos doentes com história de hemorragia digestiva alta, sem repercussão hemodinâmica e sem antecedentes de toma de anti-inflamatórios ou de doença hepática alcoólica com sinais clínicos sugestivos da existência de doença varicosa, após o controlo do quadro hemorrágico, inicia-se o tratamento de erradicação do *H. pylori* e referencia-se para consulta em unidade diferenciada. Os doentes com idade superior a 20 anos com antecedentes familiares de neoplasia gástrica que refiram queixas dispépticas frequentes são orientados para consulta em unidade diferenciada.

O reduzido número de especialistas não permite responder à procura pelos doentes que acorrem às consultas de gastroenterologia em Angola. Os escassos meios para o diagnóstico, são factores que interferem não só no diagnóstico atempado, tratamento e acompanhamento destes doentes, mas também no conhecimento do perfil do doente do fórum gastroenterológico em Angola.

Considerando a centralidade dos serviços de saúde em Luanda e nas capitais provinciais, a escassez de cuidados de saúde disponíveis para resposta às necessidades básicas das populações, em particular das que vivem em ambiente rural, na inexistência de investigação publicada, propusemo-nos avaliar a infecção por *H. pylori* em

populações de Angola, com o objectivo obter um primeiro grau de conhecimento qualificado quanto ao estado da arte da infecção por este microrganismo no País.

Objectivos

Objetivos gerais

Caracterização da infecção por *H. pylori* numa população Angolana e sua avaliação como problema de Saúde Pública.

Objetivos específicos

- ✓ Caracterização das lesões gástricas observadas na população em estudo.
- ✓ Estudo do perfil de susceptibilidade das estirpes de *H. pylori* a macrólidos.
- ✓ Caracterização e descrição genética das estirpes de *H. pylori* isoladas
- ✓ Correlação dos genótipos de *H. pylori* e o tipo de lesões gástricas observadas na população em estudo.

Material e Métodos

Desenho do Estudo

Estudo prospectivo dirigido a dois grupos populacionais, um constituído por indivíduos aparentemente saudáveis, sem queixas gástricas específicas, em ambiente de comunidade, Grupo I, e outro, Grupo II, constituído por doentes que acorreram ao serviço de Gastreenterologia do Hospital Militar Principal Instituto Superior (HMP/IS).

Grupo I

Um estudo observacional, descritivo, prospectivo e de conveniência, foi efectuado, em 2011 e 2012, em indivíduos aparentemente saudáveis, residentes na Comuna do Capulo, Município do Ambriz, na Província do Bengo, nos Municípios da Funda e de Sambizanga, da Província de Luanda, e no Município do Dinge, da Província de Cabinda.

Para a realização do estudo nos municípios do Sambizanga e Cacuaco – Funda, foi solicitada autorização aos Administradores Municipais. Apresentou-se o protocolo de estudo e esclareceram-se os seus objectivos.

As actividades desenvolveram-se nos centros de saúde municipais. Com o apoio dos técnicos locais, foram preenchidos os inquéritos em suporte de papel, entregues os frascos apropriado, numericamente identificado, para recolha de fezes, tendo sido explicado detalhadamente o procedimento necessário para o efeito, ao participante.

No Ambriz, comuna do Capulo, após a solicitação de autorização da autoridade administrativa municipal, os investigadores apresentaram-se às autoridades tradicionais da comuna do Capulo (Soba). Após terem sido cumpridos os rituais tradicionais, a população presente na comuna, foi concentrada no centro da aldeia, ocasião em que foram esclarecidos os objectivos do estudo e se procedeu á distribuição dos frascos para a recolha de amostras das fezes.

O estudo na província de Cabinda realizou-se com o apoio da Repartição de Saúde das Forças Armadas, para facilitar a deslocação até à comuna do Dinge, região fronteiriça com a República do Congo. O estudo foi desenvolvido na unidade militar estacionada

nessa localidade e com o apoio do responsável militar foram explicados os objectivos do estudo e distribuídos os frascos para a recolha de amostras de fezes.

Todos os participantes neste estudo, entregaram livremente, a amostra de fezes no dia seguinte á entrega dos frascos de recolha, com uma taxa de participação da ordem dos 90%.

As fezes recolhidas foram mantidas a 4° (em arcas com termoacumuladores ou gelo) durante um máximo de 48h e em seguida congeladas a -80°C, até à sua análise; esta ocorreu, em média, 2 meses depois, por teste imunoenzimático, para diagnóstico da infecção por *H. pylori*.

Os resultados foram registados numa base de dados em ficheiro excel, após o que foram os resultados laboratoriais analisados face aos inquéritos. Os resultados obtidos de cada participante foram comunicados aos órgãos de saúde de cada localidade.

Grupo II

Constituído por todos os doentes adultos, de idade superior a 18 anos, referenciados de 2009 a 2012, à Unidade de Técnicas de Gastrenterologia do Hospital Militar Principal de Luanda com indicação de EDA e que cumpriam os requisitos para a sua realização, doentes que informados da natureza do estudo e obtido o seu consentimento informado, preencheram um questionário (Anexo 3) e foram submetidos a uma EDA.

Os critérios de exclusão de doentes no estudo foram:

- a existência de hemorragia digestiva alta recente,
- a toma antagonistas de H₂, ou de inibidores da bomba de prótons, a de antiácidos e a de anti-inflamatórios.
- a toma de antibióticos num período inferior a 10 dias antes da realização da EDA.

Aos doentes, incluídos no estudo, foi realizado o teste respiratório com ureia marcada e foram realizadas biópsias do antro e do corpo para realização do teste rápido da urease, o exame histológico e os testes moleculares.

Metodologia laboratorial para diagnóstico da infecção por *H. pylori*

Endoscopia digestiva alta

A EDA foi realizada com endoscópio de fibra óptica após anestesia local, orofaríngea com xilocaína. Permite a visualização directa da mucosa esofagogástrica, a caracterização de lesões existentes, assim como a colheita de amostras da mucosa (biópsia) para a realização de diferentes métodos de diagnóstico da infecção por *H. pylori*. Habitualmente foram colhidas 4 biópsias da região do corpo, 4 do antro e eventualmente uma da incisura.

Teste rápido da urease

Permite o diagnóstico rápido da presença do *H. pylori* na mucosa gástrica e é um teste baseado na forte actividade ureásica de *H. pylori*. Ao colocar uma biópsia em contacto com o meio contendo ureia e um indicador de pH, se a bactéria se encontrar presente na biópsia, a urease produzida vai hidrolisar a ureia do meio com formação de amónia. Esta ao alcalinizar o meio conduz à mudança de cor do indicador de pH. O resultado é obtido ao fim de 30 minutos (Anexo 4).

Histologia

Permite a caracterização das lesões da mucosa gástrica e infecção por *H. pylori*, em que duas biópsias do antro e do corpo, obtidas por EDA, foram colocadas em formaldeído (solução de fixação) e em seguida processadas. Os cortes histológicos foram em seguida

corados pelas colorações de Giemsa modificada e hematoxilina-eosina (procedimento em anexo 5 e 6).

Os resultados foram reportados de acordo com o Sistema de Sydney (43). A presença da bactéria no antro e no corpo foi expressa semi quantitativamente numa escala de 0 a 3 cruzes assim como as características histológicas da mucosa gástrica (inflamação, actividade, atrofia, metaplasia intestinal).

Métodos moleculares

Para caracterização das estirpes de *H. pylori*, uma biópsia do antro e outra do corpo foram colocadas respectivamente num tubo seco e congeladas a -80°C até ao seu processamento.

Extração do ADN de *H. pylori*

O método utilizado para a obtenção de ADN foi a fixação sobre sílica (adsorção selectiva dos ácidos nucleicos sobre membrana de gel de sílica em presença de concentrações elevadas de agentes caotrópicos) utilizando o kit de extracção Qiamp DNA mini Kit (Qiagen). Após trituração da biopsia em tampão de lise fornecido no kit, foram seguidas as instruções do fabricante. O ADN diluído em 50µl de água destilada estéril foi conservado a -20°C até à sua utilização. (Procedimento em anexo 7)

PCR em Tempo real

Este método de amplificação genica permite não só a detecção rápida e precisa de *H. pylori* como também a detecção das mutações pontuais associadas à resistência aos antibióticos, mais precisamente aos macrólidos.

Esta técnica baseia-se na monitorização dos produtos de amplificação através da utilização de um fluorocromo, que ao emitir fluorescência permite a sua detecção e integração num sistema computadorizado e consequente visualização do produto de

amplificação (94). A identificação dos produtos de amplificação é possível através da análise das curvas de temperatura de “melting” (T_m) (94). No sistema Light Cycler, um dos métodos de monitorização dos produtos de PCR, é a utilização de sondas de hibridação, duas sequências de oligonucleótidos marcadas com dois fluorocromos diferentes que hibridam com o ADN alvo (94). Este método rege-se pelo princípio de transferência de energia o qual se designa de FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), em que a energia emitida pelo fluorocromo dador (fluoresceína) vai excitar o fluorocromo receptor ligado à segunda sonda de hibridação (Figura 3).

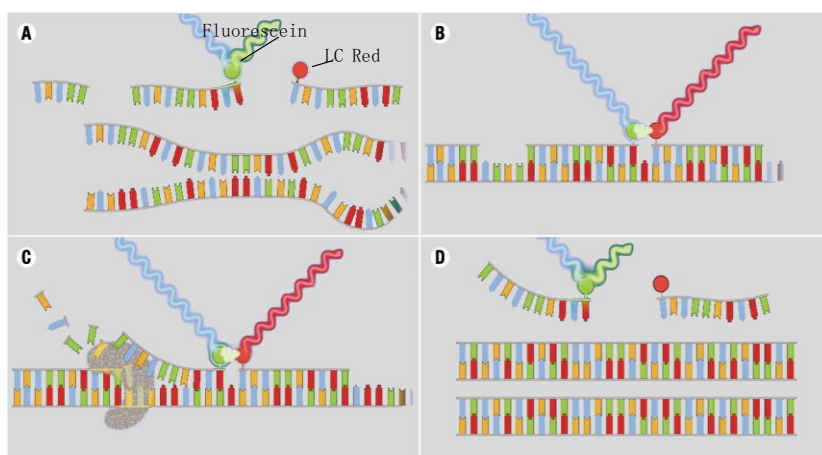


Figura 3. Metodologia de detecção de fluorescência por sondas de hibridação do Sistema Light Cycler.

A quantidade de fluorescência emitida é directamente proporcional à quantidade de DNA alvo gerado durante a reacção de amplificação (94).

A resistência de *H. pylori* aos macrólidos é devida a uma diminuição da ligação destes ao ribossoma (3, 116). Esta resistência está associada a mutações pontuais nas posições 2142 e 2143 do domínio V do ARN ribossomal 23S de *H. pylori* (3,81,116,130). Uma adenina normalmente presente é substituída por uma guanina (em 2142 e 2143) ou, uma citosina (em 2142) (Figura 4) (3).

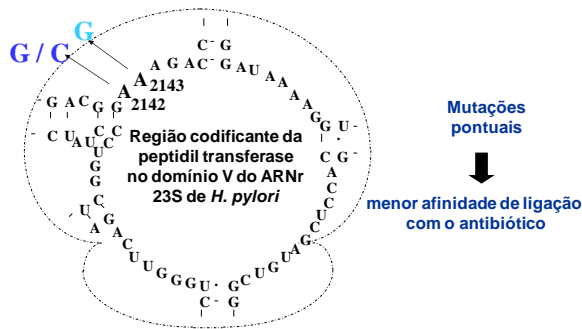


Figura 4. Mecanismo de resistência de *H. pylori* aos macrólidos.

A resistência é cruzada para todos os macrólidos o que não permite a substituição de um macrólido por outro numa situação de resistência a este grupo de antibióticos (43, 81,116). Assim, e baseado no princípio de transferência de energia FRET do sistema LC, foram desenhadas sondas de hibridação complementares à zona do domínio V do ARN ribossomal de *H. pylori* onde se encontram as mutações pontuais responsáveis pela resistência deste microrganismo aos macrólidos (Figura 5) (81,94,130).

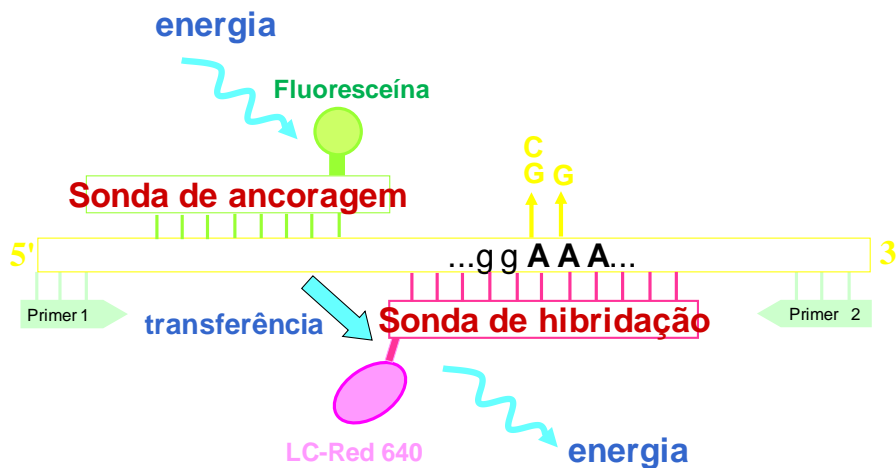


Figura 5. Método do sistema LightCycler: iniciadores, sondas de ancoragem e de hibridação.

Este protocolo exige apenas duas horas após recepção da biópsia gástrica, para a obtenção de um resultado (Figura 6) permitindo a detecção da presença de *H. pylori* e a identificação em simultâneo das mutações pontuais, responsáveis pela resistência aos macrólidos (94).



Figura 6. Protocolo de detecção de *H. pylori* em biópsia gástrica por PCR em Tempo Real

Com base na análise da curva de fusão para a determinação do T_m do fragmento amplificado é possível numa mesma reacção diferenciar entre uma estirpe resistente e uma estirpe sensível presentes na biópsia gástrica (Figura 7) (94). (Procedimento em anexo 8).

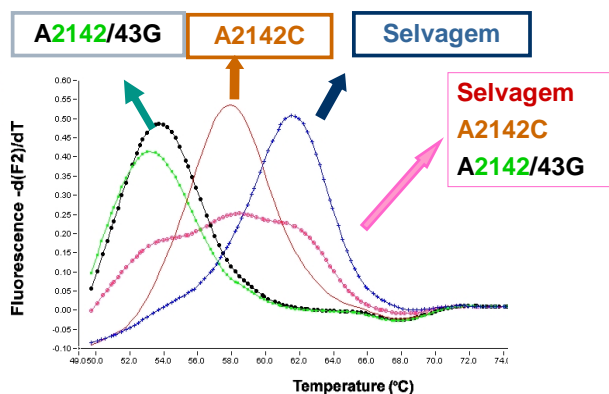


Figura 7. Deteção das diferentes mutações pontuais em ADN de estirpe, de *H. pylori*, controlo por análise das curvas de fusão

PCR clássica para a detecção de factores de patogenicidade *cagA* e *vacA* de *H. pylori*

Existem dois principais factores de patogenicidade: o ilhéu de patogenicidade *cag* PAI e o polimorfismo do gene *vacA*.

O marcador para a presença do ilhéu de patogenicidade é o gene *cagA*. A variabilidade na sequência deste gene favorece a utilização de duas PCR para evitar resultados falsos negativos. O protocolo utilizado para a amplificação do gene *cagA* foi descrito por Jenks *et al.* (48) (procedimento em anexo 9)

O gene *vacA* codifica para a citotoxina vacuolizante produzida por *H. pylori*. Este gene encontra-se presente em todas as estirpes mas exhibe um mosaicismo na região terminal (s) e na região média (m) (4, 122). O protocolo utilizado para a amplificação do gene *vacA* foi descrito por Atherton *et al* (4). (Procedimento em anexo 9)

Teste respiratório com ureia marcada com ^{13}C

Este método baseia-se na actividade ureásica de *H. pylori*. Após a ingestão de ureia marcada com ^{13}C , esta é hidrolisada pela urease produzida pela bactéria presente na mucosa gástrica libertando amónia e CO_2 marcado. Este último é, em seguida, difundido através da mucosa gástrica para a circulação geral e eliminado pelo ar expirado. A detecção de $^{13}\text{CO}_2$ foi realizada utilizando espectrometria de infravermelho (IRIS, Wagner) (Procedimento em anexo 10)

Pesquisa de antígenos de *H. pylori* nas fezes

A pesquisa de antígenos de *H. pylori* nas fezes, Premier Platinum HpSA® Plus, baseia-se na utilização de uma pluralidade de anticorpos anti-*H. pylori* monoclonais num teste imunoenzimático. Estes anticorpos são adsorvidos à microplaca e quando se faz reagir a

amostra de fezes com estes anticorpos, os antígenos de *H. pylori* reagem com os anticorpos, formando o complexo Ag-Ac, que é em seguida detectado através de uma reacção calorimétrica pela acção de uma enzima conjugada e o seu substrato. (Procedimento em anexo 11).

Definição de teste padrão “Gold standard”

Um doente foi considerado positivo para a presença de *H. pylori* se, um dos testes de diagnóstico realizado em biopsia gástrica (teste rápido da urease, histologia e PCR) revelasse a presença deste organismo. Um doente foi considerado negativo para a presença de *H. pylori* se todos os três testes referidos revelassem a ausência deste microrganismo.

Metodologia de análise estatística

A base de dados foi criada em ficheiro excel e em seguida importada para o programa EpiInfo, a partir do qual se efectuaram as avaliações estatísticas.

Princípios éticos e sua prática

O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital Militar Principal.

A cada doente e cada elemento do grupo 1 foi atribuído um número de código, mantendo-se assim a confidencialidade dos dados clínicos e o anonimato dos participantes, não havendo lugar à apresentação da sua identidade.

Resultados

Grupo I

A população de indivíduos saudáveis foi constituída a partir de diferentes regiões de Angola. Assim, dos 359 indivíduos estudados, 88 (24,5%) viviam na Comuna do Capulo, Município do Ambriz, sendo 47 (53,4%) do sexo masculino e 41 (46,5%) do sexo feminino e em relação a idade 66 (75%) tinham idade inferior a 15 anos e 22 (25%) com idade dos 15 aos 76 anos. Em relação à Província de Cabinda, Município do Dinge, 73 (20,33%), todos do sexo masculino, donde 3 (4,1%) com idade inferior a 15 anos e 70 (95,9%) com idade dos 15 aos 76 anos. No Município da Funda, Província de Luanda 150 (41,7%), donde 45 (30%) são do sexo masculino e 105 (70%) do sexo feminino, sendo 97 (64,7%) com idade inferior a 15 anos e 52 (34,7%) com idade dos 15 aos 76 anos e um indivíduo sem registo da idade. No Sambizanga, bairro periférico da cidade de Luanda 48 (13,3%) donde 16 (33,3%) são do sexo masculino e 32 (66,6%) do sexo feminino. Sendo 23 (47,9%) com idade inferior a 15 anos e 25 (52,1%) com idade dos 15 aos 76 anos (gráficos 1-3).

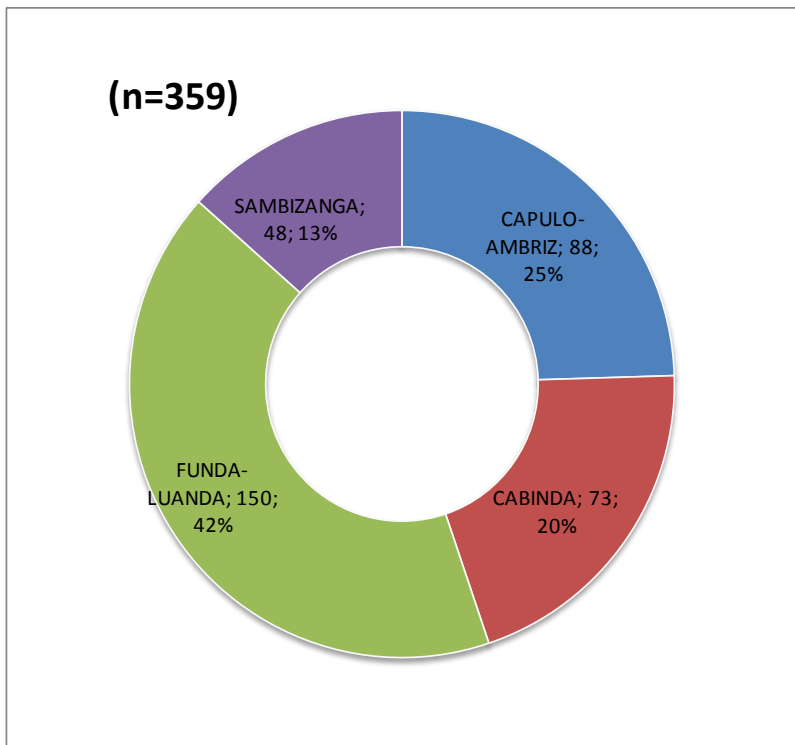


Gráfico 1. Distribuição da população segundo a sua proveniência.

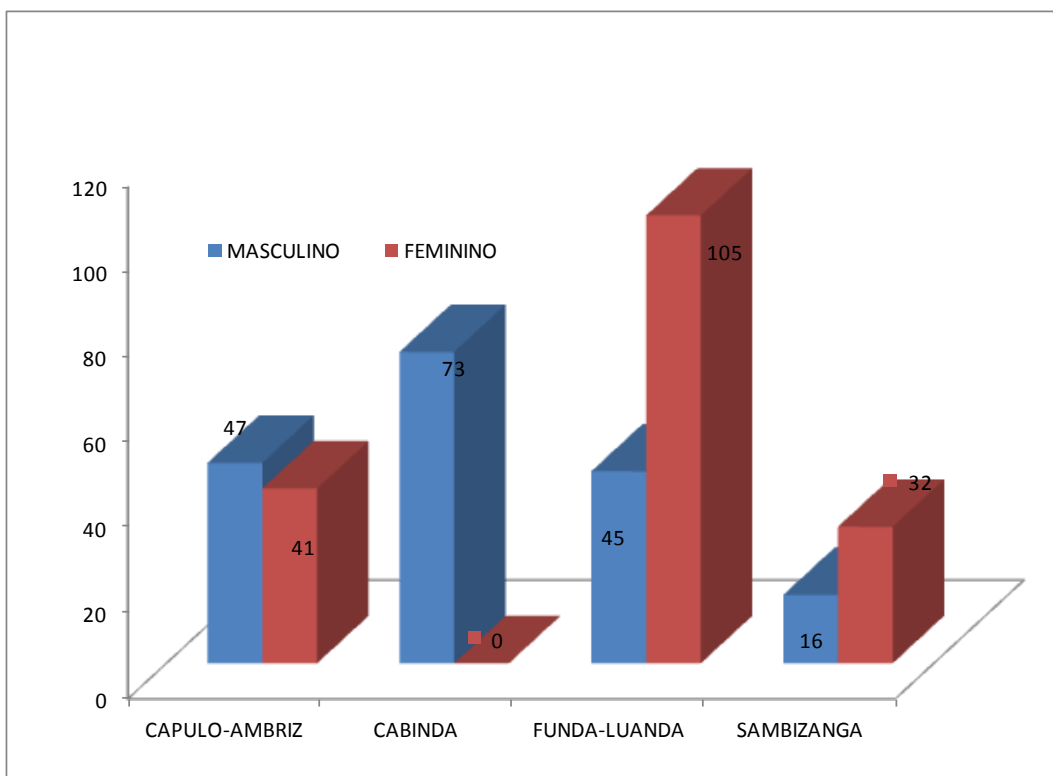


Gráfico 2. Distribuição da população em estudo segundo o sexo e a sua proveniência.

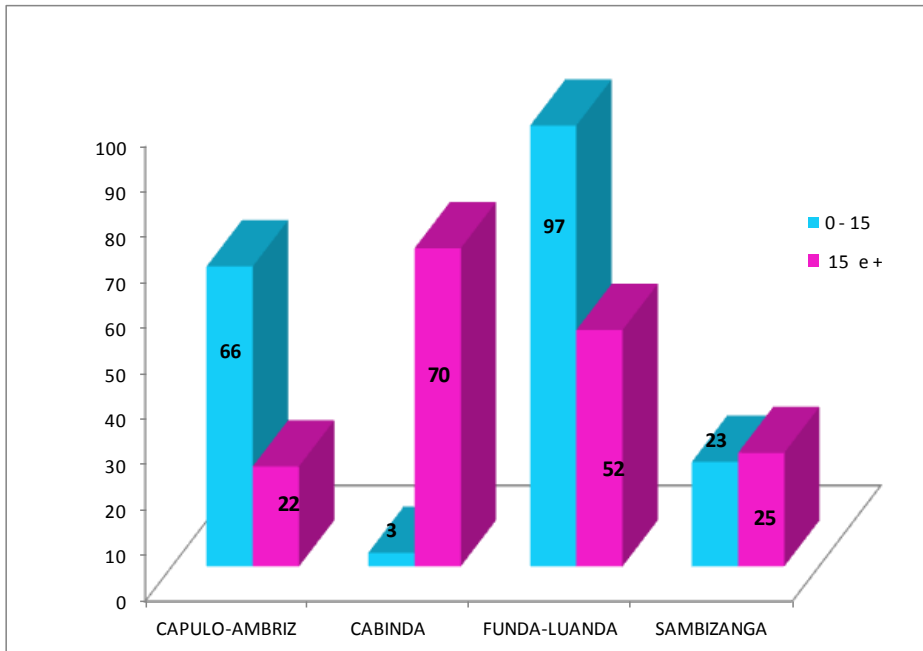


Gráfico 3. Distribuição da população em estudo segundo as idades e proveniência.

O diagnóstico da infecção por *H. pylori* realizada pela pesquisa de antígenos deste microrganismo nas fezes revelou uma frequência da infecção de 69,6% na população em estudo (gráfico 4).

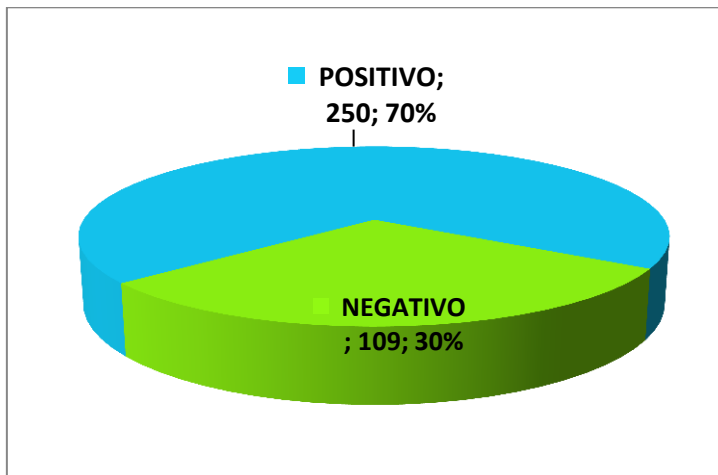


Gráfico 4: Distribuição dos casos positivos e negativos a *H. pylori* da população em estudo.

Considerando a população em estudo de cada região, verificou-se que a região do Sambizanga possuía o valor mais elevado de frequência da infecção por *H. pylori*, seguida de Cabinda com 79,5%, Funda com 78,7% e por último o Ambriz com 39,8% de casos positivos (gráfico 5), apresentando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$)

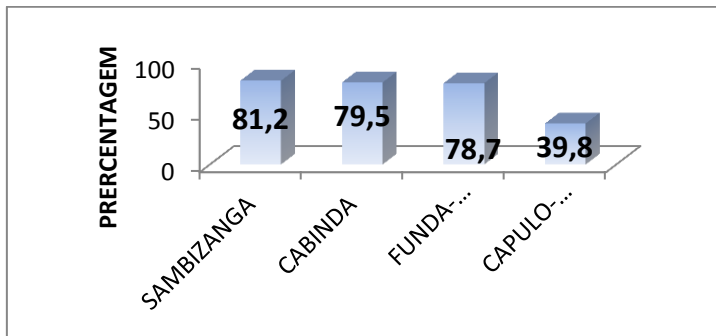


Gráfico 5. Distribuição da frequência da infecção por *H. pylori* por região.

Em detalhe, Sambizanga num total de 39 casos positivos (81.2%), 4 (10.2%) eram do sexo masculino, 6 (15.3%) do feminino e 29 (74,3%) sem o registo do sexo. No caso da Funda dos 118 (78,7%) casos positivos, 45 (38,1%) eram do sexo masculino e 72 (62,7%) do sexo feminino. Em Cabinda dos 73 indivíduos estudados, todos do sexo masculino, 58 (79,5%) foram positivos. Devido a particularidade do local da recolha das fezes (fronteira de Angola com o Congo), só foi possível realizar-se em homens. Por fim no caso do Capulo – Ambriz em 35 (39,8%) casos positivos, 18 (51.4%) eram do sexo masculino e 17 (48,5%) do sexo feminino.

A avaliação da distribuição da frequência da infecção por *H. pylori* por grupo etário, revelou que os indivíduos com idade inferior a 15 anos possuíam uma frequência de infecção de 63,5% e sendo de 76,0% nos indivíduos com idade superior a 15 anos (gráfico 6).

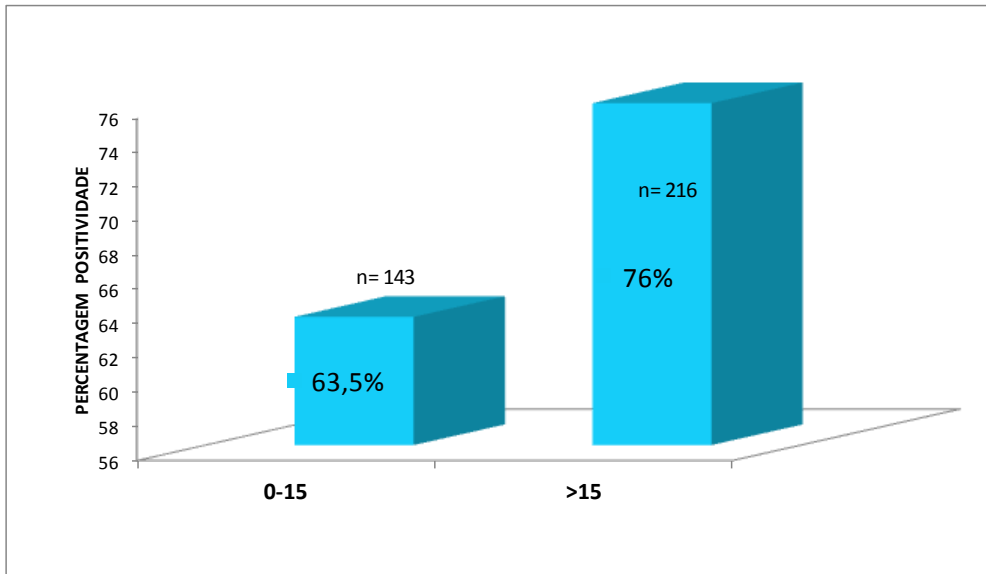


Gráfico 6. Distribuição da frequência de infecção por *H. pylori* por grupo de idades.

Estratificando o grupo etário dos 0 aos 15 anos, verificou-se que 44,4% das crianças com idade entre os 0 e os 5 anos, 71,8% com idade entre os 6 e 10 anos e 63,4% com idade entre os 11 e 15 anos, respectivamente possuíam infecção por *H. pylori* (gráfico 7)

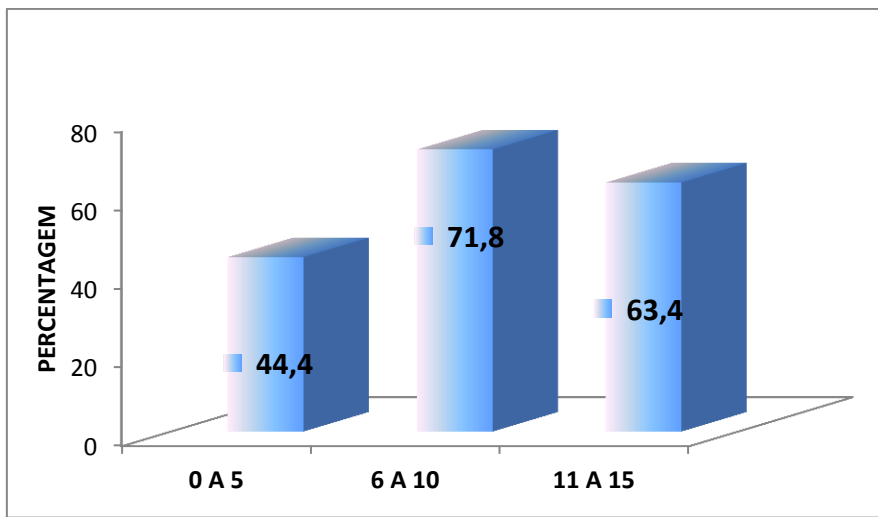


Gráfico 7. Distribuição da prevalência da infecção por *H. pylori* nos grupos etários dos indivíduos menores de 15 anos.

Grupo II.

De entre os doentes que acorreram à Unidade de Técnicas de Gastrenterologia, do HMP/IS, foram seleccionados 309 que preenchiam os critérios inclusão e foram submetidos a EDA; 200 (64,7%) eram do sexo masculino e 109 (35,2%) do sexo feminino (Gráfico 8), sendo 230 (74,4%) civis e 79 (25,6%) militares.

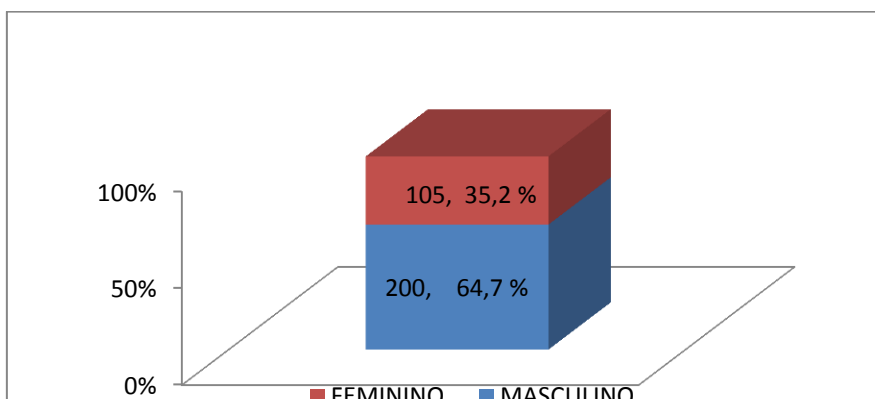


Gráfico 8. Doentes submetidos a EDA segundo o sexo

Apenas em 306 doentes foi possível avaliar a idade, sendo a mínima de 18 anos e a máxima de 79, idade média de 40,7 (\pm 13,0)

Em relação aos antecedentes clínicos referidos pelos doentes, 129 (42%) possuíam epigastralgias, 98 (32%) queixavam-se de azia, 47 (15%) referiam enfartamento e 35 (11%) outra sintomatologia compatível com patologia gástrica (Gráfico 9).

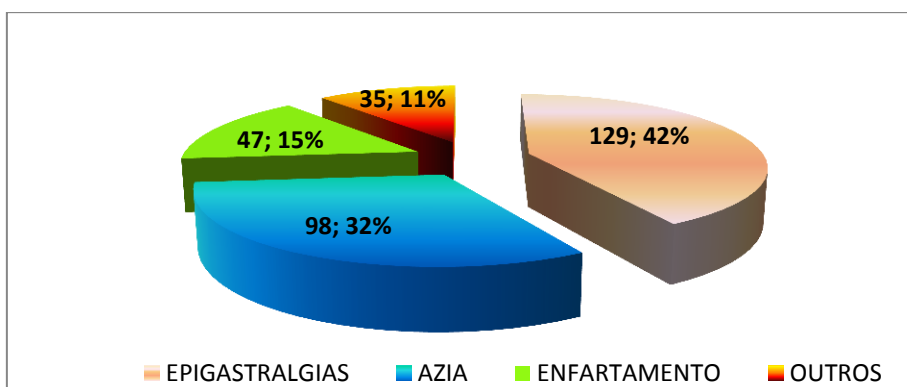


Gráfico 9. Doentes submetidos a EDA segundo antecedentes clínicos.

Resultados macroscópicos da realização da EDA:

Dos 309 doentes avaliados, verificou-se que 22 (7%) apresentavam uma mucosa normal e 287 (93%) uma mucosa alterada (gráfico 10). Destes últimos 203 (65,3%) possuíam uma pangastrite dos quais 28 (13,7%) associados a úlceras e 16 (7,8%) com lesão tumoral. Dos restantes 84, 72 (23,3%) doentes apresentavam gastropatia do antro, 8 (2,5%) gastropatia do corpo e 4 (1,3%) evidenciavam bulbopatia (gráfico 11).

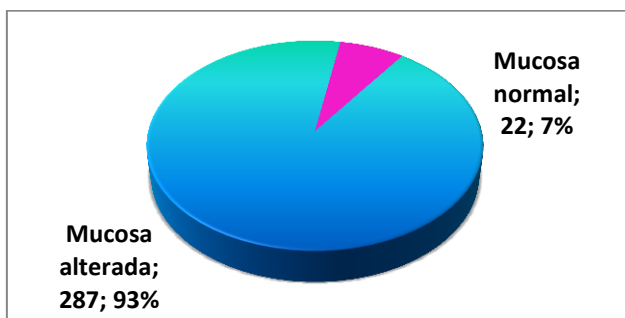


Gráfico 10. Resultados da avaliação da mucosa por EDA

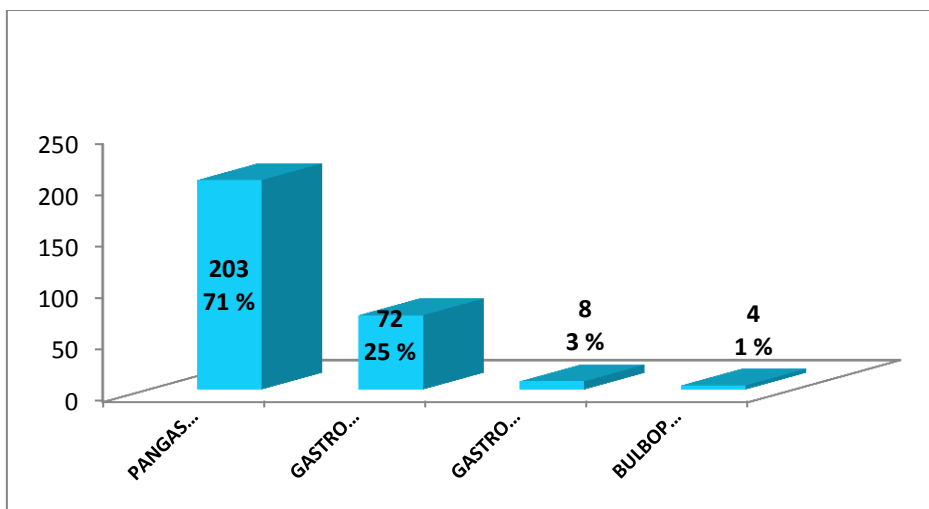


Gráfico 11. Distribuição das patologias diagnosticadas por EDA

Nos 287 doentes a quem foram observadas lesões por EDA, a caracterização destas, evidenciou 198 (69%) doentes com gastropatia eritematosa, 54 (19%) apresentaram gastropatia erosiva e em 35 (12%) doentes, observou-se gastropatia eritematosa com erosões (gráfico 12).

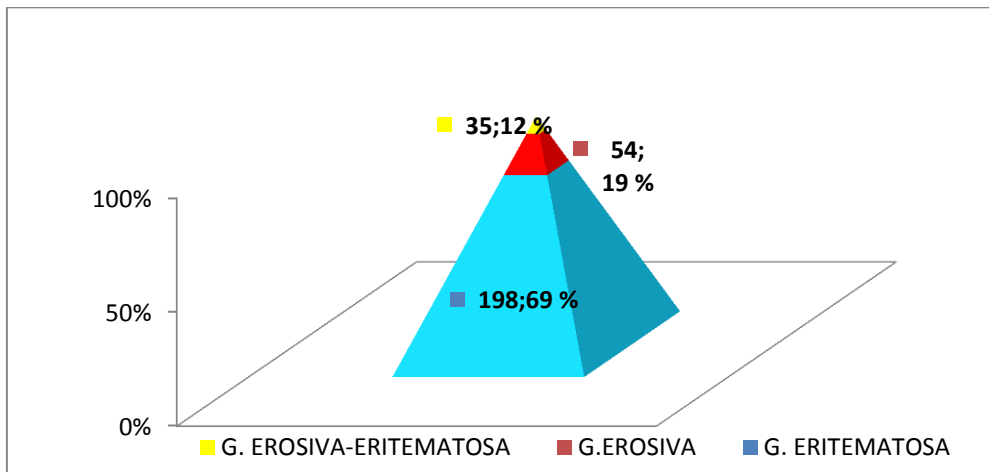


Gráfico 12. Tipo de lesões segundo a EDA.

No que concerne a avaliação da intensidade das lesões observadas nos 287 doentes, 177 (61.6%) apresentaram uma gastropatia leve, 58 (20.2%) apresentaram uma gastropatia moderada e 52 (18%) uma gastropatia severa.

Quanto a localização das úlceras (28) observadas, verificou-se que destas, 13 (46,4%) se localizaram no antro gástrico, 13 (46,4%) no bulbo duodenal e 2 (7,2%) no corpo gástrico. No respeitante às neoplasias, foram verificados 16 (5,1%) tumores, todos com envolvimento do corpo e antro (gráfico 13).

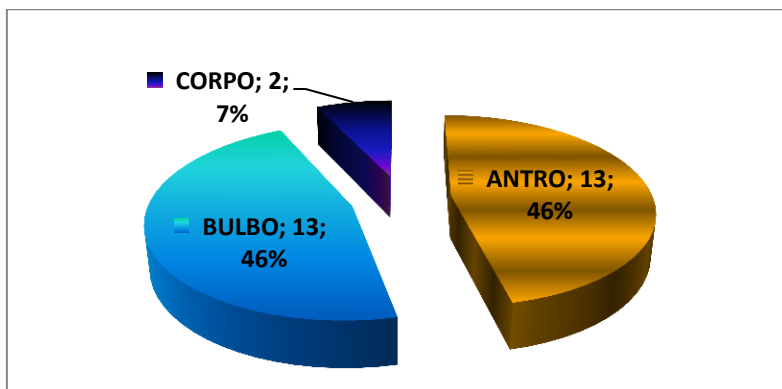


Gráfico 13: Localização das úlceras diagnosticadas.

No momento da EDA, a um sub grupo de 43 (14.9%) doentes, foi realizado o teste rápido da urease. Os resultados revelaram-se sugestivos da presença de *H. pylori* em 38 (88.37%) e apenas em 5 (11,6%), negativos.

Avaliação histológica das biópsias:

Biópsias do antro

Aos 287 doentes submetidos a EDA e efectuadas biópsias, foi solicitado o estudo histológico das amostras. Das 270 amostras do antro avaliadas, de acordo com o Sistema de Sidney, em 235 (87,0%) revelaram a presença de gastrite, 13 (4,8%) a presença de úlcera, e em 9 (3,3%) uma lesão tumoral. Em 5 amostras (1,8%) a mucosa revelou-se normal e 8 biópsias (2,9%) não possuem informação histopatológica (gráfico 14).

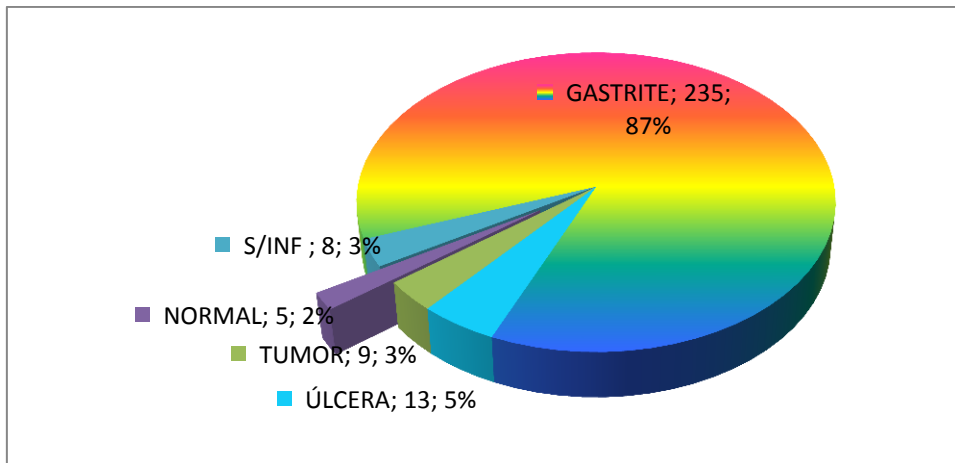


Gráfico 14. Resultado histológico das biópsias do antro.

Por sua vez a avaliação do grau de intensidade em 226 amostras do antro, 124 (55,0%), revelaram uma intensidade ligeira, 52 (23,0%) apresentaram uma intensidade moderada e um grau de intensidade foi classificada de severa em 50 (22%).

A avaliação histológica da actividade nas 226 amostras da mucosa do antro gástrico, verificou-se que 129 (57%), das amostras possuíam actividade e 97 (43%) não possuíam actividade.

Biópsias do corpo

Avaliadas segundo o mesmo Sistema de Sidney, o estudo das 255 biópsias do corpo, revelou em 212 (83,1%) a presença de lesões de gastrite, em 7 (2,7%) observaram-se lesões tumorais, em 2 (0,8%) apresentaram úlcera, em 9 (3,5%), a mucosa era normal e em 25 (9,8%) o exame não foi conclusivo (gráfico 15).

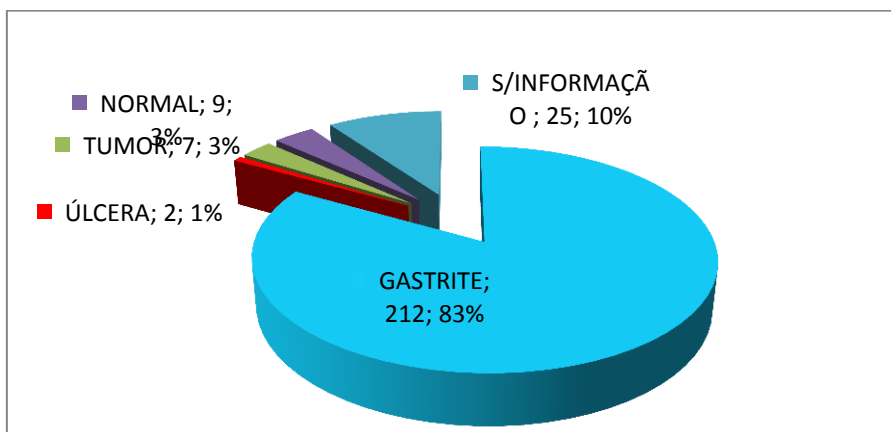


Gráfico 15. Resultados histológicos das biópsias do corpo.

O grau de intensidade, apenas foi avaliado nas 221 amostras do corpo que apresentavam lesões. Destas, 137 (61,9%) possuíam intensidade ligeira, 43 (19,4%) intensidade severa e 41 (18,5%) amostras com actividade moderada (gráfico 16).

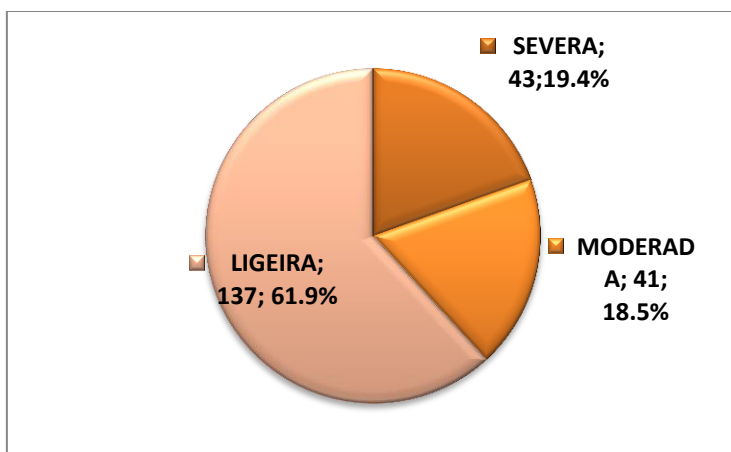


Gráfico 16. Avaliação do grau de intensidade das lesões nas amostras do corpo.

Em relação à avaliação da actividade nas 221 amostras do corpo gástrico, 148 (67,0%), revelaram ausência de actividade e 73 (33,0%) a presença de actividade.

No respeitante à displasia, não foi observada em 261 das 270 biópsias do antro e também não o foi em 246 das 255 amostras de biópsias do corpo. A metaplasia foi observada em 10 (3,7%) biópsias do antro e em 7 (2,7%) do corpo. A atrofia, constatou-se estar presente em 7 (3,1%) do antro e 6 (2,8%) do corpo.

Em todas as 16 amostras suspeitas de lesão tumoral, o exame histológico confirmou a presença de adenocarcinoma, estando 9 (90,0%) localizados no antro e 7 (10,0%) no corpo (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados da avaliação histológica das biópsias gástricas

	Antro	Corpo
Tipo de lesão	n= 270	n=255
Mucosa normal	5 (1,8%)	9 (3,5%)
Gastrite	235 (87,0%)	212 (83,1%)
Úlcera	13 (4,8%)	2 (0,9%)
Tumor	9 (3,3%)	7 (2,7%)
Nada referido	8 (2,9%)	25 (9,8%)
Intensidade	n=226	n=220
Ligeira	124 (54,9%)	136 (61,8%)
Moderada	52 (23,0%)	41 (18,6%)
Severa	50 (22,1%)	43 (19,5%)
Actividade	n=226	n=221
Sem actividade	129 (57,1%)	148 (67,0%)
Com actividade	97 (42,9%)	73 (33,0%)

Lesões degenerativas	n=261	n=246
Metaplasia	10 (3,8%)	7 (2,8%)
Displasia	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Atrofia	7 (2,7%)	6 (2,5%)
Sem lesões	236 (90,4%)	212 (86,2%)
Nada referido	8 (3,1%)	21 (8,5%)

Diagnóstico histológico de *H. pylori*

Dos 263 doentes avaliados histologicamente para pesquisa do *H. pylori*, 148 (58,2%) revelaram a presença positiva desta bactéria e 115 (41,7%), foram negativas (gráfico 17).

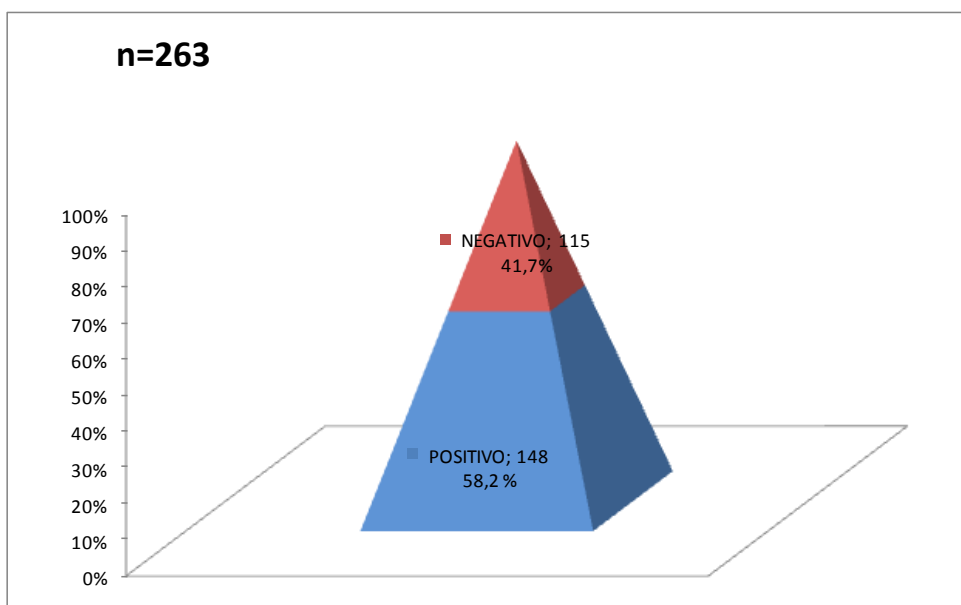


Gráfico 17. Resultados histológicos de pesquisa de *H. pylori*.

Métodos moleculares

Para uma avaliação mais fina e complementar da infecção por *H. pylori*, foram ainda realizados outros testes de diagnóstico em sub grupos de amostras dos doentes acima descritos.

PCR em Tempo Real para confirmação da presença de *H. pylori*

Assim, num sub grupo de 169 doentes, foram realizadas técnicas de biologia molecular para a pesquisa de *H. pylori* e determinação da susceptibilidade deste microrganismo aos macrólidos. Destas biópsias foram analisadas amostras do antro e corpo gástrico de 141 (83,4%) doentes. Apenas amostras do antro 26 (15,3%) e apenas amostras do corpo em 2 (1,1%). Das 167 biópsias do antro, avaliadas, 154 (92,2%) revelaram a presença de *H. pylori* e 14 (8,3%) ausência deste microrganismo. Das 143 biópsias do corpo, 138 (96,5%) foram positivas para *H. pylori* e 18 (12,5%) negativas (gráfico 18).

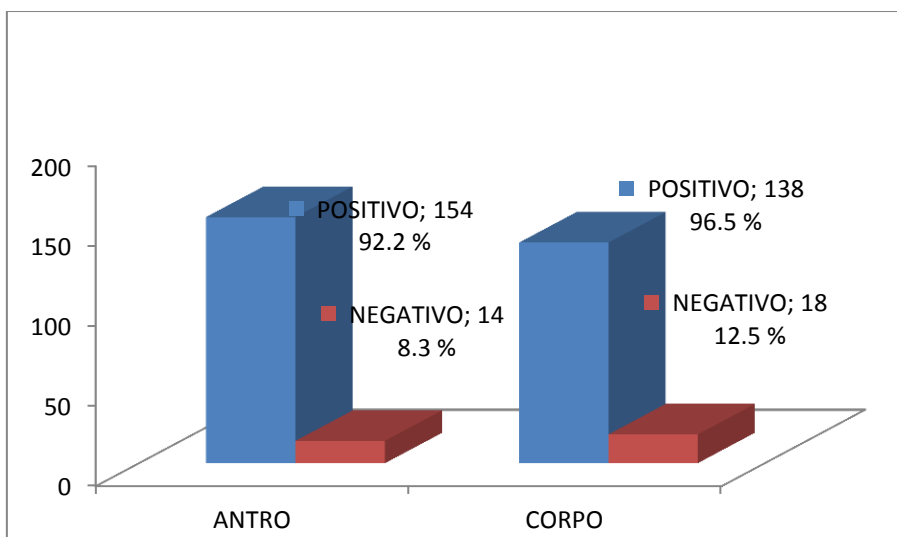


Gráfico 18. Resultados de PCR em tempo real para a detecção da presença de *H. pylori* nas biópsias gástricas.

Considerando os resultados do total de biópsias realizadas aos 14 doentes com biópsias do antro negativas para *H. pylori*, 2 possuíam biópsias do corpo positivas para *H. pylori*, 1 doente para o qual só existia biópsia do corpo, esta revelou a presença de *H. pylori*. Assim, num universo de 169 doentes, avaliados por PCR em Tempo Real, 158 (93.4%) doentes possuem a infecção por *H. pylori* e apenas 11 (6,5%) são negativos (gráfico 19).

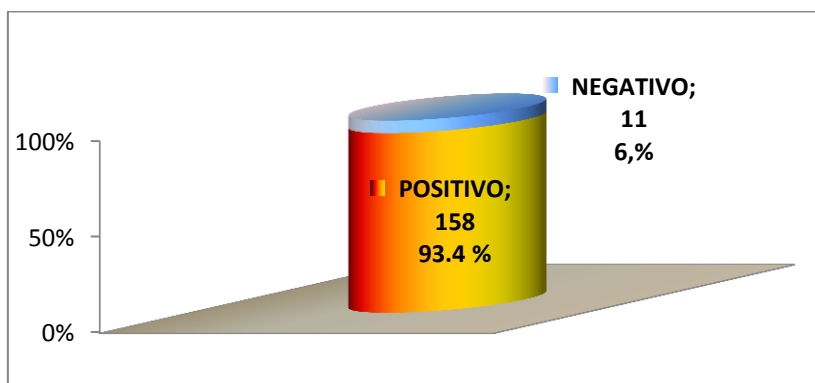


Gráfico 19. Resultados da pesquisas de *H. pylori* por PCR em Tempo Real.

PCR em Tempo Real para avaliação da susceptibilidade aos macrólidos

No que diz respeito à susceptibilidade aos macrólidos, das 154 biópsias do antro gástrico analisadas que revelaram ser *H. pylori* positivas, 134 (87,0%) amostras revelaram a presença de uma estirpe sensível aos macrólidos, 4 (2,6%) resistentes e 16 (10,4%) apresentavam simultaneamente uma estirpe sensível e uma estirpe resistente.

Das 138 biópsias efectuadas no corpo, positivas para *H. pylori*, 109 (79,0%) apresentaram estirpes sensíveis, 7 (5,0%) estirpes resistentes e em 22 (15,9%) a presença conjunta de estirpe sensível e de estirpe resistente.

Dos 134 doentes em cujas biópsias do antro se verificou a presença de estirpes de *H. pylori* sensíveis aos macrólidos, 2 (1,5%) revelaram a presença de estirpes resistentes nas biópsias do corpo e 10 (7,5%), apresentaram uma infecção mista no corpo, com estirpe sensível e resistente (Tabela 2).

Considerando o universo dos 169 doentes estudados, do conjunto de 158 doentes com *H. pylori* positivo, 125 (79,1%) doentes apresentaram estirpes sensíveis aos macrólidos e 33 (20,9%) estirpes resistentes. Destes, 26 (16,5%) apresentaram uma infecção mista, estirpe resistente mais estirpe sensível e 7 (4,4%) uma infecção a estirpe resistente (Tabela 2).

Dentro das estirpes resistentes aos macrólidos, a mutação mais frequentemente encontrada, foi a mutação pontual na posição 2142 de domínio V do ARN ribossomal 23S de *H. pylori* onde uma adenina é substituída por uma citosina (42C), 16 estirpes no antro e 22 no corpo. As mutações pontuais na posição 2142 e 2143 onde uma adenina é substituída por uma guanina (42G/43G) (a técnica não permite a distinção entre elas) ocorreram em 4 estirpes do antro e em 12 estirpes do corpo (Tabela2).

Tabela2: Resultados da avaliação da infecção por *H. pylori* com os diferentes métodos de diagnóstico. Caracterização das estirpes quanto à sua susceptibilidade aos macrólidos e presença dos genes *cagA* e tipo de mosaicismo do gene *vacA*.

Teste de diagnóstico	Biópsia antro	Biópsia corpo	Doentes
Teste rápido da urease	NA	NA	n=43
<i>H. pylori</i> positivo	-	-	38 (88,4%)
<i>H. pylori</i> negativo	-	-	5 (11,6%)
Histologia	n=254	n=242	n=263
<i>H. pylori</i> positivo	140 (55,1%)	122 (50,4%)	148 (58,2%)
<i>H. pylori</i> negativo	114 (44,9%)	120 (49,6%)	115 (41,7%)
PCR TR (ARNr 23S)	n=168	n=156	n=169
<i>H. pylori</i> positivo	154 (91,7%)	138 (88,5%)	158 (93,5%)
<i>H. pylori</i> negativo	14 (8,3%)	18 (11,5%)	11 (6,5%)
PCR TR	n=154	n=138	n=158

(susceptibilidade de *H. pylori* aos

macrólidos)

Sensível	134 (87,0%)	109 (79,0%)	125 (79,1%)
Resistente	4 (2,6%)	7 (5,4%)	7 (4,4%)
Infecção mista	16 (10,4%)	22 (15,9%)	26 (16,5%)
Mutações (estirpes resistentes)	n=20	n=29	NA
42C	16 (80%)	17 (58,6%)	-
42G/43G	4 (20,0%)	12 (41,4%)	-
PCR (factores de virulência - <i>cagA</i>)	n=59	n=59	n=59
<i>cagA</i>	24 (40,7%)	29 (49,2%)	34 (57,6%)
Negativo	35 (59,3%)	30 (50,8%)	25 (42,4%)
PCR (factores de virulência - <i>vacA</i>)	n=58	n=59	n=59
<i>vacA</i> S1	50 (86,2 %)	55 (93,2%)	51 (86,4%)
<i>vacA</i> S2	8 (13,8%)	4 (6,8%)	4 (6,8%)
<i>vacA</i> S1/S2	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (6,8)

Legenda: NA: não aplicável; RT (tempo real); ARNr: ARN ribossomal.

PCR para a determinação de factores de virulência

No que diz respeito aos factores de virulência, ilhéu de patogenicidade PAI-*cagA* e mosaicismo do gene *vacA*, dos 59 doentes com biópsias do antro e do corpo analisadas, 24 (40,7%) e 29 (49,2%) biópsias respectivamente, foram positivas para o gene *cagA*.

Das 35 biópsias do antro negativas para o gene *cagA*, 10 (28,5%) biópsias do corpo, foram positivas para o referido gene. Por sua vez das 30 biópsias do corpo negativas, 6 (20,0%) revelaram a presença deste gene na biópsia do antro. Globalmente, e considerando os resultados de ambas biópsias, dos 59 doentes, 34 (57,6%) apresentaram uma estirpe *cagA* positiva e 25 uma estirpe *cagA* negativa (gráfico 20).

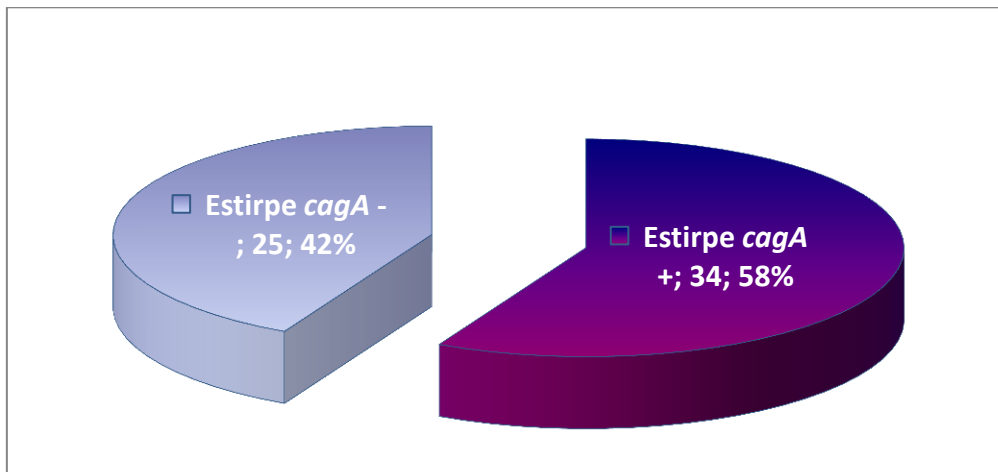


Gráfico 20. Distribuição dos factores de virulência estudados

Para o caso da citotoxina vacuolizante, o mosaicismo da região terminal designada por S no universo de 58 biópsias do antro e de 59 biópsias do corpo, revelou que nas 50 (86,2%) biópsias do antro em que foi encontrada uma estirpe *vacA* s1, também foi encontrada uma estirpe *vacA* s1 na biópsia do corpo correspondente.

Das 8 (13,8%) biópsias do antro com uma estirpe *vacA* s2, apenas 4 biópsias do corpo correspondentes revelaram a presença de uma estirpe *vacA* s2.

Para o doente em que apenas existia biópsia do corpo, foi detectada uma estirpe *vacA* s1. Na avaliação conjunta dos dois factores de virulência em relação ao tipo de lesões encontradas na mucosa gástrica verificou-se que dos 11 doentes com úlcera, 7 (63,6%) apresentavam uma estirpe *cagA* negativa, sendo 6 *vacA* s1 (85,7%) uma s2, e 4 (%) com uma estirpe *cagA* positiva e *vacA* s1 (gráfico 21).

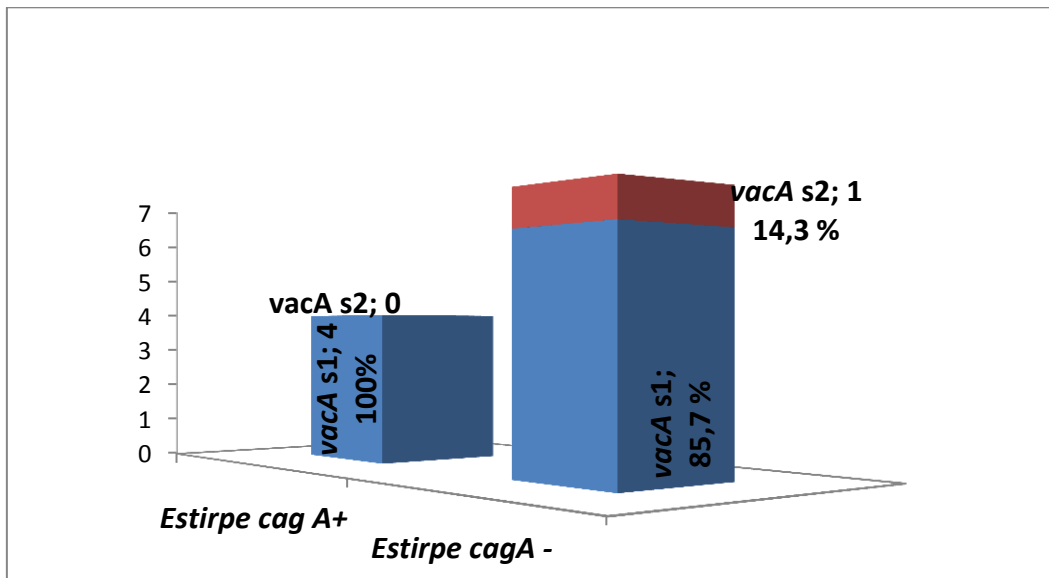


Gráfico 21. Distribuição dos factores de virulência estudados em doentes com úlcera.

Por sua vez dos 2 doentes com tumor ambas as estirpes eram *cagA* negativas, sendo uma *vacA* s1 e outra *vacA* s2. Nos doentes com gastrite (n=33), 15 (45,5%) possuíam estirpes *cagA* negativas, sendo 12 *vacA* s1 (80%) e 3 *vacA* s2. Dos 18 doentes com estirpes *cagA* positivas 16 revelaram ser *vacA* s1, e dois doentes possuíam uma infecção mista com estirpes *vacA* s1 e *vacA* s2 (gráfico 22).

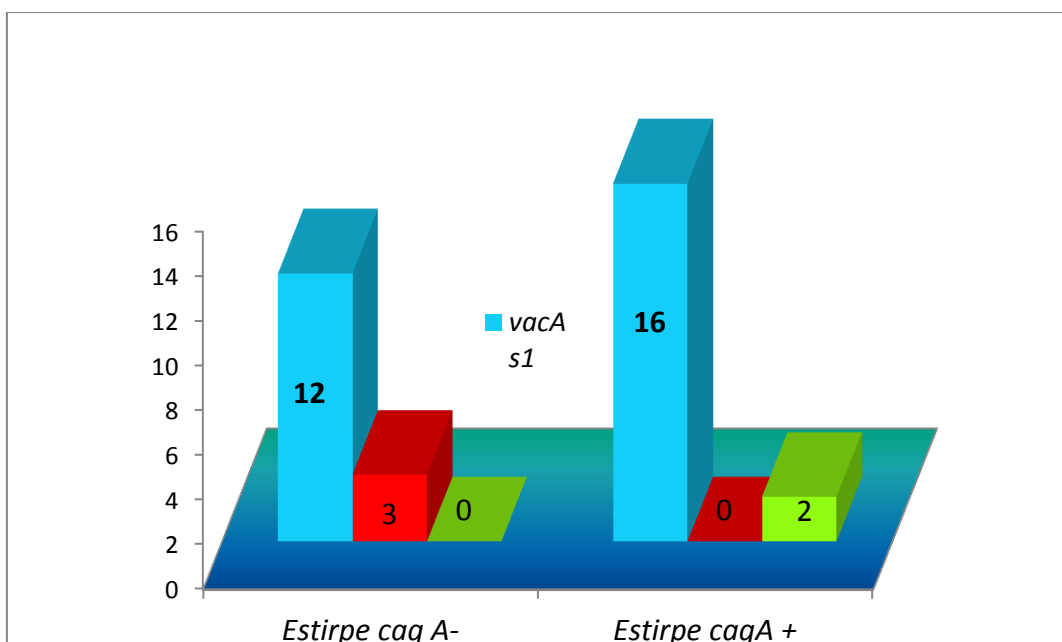


Gráfico 22. Distribuição dos factores de virulência estudados em doentes com gastrite.

Dos 29 doentes com avaliação de intensidade da gastrite, verificou-se que a associação de estirpes *cagA* negativas e *vacA* s1 estava presente em 4 doentes com intensidade ligeira, 2 com intensidade moderada e 2 com intensidade severa.

Por sua vez a distribuição das estirpes *cagA* negativas e *vacA* s2 foi associada a uma gastrite de intensidade ligeira e 2 associadas a gastrites de intensidade moderada

A associação de estirpes *cagA* positivas e *vacA* s1 revelou em 8 casos, relacionadas com gastrite de intensidade ligeira, 4 com gastrite de intensidade moderada e 3 com intensidade severa Uma estirpe *cagA* positiva e *vacA* s2 foi encontrada num doente com uma gastrite de intensidade severa.

Dos 19 doentes com actividade da mucosa gástrica, 6 revelaram estirpes *cagA* negativas em que 5 eram *vacA* s1 e 1 *vacA* s2. Por sua vez, dos 13 que revelaram uma estirpe *cagA* positiva, 11 eram *vacA* s1 e 2 *vacA* s1/s2

Num doente com metaplasia foi identificada uma estirpe *cagA* positiva *vacA* s1 e em 3 doentes com atrofia uma estirpe *cagA* positiva *vacA* s1. Os resultados desta distribuição encontram-se expressos na tabela 3.

Tabela 3. Relação entre os factores de virulência de *H. pylori* e o tipo de lesões da mucosa gástrica

	<i>cagA</i>	<i>vacA</i>		
		s1	s2	s1/s2
úlceras (n=11)	negativo	6	1	0
	positivo	4	0	0
tumor (n=2)	negativo	1	1	0
	positivo	0	0	0
gastrite (n=35)	negativo	12	3	0
	positivo	16	0	2

actividade (n=19)	negativo	5	1	0
	positivo	11	0	2
metaplasia (n=1)	negativo	1	0	0
	positivo	0	0	0
atrofia (n=3)	negativo	0	0	0
	positivo	3	0	0
intensidade ligeira (n=13)	negativo	4	1	0
	positivo	8	0	0
Intensidade moderada (n=8)	negativo	2	2	0
	positivo	4	0	0
Intensidade severa (n=6)	negativo	2	0	0
	positivo	3	1	0

Por último, devido aos custos para a aquisição individual dos kits, apenas, num sub grupo de 26 doentes foi possível realizar o teste respiratório com ureia marcada em que 20 (76,9%) revelaram a presença de *H. pylori* e 6 (23,0%) foram negativos.

Na avaliação dos testes de diagnóstico da infecção por *H. pylori* utilizados no grupo I, e considerando o “gold standard” definido verificou-se:

Em 22 doentes para os quais foi efectuado o teste respiratório, 20 possuíam a infecção por *H. pylori* e 2 não. O teste respiratório, realizado revelou 1 resultado falso negativo e 5 resultados falsos positivos. Por sua vez dos 17 doentes para os quais foi realizado o teste rápido da urease, 16 possuíam *H. pylori*. O referido teste revelou 3 resultados falsos negativos.

No caso da Histologia e considerando o referido “gold standard” este teste de diagnóstico revelou 37 resultados falsos negativos.

Comparando os resultados da PCR com o teste padrão, este método revelou 4 resultados falsamente negativos. Os resultados estão expressos na tabela 4.

Tabela 4. Comparação dos métodos de diagnósticos utilizados a nível hospitalar de acordo com o “Gold standard” definido.

	Doente com infecção por <i>H. pylori</i>	Doente sem infecção por <i>H. pylori</i>	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Teste Respiratório (n=22)	20	2	75	50
Teste RU (n=17)	16	1	81,3	100
Histologia (n=90)	87	3	57,5	100
PCR (n=169)	162	7	97,5	100

Discussão

O presente trabalho teve como objectivo o conhecimento da infecção por *H. pylori* numa população Angolana, e a sua avaliação como um problema de Saúde Pública. O estudo foi efectuado em dois grupos, sendo um hospitalar com doentes referenciados para a realização de endoscopia digestiva alta por queixas dispépticas e outro em comunidades diferentes com indivíduos aparentemente saudáveis.

Em relação aos 306 doentes submetidos a EDA, verificou-se que a idade média dos doentes foi de 40 anos, sendo a mínima de 18 anos e a máxima de 79 anos. Este facto está de acordo à legislação militar angolana que orienta o atendimento no Hospital Militar, só a indivíduos com idade superior a 18 anos. Das consultas efectuadas, não

encontramos limitantes definidas para o atendimento em hospitais militares, além de valências médicas inexistentes em instituições militares médicas.

Quanto ao sexo, 64.7% dos doentes, são do sexo masculino e 35.2% do sexo feminino. A prevalência maior para o sexo masculino enquadra-se no contexto do universo da população ser maioritariamente militar. Não obstante, o trabalho realizado no H. S. João Baptista em Criciúma (Brasil) por (26) Durães *et al.*, em 324 doentes avaliados por EDA com queixas dispépticas, confirmou o predomínio feminino (63%) sobre o masculino (37%) e o estudo em Belo Horizonte (Brasil) de Alves et al. (1) em 12.261 doentes, verificou igualmente predomínio do sexo feminino (52,2%).

Sobre a relação entre a sintomatologia descrita e os resultados endoscópicos, em doentes dispépticos, o estudo de Karakaya *et al.*, (50) em Ankara (Turquia) em 225 doentes seguidos em consulta, verificou que a azia foi referida por 85.8% dos doentes, náuseas e vômitos por 58.2% e a epigastralgias por 50.2%. No nosso estudo, verificou-se que 42% dos doentes apresentavam queixas de epigastralgias, 32% referiram azia e 15% enfartamento. Resultados que se aproximam aos encontrados por Prasad Moicar *et al.* (100), em 2011, numa população Moçambicana, onde as epigastralgias foram referidas em 81% dos doentes observados, seguido de enfartamento pós-prandial em 62%.

O diagnóstico endoscópico e a sua correspondência histológica foram avaliados em 270 doentes integrados no nosso estudo. A gastrite correspondeu a 87,0% das lesões estudadas e 1,8% dos exames efectuados apresentaram mucosa normal, resultados coincidentes com o trabalho anteriormente referido de Prasad Moicar *et al.*, (100) que refere como mais frequente a gastropatia com predomínio antral e a pangastropatia com

51,3% dos resultados endoscópicos, em 310 doentes submetidos a EDA por queixas dispépticas, e 16,8% em que o exame foi normal.

Em relação ao grau de intensidade e segundo a classificação de Sidney, 55% dos doentes do nosso estudo possuíam gastrite leve, 23% gastrite moderada e 22% gastrite severa, revelando uma correspondência entre o tipo de lesões e a intensidade permitindo assim caracterização do perfil dos doentes dispépticos estudados.

Ao avaliar-se o tipo das lesões encontradas durante a EDA, verificou-se que, em 77.3% dos doentes existiam lesões sugestivas de gastrite eritematosa e em 7% dos doentes a existência de lesões sugestivas de gastrite erosiva. O trabalho de Durães *et al.* (26) , verificou igualmente que 45,7% de doentes possuíam gastrite eritematosa e 29.3% gastrite erosiva.

A avaliação da actividade das lesões encontradas, por exame histopatológico em 226 biópsias do antro, revelou que 42,9% possuíam actividade e em 221 biópsias do corpo, 33,0% possuíam actividade. No caso de lesões degenerativas, em 261 biópsias do antro, 3,8% revelaram a presença de metaplasia e 90,4% sem lesões degenerativas. Em 246 biópsias corpo, 2,8% revelaram metaplasia e 86,2% sem lesões.

Em relação às outras lesões diagnosticadas por EDA, foram observados 9,1% doentes com úlcera, sendo a úlcera duodenal responsável por 46% e a úlcera gástrica por 13,4%. Tytgat em 2002 (123) , num artigo de revisão onde foram avaliados mais de 22 estudos, refere uma prevalência média de doença ulcerosa péptica de 17%, onde a úlcera péptica gástrica representava 5,5% e a úlcera péptica duodenal 10%, entre os doentes dispépticos. Johnsen *et al.* (49), em Sørreia (norte da Noruega) encontraram uma prevalência de 8,4% de úlcera péptica, resultado semelhante ao do presente trabalho.

No nosso estudo, a neoplasia gástrica foi diagnosticada em 5,1% dos doentes submetidos a EDA, confirmando a baixa prevalência da neoplasia gástrica nos doentes com queixas dispépticas, nos países em desenvolvimento. Estudos de Karakaya *et al* na Turquia, (50) encontraram uma prevalência de 2.7%. Um trabalho de Thomson *et al.*, (118) num estudo multicêntrico realizado no Canadá, com 1.040 doentes, revelou apenas 2 casos de neoplasia gástrica. Os nossos resultados vão ao encontro do que está referido na literatura sobre a baixa prevalência da úlcera péptica e do cancro gástrico nos países em desenvolvimento, não obstante a alta prevalência da infecção por *H. pylori*.

Prasad Moicar *et al.*, (100) em 310 doentes dispépticos, em Moçambique, encontrou uma prevalência de 84% de casos positivos a *H. pylori*. Os resultados do nosso trabalho mostram que e 93% dos doentes avaliados possuíam a infecção por *H. pylori* o que confirma que nos países em vias de desenvolvimento, a prevalência da infecção pode ultrapassar os 90% na população adulta. Quina M., em 1994, (101) refere uma taxa de 80% na população portuguesa, com idade superior a 15 anos.

Os factores de virulência, envolvidos na persistência e desenvolvimento da infecção por *H. pylori* constituem determinantes factores patogénicos para o desenvolvimento da história natural da doença, isto é gastrite, doença ulcerosa e neoplasia.

Diversos estudos realçam o papel da citotoxina vacuolizante (VacA) presente em todas as estirpes de *H. pylori*. É constituída por duas partes, a região s que codifica o peptídeo sinal e a região m que determina a produção da citotoxina, como responsável pelo grau de virulência da bactéria. Como factor de patogenicidade no processo da ulcerogénese, desencadeia um aumento da permeabilidade paracelular do epitélio gástrico. Esta acção induz a formação de vacúolos em células eucarióticas, desempenhando um importante

papel no desenvolvimento da ulceração péptica e da neoplasia gástrica. No nosso estudo, 86,2% das amostras revelaram a presença do gene *vacAs1* e em 13,8% revelaram tratar-se de estirpes *vacAs2*. Hermano Santos (41) encontrou, numa população Portuguesa do Algarve (22 amostras), 45,5% com gene *vacAs2* e em 22,7% o genótipo *vacAs1*.

Outro factor determinante da virulência deste microrganismo é o ilhéu de patogenicidade PAI que influencia no aumento do estado inflamatório da mucosa, do qual é gene *cagA* é representativo. As estirpes *cagA* positivas tendem a ser mais virulentas. Lino Torres *et. al.* (64) num estudo de uma população Cubana, com queixas dispépticas, encontraram 73.2% dos doentes com estirpes *cagA* positivas. Nos Estados Unidos da América está descrito que a presença de estirpes *cagA* positivas é de 60%, em Espanha em 66% e em países asiáticos em 90% casos. No nosso estudo, em 59 amostras com *H. pylori* positivo, 57.6% confirmaram ser *cagA* positivo. Oluwa AO (95), em 65 doentes dispépticos Nigerianos, com infecção por *H. pylori* encontrou 58.8% com estirpes *cagA* positivas. Hermano Santos (41) no estudo da população do Algarve, em 205 indivíduos com queixas dispépticas, revelou uma taxa de estirpes *cagA* positivas, superior, 90.9%.

Na avaliação conjunta dos dois factores de virulência de *H. pylori*, em relação ao tipo de lesões encontradas na mucosa gástrica, Boukhris SA (8) ao estudar a prevalência e distribuição dos genótipos de *H. pylori* numa população de 429 doentes Marroquinos, atendidos no Hospital Hassan II, por doença dispéptica, constatou que o gene *vacA s1* associava-se à doença ulcerosa péptica. Enquanto Solterman A, (113) num estudo efectuado em doentes do Hospital Universitário de Zurique, refere que a correlação *vacA s1*, *cagA* positivo, desencadeia processos inflamatórios intensos no antro e corpo.

Já Rugge M, (108) num estudo em 105 doentes italianos, com idades compreendidas entre os 16 e 40 anos, diagnosticado carcinoma gástrico, 74 foram do tipo difuso e 31 do tipo intestinal, associados à infecção por *H. pylori* com a presença do gene *cagA*. Os nossos resultados porém são contraditórios, pois referem que nos doentes aos quais se diagnosticou úlcera péptica, 63,6%, apresentavam estirpe *cagA* negativa, sendo 85,7% *vacA s1*. Em relação aos dois doentes com tumor, ambas as estirpes eram *cagA* negativas, sendo uma *vacAs1* e outra *vacAs2*. Na avaliação das lesões gástricas inflamatórias, os doentes com gastrite 45.5% possuíam estirpes *cagA* positivas e 80% *vacA s1*. Assim ao associarmos os dois factores de virulência, e apesar da alta prevalência da infecção por *H. pylori*, não encontramos concordância entre a presença do gene *cagA* e *vacA s1* como preditivos para o desenvolvimento da doença ulcerosa péptica e o cancro gástrico.

No tratamento da infecção por *H. pylori* existem factores que influenciam a resposta do microrganismo à terapêutica. Um desses factores é a resistência primária de *H. pylori* aos antibióticos utilizados. Cabrita J *et al.*, (11) em Portugal, referem taxas de resistência de *H. pylori* para o metronidazol de 30,6% e de 19% para a claritromicina. No nosso estudo, verificou-se que do conjunto de 158 doentes com *H. pylori* positivo estudados para resistência aos antibióticos, 125 (79,1%) apresentaram estirpes sensíveis aos macrólidos e 33 (20,9%) doentes, estirpes resistentes. Destes, 26 (16,5%) apresentaram infecção mista, estirpe resistente mais estirpe sensível e 7 (4,4%) uma infecção a estirpe resistente, o que vai ao encontro dos valores encontrados em Portugal.

No que diz respeito á comunidade, a infecção por *H. pylori*, afecta cerca de 50% da população mundial e é considerada o principal factor na patogénese das doenças dispéptica sendo enquadrada no grupo das doenças infecciosas gastrintestinais. Devido

a inexistência de valores de referência sobre a frequência da infecção por *H. pylori* em Angola, realizou-se um primeiro estudo piloto de detecção de antígenos de *H. pylori* nas fezes em três regiões de Angola, nomeadamente Ambriz (Norte), Cabinda (Norte), Funda (Centro Norte) e Sambizanga (Centro Norte). Estudos de *Cabrita et al.* (10) referem que nos países desenvolvidos a prevalência da infecção aumenta com a idade, estimando-se que nas crianças se situe entre os 4 e 16% e aumente com a idade. A prevalência pode atingir os 20% nos adolescentes e os 50% nos adultos e idosos, com taxa de incidência (risco de aquisição de infecção) de cerca de 1% ao ano nos adultos e 2 a 3% ano nas crianças. No Peru, Klein *et al.*, (54) acompanharam a seroprevalência da infecção por *H. pylori* em 105 em crianças, desde a gestação até aos 2,5 anos e obtiveram taxas de prevalência da infecção de 71,4%, 47,9% e 51,7% nas idades de 6, 18 e 30 meses respectivamente, com diminuição da seroprevalência aos 18 meses. Um estudo sobre a prevalência e incidência da infecção por *H. pylori* em 844 crianças residentes na área de Lisboa, Portugal, Oleastro *et al.* (88) refere uma prevalência de 31,6%, aumentando com a idade, 19,9, 37,0 e 51,5% nas idades compreendidas 0-5,6-10 e 11-15 anos respectivamente). Nos países em vias de desenvolvimento, em particular os Africanos e Asiáticos, a prevalência é elevada e mantém-se elevada em todos os grupos etários. A infecção aumenta na infância, podendo atingir os 50%, em crianças com idade inferior a 5 anos e ultrapassar os 90%, na população adulta. Os resultados do nosso estudo apresentam uma frequência de 70% de amostras positivas. A avaliação do perfil em relação as idades, referem que 63,5% correspondiam aos menores de 15 anos. Estes dados correspondem aos descritos na literatura.

Ressalta-nos porém o facto de uma determinada região, localizada á beira-mar (Capulo – Ambriz), não obstante as precárias condições de saneamento e sanitárias, a frequência de infecção por *H. pylori* ser baixa, 39%. A correlação poderá ser feita numa análise dos

hábitos alimentares, abastecimento de água. Este resultado, que contraria o descrito na literatura, necessita de ser esclarecido em futuros estudos com maior número de amostra.

Limitações

Aquando da realização do presente trabalho, foram verificadas limitações que influenciaram no seu desenvolvimento, podendo estas ser agrupadas em:

1 – Institucionais

a) dificuldade no acesso ao apoio financeiro institucional para os programas de investigação. Houve necessidade de se recorrer à expensas alternativas próprias, para o desenvolvimento do trabalho.

b) ausência de interligação institucional entre os órgãos executores do Estado e as universidades, no sentido de se desenvolverem estudos científicos de interesse nacional. Coube pois aos investigadores, identificar o problema comunitário, desenvolver o estudo.

c) deficiente equipamento das instituições de saúde em meios de diagnóstico. Realizou-se o trabalho com o apoio de unidades parceiras nacionais e estrangeiras.

2- Recursos Humanos

O deficiente número de quadros diferenciados em Angola, é mais acentuado nos que se dedicam ao estudo e investigação. Não existe uma metodologia no registo e protocolos que permitam a recolha de dados para estudo. Impôs-se criar na Instituição um novo

modelo de procedimentos que permitissem o registo rigoroso dos dados e da avaliação dos casos.

3- Nacionais

O elevado índice de analfabetismo e escasso acesso a serviços de saúde, fundamentalmente a nível rural, interferem no acolhimento por parte dos cidadãos de iniciativas que são novidade; investigação, questionários sobre sintomatologia, colheita de fezes, exames laboratoriais, foram conceitos novos que não integravam o universo de conhecimentos e valores de muitos dos participantes nos estudos do Grupo I. Para o desenvolvimento do trabalho, houve pois a necessidade de serem cumpridos rituais tradicionais nas aldeias onde se realizou o estudo, com cuidada abordagem e acção individualizada junto de cada participante, designadamente na realização dos inquéritos, assim como na recolha das amostras.

Recomendações

Do presente trabalho, em atenção aos resultados obtidos no que concerne a prevalência em populações sem queixas gastroenterológicas, recomenda-se que o mesmo se possa vir a replicar numa abrangência maior, realizando-se, por exemplo, estudos comparativos de prevalência entre as populações residentes no litoral (beira-mar) e as do interior.

Estudos comparativos da prevalência da infecção por *H. pylori*, na comunidade, recorrendo à utilização do teste para pesquisa de antígenos de *H. pylori* nas fezes, que se recomenda, não obstante o seu custo, por não ser invasivo e de fácil recolha das amostras, deverão ser também efectivados noutras regiões de África, em populações

semelhantes, de países limítrofes, para um mais amplo conhecimento da dimensão do problema.

Pelas características genóticas de *H. pylori*, em correspondência com as lesões encontradas, após novos estudos mais abrangentes, recomenda-se a avaliação de uma terapêutica mais acessível para o doente e que seja de maior eficácia.

Face à escassez de médicos especialistas em gastroenterologia em Angola e de meios de diagnóstico, recomenda-se um estudo mais alargado da eficácia do seguimento do doente dispéptico, conforme protocolo avaliado pelo Colégio da Especialidade de Gastroenterologia da Ordem dos Médicos de Angola e já em prática em algumas instituições de saúde.

Evidentemente a recomendação *major*, que constitui aliás um desígnio nacional, é a do rápido desenvolvimento do País, designadamente no que concerne as populações mais desfavorecidas, também as de pior condição de saúde.

Dispor de habitação condigna, de água potável, de saneamento, de acesso à educação, de poder aceder a uma unidade de saúde, a uma razoável distancia, com cuidados primários de qualidade é ultrapassar determinantes sociais muito gravosos para a saúde.

As medidas de Saúde Pública do Programa Nacional de Desenvolvimento Sanitário devem ser prioritariamente aplicadas nas áreas rurais, onde um esforço acrescido deve ser feito.

Sendo o caminho do desenvolvimento lento e difícil, a atenção às questões de Saúde Pública, transversais à sociedade, deve ser prioritária. O nosso estudo na população rural é bem exemplificativo. A qualidade de vida, a condição de saúde dos nossos concidadãos é uma urgência quotidiana, é um desafio profissional, social, político e ético, que Angola tem de continuar a enfrentar, com vigor, saber e esperança.

Uma população mais saudável faz um País mais rico, um País melhor.

Referências Bibliográficas

1. Alves, JS. Análise dos achados endoscópicos em Clínica de Endoscopia no Período de 1991 a 2001: Avaliação crítica da contribuição da endoscopia para diagnóstico do paciente dispéptico; estudo retrospectivo, 2006. 157 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da UFMG, Belo Horizonte- MG, 2006.
2. Angola Ethnic map 1970-pt.svg.
3. Aslanidis C, Nauck M, Schmitz G. High-Speed prothrombin G→A 20210 and methylenetetrahydrofolate reductase C→T 677 mutation detection using Real-Time fluorescence PCR and melting curves. *BioTechniques* 1999; 27:234-238.
4. Atherton JC, Cão P, Peek RM et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270:17771-7.
5. Birac C, Tall F, Albenque M et al. PCR to detect *Helicobacter pylori* in the mouth. *Ir J Med Sci* 1992; 161: 28.
6. Bizzozero G. Sulle ghiandole tubulari del tubo gastroenterico e sui rapporti del loro coo'epitelio di revestimento della mucosa. *Arch Mikr Anat.* 42:82, 1893.
7. Borén T, Falk P, Roth KA et al. Attachment of *Helicobacter pylori* to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993; 262: 1892-5.
8. Boukhris SA, Benajah DA, El Rhazi K, Ibrahimi SA, Nejjari C, Amarti A, Manhmoud M, El Abkari M, Souleimani A, Bennani B. Prevalence and distribution of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* genotypes in the Moroccan population with gastric disease; *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis.* 2012 Aug;31(8): 1775-81. Doi: 10.1007/s10096-011-1501-x. Epub 2011 Dec 11.
9. Buttler A, Brennam S, Neal K. A Multi-Centre study of the prevalence of *H. pylori* in urban Nottinghamshire children using the HPSA stool antigen test. *Gut* 2000; 47 (supl. 1): A45.
10. Cabrita J. Características epidemiológicas da infecção por *Helicobacter pylori*; in *Helicobacter pylori* da Infecção à Clínica A. Sousa Guerreiro, Lurdes Monteiro. 2001; 33-40.
11. Cabrita J, Oleastro M, Matos R et al. Features and trends in *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Lisbon área, Portugal (1990-9). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2000; 46: 1029-31.

12. Calvet X, Garcia N, López T et al. A meta-analysis of short versus long therapy with a proton pump inhibitor, clarithromycin or either metronidazole or amoxicillin for treating *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14: 603-9.
13. Carvalho A, M. Oleastro, B. Nunes. L. Monteiro. Avaliação do Potencial Patogénico dos Genes *sabA* e *hopZ* de Estirpes de *Helicobacter pylori* Isoladas Numa População Portuguesa, *J. Port. Gastreenterologia*, 2006; 6,:258-262.
14. Censini S, Lange C, Xiang Z et al.. *cagA*, a pathogenicity Island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 14648-53.
15. Chan F, Sung J, Suen R et al. Salvage therapy after failure of *Helicobacter pylori* eradication with ranitidine bismuth citrate based therapies. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 91-5.
16. Christie JML, McNulty CAM, Sheperd NA et al. Is saliva useful for the diagnosis of *Helicobacter pylori*? *Gut* 1996; 39: 27-30.
17. Clyne M, Labigne A, Drumm B. *Helicobacter pylori* requires an acidic environment to survive in the presence of urea. *Infect Immun* 1995; 63: 1669-73.
18. Correa P. A Human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1998; 48:3854-60.
19. Covacci A, Rappuoli R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins: Trojan horses for the host cell. *J Exp Med* 2000;191:587-92.
20. CPLP – Plano Estratégico de Cooperação em Saúde 2009-2012; 15 Maio Estoril Portugal.
21. Dale A, Thomas J, Dorboe M et al. *Helicobacter pylori* infection, gastric acid secretion and infant growth. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 26: 293-7.
22. Delluva AM, Markley K, Davies RE. The absence of gastric urease in germ-free animals. *Biochim Biophys Acta* 1968 ; 151:646-50.
23. DNSP, Relatório sobre os cuidados obstétricos e neonatais de urgência, 2009. Angola.
24. Doenges JL. Spirochaetes in the gastric glands of *Macacus rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1938 ; 38:536-8.
25. Duarte C, Teresa Lopes, Lurdes Monteiro; Diagnóstico da Infecção por *Helicobacter pylori*; in *Helicobacter pylori* da infecção à clínica ed. Sousa Guerreiro, Lurdes Monteiro. 2001; 41-58.

26. Edson Souza Machado Durães análise dos achados endoscópicos em pacientes com dispepsia atendidos no serviço de endoscopia do Hospital São João Batista, Criciúma – SC, no período de Outubro de 2008 a Março de 2009; GED gastroenterol. Endosc. Dig. 2010; 29(3):73-78.
27. Feldman RA, Deeks JJ, Evans SJ. Multi-laboratory comparison of eight commercially available *Helicobacter pylori* serology kits. *Helicobacter pylori* Serology Study Group. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14: 428-33.
28. Ferguson DA Jr, Li C, Patel NR et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from saliva. J Clin Microbiol 1993 ; 31:2802-4.
29. Figueiredo S, Magalhães Q, Mendes E et al The inter-relationship between *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin and gastric carcinoma. Am J Gastroenterol 1998;98:1841-7.
30. Fitzgerald D, Murphy P. Studies in the physiological chemistry and clinical significance of urease and urea with special reference to the stomach. Ir J Med Sci 1950 ; 292:97-159.
31. Freedberg AS, Barron LE. The presence of spirochaetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis 1940 ; 7:443-5.
32. Fung WP, Papadimitriou JM, Matz LR. Endoscopic, histological and ultrastructural correlations in chronic gastritis. Am J Gastroenterol 1979 ; 71:269-79.
33. Geis G, Suerbaum S, Forsthoff B et al. Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of *Helicobacter pylori*. J Med Microbiol 1993; 38: 371-7.
34. Genta R, Huberman R, Graham D. The gastric cardia in *Helicobacter pylori* infection. Hum Pathol 1994; 25:915-9.
35. Glupczynski Y, Anderson L, López-Brea M, Mégraud F. Toward standardization of antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. Gut 1998; 43 (supl. 2): A 47.
36. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* com. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. Int System Bacteriol 1989 ; 39:397-405.
37. Goodwin CS, McCulloch RK, Armstrong JA et al. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. J Med Microbiol 1985; 19: 257-67.

38. Gramley WA, Asghar A, Frierson Jr HF et al. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in fecal samples from infected individuals. J Clin Microbiol 1999; 37;2236-40.
39. Granham D, Malaty H, Go M. Are there susceptible host to *Helicobacter pylori* infection? Scand J Gastroenterol 1994; 205 (supl.): 6-10.
40. Henning EE, Trzeciak L, Regula J et al. vacA genotyping directly from gastric biopsy specimens and estimation of mixed *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer and gastritis. Scand J Gastroenterol 1999; 34: 743-49.
41. Hermano Santos et al. *Helicobacter pylori* numa população dispéptica no Algarve: prevalência e caracterização genética. J Port Gastreterol. 2010. vol 17: 102-107.
42. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9.^a ed. Baltimore, Maryland 21202, USA: Williams and Wilkins 1994.
43. Hulten K, Gibree A, Skold O et al. Macrolide Resistance in *Helicobacter pylori* :mechanism and stability in strains from claritromycin-treated patients. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2550-3.
44. Husson MO, Gottrand F, Vachee A et al. Importance in diagnosis of gastritis of detection by PCR of the cagA gene in *Helicobacter pylori* strains isolated from children. J Clin Microbiol 1995; 33: 3300-3.
45. INE – Inquérito Integrado sobre o Bem Estar da População IBEP; Min. Plano. Angola.
46. INE, Resultados Preliminares do recenseamento Geral da População e da Habitação 2014. Angola.
47. International Agency for Research on Cancer. Schistosomes, live rand *Helicobacter pylori*. WOrking Group on the Evaluation of Carcinogenesis Risks to Humans; IARC 1994- 61:177-241.
48. Jenks PJ, Mégraud F, Labigne A. Clinical outcome after infection with *Helicobacter pylori* does not appear to be reliable predicted by the presence of any of the genes of the cag pathogenicity island. Gut 1998. 43:752-758.
49. Johnsen, R. Prevalences of endoscopic and-histological findings in subjects with and without dyspepsia. BMJ, Londres, V. 302, n. p.749-752, 30 mar. 1991.
50. Karakaya, Do Symptoms Predict Endoscopic Findings in Dyspeptic Patients? Department of Internal Medicine, Ankara Training and Research Hospital, Ministry of Health.

51. Katsuragi K, Noda A, Tachikawa T et al. Highly sensitive urine-based enzyme linked immunosorbent assay for detection of antibody to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1998; 3: 289-95.
52. Keates S, Keates AC, Warny M et al. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in AGS gastric epithelial cells by cag+ and cag- *Helicobacter pylori*. *J Immunol* 1999; 163: 5552-9.
53. Kikuchi S, Crabtree E, Forman D et al. Association between infection with cagA – positive or – negative strains of *Helicobacter pylori* and risk for gastric cancer in young adults. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3455-9.
54. Klein PD, Gilman RH, Leon-Barua. The epidemiology of *Helicobacter pylori* in peruvian children. *Gastroenterology* 1994;89:12.
55. Klein PD, Graham DY, Gaillour A et al. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. *Lancet* 1991 ; 337:1503-6.
56. Krienitz W. Ueber das Auftreten von Spirochaetne verschiegener Form im Magen-inhalt bei Carcinoma ventriculi. *Dtsch Med Wochebschr.* 28:872-889, 1906.
57. Labigne A, Reuse H. Determinants of *Helicobacter pylori* pathogenicity. *Infec Agents Dis* 1996; 191-202.
58. Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2752-6.
59. Laheij R, Van Rossum L, et al. Evaluation of treatment regimens to cure *Helicobacter pylori* infection – a meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 857-64.
60. Lamouliatte H, Cayala R, Mégraud F et al. Controlled study omeprazole-amoxicillin-tinidazole versus ranitidine-amoxicillin-tinidazole in *Helicobacter pylori* associated duodenal ulcers. Preliminary results. *Ver Esp Enf Digest* 1990; 78 (supl. 1): 101.
61. Langenberg ML, Tytgat GNJ, Schipper MEI. Campylobacter-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals. *Lancet* 1984; 1:1348.
62. Lieber CS, LeFevre A. Ammonia as a source of hypoacidity in patients with uraemia. *J Clin Invest* 1959 ; 38:1271-7.

63. Lind T, Mégraud F, Ungu P et al. The MACH2 study: Role of omeprazole in eradication of *Helicobacter pylori* with 1-week triple therapies. *Gastroenterol Belg* 1999; 116: 248-53.
64. Lino E, Torres et al. Prevalence of *vacA*, *cagA* and *babA2* genes in Cuban *Helicobacter pylori* isolates; *World J Gastroenterol* 2009 January 14; 15(2): 204-210.
65. Logan RPH, Dills S, Bauer FE et al. The European C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3: 915-21.
66. Luck JM, Seth TN. The physiology of gastric urease. *Biochem J* 1924 ;18:357-65.
67. Malaty H, Evans D, Evans D et al. *Helicobacter pylori* in Hispanics: comparison with blacks and whites of similar and socio-economics class. *Gastroenterol* 1992; 103: 813-6.
68. Malfertheiner P, Andreas Leodolfer. *H. pylori* conceptos actuales; in M. Quina et al. 2000, *Gastroenterología Clínica, III- Patología Gastroenterológica*, 347-350.
69. Malfertheiner P. Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report. *Gut* 1997; 41: 8-13.
70. Mapstone NP, Lynch DAF, Lewis FA, Axon ATR, Tompkins DS, Dixon MF, Quirke P (1993) PCR identification of *Helicobacter pylori* in faeces from gastritis patients *Lancet* 341:447.
71. Mapstone NP, Lynch DAF, Lewis FA, Axon ATR, Tompkins DS, Dixon MF, Quirke P (1993) Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR *J Clin Pathol* 46,540-543.
72. Marais A, Mendz GL, Hazell S et al. Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the genome era. *Microbiol Molecular Biol Reviews* 1999; 63: 642-74.
73. Marshall BJ, Barret L, Prakash C et al. Urea protects *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology*. 99:269-276, 1990.
74. Marshall BJ, Goodwin CS. Revised nomenclature of *Campylobacter pyloridis*. *Int J System Bacteriol* 1987 ; 37:68.
75. Marshall BJ, Royce H, Anear DL et al. Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbiol Lett* 1984 ; 25:83-8.
76. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311-5.

77. McCarthy C, Patchett S, Collins R et al. Long term prospective study of *H. pylori* in non ulcer dyspepsia. *Dig Dis Sci* 1995; 40:114-9.
78. Mégraud F. Advantages and disadvantages of current diagnosis tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31 (supl.215): 57-62.
79. Mégraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection: where are in 1995? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 292-5.
80. Michetti P, Kreiss C, Kotloff K et al. Oral immunization with urease and *Escherchia coli* heat-labile enterotoxina is safe and immunogenic in *Helicobacter pylori*- infected adults. *Gastroenterology* 1999; 116: 804-12.
81. Midolo PD, Korman MG, Turnbridge J, Lumbert JR. *Helicobacter pylori* to tetracycline. *Lancet* 1996;347:1194-5b.
82. Ministério das Finanças Orçamento de Estado 2012. Angola.
83. Ministério do Plano - Indicadores Estatísticos 2009. Angola.
84. MINSAs – Contas Nacionais de Saúde em Angola 2008.
85. MINSAs - Relatório de Progresso 2005. Angola.
86. MINSAs, Plano Nacional de Desenvolvimento Sanitário 2012-2025. 2012, vol I (pag 42). Angola.
87. Mitchell HM, Hazell S, Li Y et al. Serological response to specific *Helicobacter pylori* antibody against CagA antigen is not predictive of gastric cancer in a developing country. *Am J Gastroenterol* 1996; 91:1785-8.
88. Mónica Oleastro et al. Prevalence and Incidence of *Helicobacter pylori* infection in a Healthy Pediatric Population in the Lisbon Area in *Helicobacter* 16:363-372. 2011.
89. Monteiro L, Mégraud F. “Par quels moyens rechercher *Helicobacter pylori* avant et après eradication?” *Gastroenterol Clin Biol* 1999; 23: C3-C19.
90. Moran AP. Pathogenic properties of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996; 215:22-31.
91. Moyaeddi P, Soo S, Deeks J et al. Systematic review and economic evaluation of *H. pylori* eradication treatment for non-ulcer dyspepsia. *British Med Journal* 2000; 321: 659-64.
92. Mullis KB, Faloona F. Specific synthesis of DNA in vitro via a Polymerase-catalysed chain Reaction. *Meth Enzymol* 1987; 155: 335-50.

93. Occhialini A, Uradaci M, Doucet-Populaire F et al. Macrolides resistance in *Helicobacter pylori*: rapid detection of point mutations and assays of macrolide binding to ribosomes. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 2724-8.
94. Oleastro M, Menard A, Santos A, Lamouliatte H, Monteiro L, Barthelemy P, Megraud F. Real-time PCR assay for rapid and accurate detection of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 2003 Jan;41(1):397-402.
95. Oluwasola Ao, Otegbayo JA, Ola SO, Ebili HO, Afolabi Ao, Odaio GN; Correlation of cag-A serological status with histological parameters of chronic gastritis among dyspeptic patients in south western Nigeria; *Ann Ib Postgrad Med.* 2012; 10 (1): 18-24..
96. Palmer ED. Investigation of the gastric spirochaetes of the human. *Gastroenterology* 1954; 27:218-20.
97. Peston JG. Review article *Helicobacter pylori* eradication-understandable caution but no excuse for inertia. *Aliment Pharmacol Ther* 1994; 8: 369-89.
98. Pieramico O, Zanetti M. Treatment with quadruple therapy after triple therapy failure in patients infected with *Helicobacter pylori* resistant strains. *Gastroenterology* 1999; 116: A282.
99. PNUD Relatório Estatística Mundial da Saúde 2006. Angola.
100. Prasad Modcoicar, Jerónimo Arteaga, Lina Cunha, Carla Carrilho, Cesaltina Lorenzoni, Padrão Endoscópico e Histo-Patológico em Doentes Dispépticos no Hospital Central de Maputo-Moçambique, *J Port Gastrenterol.* Vol.18 nº5 Lisboa set. 2011.
101. Quina M. *Helicobacter pylori* The Portuguese Scene. Grupo de Estudo Português do *Helicobacter pylori* (GEPHP). *Eur J Cancer Prev* 1994; 3:65-7.
102. Quinonez J, Chen F, Torres O et al Nutricional status of *H. pylori* infected children in Guatemala as compared to uninfected peers. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:395-8).
103. Rinaldi V, Zullo A, De Francesco V et al. *Helicobacter pylori* eradication with proton pump inhibitor based triple therapies and re-treatment with ranitidine bismuth citratebased triple therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 163-8.
104. Rocha GA, Oliveira AMR, Queirz DMM High seroconversion for *Helicobacter pylori* in children. *Gut* 1995;37 Suppl:A27.

105. Romano M, Iovene M, Montella F et al. Pretreatment antimicrobial-susceptibility testing in eradication of *H. pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3317-8.
106. Rosendall R, Kuipers E, Buitenwerf et al. *Helicobacter pylori* and the birth cohort effect: evidence of continuous decrease of infection rates in childhood. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1480-2.
107. Rosenow EC, Sanford AH. The bacteriology of ulcer of the stomach and duodenum in man. *J Infect Dis* 1915 ; 17:219-26.
108. Ruge M, Busatto G, Cassaro M, Shiao YH, Russo V, Leandro G, Avellini C, Fabiano A, Sidoni A, Covacci A. Patients younger than 40 years with gastric carcinoma: *Helicobacter pylori* genotype and associated gastritis phenotype. *Cancer*. 1999 Jun 15;85(12):2506-11.
109. Rupnow M, Shachter R, Douglas K et al. A dynamic transmission model for predicting trends in *Helicobacter pylori* and associated diseases in the United States. *Emerg Infect Dis* 2000; 6.
110. Salomon H. Uber das spirillum des saugtiermagens und sein verhalten zu den belegzellen. *Zentralbl Bakt (Abt. 1)* 1896 ; 19:433-442.
111. Sathar NA, Gouws E, Simjee AE, Mayat AM – Seroepidemiological study of *Helicobacter pylori* infection in South African children. *Trans R Soc Trop Med Hyd*. 1997 jul – ; 91) (4): 393 – 5.
112. She Vá Patologia gastroduodenal associada à infecção – úlcera péptica in *Helicobacter pylori* da Infecção à Clínica, ed. A. Sousa Guerreiro, Lurdes Monteiro. 2001, 59-68.
113. Solterman A, Koetzer S. Eignem; Correlation of *Helicobacter pylori* virulence genotypes vaca and cagA with histological parameters of gastrites and patients age: *Mod Pathol*. 2007 Aug;20(8):878-83.
114. Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975 ; 16:590-7.
115. Steer HW. Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. *J Clin Pathol* 1975 ; 28:639-46.
116. Stone GG, Shortridge D, Falmm D, et al. Identification of a 23S rRNA gene mutation in claritromycin-resistant *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 1996. 1:227-228.

117. Talley N, Colin Jones D, Koch K et al. Functional Dyspepsia: a classification with guidelines for diagnosis and management. *Gastroenterol Int* 1991; 4: 145-60.
118. Thomson, ABR. The prevalence of clinically significant endoscopic findings in primary care patients with uninvestigated dyspepsia: the Canadian Adult Dyspepsia Empiric Treatment – Prompt Endoscopy (CADET-PE) study. *Aliment Pharmacol Ther*, Oxford, p. 1481-1491. Jun. 2003.
119. Tomb JF, White O kerlavage AR et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 388: 539-47.
120. Toracchio S, Celline, Di Campli E et al Role of antimicrobial susceptibility testing on efficacy of triple therapy in *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1639-43.
121. Trepsi E, Broglia F, Villani I et al. Distinct profiles of Gastritis in Dyspepsia Sub groups. There diferente clinical responses to gastrites healing after *H. pylori* eradication. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29; 884-8.
122. Tummuru MKR, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a High-molecular-mas major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect. and Immunity*, 1993. 61:1799-1809.
123. Tytgat, GNJ. Role of endoscopy and biopsy in the work up of dyspepsia. *Gut: An International Journal Of Gastroenterology And Hepatology*, Londres, p. 13-16. 01 maio 2002.
124. Vaira D, Malfertheiner P Mégraud F, Axon A et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new noninvasive antigen – assay. *Lancet* 1999; 354: 30-3.
125. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon ATR et al. Noninvasive antigen-based assay for assessing *Helicobacter pylori* eradication: A European Multicenter Study. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 925-9.
126. Van der Wouden E, Thijs J, Van Zwet A et al. Reability of biopsy based diagnostic tests for *Helicobacter pylori* after treatment aimed at its eradication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1255-8.
127. Van Doorn LJ, Debets-Ossenkopp Y, Marais A et al. Rapid detection by PCR and reverse hybridization of mutations in the *Helicobacter pylori* 23S rRNA gene, associated with macrolide resistance. *Antimicrob agents Chemother* 1999; 43: 1779-82.
128. Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R et al. Expanding allelic diversity of *Helicobacter pylori vacA*. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2597-603,a.

129. Versalovic J, Osato MS, Spakovsky K, Dore MP, Reddy R, Stone GG, et al. Point mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* associated with different levels of Clarithromycin resistance. *J antimicrob Chemother* 1997;40:283-6.
130. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, et al Mutations in 23S rRNA are associated with Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:477-80.
131. Vicari J, Peek R, Falk G et al. The seroprevalence of cagA-positive *H. pylori* strains in the Spectrum of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1998;115:50-7.
132. Wang Z, Liu L, Ji J, Zhang J, Liu B, Zhu Z, Yu Y – ABO Blood Group System and gastric cancer. A case – control, study and Meta – Analysis. *international journal of molecular sciences*.
133. Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983 1:1273-1275.
134. Witteman E (ed.). Clinical and pathophysiological aspects of eradication of *Helicobacter pylori*. Academic Thesis. University of Amesterdam 1994.
135. Xia H, Talley N. *Helicobacter pylori* infection, reflux esophagitis, and atrophic gastritis. Na unexplored triangle. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 394-400.
136. Yamaoka Y. increasing evidence of the role of *Helicobacter pylori* SabA in the pathogenesis of gastroduodenal desease. *J infect Dev Ctries*. 2008 Jun 1; 2(3): 174-81.

Anexos

Anexo 1. Organização da Rede Sanitária de Angola

Setor público civil

A organização sanitária é do tipo piramidal clássico, com um nível periférico que presta cuidados de saúde primários e um sistema hospitalar de referência/contra referência escalonada aos níveis municipal, provincial e nacional.

A cobertura sanitária do nível primário - Hospitais Municipais, Centros de Saúde de Referência, e Postos de Saúde - aumentou consideravelmente como mostra o quadro seguinte:

Tabela 1. Evolução do número de unidades sanitárias funcionais (2003-2008).

Unidades Sanitárias	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Hospitais Nacionais	9	9	9	9	9	11
Hospitais Provinciais	33	33	33	33	33	45
Hospitais Municipais	52	116	116	132	132	146
Centros de Saúde	162	272	272	313	316	359
Postos de Saúde	696	1.026	1.026	1.468	1.472	1.841

Fonte: GEPE/2010

A oferta de cuidados de saúde no sector público varia bastante de uma Província para outra e mesmo dentro da mesma Província. A nível primário, os Hospitais Municipais desempenham dificilmente o seu papel de primeira referência devido à não funcionalidade de certos serviços, e à falta de pessoal qualificado e de equipamentos (por exemplo, serviços de cirurgia obstétrica completa). A maior parte do pessoal tem formação em saúde básica e baixo acesso a competências/especializações. Como paliativo, o Ministério da Saúde vai pôr à disposição formação profissional através de Escolas Técnicas Provinciais da Saúde.

O tabela 6 mostra que o número de médicos estrangeiros (cubanos, vietnamitas e coreanos). O rácio médico/habitantes é muito baixo, de 1,12 médicos por 10.000 habitantes. Muito embora o número de enfermeiros represente mais de 50% do total do pessoal da saúde, existe ainda uma grande insuficiência de parteiras. Por último, as condições de trabalho embora bastante melhoradas desde o fim da guerra continuam ainda a ser precárias.

Tabela 2. Recursos humanos do Ministério da Saúde (recenseamento de 2008)

Qualificação	Número	%
Médicos nacionais	892	1.4
Médicos estrangeiros	1.450	2.2
Enfermeiros	29.766	45.7
Técnicos	5.226	8.0
Administrativos	22.206	34.1
Apoio hospitalar	5.659	8.7
TOTAL	65.199	100

Fonte: Direção Nacional de Recursos Humanos (MINSA)

Foi aprovado ao 31 de Outubro de 2011 o Decreto sobre o estatuto orgânico do Governo Provincial de Luanda, órgão desconcentrado da Administração Central que visa assegurar a realização das funções do poder Executivo na Província, promover e orientar o desenvolvimento socioeconómico, bem como garantir a prestação dos serviços públicos da respetiva área geográfica. Ao Governo Provincial incumbe garantir a assistência social e sanitária, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida da população, assim como a qualificação e o desenvolvimento dos recursos humanos a nível local.

Compete ao Vice-Governador para o Sector Social coadjuvar o Governador Provincial na coordenação e execução das tarefas ligadas as áreas sociais, nomeadamente a Saúde.

A Direção Provincial da Saúde e o serviço desconcentrado do governo Provincial incumbido de assegurar a execução das atribuições e competências específicas do governo, nesta especialidade.

Compete à Direção Provincial da Saúde o seguinte:

- ✓ participar ativamente no estudo, coordenação e regulamentação da política da saúde na Província.
- ✓ Organizar e coordenar todas as actividades sanitárias a desenvolver na Província.
- ✓ Propor e executar políticas e estratégias de desenvolvimento das actividades afetas à saúde na Província.
- ✓ Elaborar e apresentar propostas e projetos para a realização de investimentos nos domínios de actividades sob a sua dependência.
- ✓ Exercer as demais funções que lhe forem determinadas superiormente.
- ✓ A Direção Provincial da Saúde é dirigida por um Diretor e compreende os seguintes serviços internos:
 - Departamento de Assistência Hospitalar.
 - Departamento de Estatística, Planeamento e Recursos Humanos.
 - Departamento de Saúde Pública.
 - Departamento de Inspeção de Saúde.

Foi igualmente aprovado na mesma data o Decreto sobre o estatuto orgânico do Município de Luanda que coincide com a cidade de Luanda, e representa o órgão desconcentrado da Administração local que visa assegurar a realização das funções do Estado no Município.

A cidade de Luanda desconcentra-se em distritos urbanos dirigidos por Administradores que fazem parte da Comissão Administrativa Municipal de Luanda, Órgão Executivo do Município que responde perante o governador provincial.

A Repartição Municipal de saúde e um serviço desconcentrado da Administração Municipal, incumbido de assegurar a execução das ações, actividades, programas, projetos e medidas políticas no domínio da saúde pública e assistência médica e medicamentosa no Município. Compete à Repartição Municipal de Saúde:

- ✓ Participar ativamente no estudo, coordenação e regulamentação da política de saúde no Município;
- ✓ Organizar e coordenar todas as actividades sanitárias a desenvolver no Município;
- ✓ Planear e gerir as unidades sanitárias (hospitais, centros e postos de saúde) bem como os laboratórios Municipal de controlo e Qualidade de produtos farmacêuticos;
- ✓ Propor e executar políticas e estratégias de desenvolvimento das actividades afetas a saúde a nível do Município;
- ✓ Superintender o Hospital Municipal, Centros e Postos de saúde;
- ✓ Instruir os processos de abertura de estabelecimentos hospitalares, farmácias e similares privados no Município;
- ✓ Inspeccionar os estabelecimentos hospitalares públicos e privados de âmbito municipal;
- ✓ Realizar as pré-vistorias e participar nas vistorias dos novos estabelecimentos hospitalares, farmácias e similares de âmbito municipal;
- ✓ Controlar a distribuição dos medicamentos e equipamentos aos estabelecimentos hospitalares de âmbito municipal;

- ✓ Proceder o pagamento dos vencimentos do pessoal médico e paramédico dos estabelecimentos hospitalares e dos Órgãos e Repartições adstritos a repartição Municipal;
- ✓ Promover a conservação dos Hospitais Municipais, centros e postos de saúde, bem como de infraestruturas ligadas ao desenvolvimento dos cuidados primários de saúde, nos bairros, nas povoações e nas comunas;
- ✓ Gerir a rede sanitária do Município;
- ✓ Exercer o controlo sobre o uso das licenças passadas no âmbito da saúde, cuja atividade se justifique;
- ✓ Organizar uma base de dados com informações referentes a área da saúde;
- ✓ Exercer as demais funções específicas que lhe forem determinadas superiormente.

A Repartição Municipal de Saúde integra as seguintes secções:

- ✓ Secção de assistência hospitalar;
- ✓ Secção de estatística, planeamento e recursos humanos;
- ✓ Secção de saúde pública;
- ✓ Secção de inspeção de saúde;

Setor público militar

O Serviço de Saúde das Forças Armadas, conta atualmente com um Hospital Militar Central, com cerca de 500 camas e um total de 1.650 camas nos Hospitais Militares dispersos pelo país.

Este sector emprega cerca de 10.000 pessoas (técnicos superiores, enfermeiros e outro pessoal de apoio) das quais 250 são médicos. Tem uma cobertura nacional, e é preferencialmente destinado ao pessoal militar, embora, desde os Acordos de Luena, dê assistência à população civil, através de serviços pagos.

Setor para-público

Trata-se da criação de estruturas sanitárias por parte de certos Ministérios, de Institutos e/ou de sociedades ou de empresas a partir de financiamentos públicos, mas com uma gestão privada e receitas próprias.

A importância destas instituições cresceu, como resultado da baixa qualidade dos serviços oferecidos pelo setor público. Pode citar-se, a Clínica Sagrada Esperança, pertencendo à empresa ENDIAMA, a Clínica Girassol, pertencendo à sociedade petrolífera Sonangol, e a Clínica Multiperfil, sob a dependência da Casa Militar da Presidência da República.

Assiste-se regularmente à abertura de Clínicas Privadas que atraem os Recursos Humanos do sector público, enfraquecendo na mesma proporção a qualidade dos serviços públicos. Cada vez mais, a Administração pública e as Sociedades públicas utilizam unidades sanitárias deste tipo para o seu pessoal.

Setor privado

O Sector Privado não lucrativo é principalmente constituído por unidades sanitárias geridas por organizações confessionais. Este setor que não tem sido até agora objeto de recenseamento é pouco conhecido, sendo difícil avaliar o seu impacto.

Algumas Organização Não Governamentais são conhecidas, nomeadamente a Caritas, que apoia integralmente a luta contra a tripanossomíase humana na província do Uíge, o Hospital da Divina Providência no Bairro de Kilamba-Kiayi em Luanda, gerido por católicos italianos, e as Irmãs de Jesus no Hospital de Bocoio, na província de Benguela.

O Sector Privado lucrativo, embora em expansão, em especial nas áreas urbanas, está insuficientemente regulado e fiscalizado, não havendo informação sistematizada disponível sobre o mesmo.

Sector tradicional

Embora não regulamentado, o sector da medicina tradicional parece ser uma alternativa para uma franja significativa da população. Embora seja uma das competências da Direção Nacional de Saúde Pública, promover o estudo da medicina tradicional com vista ao seu desenvolvimento e integração progressiva no Serviço Nacional de Saúde, poucas actividades neste sentido foram efetuadas.

Disponibilidade dos Medicamentos Essenciais e Genéricos

O Estado é o primeiro importador de medicamentos para o sector público. A produção nacional de medicamentos é ainda insuficiente, e a empresa Angoméfrica situada em Luanda e Benguela está em fase de reorganização e de reativação da produção.

As Unidades sanitárias públicas que gozam de autonomia financeira (Hospitais Nacionais por exemplo) e as unidades privadas, adquirem também os seus medicamentos junto de importadores locais.

O abastecimento em Medicamentos Essenciais e Genéricos, para o nível primário, é centralizado através do Programa Nacional dos Medicamentos Essenciais. A aquisição de "kits" é feita através de concursos internacionais, no entanto, as compras não são regulares, o que origina ruturas frequentes. No âmbito do Programa Nacional de Luta contra o VIH/SIDA, o Estado fornece gratuitamente a todas as províncias antirretrovirais, bem como os suplementos vitamínicos e o Cotrimoxazol. Para os tuberculostáticos, o Fundo Global, assegura o fornecimento gratuito no quadro da estratégia DOTS, em caso de disponibilidade.

No que diz respeito à armazenagem, as infraestruturas existentes são insuficientes e degradadas e não reúnem as condições necessárias para a conservação dos medicamentos. A distribuição de medicamentos e outros produtos farmacêuticos é difícil ao nível provincial e municipal devido às más condições das vias de

comunicação. Uma das recomendações do 20º Conselho Consultivo consiste na criação de depósitos municipais de medicamentos e em acelerar a formação de recursos humanos para a logística dos medicamentos. Não existe Laboratório de Controlo de Qualidade dos Medicamentos, para além do inserido na Angomédis. Para as vacinas, existe uma cadeia de frio funcional mas fragilizada pela falta de energia elétrica nas cidades ou dificuldades de compra de gasóleo ou gasolina, nas Unidades Sanitárias de primeiro nível.

Estudos feitos a nível dos centros de saúde revelam uma utilização irracional dos medicamentos devido à baixa competência dos prescritores. Os conceitos de Medicamentos Essenciais e Genéricos e a sua utilização, apesar de esforços realizados pelo Programa Nacional dos Medicamentos Essenciais na formação, continuam ainda insuficientes.

Fora das ruturas temporárias de stock, a liberalização dos preços dos medicamentos contribui para restringir a sua acessibilidade às populações mais pobres. Nos estabelecimentos farmacêuticos de Luanda, os preços de um mesmo medicamento podem variar de um a três. Para os kits, existem preços diferentes. Se compararmos os custos dos kits adquiridos pelo Ministério da Saúde ou pelos Governos Provinciais, os preços são muito variável. Isto tem uma incidência particular nos tratamentos de certas doenças crónicas que exigem tratamentos prolongados ou por toda a vida. Estudos feitos em 2005 revelaram que as despesas *per capita* em medicamentos eram de aproximadamente 1.2 \$ USD, enquanto a OMS considera uma despesa necessária de 10 a 50 \$ USD.

A Direção Nacional de Medicamentos e Equipamentos é o órgão de execução central, encarregue de elaborar normas que regulamentam o exercício da atividade farmacêutica e promove a produção, aquisição, utilização e manutenção de tecnologias apropriadas

para a ação de saúde no domínio dos medicamentos, meios de diagnóstico, equipamentos e materiais médico-cirúrgicos.

A Central de Compras e Aprovisionamento de Medicamentos e Meios Médicos, abreviadamente designada por «CECOMA», criada em 2011, é um Instituto Público encarregue de desenvolver a aquisição, a distribuição e a manutenção de meios médicos e não médicos, em coordenação com a Direção Nacional de Medicamentos e Equipamentos e o Gabinete de Estudos, Planeamento e Estatística (GEPE) do Ministério da Saúde.

Principais problemas de saúde pública

O controlo das principais doenças endémicas registou progressos nestes últimos anos embora as doenças infecciosas e parasitárias sejam ainda predominantes, havendo um aumento notório das doenças não transmissíveis e particularmente de acidentes da via pública. A saúde materno infantil permanece uma prioridade do Governo na construção de novas infraestruturas adaptadas (Postos de Saúde e Centros de Saúde de Referência).

Destacam-se os seguintes problemas essenciais:

Forte mortalidade materna

A taxa de mortalidade materna, avaliada pela OMS em 2001 em 1.400 por 100.000 nados vivos, era, em 2009, de 610 para 100.000 nados vivos, concluindo-se que permanece muito elevada. Este nível elevado de mortalidade materna é justificada pela insegurança reinava na maior parte do país durante os anos de guerra, as dificuldades de comunicação, as destruições das unidades sanitárias e a insuficiência qualitativa e quantitativa de pessoal de saúde. As causas nas estruturas sanitárias, são, por ordem de importância: hemorragias, eclampsia, malária, distocias, abortos e septicemias, a que se acrescentam causas culturais, como a tomada de decisão tardia pelos agregados familiares no acesso às estruturas sanitárias. Além disso, o risco, é agravado pelas

dificuldades de transporte rodoviário e pela insuficiência de prestação de qualidade nas Unidades Sanitárias.

Forte mortalidade infantil

Nas crianças com menos de 5 anos, as taxas de mortalidade são ainda muito elevadas: a taxa de mortalidade infantil em 2009 foi de 116 por 1.000 nados vivos e a taxa de mortalidade perinatal de 35 por 1.000 nados vivos. Já a taxa de mortalidade de crianças com menos de 5 anos foi de 195 por 1.000 nados vivos.

Hoje, com o restabelecimento da paz e com o programa nacional de reconstrução (reabilitação das estradas, construção de novas unidades sanitárias), existe uma séria esperança de redução importante das taxas de mortalidade materna e infantil. Adicionalmente, a taxa de cobertura vacinal para as doenças infecciosas orientadas pelo Programa Alargado de Vacinação melhorou bastante em todos os municípios do país. Em 2006 a cobertura de vacinas contra a difteria, tétano e tosse convulsa nas crianças com menos de 1 ano de idade era de apenas 44%. A intensificação da vacinação de rotina em 2010 com aumento da cobertura vacinal para todos os antígenos deve contribuir para a melhoria deste indicador.

Contudo, o cumprimento dos *Objectivos de Desenvolvimento do Milénio*, prevendo a redução de três quartos da taxa de mortalidade materna e a redução de dois terços da taxa de mortalidade das crianças com menos de 5 anos até 2015, é uma tarefa ambiciosa.

Má nutrição

A má nutrição é um fator agravante das patologias infecciosas. No entanto, o período de paz melhorou substancialmente a situação alimentar, contribuindo para tal, o programa de desminagem e o regresso ao campo das populações camponesas, que permitiu o aumento da disponibilidade alimentar.

Contudo, o número de casos de má nutrição aguda está a diminuir, embora a persistência de agregados familiares pobres (para certos agregados familiares o consumo diário de calorias é inferior a um terço do que é recomendado), contribua para a taxa elevada de emagrecimento nas crianças:

- ✓ Em 2001, 31% das crianças com menos de 5 anos tinha insuficiência de peso e 6,2% de entre elas estavam gravemente subnutridas.
- ✓ Em 2007, um inquérito de nível nacional, revelou que 8,2% das crianças entre os 6-59 meses apresentavam má nutrição aguda e 29,2%, má nutrição crónica. Adicionalmente, 7,4% apresentavam um perímetro braquial inferior a 12 cm, com 2,2% tendo um elevado risco de morte (perímetro braquial inferior a 11cm).

Desde o fim da guerra, as medidas básicas de saúde pública, como a promoção do aleitamento materno exclusivo até aos 6 meses, a utilização de sais de rehidratação oral, o consumo de sal iodado e a administração da vitamina A, foram levadas a cabo. A taxa de cobertura de Vitamina A atingiu 85% em 2007.

Campanhas de higiene que preconizam a lavagem das mãos com água e sabão, a utilização de mosquiteiros impregnados para evitar a malária, foram igualmente promovidas.

Forte prevalência das patologias infecciosas nas crianças com idade superior a 5 anos e em adultos

As principais morbidades estão ligadas à malária (milhões de casos), tuberculose (50.000 novos casos por ano) e ao VIH/SIDA (ver abaixo). Além disso, nota-se uma forte prevalência das diarreias (ligadas às dificuldades de acesso à água potável), das infeções respiratórias e da hepatite B. Note-se uma baixa de intensidade da epidemia de cólera, muito embora a raiva, resultante de cães vadios soltos nas ruas constitua um grave problema de saúde pública.

As doenças emergentes, como as febres hemorrágicas (Ébola, Marburg), a gripe aviária e o síndrome respiratório agudo grave, representam um potencial epidémico que ameaça o país.

No que respeita às doenças parasitárias, a tripanossomíase permanece a principal doença ainda não controlada, havendo ainda focos dispersos de bilharziose, principalmente urinária.

A estas principais morbilidades, juntam-se as resultantes do desenvolvimento económico, doenças do mundo "moderno" como, a hipertensão arterial e as doenças cardiovasculares, a diabetes e o cancro.

Finalmente, e sinal dos tempos e da evolução exponencial dos transportes rodoviários, os acidentes da via pública anunciam-se como um problema de saúde pública que cada vez mais preocupa.

Forte risco de extensão da epidemia do VIH/SIDA e das Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST)

Devido aos anos de isolamento ligados à guerra, Angola foi protegida indiretamente da epidemia de VIH/SIDA, que afetou severamente os seus países vizinhos nomeadamente o Botswana, a Zâmbia e o Congo. Em Angola com os dois tipos, VIH1 e VIH2, a taxa média, nos adultos, inicialmente considerada de 8%, é anunciada hoje em redor dos 2 a 3%, com diferenças existentes de uma província para outra (a predominância é elevada nas províncias de Cabinda e Luanda por exemplo) e de uma cidade para outra. Existem atualmente cerca de 200.000 pessoas que vivem com o VIH/SIDA, sendo que 47.000 deveriam beneficiar do tratamento por antirretrovirais, quando apenas 17.079 realmente beneficiam. Prevê-se que existam cerca de 58.510 órfãos da SIDA.

Em termos de serviços regista-se um aumento considerável da cobertura dos serviços de aconselhamento e rastreio, prevenção da transmissão vertical, e terapia com

antirretrovirais cuja utilização contribui a estabilização das taxas de prevalência e de transmissão vertical do VIH. Junta-se um aumento regular das IST, que são determinantes na transmissão do VIH. A transfusão de sangue contribui com 10% de todas as contaminações pelo VIH. Com o regresso da paz e as novas facilidades de transportes, Angola deve instaurar uma prevenção drástica da transmissão do VIH/SIDA para evitar um aumento rápido de infecção através dos movimentos migratórios.

Lições aprendidas e perspectivas futuras

Assim, com base na análise do contexto do sector da Saúde e nas prioridades estratégicas do actual governo, foram identificadas as seguintes prioridades de atuação para os próximos anos:

- Continuar o apoio ao reforço das capacidades do Ministério da Saúde para a definição e elaboração de um quadro estratégico do sector da saúde.
- Continuar com o apoio ao reforço das capacidades da administração aos níveis provincial e municipal (sobretudo em planificação estratégica e operativa, orçamental, organização e gestão).
- Continuar o apoio ao reforço das capacidades dos recursos humanos do Ministério da Saúde. O país tem necessidade de elaborar um novo Plano Nacional de Desenvolvimento dos Recursos Humanos, que clarifique o quadro estratégico dos recursos humanos e favoreça a sua rápida implementação.
- Centrar o apoio na resolução dos problemas de saúde prioritários para o país. As elevadas taxas de mortalidade materno e infantil devem ser reduzidas o mais rápido possível.

São assim prioritários 3 eixos estratégicos de intervenção:

- ✓ Desenvolvimento de políticas e planos estratégicos;

- ✓ Elaboração de bases de dados e de sistemas de informação;
- ✓ Desenvolvimento da documentação e informação, incluindo bibliotecas virtuais.

Neste contexto, os Planos Operacionais Anuais das Províncias são instrumento de coordenação local no processo de revitalização do sistema municipal de saúde. Os parceiros poderão ser convidados a intervir tomando em consideração as estratégias definidas nos Planos de Provinciais de Desenvolvimento Sanitário.

A situação actual, com longas listas de doentes em espera para a primeira consulta (e ainda em crescendo), é de referir que a maioria dos doentes gastroenterológicos refere não ter acesso aos medicamentos por dificuldades financeiras. Estes fatores e a maior prevalência de gastrites no diagnóstico endoscópico e histológico, motivou o desenvolvimento do presente estudo.

Por isso nos propusemos realizar o presente trabalho em ambiente hospitalar mas também na comunidade, nomeadamente em três grupos populacionais distintos das regiões de Luanda (bairro do Sambizanga e Comuna da Funfa), Bengo (Município do Ambriz) e Província de Cabinda.

Caracterização dos locais onde foi realizada a amostragem

Hospital

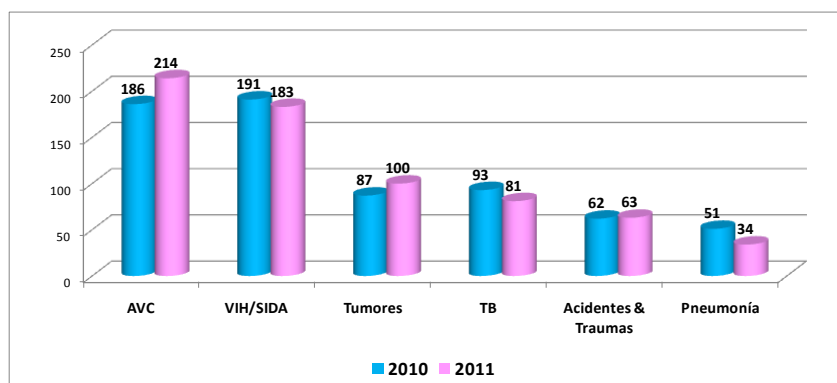
O Hospital Militar Principal / Instituto Superior (HMP/IS), designado quando da sua fundação, em 1962, por Hospital Militar Central, é a unidade médica terminal especializada no sistema de evacuação e tratamento das Forças Armadas Angolanas, com capacidade para 500 camas. Para os exames complementares de diagnóstico, o HMP/IS, conta com os Serviços de Imagiologia, de Anatomia Patológica e de Patologia Clínica. As doenças predominantes no HMP/IS são as doenças não transmissíveis (82,2%) sendo que as doenças transmissíveis ocupam 11,8% da patologia hospitalar. No ano de 2009 as três primeiras causas de morte foram o SIDA (n: 232, 23,1%), as

doenças cerebrovasculares (n:156, 16,4%) e tumores malignos. REF: Relatório anual 2010-2011.



Principais causas da morte. HMP/IS, 2010-2011.

Doença	Ano 2010		Ano 2011	
	No.	%	No.	%
Doenças Cerebrovasculares	186	19,7	214	22,7
VIH/SIDA	191	20,3	183	19,4
Tumores Malignos	87	9,2	100	10,6
Tuberculose	93	9,9	81	8,6
Acidentes e Traumas	62	6,6	63	6,7
Pneumonia e Broncopneumonia	51	5,4	34	3,6
Resto	272	28,9	267	28,3
Total	942	100,0	942	100,0



No.	2010	2011
1	VIH/SIDA (191)	Doenças Cerebrovasculares (214)
2	Doenças Cerebrovasculares (186)	VIH/SIDA (183)
3	Tuberculose (93)	Tumores Malignos (100)
4	Tumores Malignos (87)	Tuberculose (81)
5	Acidentes e Traumas (62)	Acidentes e Traumas (63)
6	Pneumonia e Broncopneumonia (51)	Pneumonia e Broncopneumonia (34)

As doenças do fórum gastroenterológico, ocupam o nono lugar num universo de 27.984).

Fonte: *HMP/IS, relatório anual 2009*

O Serviço de Gastroenterologia do HMP/IS possui 6 camas para internamento e uma "Unidade Técnica", onde está situado o laboratório para o estudo do *H. pylori* e onde são efetuados exames endoscópicos do aparelho digestivo. Como recursos humanos possui 4 especialistas em gastroenterologia e 5 internos do internato complementar da mesma especialidade. Por semana e em média são observados em consulta 60 doentes e realizadas 40 endoscopias digestivas altas. Em Angola, é a segunda unidade hospitalar pública onde se realizam técnicas endoscópicas. Durante o ano de 2008 e 2009, efetuou 5.321 e 4.576 exames, respetivamente.

O outro hospital em Angola com assistência médica diferenciada para doentes do fórum gastroenterológico é o Hospital Américo Boavida, antigo Hospital de S. Paulo e actual Hospital Universitário, com capacidade para 700 camas.

Apenas uma clínica privada no país está equipada com recursos humanos e técnicos para a prestação da assistência em gastroenterologia.

Gastroenterologistas angolanos

Até 1995, a assistência aos doentes do fórum gastroenterológico era exercida por 2 médicos especialistas em Medicina Interna, com diferenciação para a execução de endoscopia digestiva. Após a formação de especialistas em Gastroenterologia (em Portugal) iniciou-se a diferenciação no atendimento dirigido para as consultas com especialistas (actualmente contam-se 8 especialistas angolanos).

Há 6 anos iniciou-se o programa de formação pós-graduada (especialização) a coberto de recente legislação aprovada no país. Há 3 anos foi apresentado à Ordem dos Médicos o Regimento do Internato Complementar em Gastreterologia.

A situação actual, com longas listas de doentes em espera para a primeira consulta (e ainda em crescendo), é de referir que a maioria dos doentes gastreterológicos refere não ter acesso aos medicamentos por dificuldades financeiras. Estes fatores e a maior prevalência de gastrites no diagnóstico endoscópico e histológico, motivou o desenvolvimento do presente estudo.

Comunidade

O bairro do Sambizanga

O bairro do Sambizanga foi escolhido tendo em atenção a densidade populacional e facilidades de contacto. Sendo um dos seis municípios que constituem a área urbana da Província de Luanda, tem cerca de 244.000 habitantes e uma superfície de 14,5 km². Rica em mercados rurais/artesanais, com deficiente saneamento básico, água potável e



rede elétrica, tem quatro centros de saúde, onde prestam serviço médicos policlínicos.

Os doentes que necessitam de consultas de especialidade, são encaminhados para os Hospitais Centrais.

Comuna da Funda no Município do Cacuaco (Província de Luanda)



A "Funda" é a comuna mais habitada do Município do Cacuaco e situa-se a 50 km de Luanda. Tem uma população estimada em 60.000 habitantes, caracterizada por ser jovem e ser oriunda das províncias de Benguela.

As condições higiénico-sanitárias são deficientes. Em cada 4 agregados familiares, 3 não têm latrina, nem casa de banho, fazendo as suas necessidades fisiológicas nas lixeiras. Não possuem água potável tratada, consumindo-a diretamente do rio.

A assistência médica é prestada com o apoio da unidade militar que se encontra instalada no município e conta com médico, estomatologista, enfermeiros e técnicos de laboratório. A unidade tem capacidade para internamento com 20 camas. A estrutura de saúde civil não possui médico, a população é assistida por enfermeiros, parteiras tradicionais e agentes de saúde. É composta pelo Centro de Saúde Polivalente e um Centro Materno Infantil.

O município do Ambriz na Província do Bengo



Ambriz, é um Município da província do Bengo com 4.204 km² e cerca de 17.000 habitantes. Limitado a norte pelo Município do N'Zeto, a este pelo Município de Nambuanguo, a Sul pelo Município do Dande e a Oeste pelo Oceano Atlântico, é uma zona essencialmente piscatória e rural mas de nível da subsistência. Os hábitos alimentares são diversificados entre carne, peixe e produtos hortícolas, com predominância para mandioca e os seus derivados.

A rede sanitária é constituída pelo Hospital Municipal, 1 Centro de Saúde e 8 Postos de Saúde. O Hospital Municipal tem a capacidade para 37 camas. A cobertura sanitária parece estender-se á todas as comunas do Município. Os cuidados médicos são prestados por um médico e por enfermeiros ou agentes de saúde de base, nas comunas. As doenças mais frequentes são as doenças diarreicas, a malária e as doenças sexualmente transmissíveis.

A Província de Cabinda



A Província de Cabinda é uma das 18 províncias da República de Angola, tem uma superfície de 7.283 km² e cerca de 265.000 habitantes, sendo limitada pela República do Congo a norte, pela República Democrática do Congo a sul e a leste e pelo Oceano Atlântico a oeste. O clima é tropical húmido, com florestas exuberantes e precipitações anuais em torno de 800 mm. A temperatura média anual varia entre os 25 e os 30° C. Esta província possui hábitos alimentares próprios que podem equacionar a prevalência do *H. pylori* pelo que esta Província foi escolhida para o nosso estudo.

Anexo 2. Inquérito Grupo I

PROTOCOLO DE ESTUDO

PESQUISA DE *HELICOBACTER PYLORI* NAS FEZES

FICHA DE INQUÉRITO Nº _____

Idade _____ anos. Nº de quartos na tua casa: _____ Nº de pessoas por quarto: _____

Água (colocar uma cruz círculo à volta da resposta dada)	Sim	Não
Canalizada		
Reservatório		
Cacimba		
Rio		

Sanitários (colocar uma cruz círculo à volta da resposta dada)	Sim	Não
Latrina		
Casa de banho com sanita		
No campo ao ar livre		

Queixas (colocar uma cruz círculo à volta da resposta dada)	Sim	Não
Dor no estômago		
Azia/estômago quente		
Vontade vomitar depois de comer		
Come pouco e fica cheio		

Duração das queixas	Menos de 6 meses		
	Mais de 6 meses		

Agregado familiar (P: Pai; M: Mãe; MM: Irmão; MF: Irmã; N: Neto/a)

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P11	P12	P13	P14	P15
Sexo	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
Idade															
Relação Familiar (ver legenda)															
Sabe ler	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Sabe escrever	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Nível escolaridade															

Outros: (sobrinho, cunhada, etc.):

Anexo 3. Inquérito Grupo II



FORÇAS ARMADAS ANGOLANAS
ESTADO MAIOR GENERAL
HOSPITAL MILITAR PRINCIPAL/INSTITUTO SUPERIOR

PROJECTO DE ESTUDO DO HELICOBACTER PYLORI

PROTOCOLO

PROJECTO: Estudo da prevalência da infecção por *Helicobacter pylori*, estirpes e resistência aos Macrólidos em doentes submetidos à EDA no HMP/IS.

Data: / /

Informações sobre o doente

Nº Processo: _____ **Iniciais:**

--	--	--	--	--

Sexo: Feminino **Data de Nascimento:** / /

Masculino

Residência: _____

Origem Étnica: Europeu Africano Asiático Outro

Dados clínicos

Sintomas: _____

Diagnostico prévio da infecção por Hp? Há quanto tempo: <1 ano

Sim 1-2 anos

Não Não Sabe >2 anos

Como foi diagnosticado? _____

Fez terapêutica de erradicação?

Sim **Qual:** _____

Não _____

Não sabe

Terapêutica antimicrobiana anterior (ultimo ano)?

Sim **Qual:** _____

Não _____

Não sabe

Relatório endoscópico

Local da biopsia : Antro Corpo

Teste rápido da urease: Positivo Negativo

Observações: _____

Relatório histológico

Histologia : Positiva Negativa

Observações: _____

Data: / /

Anexo 4. Pesquisa de urease em biopsia gástrica – teste rápido (TRU)



Técnicas de Microbiologia

Pesquisa de urease

Pesquisa de urease em biopsia gástrica - teste rápido (TRU)

Produto Biológico:

- Biopsia Gástrica

Material e Equipamento:

- tubos eppendorf de 1,5 ml estéreis

Reagentes:

Solução de ureia a 10%

- Ureia em pó - 10g
- Água destilada - 100ml

Solução de vermelho de fenol a 1%

- Vermelho de fenol em pó - 1g
- Água destilada - 100 ml

Solução de ureia de trabalho (ligeiramente alaranjada)

- Distribuir 1ml da solução de ureia em tubos eppendorf estéreis
- A cada um colocar uma gota de vermelho de fenol (20µl)
- Conservar os tubos a 4°C

Procedimento de pesquisa de urease em biopsia gástrica:

1. Colocar um tubo com a solução de ureia à temperatura ambiente na sala de endoscopia
2. Colher a biopsia gástrica e colocá-la dentro do tubo
3. Aguardar 30 minutos
4. Resultados
 - a. A cor mantém-se alaranjada - resultado negativo para *H. pylori*
 - b. A cor passa a rosa forte - resultado positivo para *H. pylori*

Anexo 5. Coloração de Giemsa



Colorações

Coloração de Giemsa

Produto Biológico:

- Biopsia Gástrica

Material e Equipamento:

- Micrótomo rotativo

Reagentes:

Solução de Giemsa

- Giemsa - 1ml
- Água destilada - 50ml

Procedimento de coloração para biopsia gástrica:

5. Desparafinar, alcoolizar e hidratar os cortes histológicos.
6. Colocar os cortes na solução de Giemsa por 30 minutos
7. Lavar com álcool a 95°, até sair limpo
8. Passar rapidamente em álcool absoluto
9. Clarificar e montar

Anexo 6. Coloração Hematoxilina-Eosina



Técnicas de Anatomia Patológica

Colorações

Coloração Hematoxilina-Eosina

Produto Biológico:

- Biopsia Gástrica

Material e Equipamento:

- Micrótomo rotativo

Reagentes:

- Hematoxilina de Harris
 - Hematoxilina - 0,5g
 - Álcool absoluto - 0,5ml
 - Alúmen de potássio ou amónio - 10,0 g
 - Óxido vermelho de mercúrio - 0,25 g
 - Água destilada - 100,0 ml
- Eosina
 - Eosina Y (amarela hidrossolúvel) - 0,5 g
 - Água destilada - 10 ml
 - Álcool a 95° - 90,0 ml
 - Ácido acético (optativo) - 1 gota
- Diferenciador
 - Álcool a 95° - 100,0 ml
 - Ácido clorídrico - 5 gotas

Procedimento de coloração para biopsia gástrica:

10. Desparafinar, alcoolizar e hidratar.
11. Colocar em Hematoxilina durante 10 minutos.
12. Lavar em água corrente até que os cortes se tornem azuis.
13. Diferenciar rapidamente em álcool-ácido.
14. Lavar em água corrente por 5 a 10 minutos.
15. Lavar rapidamente em álcool a 95°.
16. Colocar em Eosina por 1 a 2 minutos.
17. Diferenciar em álcool a 95°.
18. Desidratar, diafanizar e montar.

Anexo 7. Extracção Qiamp DNA mini Kit (Qiagen)



Técnicas de Biologia Molecular

Extracção de DNA genómico pelo kit Qiagen

Extracção Qiamp DNA mini Kit (Qiagen)

Produto Biológico:

- Biopsia Gástrica

Material e Equipamento:

- Pontas para micropipetas de 20 µl, 200 µl e 1000 µl
- Microtubos de 1500 µl
- Minicolunas de sílica (fornecido no kit)
- Microtubos colectores (fornecido no kit)
- Micropipetas com capacidade máxima de 20 µl, 200 µl e 1000 µl
- Pistões estéreis
- Centrífuga para microtubos
- Banho de água a 56°C
- Banho de água a 70°C
- Vortex

Reagentes:

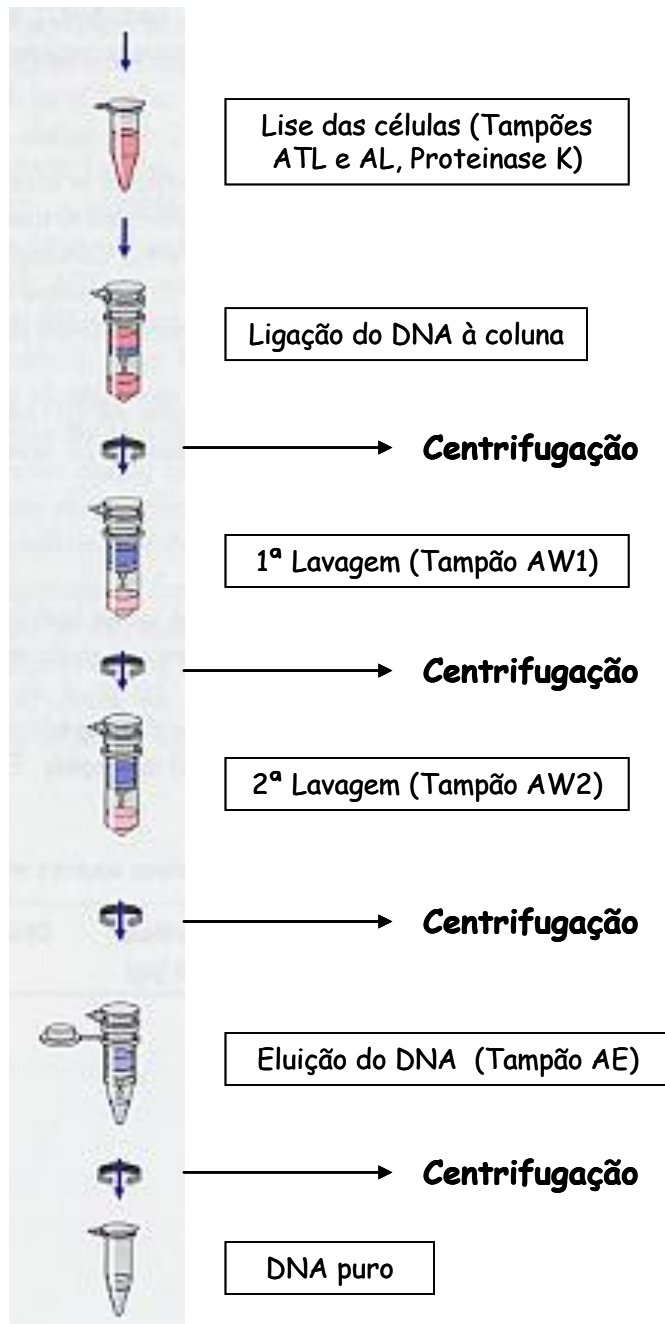
- Tampão ATL (fornecido no kit)
- Tampão AL (fornecido no kit)
- Proteinase K (20 mg/ml) (fornecido no kit)
- Tampão AW1 (fornecido no kit)
- Tampão AW2 (fornecido no kit)
- Etanol 100%
- Tampão de eluição (fornecido no kit)

Procedimento para biopsia gástrica:

1. Colocar o tecido num microtubo de 1500 μ l e adicionar 180 μ l de tampão ATL;
2. Triturar o tecido com um pistão descartável, estéril
3. Adicionar 20 μ l de proteinase K. Agitar no vortex, incubar a 56°C até dissolução completa;
4. Adicionar 200 μ l de tampão AL. Agitar no vortex, incubar 10 min a 70°C;
5. Adicionar 200 μ l de Etanol 100%. Agitar no vortex;
6. Transferir a solução para uma mini-coluna, centrifugar 1 min a 8000 rpm;
7. Rejeitar o tubo colector com o eluído, colocar a coluna num novo tubo colector. Adicionar 500 μ l de tampão AW1, centrifugar 1 min a 8000 rpm;
8. Rejeitar o tubo colector, colocar a coluna num novo tubo colector. Adicionar 500 μ l de tampão AW2 e centrifugar 3 min a 14000 rpm;
9. Passar a coluna para novo tubo colector, adicionar 50 μ l de tampão de eluição directamente no centro do tubo, aguardar 1 min. Centrifugar durante 1 min a 8000 rpm, de modo a recuperar o DNA;
10. Guardar o DNA a -20°C.

Procedimento Geral

Amostra



Anexo 8. Detecção de mutações pontuais de *Helicobacter pylori* associadas com a resistência aos Macrólidos por PCR em Tempo Real (LightCycler® System, Roche)



Técnicas de PCR em Tempo Real

PCR em Tempo Real - Detecção de mutações pontuais de *Helicobacter pylori*

Detecção de mutações pontuais de *Helicobacter pylori* associadas com a resistência aos Macrólidos por PCR em Tempo Real (LightCycler® System, Roche)

Produto Biológico:

- Biopsia Gástrica

Reagentes:

Componente	Concentração	Composição
LightCycler Fast Start DNA Master HybProbe (1 tubo de LightCycler Fast Start enzyme + 1 tubo de LightCycler Fast Start reaction mix Hybprobe)	10x	FastStart Taq DNA Polimerase, tampão de reacção, dNTP's (com dUTP em vez de dTTP) e 10 mM MgCl ₂
MgCl ₂	25 mM	

Reagentes não fornecidos no Kit:

- Iniciador F: P1
- Iniciador R: P2
- Sonda FL
- Sonda LC
- Controlos Positivos
- Amostra de DNA
- Água destilada estéril

Material e Equipamento:

- Capilares
- Micropipetas com capacidade máxima de 10 µl, 20 µl e 200 µl
- Pontas de pipetas com filtro de 10 µl, 20 µl e 200 µl
- Termociclador LightCycler® System
- PCR Workstation
- DNA Workstation

Procedimento:Programa do Termociclador:

1. Ligar o termociclador e o computador, escolher o programa apropriado e realizar o *self-test* do equipamento. Posteriormente inserir os dados necessários na folha de trabalho.

Etapa de Desnaturação:

Programa	Valores
Canal de Leitura	F2
Ciclos	1
Modo de Análise	Nenhum
Temperatura Alvo (°C)	95
Tempo Incubação (hr:min:seg)	00:10:00
Temperatura de Transição (°C/seg)	20
Modo de Aquisição	Nenhum

Etapa de Amplificação:

Programa	Valores		
Canal de Leitura	F2		
Ciclos	50		
Modo de Análise	Quantificação		
	Segmento 1	Segmento 2	Segmento3
	Desnaturação	Hibridação	Extensão
Temperatura Alvo (°C)	95	60	72
Tempo de Incubação (hr:min:seg)	0	00:00:10	00:00:17
Temperatura de Transição (°C/seg)	20	20	20
Modo de Aquisição	Nenhum	Único	Nenhum

Etapa de Análise das Curvas de Melting:

Programa	Valores		
Canal de Leitura	F2		
Ciclos	1		
Modo de Análise	Curva de Melting		
	Segmento 1	Segmento 2	Segmento3
Temperatura Alvo (°C)	95	45	85
Tempo de Incubação (hr:min:seg)	0	00:00:30	0
Temperatura de Transição (°C/seg)	20	20	0,1
Modo de Aquisição	Nenhum	Nenhum	Contínuo

Etapa de Arrefecimento:

Programa	Valores
Canal de Leitura	F2
Ciclos	1
Modo de Análise	Nenhum
Temperatura Alvo (°C)	40
Tempo de Incubação (hr:min:seg)	00:00:30
Temperatura de Transição (°C/seg)	20
Modo de Aquisição	Nenhum

Preparação da Mistura Reaccional:

1. Preparar a mistura de reacção multiplicando o volume de cada reagente pelo número de reacções. O volume final de cada reacção é de 20 µl:

Reagente	Concentração final	Volume (µl)	X
Master Mix (10x)	1X	2	
MgCl ₂ (3,0mM)	3,0mM	1,6	
Primer P1 (10 µM)	0,4 µM	0,8	
Primer P2 (10 µM)	0,4 µM	0,8	
Sonda FL (20µM)	0,2µM	0,2	
Sonda LC (20µM)	0,2µM	0,2	
H ₂ O	-	11,4	
DNA	-	3	

2. Colocar o número de capilares necessários no *coolingblock*;
3. Distribuir 17 μ l da mistura de reacção em cada um dos capilares;
4. Retirar os capilares da PCR *workstation* e colocá-los na DNA *workstation*.
5. Colocar em cada capilar 3 μ l de DNA ou de controlo positivo, à excepção do controlo negativo em que são colocados 3 μ l de água;
6. Selar os capilares com as tampas próprias e centrifugar a 1000 rpm durante 30 segundos;
7. Colocar os capilares no rotor do aparelho com muito **CUIDADO** e iniciar a corrida.

Anexo 9. Aplicação da técnica de PCR para a detecção dos genes *cagA* e *vacA* de *Helicobacter pylori* em biopsia gástrica



Técnicas de Biologia Molecular

PCR (Polymerase Chain Reaction)

Aplicação da técnica de PCR para a detecção dos genes *cagA* e *vacA* de *Helicobacter pylori* em biopsia gástrica

Material e Equipamento:

- Microtubos de 200 μ l e 1500 μ l
- Micropipetas com capacidade máxima de 10 μ l, 20 μ l, 200 μ l e 1000 μ l
- Pontas com filtro para micropipetas de 10 μ l, 20 μ l, 200 μ l e 1000 μ l
- Termociclador
- PCR *Workstation*
- DNA *Workstation*

Reagentes:

- Tampão de PCR 10X
- Solução de desoxirribonucleotídeos trifosfatados: dATP, dGTP, dCTP, dTTP (100 mM)
- Iniciador F: P1
- Iniciador R: P2
- *Taq* polimerase
- Amostra de DNA
- Água destilada estéril.

Procedimento:

Preparação da mistura reaccional:

- Preparar a mistura reaccional (volume final 50 μ l) num microtubo de 1500 μ l, adicionando os reagentes indicados na tabela 1. Trabalhar sempre na *PCR workstation*.

Tabela 1

REAGENTES	CONCENTRAÇÃO FINAL	VOLUME (μ l)	X
Tampão 10X	Tampão 1X	5,0	
dNTP's (10 mM)	200 μ M/0,200mM	1,0	
Iniciador P1 (10 μ M)	0.5 μ M	2.5	
Iniciador P2 (10 μ M)	0.5 μ M	2.5	
<i>Taq</i> polimerase (5U/ μ L)	1 U	0,4	
H ₂ O (destilada estéril)	qb 45 μ l	(34,3)	
DNA	-	5	

- Marcar os microtubos de 200 μ l;

- Distribuir 45 μ l da mistura por cada tubo;

- Retirar os tubos da PCR *workstation* e colocá-los na DNA *workstation*. Colocar em todos os tubos 5 μ l de DNA, à excepção do controlo negativo em que são colocados 5 μ l de água; Fechar os tubos e colocar no Termociclador. Seleccionar o programa de amplificação adequado iniciar a reacção.

Programa de amplificação:

	94°C	5 min	1 ciclo
94°C	1 min		35 ciclos
56°C	30 s		
72°C	1 min		
72°C	7 min		1 ciclo
4°C	∞		

Anexo 10. Pesquisa de *Helicobacter pylori* – HELICOBACTER TEST

INFAI



Técnicas de Microbiologia

Teste respiratório

Pesquisa de *Helicobacter pylori* - HELICOBACTER TEST INFAI

Produto Biológico:

- Ar expirado

Reagentes

- Kit INFAI

Equipamento

- Espectrofotómetro de Infra Vermelho IRIS

Colheita da amostra:

- O doente deve estar em jejum de pelo menos 6 horas
- Antes de iniciar o teste o doente deve beber 200 ml de sumo de laranja (100% concentrado) ou 1g de ácido cítrico diluído em 200 mL de água
- Ao iniciar o teste o doente deve soprar normalmente para dentro dos tubos de colheita - Tubo basal (Tempo 0)
- Em seguida deve beber a solução de ureia marcada com ¹³C (colocar um pouco de água para dissolver o conteúdo do frasco)
- Após a ingestão da solução de ureia o doente deve esperar tranquilo e sem comer ou beber durante trinta minutos
- No final dos trinta minutos o doente deve soprar normalmente para dentro dos tubos de colheita - Tubo 30 (Tempo 30)

Leitura:

- *Calibração do equipamento*

1. Fazer duplo clique em



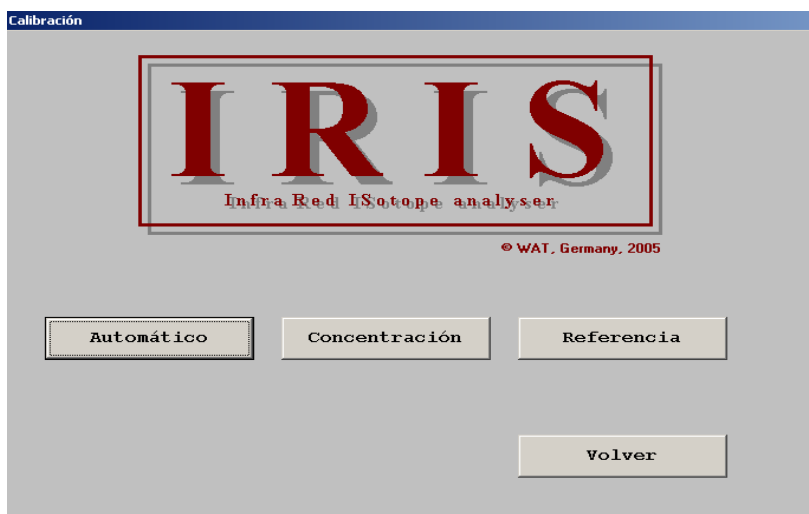
Iris.exe

no ambiente de trabalho do PC

2. Aparece o menu principal do equipamento



3. Fazer clique sobre **Calibração** e aparece o menu calibração



4. Fazer sobre **Automática**

"Iniciar processo de calibração?" **SIM**

(2 minutos aproximadamente - diária)

5. Fazer clique sobre **Concentração** (15 minutos aproximadamente-mensal)

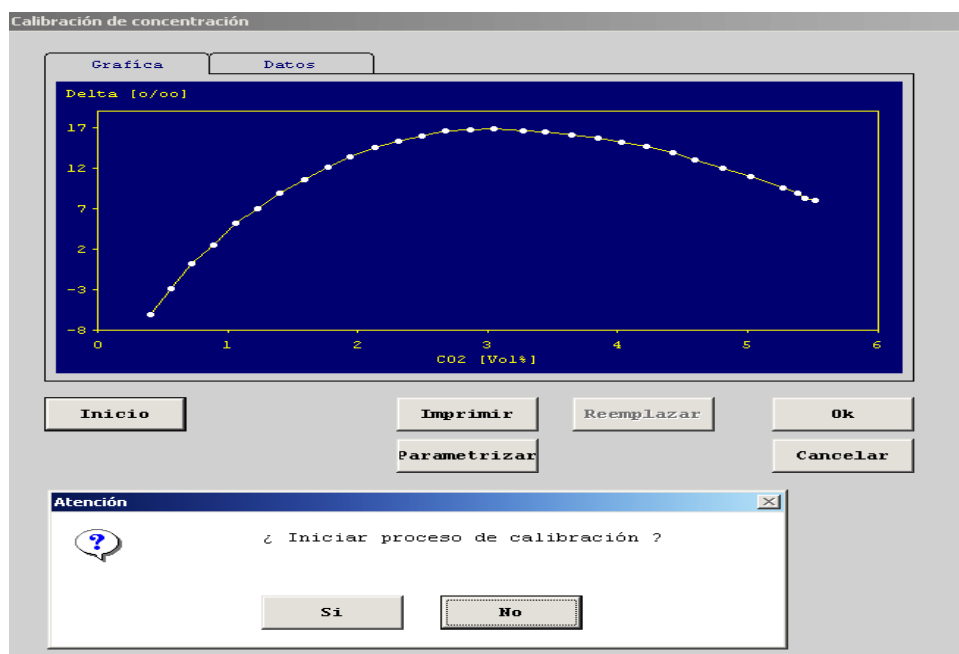
Utilizar o sistema de bolsa com tubo de calibração

Conter a respiração 10 - 15" e encher a bolsa de calibração

Colocar a bolsa na entrada nº 1 do IRIS

Fazer clique em **INICIO**

Iniciar processo de calibração? **SIM**



Terminada a calibração (15 min - curva com pontos vermelhos) clicar em **Substituir** e fazer **OK**

6. Fazer clique em **Referencia** (2 minutos aproximadamente- diária).

Utilizar o sistema de bolsa com tubo de calibração

Encher, normalmente, de ar a bolsa de calibração

Colocar a bolsa na entrada nº 1 do IRIS

Fazer clique em **INICIO**

Iniciar processo de calibração? **SIM**

7. Fazer clique sobre Voltar para regressar ao menu principal.

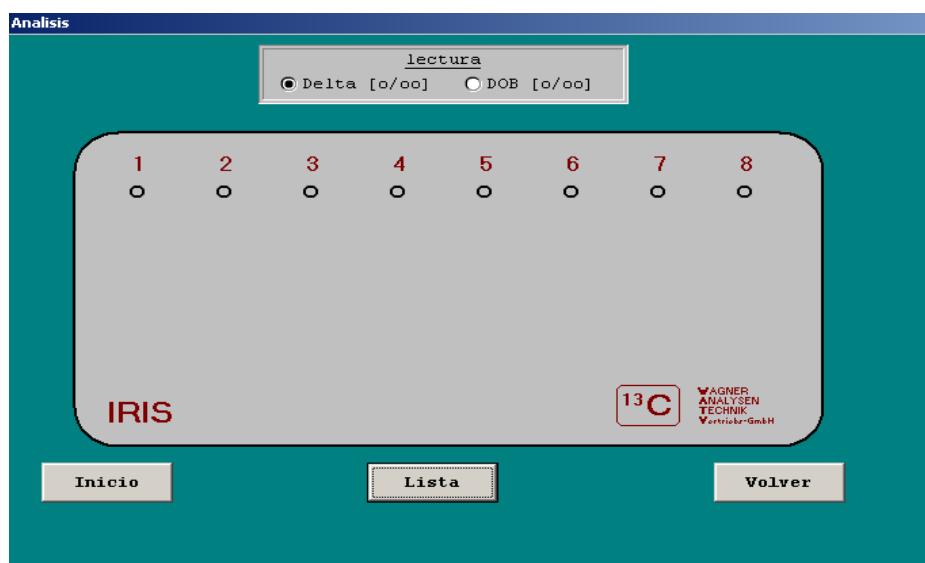
Resumo Calibrações

Antes de analizar amostras - 1º Calibração Automática - 2º Calibração Referência

Cada 15 días - Calibração de Concentração

- *Análise de amostras*

1. No menú principal entrar Desde el Menú Principal (pantalla azul) entrar en **Análise/Medição**
2. Aparece um diagrama com os pontos numerados



3. Entrar em Lista

Lista de muestra

#	Apellido Nombre	Prueba Número	Duración del test	DOB [o/oo]	Delta [o/oo]	CO2 [Vol%]	Excess [ppm]	Fecha Tiempo
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
1								

Borrar Imprimir Transferir Volver

4. Fazer clique sobre o número da lista correspondente à entrada onde se vai colocar o tubo basal do primeiro doente

5. Abre-se a janela **Teste: Definição**

Prueba: Definición

Paciente

Apellido : N.N. Nuevo

Nombre : -

Identificación : -

Fecha nacimiento : 01/01/1900

Tipo de prueba

Nombre : Helicobacter pylori Status

Abreviación : UBT

Ok

Cancelar

6. Seleccionar **Novo** para introducir os dados do doente

Paciente

General Memo

Apellido :Apellido

Nombre :-Nombre

Identificación :-

Fecha nacimiento :27/06/2006 (dd/MM/yyyy)

Sexo :M (M/F)

Peso :0,000 kg Altura :0,00 m

CO2 producción :300,00 mmol · BS&A/h

Resultados prueba:0

Imprimir Transferir Ok

Cancelar

6. Uma vez introduzidos fazer OK.

7. Volta-se à janela **Teste: Definição**

8. Fazer clique sobre as setas para localizar a o teste que se pretende realizar - **Helicobacter pylori Status**

Prueba: Definición

Paciente

Apellido :Apellido

Nombre :-Nombre

Identificación :-

Fecha nacimiento :27/06/2006

Nuevo

Tipo de prueba

Nombre :Helicobacter pylori Status

Abreviación :UBT

Ok

Cancelar

9. Fazer OK

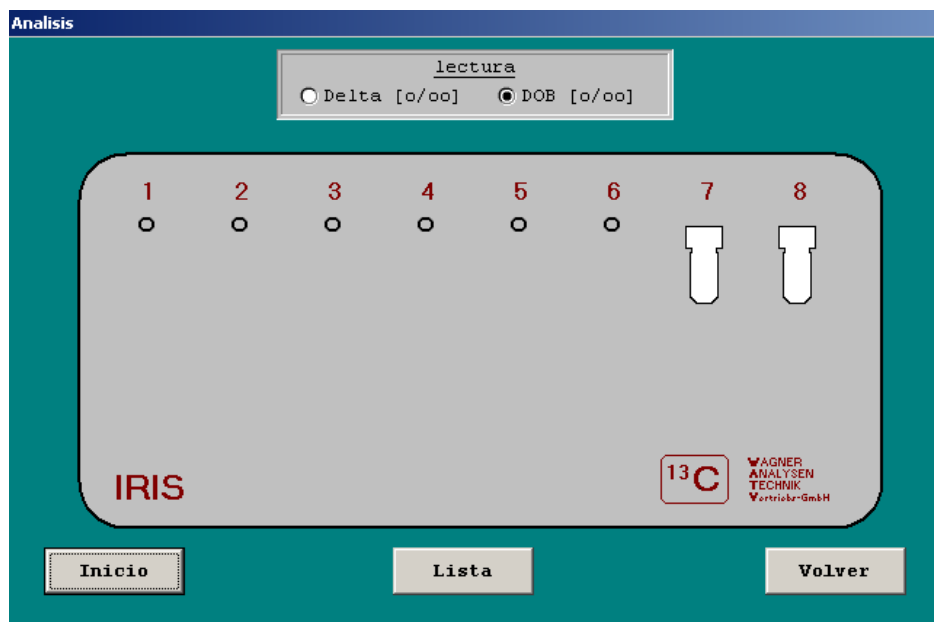
10. Volta-se à lista onde aparecem os dados do doente e o tipo de teste nas entradas correspondentes

Lista de muestra

#	Apellido Nombre	Prueba Número	Duración del test	DOB [o/oo]	Delta [o/oo]	CO2 [Vol%]	Exess [ppm]	Fecha Tiempo
2								
3								
4								
5								
6								
7	Apellido -Nombre -	UBT 2	0					
8	Apellido -Nombre -	UBT 2	30					
1								
2								

Borrar Imprimir Tranferir Volver

11. Clicar em **Voltar** - Volta-se à janela de análise inicial



12. Colocar os tubos nas entradas de acordo com a lista definida.

Carregar em **Inicio** - A análise é iniciada.

Uma vez terminada a análise aparecem os valores Delta de cada amostra (Leitura)

Para calcular a diferença - Clicar em DOB (Lectura)

13. Para imprimir los resultados voltar ao menu **Lista**

Resultado:

O teste é considerado positivo quando a diferença entre o valor T30 e o T0 é superior a 4‰.

Anexo 11. Pesquisa de Ag *H. pylori* nas fezes – Premier Platinum

HpSA® Plus



Técnicas de Microbiologia

Pesquisa de Antígenos *Helicobacter pylori* nas fezes

Pesquisa de Ag *H. pylori* nas fezes - Premier Platinum HpSA® Plus

Produto Biológico:

- Fezes
- Deve ser colhido em frasco próprio e conservado a 2-8°C no máximo 72 horas.

Material e Equipamento:

- Tubos de hemólise
- Suporte de tiras de microplaca (fornecido no kit)
- Tampa adesiva de microplaca (fornecido no kit)
- Pipetas de transferência
- Palito de madeira (fornecido no kit)
- Balão volumétrico de 1L
- Leitor de placas com filtro de 450nm ou 450/630 nm
- Vortex

Reagentes:

- Microplacas sensibilizadas com anticorpo monoclonal anti-*H. pylori* (fornecido no kit)
- Controlo positivo (fornecido no kit)
- Controlo negativo/ Diluente de amostra (fornecido no kit)
- Tampão de lavagem 1x (fornecido no kit)
- Conjugado (fornecido no kit)
- Substrato (fornecido no kit)
- Solução de paragem (fornecido no kit)
- Água destilada

Procedimento

1. Diluir o tampão de lavagem para obter uma solução 1X concentrada (ex: 50 ml de tampão adicionado de 950 ml de água destilada). O tampão de lavagem diluído pode ser armazenado à temperatura ambiente durante 3 meses.
2. Colocar 500µl de diluente num tubo de hemólise.
 1. Misturar a amostra de fezes antes de pipetar.
 1. Fezes líquidas ou semi-sólidas - com uma pipeta de transferência adicionar 100µl de fezes ao diluente de amostra.
 2. Fezes sólidas - usando um palito de madeira, transferir uma pequena porção (5-6mm de diâmetro) de amostra para o tubo com o diluente de amostra.
2. Vortexar a amostra durante 15 segundos
3. Utilizar o número de tiras necessárias (1 poço para cada amostra, mais um poço para o controlo positivo e negativo)
4. Com a pipeta de transferência, adicionar 100µl de amostra diluída ao poço apropriado
5. Adicionar 2 gotas de Controlo Positivo e 100µl de Diluente de Amostra/controlo Negativo nos poços respectivos.
6. Adicionar uma gota (cerca de 500µl) de Conjugado a cada poço. Agite cuidadosamente a placa durante 30 segundos.
7. Incubar a placa durante 1 hora a 19-27°C.
8. Lavar a placa
 - i. Verter o conteúdo da placa para um contentor apropriado
 - ii. Enxaguar a placa invertida sobre toalhas de papel limas

- iii. Encher os poços com Tampão de Lavagem 1x deixando escorrer lentamente de modo a evitar formação de espuma
 - iv. Repetir o ciclo de lavagem 4x num total de 5 ciclos de lavagem. Durante este processo, não se deve deixar nunca que os poços sequem. Limpar a base de todos os poços com um papel absorvente.
9. Adicionar 2 gotas de Substrato a cada poço.
 10. Agite cuidadosamente a placa por 30 segundos.
 11. Incubar durante 10 minutos a 19-27°C
 12. Adicionar 2 gotas de Solução de Paragem a cada poço.
 13. Agite cuidadosamente a placa por 30 segundos.
 14. Ler a placa num espectrofotómetro com filtro de 450 nm

Interpretação de Resultados

1. Resultado Negativo se $D. O < 0.140$
2. Resultado Positivo se $D. O \geq 0.140$