

M 2015

U. PORTO

Ingestão de sódio e infeção por *Helicobacter pylori* numa fase precoce da vida

CATARINA FILIPA GUEDES MONTEIRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA

À FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DO PORTO EM

SAÚDE PÚBLICA

Ingestão de sódio e infeção por *Helicobacter pylori* numa fase precoce da vida

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Saúde Pública apresentada à Faculdade de Medicina e ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

Catarina Filipa Guedes Monteiro

Porto, 2015

Este trabalho foi realizado no Departamento de Epidemiologia Clínica, Medicina Preditiva e Saúde Pública da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto e no Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, no âmbito das atividades da *EPIUnit* (UID/DTP/0475072013), sob orientação da Doutora Bárbara Peleteiro.

Neste trabalho colaborei na operacionalização das hipóteses em estudo, na análise dos dados, na interpretação dos resultados e na redação da tese.

A coorte Geração XXI foi suportada financeiramente pelo Programa Operacional de Saúde – Saúde XXI, Quadro Comunitário de Apoio III, pela Administração Regional de Saúde do Norte, pela Fundação *Calouste Gulbenkian* e pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (PTDC/SAU-ESA/103958/2008; FCOMP-01-0124-FEDER-011000).



Agradecimentos

À Doutora Bárbara Peleteiro, orientadora, por todo o seu apoio e disponibilidade na realização desta dissertação, partilha de conhecimentos, preocupação e tolerância em todos os momentos.

À Doutora Rute Costa, pelo seu apoio e partilha de conhecimentos nesta dissertação.

Aos professores, pelos conhecimentos transmitidos ao longo do meu percurso académico.

Aos meus pais, agradeço todo o apoio, carinho e preocupação ao longo de todo o meu percurso, foram o pilar para que eu pudesse alcançar os meus objetivos.

Às minhas irmãs, em especial à Bela, por toda a preocupação, conselhos e apoio incondicional sempre que precisei.

Aos meus tios e primos, pela preocupação ao longo de todo este percurso. Agradeço em especial ao meu primo Gabriel, a disponibilidade, boa disposição e resolução de problemas informáticos.

À Daniela Ferreira, amiga e colega, agradeço todo o apoio, amizade, companheirismo e ânimo nos momentos mais difíceis ao longo deste percurso.

Aos meus amigos, pelo apoio, compreensão e amizade. Agradeço em especial à Catarina, à Magui, à Joana Bouça, à Mariana, à Ana Lima, à Cláudia e ao João Lobo que estiveram sempre presentes em todos os momentos.

Aos meus colegas do Mestrado em Saúde Pública, pela partilha e boa disposição ao longo destes 2 anos.

Ao Vítor Pinto, agradeço o seu apoio na recolha de informação referente aos leites infantis.

Índice

Lista de abreviaturas.....	xi
Lista de figuras.....	xii
Lista de tabelas.....	xiii
Resumo.....	1
Abstract.....	3
Introdução.....	5
- A infecção por <i>Helicobacter pylori</i> como fator de risco para o cancro do estômago.....	5
- A ingestão de sódio como fator de risco para o cancro do estômago.....	8
- O papel da ingestão de sódio no desenvolvimento da infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	11
Objetivo.....	14
Métodos.....	15
- Recolha de informação.....	15
- Análise estatística.....	22
- Ética.....	22
Resultados.....	23
Discussão.....	27
Conclusão.....	30
Referências.....	31
Anexos.....	37

Lista de abreviaturas

ELISA – *enzyme-linked immunosorbent assay*

H. pylori – *Helicobacter pylori*

IC95% – intervalo de confiança a 95%

Nº – número

OMS – Organização Mundial de Saúde

OR – *odds ratio*

PCR – reação em cadeia da polimerase

PHYSA – *Portuguese Hypertension and Salt Study*

STATA® – *Statistics Data Analysis*

24h – 24 horas

Lista de figuras

Figura 1 – Papel da ingestão de sódio e da infecção por *Helicobacter pylori* na cascata da carcinogénese

Figura 2 – Esquema referente aos dados analisados na coorte Geração XXI e utilizados no presente estudo

Figura 3 – Esquema referente aos participantes avaliados na coorte Geração XXI e utilizados no presente estudo

Lista de tabelas

Tabela 1 – Sensibilidade e especificidade dos métodos de diagnóstico do estado de infecção por *Helicobacter pylori*

Tabela 2 – Pontos de corte utilizados na análise dos dados, de acordo com a exposição ao sódio através do consumo alimentar reportado aos 6 meses e aos 4 anos de idade

Tabela 3 – Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com as características sociodemográficas da criança, familiares e do cuidador desde o nascimento e estado de infecção da mãe

Tabela 4 – Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com o consumo alimentar reportado na avaliação aos 6 meses de idade

Tabela 5 – Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com o consumo alimentar reportado na avaliação aos 4 anos de idade

Tabela 6 – Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com a exposição ao sódio através do consumo alimentar reportado na avaliação aos 6 meses e aos 4 anos de idade

Tabela em anexo – Leites reportados pelos pais das crianças, aos 6 meses de idade

Resumo

Apesar da diminuição na mortalidade por cancro de estômago verificada a nível mundial nas últimas décadas, esta doença apresenta ainda uma elevada incidência em Portugal, devido à elevada prevalência de infeção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) na população portuguesa. Esta bactéria está associada ao aumento do risco de desenvolver cancro do estômago, sendo que, na maior parte dos indivíduos, a infeção é adquirida nos primeiros anos de vida. A elevada ingestão de sódio pode levar ao aparecimento de lesões pré-malignas e assim acelerar o processo da carcinogénese gástrica. Alguns estudos experimentais em animais mostraram que, em quantidades elevadas, o sódio pode potenciar o efeito da infeção por *H. pylori* e dos seus diferentes subtipos na mucosa gástrica, contribuindo para o desenvolvimento do cancro do estômago.

Pretendeu-se com este estudo quantificar a associação entre a exposição ao sódio e a infeção por *H. pylori* em crianças, para assim perceber de que forma se podem traçar algumas estratégias de prevenção da infeção, diminuindo o risco futuro de cancro do estômago.

Foram incluídas 503 crianças da coorte Geração XXI. Os pais e as crianças foram recrutados na altura do parto e reavaliados aos 6 meses e aos 4 anos de idade das crianças, tendo sido recolhidas informações acerca dos dados socio-demográficos, alimentação desde o nascimento e estado de infeção por *H. pylori* (analisado no soro através do método de ELISA). Para avaliar a exposição ao sódio, foram calculados *scores* de exposição ao sódio através do consumo de “leites” e “outros alimentos” (na avaliação aos 6 meses de idade) e dos “alimentos que mais contribuem para a ingestão de sódio” e da “ingestão de sódio” (na avaliação aos 4 anos de idade). Recorreu-se a modelos de regressão logística e multinomial para calcular *odds ratio* (OR) ajustados e respetivos intervalos de confiança a 95% (IC95%).

Os resultados mostram que 28,2% das crianças estavam infetadas com *H. pylori* aos 4 anos de idade, apresentando uma ingestão diária de sódio que excedia em 26% a recomendação da Organização Mundial de Saúde. No entanto, não se verificou uma associação estatisticamente significativa entre o consumo de sódio e o risco de infecção por *H. pylori*, com a exceção do consumo de “outros alimentos” na avaliação aos 6 meses de idade no 2º quartil, nos estados positivo (OR=2,28; IC95%: 1,17-4,44) e *borderline*/positivo (OR=2,41; IC95%: 1,29-4,50).

Apesar de existir uma elevada prevalência de infecção por *H. pylori* na nossa amostra, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em relação à ingestão de sódio e a infecção por *H. pylori* nestas crianças. Este estudo epidemiológico apresenta-se, até à data, como sendo o primeiro a testar a influência da ingestão de sódio na infecção por *H. pylori* uma vez que, até então, esta hipótese apenas tinha sido testada em laboratório. Deste modo, são necessários mais estudos nesta área, utilizando diferentes métodos para a avaliação da ingestão de sódio e uma análise do estado de infecção em função do subtipo de *H. pylori*, nesta faixa etária.

Abstract

Despite the worldwide reduction in gastric cancer mortality observed in recent decades, this disease is still highly incident in Portugal, due to the high prevalence of infection by *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) among the Portuguese population. This bacterium is associated with an increased risk of developing gastric cancer, and in most individuals the infection is acquired in early life. High amounts of sodium intake can lead to the onset of pre-malignant lesions contributing to the process of carcinogenesis. Some experimental studies in animals have shown that high amounts of sodium intake can potentiate the effect of the infection of the gastric mucosa by *H. pylori* and its different subtypes contributing to the development of gastric cancer.

This study aimed to quantify the association between exposure to sodium and *H. pylori* infection in children, in order to understand how we can draw some preventive strategies related to the infection, and hence reduce the future risk of gastric cancer.

This study includes 503 children from the cohort *Geração XXI*. Parents and children were recruited after childbirth and re-evaluated 6 months and 4 years after birth. Information about socio-demographic data, food intake after birth and status of *H. pylori* infection (assessed by serum ELISA) was collected. To evaluate sodium exposure, scores were calculated using the consumption of "milk" and "other food items" (evaluated at 6 months old) and "food items with the highest contribution to sodium intake" and "sodium intake" (evaluated at 4 years old). Logistic and multinomial regression models were used to compute the adjusted odds ratio (OR) and respective 95% confidence intervals (95 %CI).

We found that 28.2% of children were infected with *H. pylori* at 4 years of age, with a daily sodium intake that exceeds World Health Organization recommendations in 26%. However, no statistically significant association between sodium intake and *H. pylori* infection was observed, with the

exception of the score concerning consumption of "other food items" in the assessment at 6 months of age in the 2nd quartile, in the positive status (OR=2.28; 95%CI: 1.17-4.44) and borderline/positive (OR=2.41; 95%CI: 1.29-4.50).

Although there is a high prevalence of *H. pylori* infection in our sample, no statistically significant differences in sodium intake were found according to *H. pylori* infection status in these children.

The present epidemiologic study is the first to test the influence of sodium intake in *H. pylori* infection, as until now this hypothesis had only been tested in animal studies. Thus, more research is needed in this area, using different methods to evaluate sodium intake and by analysing the status by *H. pylori* subtype, in this age group.

Introdução

O cancro do estômago é a terceira maior causa de morte por cancro no mundo (1). Em Portugal, desde os anos 70, que a mortalidade por cancro do estômago tem vindo a diminuir, embora existam grandes diferenças regionais (2). Os dados do Instituto Nacional de Estatística mostraram que, em 2013, registaram-se 2266 mortes por cancro do estômago, correspondendo estas a 2,1% da mortalidade registada no nosso país (3). Segundo o relatório da Direção Geral de Saúde de 2013 relativo às Doenças Oncológicas, verificou-se que, em Portugal continental de 2009 a 2011, o número de casos de neoplasia maligna do estômago ao nível hospitalar teve uma evolução crescente (4). De acordo com a mais recente publicação do Registo Oncológico Nacional, o cancro do estômago ocupa a 4ª posição entre os cancros mais incidentes no nosso país (5).

A infecção por *Helicobacter pylori* como fator de risco para o cancro do estômago

Os indivíduos infetados com *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) têm maior probabilidade de desenvolver cancro do estômago do que os indivíduos não infetados (1). Sabe-se que cerca de metade da população adulta do mundo está infetada por esta bactéria (6), considerada como um carcinogéneo humano (7) que é maioritariamente adquirido na infância e está inversamente associado ao estatuto socioeconómico e às condições higienosanitárias da população (8). Nas últimas décadas, a prevalência de infecção na população adulta tem vindo a diminuir nos países mais desenvolvidos da América e Europa (9-11), o que levou a uma diminuição da incidência e da mortalidade por cancro do estômago nestes países (12-14).

Contudo, Portugal continua a registar elevadas taxas de incidência e de mortalidade por cancro do estômago, sendo as mesmas acompanhadas de uma elevada prevalência de infecção por *H. pylori*. (2, 3, 15, 16). Em Portugal, mais de metade da população encontra-se infetada por *H. pylori*, observando-se uma elevada taxa de incidência em crianças e uma prevalência de infecção que se mantém elevada desde a infância chegando a atingir 90% dos indivíduos na fase adulta, sem se observar uma variação consistente da mesma desde os anos 90 (2, 17).

Segundo Bastos (2013), num estudo conduzido no norte de Portugal, a incidência de infecção por *H. pylori* foi elevada durante a adolescência e a vida adulta e a prevalência superior à observada na maioria dos países Europeus e Asiáticos (16, 18). No sul de Portugal, entre 2002 e 2006, verificou-se que existia uma elevada prevalência de infecção por *H. pylori* em crianças com

idades entre os 0 e os 15 anos (31,6%) (19). Ao comparar os dados de estudos realizados no norte e no sul de Portugal, verificou-se que existe uma maior prevalência de infecção no norte do país, o que poderá explicar o facto de também existir uma maior taxa de incidência de cancro do estômago nesta região (17, 19, 20).

Avaliação do estado de infecção por H. pylori

Para determinar o estado de infecção por *H. pylori*, a avaliação pode ser feita através de métodos invasivos e não invasivos.

Nos métodos invasivos, destacam-se os estudos de cultura, histologia (que utilizam amostras de biópsias gástricas obtidas por meio de endoscopia digestiva alta), os testes rápidos de urease e o PCR (reação em cadeia da polimerase) (21, 22).

Atualmente, o método padrão para detetar pacientes com infecção ativa pela *H. pylori* é feito pela obtenção de uma cultura positiva obtida por endoscopia, geralmente complementado com um teste de urease, biópsia e/ou histologia (23). No entanto, a sensibilidade dos estudos por cultura é baixa, uma vez que apenas uma porção do estômago é avaliada e a distribuição da infecção pode ser irregular (24). Deste modo, a fim de minimizar os erros e evitar resultados “falsos-negativos”, atualmente, é recomendado obter duas amostras de biópsia do antro, uma da parte anterior e outra da posterior do corpo (24).

Na determinação do estado de infecção por *H. pylori* por histologia, tal como para a cultura, as amostras de biópsia são obtidas por endoscopia. A sensibilidade e a especificidade deste processo podem atingir os 95%, em condições óptimas, uma vez que a presença de outras bactérias na mucosa pode conduzir a resultados “falsos-positivos” (24).

O teste rápido de urease é baseado na secreção da urease como técnica de sobrevivência da bactéria no meio ácido do estômago (22, 23).

A infecção por *H. pylori* também pode ser identificada por meio de PCR, que consiste numa amplificação do ADN. Quando aplicável para o diagnóstico de infecção por *H. pylori* permite a sua quantificação, a detecção de genes específicos e mutações específicas associadas com a resistência aos antibióticos (24). Esta técnica não é amplamente utilizada porque é cara quando comparada com a cultura, a histologia e o teste rápido de urease, requerendo condições laboratoriais especializadas (22).

No caso dos testes não invasivos, destacam-se a deteção de anticorpos para a *H. pylori* na urina, saliva e soro, o teste de antígenos nas fezes e o teste respiratório da ureia.

A bactéria induz uma resposta local na mucosa gástrica e uma resposta ao nível sistémico caracterizada por uma elevação, transitória, dos anticorpos IgM específicos, seguido por um aumento em anticorpos do tipo IgG e IgA que persistem durante, e depois da infecção. Como os anticorpos IgM contra a *H. pylori* são detetados apenas transitoriamente, têm pouco valor para o diagnóstico serológico da infecção (25). Os anticorpos IgA são elevados na maioria dos casos de infecção, não se verificando em todos (24). As técnicas serológicas disponíveis para fazer este diagnóstico e para determinar o tipo de infecção por estirpes citotóxicas são *Western Blotting* e ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). Estas, permitem detetar qualquer um dos isotipos de imunoglobulina em circulação para *H. pylori* (23).

Os testes de diagnóstico feitos à urina, saliva e soro têm vindo a ser utilizados na deteção de anticorpos IgG específicos para *H. pylori* (24) e utilizam as técnicas acima referidas (22, 23). A precisão destes testes depende do método escolhido e do teste comercial utilizado. Contudo, a deteção do anticorpo IgG no soro é o teste de diagnóstico mais utilizado. Como vantagens salienta-se que estes testes são simples, reprodutíveis e de baixo custo, podendo ser feitos em amostras armazenadas e por isso muito utilizados em estudos epidemiológicos (8). Uma das desvantagens é a existência de “falsos-positivos” que poderá ser provocada pela diminuição gradual de anticorpos após a erradicação da infecção e/ou de “falsos-negativos” quando a bactéria deixa de estar presente na mucosa gástrica devido ao desenvolvimento de lesões pré-malignas, não permitindo, por isso, a medição real da infecção (23, 24).

O teste da deteção de antígenos nas fezes pode ser realizado por cultura, PCR ou utilizando o teste de ELISA (24). Este método tem a vantagem de não necessitar de equipamento caro e a colheita poder ser feita em casa, sendo por isso muito utilizado em crianças (26).

A deteção da infecção por *H. pylori* também pode ser feita pelo teste respiratório da ureia que se baseia numa solução de ureia marcada com carbono 13 que irá ser hidrolisado pela enzima urease da *H. pylori*. Este tipo de teste é simples, de fácil tolerância e económico; no entanto, apresenta baixa sensibilidade e especificidade em crianças, sobretudo devido à atividade da urease na flora bacteriana bucal e ao intervalo de tempo entre cada recolha de amostras (27).

Tanto o teste da deteção de antígenos nas fezes como o teste respiratório da urease apenas detetam o estado de infecção no momento da avaliação do diagnóstico, paradoxalmente quando a infecção é avaliada pela deteção de anticorpos na urina, saliva ou soro é possível identificar a exposição prévia à infecção.

Abaixo são apresentados os valores de sensibilidade e especificidade dos diferentes métodos de diagnóstico do estado de infecção (8, 24, 28-31).

Tabela 1. Sensibilidade e especificidade dos métodos de diagnóstico do estado de infecção por *Helicobacter pylori*

	Método de diagnóstico	Sensibilidade	Especificidade
Métodos invasivos	Cultura	≈ 95%	≈ 95%
	Histologia	≈ 95%	≈ 95%
	Teste rápido de urease	85-95%	> 95%
	PCR	> 95%	> 95%
Métodos não invasivos	Deteção de anticorpos na urina	Adultos: 93%	Adultos: 90%
		Crianças: 59-94%	Crianças: 76-97%
	Deteção de anticorpos na saliva	Adultos: 82%	Adultos: 73%
		Crianças: 64-80%	Crianças: 86-99%
	Deteção de anticorpos no soro	Adultos: 90-97%	Adultos: 50-96%
		Crianças: 58-96%	Crianças: 70-99%
Deteção de antígenos nas fezes	≈ 94%	≈ 97%	
Teste respiratório da ureia	≈ 95%	≈ 95%	

A ingestão de sódio como fator de risco para o cancro do estômago

Elevadas concentrações intragástricas de sódio podem destruir a barreira da mucosa, levando à sua inflamação, erosão e degeneração. Deste modo, a ingestão de elevadas quantidades de sódio pode levar ao desenvolvimento de gastrite e aumentar o risco de desenvolver cancro do estômago (32). Aliás, a elevada ingestão de sódio aumenta em cerca de duas vezes o risco de se desenvolver cancro do estômago (33, 34), tendo este sido um dos primeiros fatores de risco a ser associado ao cancro do estômago e às lesões gástricas pré-malignas (35-39).

A alimentação tem uma influência significativa no desenvolvimento das doenças como é o caso do cancro do estômago. O aumento do consumo de carne vermelha e de ingestão de sódio

foi associado a um aumento do risco de desenvolver cancro do estômago, enquanto o aumento do consumo de fruta foi associado à diminuição deste risco (40).

A recomendação da Organização Mundial de Saúde (OMS) para a ingestão de sódio é inferior a 2 g de sódio (equivalente a 5 g de sal) por pessoa por dia, a partir dos 2 anos de idade, de forma a prevenir as doenças cardiovasculares. As recomendações não incluem a população no período recomendado para aleitamento materno exclusivo (0-6 meses) e o período de amamentação complementado com alimentação (6 meses-2 anos) (41). Contudo, a ingestão de sódio, na maioria dos países europeus, está muito acima da quantidade sugerida pela OMS. Em Portugal, a quantidade de sódio ingerida na alimentação é ainda hoje cerca do dobro do que é recomendado (42).

Um dos primeiros estudos a avaliar o consumo de sal na nossa população estava integrado num estudo internacional, INTERSALT, em que 10.000 pessoas, de 52 amostras populacionais provenientes de 32 países com idades entre os 20 e os 59 anos foram avaliadas nos anos 80. Em todos os países, foi avaliada a excreção de sódio através da urina de 24 horas (24h) e verificou-se que existia uma excreção de sódio mais elevada nos homens em comparação com as mulheres, tendo a maioria das populações uma excreção urinária de sódio na faixa de 100-250 mmol/dia (2,30-5,75 g/dia) para os homens e 100-200 mmol/dia (2,30-4,60 g/dia) para as mulheres. Em Portugal, no caso dos homens, os valores de excreção de sódio estavam acima dos 200 mmol/d (4,6 g/dia) (43).

Segundo o relatório da Direção Geral de Saúde (2006), a ingestão média de sal em Portugal era de 11,9 g de sal/dia (44). Num estudo (publicado em 2006) realizado em Portugal, a quatro grupos populacionais diferentes (doentes hipertensos, familiares de doentes com eventos cerebrovasculares recentes, estudantes universitários, operários fabris), de indivíduos adultos, a residir no norte do país, escolhidos aleatoriamente, verificou-se que os níveis diários de ingestão sódica eram semelhantes entre os grupos e eram muito superiores aos recomendáveis pela OMS (45). Mais recentemente, o estudo sobre a ingestão de sal para a população portuguesa, PHISA – *Portuguese Hypertension and Salt Study*, promovido pela Sociedade Portuguesa de Hipertensão, avaliou a excreção urinária de 24h de sódio em 3720 cidadãos representativos da população adulta vivendo em Portugal continental em 2012. Esta amostra apresentou uma ingestão média de 10,7 g de sal/dia (46), ainda acima das recomendações da OMS.

Em outubro de 2006, a OMS traçou como meta a redução global do consumo médio de sal das populações. Um dos objetivos da OMS até 2025 é a redução em 30% deste consumo para a

prevenção de doenças não transmissíveis, visando a reformulação da composição dos produtos alimentares, a sensibilização e educação dos consumidores e mudanças na disponibilidade de alimentos com elevados teores de sal (47). Deste modo, em Portugal, desde 2006 (45), que têm vindo a ser desenvolvidos programas para responder às várias estratégias definidas para a redução do consumo de sal: implementação de um sistema de avaliação da ingestão de sal a nível populacional e ao mesmo tempo monitorização da oferta de sal nos principais grupos de alimentos fornecedores de sal à população portuguesa; promoção da sensibilização e capacitação dos consumidores para um consumo reduzido de sal; promoção de uma melhor rotulagem dos alimentos no que concerne ao sal; a modificação da disponibilidade de produtos com menores teores de sal; monitorização e avaliação do envolvimento da indústria na reformulação e na oferta de produtos alimentares e também do conhecimento, atitudes e comportamento dos consumidores (44). Dentro destas estratégias apresentadas destaca-se a publicação da Lei n.º 75/2009, de 12 de agosto, que preconiza a redução do teor de sal no pão, uma vez que diversos estudos realizados sugeriram que o pão contribui com teores de sal elevados para o total ingerido pela população Portuguesa, sendo assim o primeiro país ocidental a criar uma lei para a delimitação da quantidade máxima de sal no pão, (1,4 g de sal, por 100 gramas de produto final ou 0,55 g de sódio) (48). Com o intuito de diminuir a ingestão de sódio, no centro do país, foi implementado desde 2007 o programa “pão.come”, que tinha como objetivo operacional a redução do sal adicionado no pão de 2% para 1%, sendo no início do programa os valores médios de sal de 1,58 g/100g e atualmente os valores são inferiores a 1 g/100g, inferiores até aos preconizados na Lei n.º 75/2009, de 12 de agosto (44, 48).

Avaliação da ingestão de sódio

A avaliação da ingestão de sódio pode ser realizada através da avaliação do consumo alimentar ou através métodos bioquímicos.

No que se refere aos métodos de avaliação do consumo alimentar, destacam-se os diários alimentares, os registos de pesagem, o questionário de frequência alimentar e o questionário 24h (referente às 24h anteriores ao momento da avaliação). Estes são utilizados para obter dados sobre o consumo de alimentos através de um questionário ou entrevista, sendo os alimentos reportados posteriormente convertidos em nutrientes, estimados a partir de tabelas padronizadas de alimentos. Estes métodos de avaliação têm algumas limitações como o viés de memória por parte do entrevistado, as medições imprecisas ou incompletas da composição de

alimentos, os erros de codificação e o viés de amostragem (49). No que se relaciona com a medição da ingestão de sódio, podem-se destacar as dificuldades em estimar a quantidade de sal adicionado na confeção e tempero dos alimentos; a variação da proporção de sal adicionada durante a confeção que é retida na comida; as perdas de sal que fica no prato e a variação da concentração de sódio das fontes locais de água (49, 50). A estimativa da ingestão de sódio com base neste método de avaliação tende a subestimar a ingestão de sódio comparativamente com o consumo estimado em análise química de duplicados alimentares ou colheitas de urina de 24h (42). No entanto, alguns estudos concluíram que os dados de consumo alimentar colhidos através dos questionários alimentares poderiam ser usados para estimar a ingestão de sódio, desde que estejam disponíveis os dados precisos sobre o teor de sódio de alimentos locais (51, 52).

Tendo em conta as limitações do método de recolha de dados através de questionários alimentares, a colheita de urina de 24h é um método de referência para a avaliação da excreção de sódio na população (49, 53, 54). É necessário um período de 24h para captar a excreção de sódio padrão, uma vez que existe uma variação diurna marcada em excreção de sódio, cloreto e água (55). A excreção máxima de eletrólitos em indivíduos saudáveis atinge o seu máximo antes do meio-dia e o seu mínimo durante a noite no final do sono e o ciclo é independente da atividade física moderada (56). O método de excreção de urina 24h não tem em consideração a perda de eletrólitos que não seja por via renal, por este motivo também tende a subestimar a verdadeira ingestão de sódio. Embora este método não seja afetado por relatórios subjetivos de ingestão alimentar, está sujeito a algumas limitações como: ser um fardo para o participante (podendo levar a taxas de recolha incompletas); recolhas incompletas levam a uma estimativa enviesada da excreção; não há uma verificação absoluta da recolha; a falta de cumprimento das 24h pode levar a colheitas em excesso ou em defeito (42).

O papel da ingestão de sódio no desenvolvimento da infecção por *Helicobacter pylori*

Sabe-se que a elevada prevalência de infecção por *H. pylori* em idades mais jovens está associada a maior mortalidade de cancro do estômago do que em casos com frequência semelhante de infecção em indivíduos mais velhos (57) e, segundo Meira (2014), existe uma interação significativa para a infecção por *H. pylori* na associação da ingestão de sódio e o risco de cancro do estômago (40). Verificou-se ainda que a ingestão de sódio da alimentação está

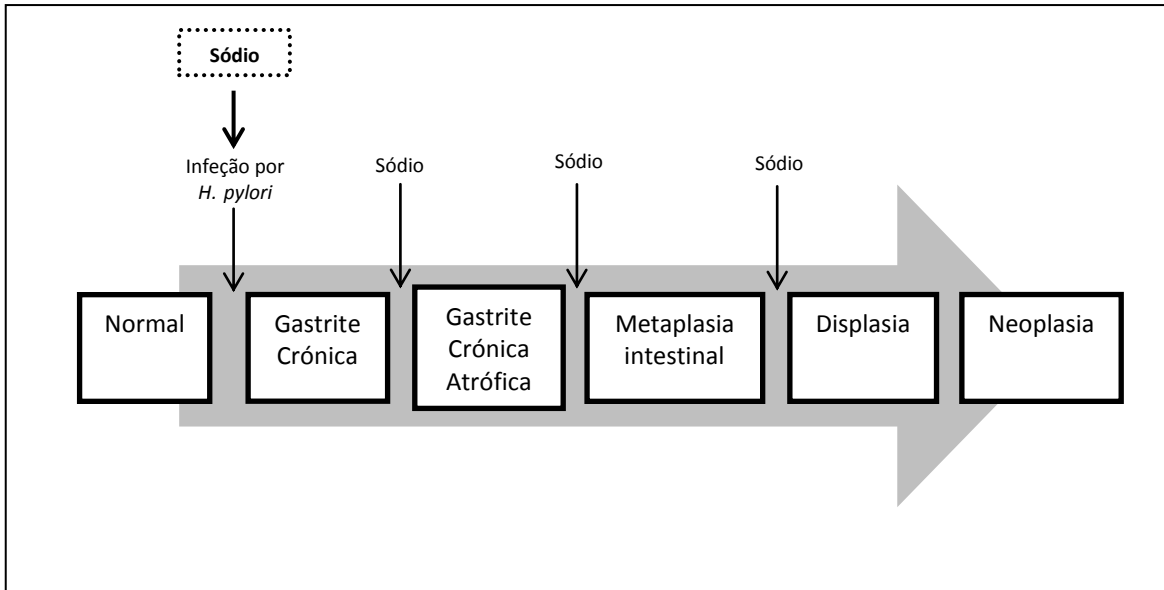
independentemente associada ao risco aumentado de desenvolvimento de cancro do estômago, o qual é modificado pela infecção por *H. pylori*, tabagismo e o local do tumor (58).

A plausibilidade biológica de um sinergismo entre a infecção por *H. pylori* e a elevada ingestão de sódio para um aumento do risco de cancro do estômago foi demonstrada em modelos animais (59, 60). Ratinhos infetados com *H. pylori* foram expostos a uma dieta com elevadas concentrações de sódio enquanto o grupo controlo foi exposto a uma dieta normal em sódio (7,5% versus 0,25% de sódio, respetivamente). Após 8 a 16 semanas da infecção os ratinhos expostos a elevadas concentrações de sódio tinham tido um aumento significativo da colonização pela bactéria ao nível do corpo e do antro, em comparação com o grupo controlo. Assim, segundo Fox (1999), a ingestão excessiva de sódio aumenta a colonização por *H. pylori* e pode exacerbar a gastrite, potenciando o processo da carcinogénese (59). Também em experiências realizadas por Kato (2006), percebeu-se que os modelos animais infetados por *H. pylori*, quando sujeitos a uma elevada ingestão de sódio, apresentavam um aumento do título de anticorpos específicos para *H. pylori*, da concentração sérica de gastrina e da infiltração de células inflamatórias numa relação dose-resposta (60).

Ying Xu (2011), percebeu que a *H. pylori* sobrevive a elevadas exposições de sódio, adaptando-se morfológicamente e por alterações da expressão do fator de virulência, CagA (32). Suspeita-se que na etiologia do cancro do estômago, o sódio não é uma causa primária, mas sim um adjuvante que aumenta a expressão da *H. pylori* e dos seus fatores de virulência, a secreção de citocinas pró-inflamatórias e a taxa de replicação celular (61, 62). Recentemente, a análise de 36 amostras de *H. pylori* de indivíduos em duas regiões da Colômbia, com diferentes incidências de cancro do estômago, mostraram que concentrações de sódio aumentadas afetavam a expressão da CagA de forma diferente, em diferentes linhagens, reforçando os resultados de uma diferença na associação pelo subtipo de *H. pylori* (63).

A figura 1 representa a possível atuação do sódio no desenvolvimento da infecção por *H. pylori*, quando a doença ainda não está presente, que, por sua vez, poderá levar ao aparecimento de gastrite. Com a ingestão contínua e elevada de sódio as lesões poderão agravar-se e levar ao desenvolvimento de cancro do estômago (35).

Figura 1. Papel da ingestão de sódio e da infecção por *Helicobacter pylori* na cascata da carcinogénese de acordo com o modelo proposto por Correa



Objetivo

A demonstração da existência de uma relação causal entre a exposição ao sódio e a infecção por *H. pylori* poderá permitir a identificação de potenciais alvos de intervenção para estratégias de prevenção da infecção por *H. pylori*, o que se poderá traduzir numa diminuição do risco futuro de cancro do estômago.

Assim, pretende-se com este estudo, avaliar a exposição ao sódio em crianças até aos 4 anos de idade, através de informação específica sobre a introdução do sódio na alimentação da criança desde o nascimento e quantificar o efeito independente da exposição ao sódio na ocorrência da infecção por *H. pylori* numa fase precoce da vida.

Métodos

O presente estudo foi realizado no âmbito da coorte Geração XXI, criada com o objetivo de identificar características da gravidez e das fases precoces da infância que se relacionem com o desenvolvimento e o estado de saúde em fases subsequentes da vida. A amostra foi recolhida entre os meses de abril de 2005 e agosto de 2006 e um total de 8647 recém nascidos foram recrutados nas maternidades públicas da área metropolitana do Porto (Portugal), em 5 hospitais (Centro Materno Infantil do Norte, Centro Hospitalar São João, Centro Hospitalar do Porto, Hospital Pedro Hispano e Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho).

Na altura do nascimento, inquiridores treinados apresentaram o estudo a recentes mães convidando-as a participar neste projecto. Foram consideradas elegíveis para participar no estudo as mulheres cujo parto ocorreu após as 24 semanas de gestação. Das mães convidadas a integrar no estudo 91,4% aceitaram participar. Assim, 8647 crianças foram incluídas na coorte Geração XXI (64, 65).

Recolha de informação

Avaliação inicial

Entre as 24 e as 72 horas após o parto, os inquiridores realizaram uma entrevista presencial às mães. Nesta entrevista recolheram informações referentes a características socioeconómicas e demográficas, história pessoal e familiar, de doença da mãe, história ginecológica e obstétrica, cuidados pré-natais, estilos de vida e utilização de cuidados de saúde. Para além destes dados, foram ainda consultados os registos clínicos, com o objetivo de recolher informação adicional relativa à ocorrência de complicações na gravidez, as características do parto e cuidados neonatais (figura 2).

Os pais também foram convidados a responder a um questionário auto-administrado com o objetivo de obter informações adicionais relativas a condições demográficas e sociais, estilo de vida e história clínica (figura 2).

Foi feita também uma avaliação antropométrica pelos entrevistadores à mãe, ao pai e ao recém-nascido. Sempre que possível, foram recolhidas amostras de sangue venoso das mães e dos pais, assim como uma amostra de sangue do cordão umbilical das crianças. O soro foi armazenado a -80°C até ser analisado.

Reavaliação aos 6 meses de idade

A reavaliação realizada 6 meses após o parto teve lugar nos centros de saúde onde os bebés se encontravam inscritos, sendo as avaliações posteriores realizadas no Departamento de Epidemiologia Clínica, Medicina Preditiva e Saúde Pública da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Os inquiridores do projecto recolheram informações através de um questionário, previamente validado, que incluía, para além dos dados demográficos e clínicos, questões acerca da alimentação do bebé (figura 2).

Foram efetuadas várias questões relacionadas com a amamentação/consumo de leite materno (se alguma vez foi amamentado, quando deixou de amamentar, se teve algum problema relacionado com a amamentação) e o consumo de leite que não o materno (o motivo para consumir outro tipo de leite, vaca ou artificial, tipo de leite que consumiu e o seu nome comercial, quando iniciou e terminou o seu consumo). Foi também questionado o consumo de outros alimentos, nomeadamente acerca do consumo de água, chá, tisanas, cevada, sumos, iogurtes, fruta, papa com e sem glúten, pão, bolachas, ovos, sopa, batatas, carne, peixe, sal e açúcar, assim como a idade em que estes alimentos foram introduzidos.

Reavaliação aos 4 anos de idade

Aos 4 anos de idade todos os elementos da coorte foram convidados a participar numa nova avaliação, que decorreu entre abril de 2009 e agosto de 2011. A entrevista foi realizada, maioritariamente, através do contato presencial, tendo sido utilizados questionários estruturados, efetuado um exame físico detalhado e recolhida uma amostra de sangue em jejum às mães e às crianças (figura 2).

Relativamente ao questionário aplicado, os pais foram questionados sobre as características sociodemográficas, atividade física, hábitos alimentares, hábitos de sono e utilização de cuidados de saúde. Foi também perguntado qual o principal cuidador da criança desde o nascimento, tendo também sido discriminado com que idade a criança iniciou e deixou de ser cuidada pelo principal cuidador. Para efeitos do presente estudo, o cuidador desde o nascimento foi categorizado em família e ama/infantário (na categoria família apenas foram incluídas as crianças que nunca frequentaram uma ama ou infantário desde o nascimento).

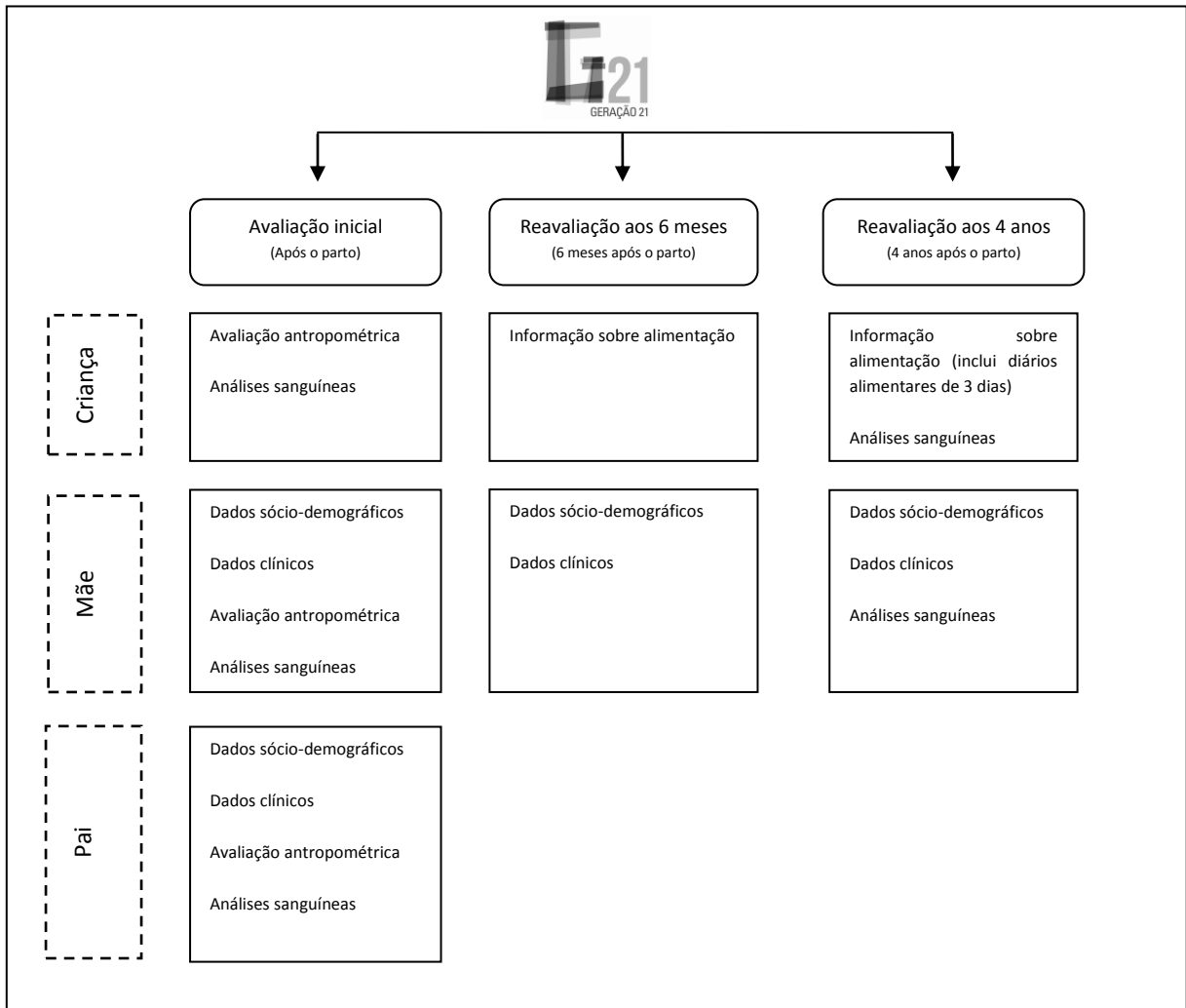
Relativamente à alimentação, foi avaliado o consumo de leite materno (se alguma vez consumiu, até que idade consumiu) e foi também incluído um questionário de frequência alimentar. Neste último, foram incluídos diversos alimentos, tais como: leites gordo, meio gordo e

magro; iogurtes com e sem açúcar; gelados; queijo; ovos; carnes brancas; carnes vermelhas; fiambre, chouriço, salpicão, presunto; peixe; pão; bolachas; biscoitos; bolos; chocolate; açúcar; rebuçados; sopa de legumes; vegetais cozinhados e crus; fruta; arroz, massa, batata; batatas fritas de pacote; pizza, hambúrguer; rissóis; manteiga ou margarina; café; chá preto ou verde; chá de ervas; colas; refrigerantes gaseificados; *ice tea*; néctares de fruta; refrigerantes não gaseificados.

Nesta reavaliação, foi também solicitado aos pais o preenchimento, em casa, de um diário alimentar de três dias (dois dias da semana e um dia de fim de semana) (figura 2). Para o preenchimento do mesmo, foram dadas instruções orais e escritas, nomeadamente no que se refere à importância de apresentarem a descrição detalhada de todos os alimentos e bebidas consumidas (reportando o nome comercial, se aplicável), a quantidade (em gramas, unidades ou medidas caseiras), a hora e o local de consumo. No que respeita aos pratos preparados foi dada indicação para fornecer detalhes da receita, incluindo ingredientes e métodos de confeção. Foi também pedido aos pais que solicitassem a ajuda dos cuidadores nos casos em que as crianças passavam a maior parte do dia com outros cuidadores. A conversão dos alimentos em nutrientes foi efetuada utilizando como base o programa informático *Food Processor SQL* (*ESHA Research, Salem, Oregon*), com informação nutricional proveniente de tabelas de composição de alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América.

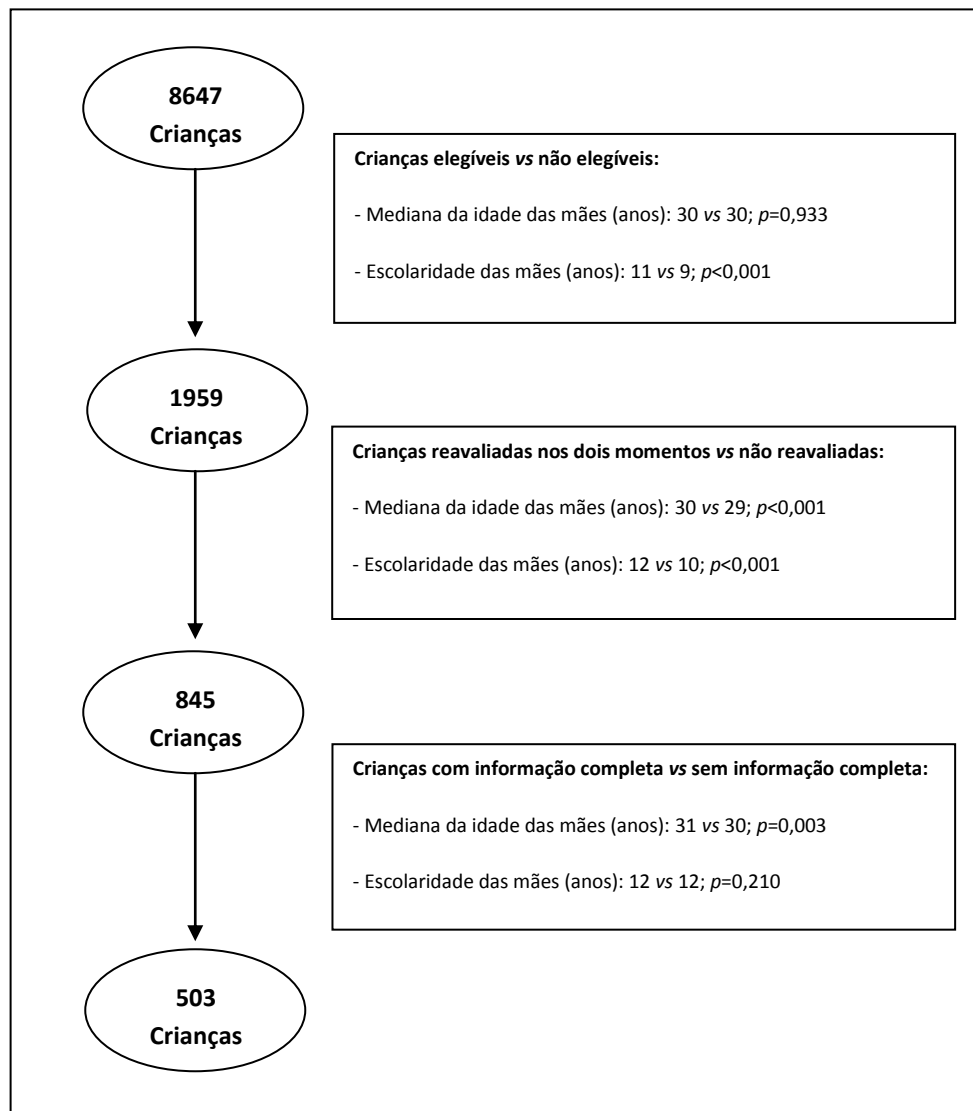
O recrutamento da coorte Geração XXI e a forma como o mesmo e sucessivas avaliações foram conduzidos está resumido na figura 2.

Figura 2. Esquema referente aos dados analisados na coorte Geração XXI e utilizados no presente estudo.



O total de crianças, selecionadas a partir da coorte da Geração XXI, que participaram neste estudo, está apresentado na figura 3.

Figura 3. Esquema referente aos participantes avaliados na coorte Geração XXI e utilizados no presente estudo.



As mães das crianças incluídas neste estudo ($n=503$) eram mais velhas e mais escolarizadas do que o total de mães recrutadas no âmbito da coorte Geração XXI.

Cálculo da exposição ao sódio

Para calcular a quantidade de sódio ingerido aos 6 meses de idade, foi efetuado um levantamento de informação relativo ao teor de sódio dos leites consumidos desde o nascimento, por 100 ml de produto, tendo em consideração os diferentes tipos de leite, o nome comercial, a idade em que a criança iniciou o seu consumo e o término do consumo do mesmo se aplicável (tabela em anexo). A informação recolhida relativamente ao teor de sódio dos leites foi proveniente de várias fontes, nomeadamente *sites* referentes às marcas dos mesmos, farmácias e supermercados. Com base na tabela citada, estimou-se o teor médio de sódio contido nos leites consumidos pelas crianças, obtendo-se um valor de 20 mg/100 ml. Este valor foi usado como referência para calcular a exposição ao sódio através do consumo de cada leite. Para cada leite foi, ainda, calculado o tempo de exposição em meses através da diferença entre a data de término e a data de início do consumo. Para cada criança, multiplicou-se a exposição ao sódio através do consumo de cada leite pelo respetivo tempo de exposição. Para as crianças cujos pais reportaram o consumo de diferentes leites, as várias parcelas de exposição ao sódio foram somadas num único *score*.

Exposição ao sódio através do consumo de leite aos 6 meses de idade (média do teor de sódio em meses):

$$\sum \left(\frac{\text{teor de sódio do leite (mg/100ml)}}{\text{média do teor de sódio dos leites (20mg/100ml)}} \right) \times \text{intervalo de tempo de exposição (meses)}$$

Quanto aos outros alimentos consumidos aos 6 meses de idade, o seu teor de sódio foi analisado através da Tabela da Composição de Alimentos Portuguesa (66), em que se consideraram os teores médios de sódio por alimento, por 100 g. Na construção dos *scores* de exposição para cada alimento, calculou-se o tempo de exposição ao alimento (diferença entre o término e o início do consumo do alimento) em meses e multiplicou-se o valor obtido pelo teor de sódio de cada alimento por 100 g.

Exposição ao sódio através do consumo de outros alimentos aos 6 meses de idade (média do teor de sódio em meses):

$$\text{teor médio de sódio do alimento (mg/100g)} \times \text{intervalo de tempo de exposição (meses)}$$

Através da lista de alimentos avaliada usando o questionário de frequência alimentar, foi calculada a ingestão diária de sódio. Os alimentos que mais contribuíam para a ingestão deste nutriente com base nos diários alimentares eram: laticínios (leite gordo, meio gordo e magro,

iogurtes, queijo); carne, pescado e ovos (charcutaria, pescado, ovos, carnes brancas e vermelhas); cereais e tubérculos (arroz, massa, batata, pão, bolachas Maria, água e sal e integral, outras bolachas e biscoitos); fruta e hortícolas (fruta, sopa de legumes, hortícolas no prato cozinhados e crus); *snacks* salgados (*pizza*, hambúrguer, *snacks* de pacote, rissóis, croquetes) e bolos e doces (bolos, doces, chocolate e açúcar) (67).

Na construção dos *scores* dos alimentos consumidos aos 4 anos, primeiramente, calculou-se o número (n°) de vezes que o alimento foi consumido por semana e, posteriormente, multiplicou-se o seu consumo semanal, pelo teor médio de sódio do alimento.

Exposição ao sódio através do consumo de alimentos aos 4 anos de idade (média do teor de sódio por semana):
 n° de vezes do consumo semanal \times teor médio de sódio do alimento (mg/100g)

Para o propósito do presente estudo, a exposição alimentar ao sódio foi categorizada tendo em conta a distribuição em quartis de consumo na nossa amostra. Assim para a ingestão de sódio dos alimentos usaram-se os pontos de corte apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Pontos de corte utilizados na análise dos dados, de acordo com a exposição ao sódio através do consumo alimentar reportado aos 6 meses e aos 4 anos de idade.

Exposição ao sódio através do consumo de:		1º quartil	2º quartil	3º quartil	4º quartil
Aos 6 meses	Leites (teor de sódio relativo à mediana-meses)	0	0,01-3,26	3,27-5,86	5,87-40,04
	Outros alimentos (teor de sódio-meses)	0-917,23	917,24-2142,50	2142,51-31293,02	31293,03-216805,20
Aos 4 anos	Alimentos que mais contribuem para a ingestão de sódio (mg/100g/semana)	10127,00-17666,00	17666,01-21915,50	21915,51-25980,50	25980,51-57565,00
	Ingestão de sódio (mg/dia)	813,79-2018,63	2018,64-2364,75	2364,76-2722,99	2723,00-3939,89

Determinação do estado de infecção por H. pylori

O estado de infecção por *H. pylori* foi determinado através da quantificação dos anticorpos IgG anti-*H. pylori* no soro, utilizando um teste de ELISA (*EUROIMMUN, Luebeck, Alemanha*). Os resultados foram considerados negativos quando as concentrações de IgG eram inferiores a 16 RU/ml, *borderline* quando os valores eram entre 16-22 RU/ml e positivo para a infecção quando os valores eram superiores a 22 RU/ml. Para efeitos da presente análise, os estados de infecção *borderline* e positivo foram agrupados numa única categoria.

Análise estatística

A análise estatística foi efetuada com recurso ao programa STATA® (versão 11.2; *StataCorp, College Station, Texas, USA*). As características da amostra foram descritas através de frequências e proporções, tendo sido comparadas pelo teste de qui-quadrado ou o teste exato de *Fisher*, quando aplicável. Relativamente ao tratamento estatístico de variáveis contínuas, utilizou-se o teste de *Kruskal-Wallis* para a comparação de medianas. Para avaliar a associação entre a exposição alimentar ao sódio e a infecção por *H. pylori*, foram estimados *odds ratio* (OR) e respetivos intervalos de confiança a 95% (IC95%), usando para o efeito modelos de regressão logística e multinomial. Foram construídos modelos multivariados, tendo em consideração o possível efeito confundidor da idade e sexo da criança, número de irmãos, cuidador desde o nascimento, idade, naturalidade, escolaridade, estado de infecção da mãe e rendimento familiar mensal.

Ética

Os protocolos de estudo para o recrutamento e reavaliação da coorte foram aprovados pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar de São João e pela Comissão Nacional de Proteção de Dados. Os procedimentos do estudo foram desenvolvidos de forma a garantir a confidencialidade e proteção de dados. Todos os participantes receberam informação sobre os objetivos do estudo e forneceram um consentimento informado por escrito em todos os momentos de avaliação.

Resultados

Na avaliação realizada aos 4 anos de idade, 28,2% das crianças estavam infetadas com *H. pylori*, sendo que aproximadamente 5% das crianças desta amostra apresentavam um valor *borderline* para a concentração de anticorpos IgG anti-*H. pylori*.

As crianças que participaram neste estudo tinham uma idade média de 6,80 meses na avaliação aos 6 meses de idade e de 4,28 anos na avaliação aos 4 anos de idade, não se verificando diferenças significativas na idade entre infetados e não infetados em ambas as avaliações (tabela 3).

Tabela 3. Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com as características sociodemográficas da criança, familiares e do cuidador desde o nascimento e estado de infecção da mãe.

	Total n (%)	Estado de infecção por <i>H. pylori</i>		p
		Não infetados n (%)	Infetados ^a n (%)	
Idade na avaliação aos 6 meses				0,571
(média ± desvio padrão)	6,80 ± 1,09	6,83 ± 1,15	6,74 ± 0,90	
Idade na avaliação aos 4 anos				0,195
(média ± desvio padrão)	4,28 ± 0,16	4,27 ± 0,16	4,28 ± 0,16	
Sexo				0,991
Feminino	269 (53,5)	193 (53,5)	76 (53,5)	
Masculino	234 (46,5)	168 (46,5)	66 (46,5)	
Nº de irmãos				0,656
0	219 (43,5)	153 (42,4)	66 (46,5)	
1	243 (48,3)	179 (49,6)	64 (45,1)	
> 1	41 (8,2)	29 (8,0)	12 (8,5)	
Cuidador desde o nascimento				0,010
Família	53 (10,5)	46 (12,7)	7 (4,9)	
Ama/infantário	450 (89,5)	315 (87,3)	135 (95,1)	
Idade da mãe (anos)				0,100
< 30	108 (21,7)	71 (19,8)	37 (26,6)	
30-40	343 (69,0)	257 (71,8)	86 (61,9)	
> 40	46 (9,3)	30 (8,4)	16 (11,5)	
Naturalidade da mãe				0,442
Portugal	448 (90,1)	325 (90,8)	123 (88,5)	
Outros países	49 (9,9)	33 (9,2)	16 (11,5)	
Escolaridade da mãe (anos)				0,325
0-8	81 (16,3)	58 (16,2)	23 (16,6)	
9	103 (20,7)	72 (20,1)	31 (22,3)	
10-12	140 (28,2)	95 (26,5)	45 (32,4)	
> 12	173 (34,8)	133 (37,2)	40 (28,8)	
Estado de infecção por <i>H. pylori</i> da mãe^a				0,005
Não infetada	134 (27,0)	109 (30,4)	25 (18,0)	
Infetada	363 (73,0)	249 (69,6)	114 (82,0)	
Rendimento familiar mensal (euros)				0,054
< 1000	114 (22,7)	70 (19,4)	44 (31,0)	
1001-2000	224 (44,5)	164 (45,4)	60 (42,3)	
2001-3000	113 (22,5)	86 (23,8)	27 (19,0)	
> 3000	47 (9,3)	36 (10,0)	11 (7,8)	
Não respondeu	5 (1,0)	5 (1,4)	0 (0,0)	

^a As crianças/mães com resultados *borderline* no teste de ELISA foram consideradas como infetadas nesta análise.

Na sua maioria, as crianças participantes eram do sexo feminino (53,5%), tinham irmãos (56,5%) e tinham frequentado ama ou infantário até ao momento da avaliação aos 4 anos (89,5%). No que respeita à mãe das crianças, na sua maioria, estas tinham uma idade compreendida entre os 30 e os 40 anos (69,0%), eram de naturalidade Portuguesa (90,1%), tinham 10 ou mais anos de escolaridade (63,0%) e estavam infetadas por *H. pylori* (73,0%). Quanto ao rendimento familiar mensal, a maioria das famílias das crianças tinham um rendimento entre 1001 e 2000 euros (44,5%). A proporção de crianças a terem frequentado ama ou infantário, a viverem com mães infetadas por *H. pylori* ou com um rendimento mensal abaixo dos 1000 euros foi superior entre as infetadas (tabela 3).

Na avaliação aos 6 meses de idade menos de metade das crianças continuava a ser alimentada com leite materno, e, em quase todas, já tinha sido feita a introdução de outros tipos de leite, na sua grande maioria leites artificiais. Verificou-se que a proporção de crianças que consumia fruta e sopa era superior entre as infetadas, (93,5% vs 85,7%, $p=0,016$ e 98,6% vs 89,2%, $p=0,001$, respectivamente). Em relação aos outros alimentos, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre infetados e não infetados. Contudo, é de salientar que 27,8% e 8,3% das crianças já tinham introduzido sal e açúcar, respectivamente, na sua alimentação. Neste estudo, verificou-se que o pão também já estava a ser consumido por cerca de 36,0% da amostra e as bolachas já faziam parte da alimentação de 54,4% das crianças analisadas. Em conjunto com a sopa de legumes, a água e a papa sem glúten, foram os alimentos com maior percentagem de crianças que os tinham integrado na sua alimentação quando inquiridos aos 6 meses de idade (93,0% e 95,8%, respetivamente), por outro lado, os ovos, foram o alimento menos introduzido na avaliação aos 6 meses (5,5%) (tabela 4).

Tabela 4. Estado de infeção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com o consumo alimentar reportado na avaliação aos 6 meses de idade.

Consumo alimentar de:	Total n (%)	Estado de infeção por <i>H. pylori</i>		p
		Não infetados n (%)	Infetados ^a n (%)	
Leite materno	225 (47,2)	165 (48,3)	60 (44,4)	0,454
Leite artificial	369 (98,7)	260 (98,1)	109 (100,0)	0,327
Leite de vaca	10 (2,7)	9 (3,4)	1 (0,9)	0,292
Água	454 (93,0)	325 (93,7)	129 (91,5)	0,393
Chá	180 (38,1)	129 (38,4)	51 (37,5)	0,856
Tisanas	53 (11,6)	36 (11,1)	17 (12,8)	0,605
Cevada	3 (0,7)	1 (0,3)	2 (1,5)	0,149
Sumos	74 (15,9)	54 (16,4)	20 (14,6)	0,625
logurtes	218 (46,4)	152 (45,8)	66 (47,8)	0,686
Fruta	429 (87,9)	299 (85,7)	130 (93,5)	0,016

Tabela 4 (continuação). Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com o consumo alimentar reportado na avaliação aos 6 meses de idade.

Consumo alimentar de:	Total n (%)	Estado de infecção por <i>H. pylori</i>		p
		Não infetados n (%)	Infetados ^a n (%)	
Papa com glúten	195 (42,3)	141 (42,9)	54 (40,9)	0,702
Papa sem glúten	474 (95,8)	341 (96,3)	133 (94,3)	0,319
Pão	167 (36,0)	112 (33,8)	55 (41,4)	0,127
Bolachas	258 (54,4)	176 (52,4)	82 (59,4)	0,162
Ovos	25 (5,5)	19 (5,9)	6 (4,6)	0,565
Sopa	452 (91,9)	314 (89,2)	138 (98,6)	0,001
Batatas	53 (11,7)	42 (13,0)	11 (8,4)	0,169
Carne	331 (69,5)	234 (68,4)	97 (72,4)	0,398
Peixe	106 (23,0)	73 (22,2)	33 (25,0)	0,517
Sal	129 (27,8)	95 (28,5)	34 (26,0)	0,577
Açúcar	38 (8,3)	29 (8,9)	9 (6,9)	0,473

^a As crianças com resultados *borderline* no teste de ELISA foram consideradas como infetadas nesta análise.

Para este estudo, analisou-se o ingestão de sódio nas crianças aos 4 anos (mediana de ingestão diária: 2364,8 mg) e verificou-se que não existiam diferenças estatisticamente significativas no ingestão de sódio entre as crianças não infetadas e as crianças infetadas com *H. pylori* (mediana de ingestão de sódio por dia: 2389,9 mg vs 2304,6 mg, $p=0,559$).

Em relação aos alimentos que mais contribuem para a ingestão de sódio aos 4 anos, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na sua ingestão semanal entre crianças infetadas e não infetadas (tabela 5).

Tabela 5. Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com o consumo alimentar reportado na avaliação aos 4 anos de idade.

Consumo semanal de:	Estado de infecção por <i>H. pylori</i>		p
	Não infetados (mediana (P25-75))	Infetados ^a (mediana (P25-75))	
Laticínios	28,0 (24,5-38,0)	28,3 (24,5-38,0)	0,206
Carne, pescado, ovos	15,5 (13,0-18,0)	15,5 (13,0-18,0)	0,864
Cereais e tubérculos	39,0 (31,5-43,0)	31,0 (31,0-45,0)	0,914
Fruta e hortícolas	35,0 (26,5-43,0)	38,0 (28,5-45,0)	0,071
Snacks salgados	1,5 (1,0-2,0)	1,5 (1,0-2,0)	0,352
Bolos e doces	9,5 (5,5-18,0)	10,6 (6,6-19,5)	0,170

P25-75 – valores referentes aos percentis 25-75; ^a as crianças com resultados *borderline* no teste de ELISA foram consideradas como infetadas nesta análise.

Relativamente à exposição ao sódio através do consumo alimentar, não se verificaram associações estatisticamente significativas nas crianças classificadas como *borderline* ou positivo quando comparadas com as não infetadas, com a exceção do consumo de “outros alimentos” na avaliação aos 6 meses de idade no 2º quartil, nos estados positivo (OR=2,28; IC95%: 1,17-4,44) e *borderline*/positivo (OR=2,41; IC95%: 1,29-4,50) (tabela 6).

Tabela 6. Estado de infecção por *Helicobacter pylori* nas crianças na avaliação aos 4 anos de idade, de acordo com a exposição ao sódio através do consumo alimentar reportado na avaliação aos 6 meses e aos 4 anos de idade.

Exposição ao sódio através do consumo de:	Estado de infecção por <i>H. pylori</i>								
	Negativo		Borderline		Positivo		Borderline/Positivo		
	n (%)	n (%)	OR (IC95%) ^a	n (%)	OR (IC95%) ^a	n (%)	OR (IC 95%) ^a		
Aos 6 meses	Leites^b (teor de sódio relativo à mediana-meses)								
	1º quartil	97 (26,9)	6 (24,0)	1	30 (25,6)	1	36 (25,4)	1	
	2º quartil	82 (22,7)	8 (32,0)	1,95 (0,57-6,67)	29 (24,8)	1,25 (0,67-2,33)	37 (26,1)	1,29 (0,72-2,30)	
	3º quartil	95 (26,3)	6 (24,0)	0,62 (0,16-2,36)	26 (22,2)	0,78 (0,41-1,47)	32 (22,5)	0,75 (0,41-1,40)	
	4º quartil	87 (24,1)	5 (20,0)	0,95 (0,25-3,95)	32 (27,4)	1,19 (0,63-2,23)	37 (26,1)	1,14 (0,64-2,08)	
	Outros alimentos^c (teor de sódio-meses)								
	1º quartil	100 (27,7)	4 (16,0)	1	22 (18,8)	1	26 (18,3)	1	
	2º quartil	78 (21,6)	9 (36,0)	3,94 (0,97-16,03)	38 (32,5)	2,28 (1,17-4,44)	47 (33,1)	2,41 (1,29-4,50)	
	3º quartil	91 (25,2)	7 (28,0)	4,12 (0,82-20,67)	29 (24,8)	1,38 (0,65-2,94)	37 (25,4)	1,61 (0,79-3,26)	
	4º quartil	92 (25,5)	5 (20,0)	2,04 (0,38-10,99)	28 (23,9)	1,23 (0,58-2,58)	33 (23,2)	1,38 (0,69-2,77)	
	Aos 4 anos	Alimentos que mais contribuem para a ingestão de sódio^d (mg/100g/semana)							
		1º quartil	93 (25,8)	7 (28,0)	1	26 (22,2)	1	33 (23,2)	1
2º quartil		88 (24,4)	7 (28,0)	0,99 (0,28-3,45)	31 (26,5)	1,13 (0,60-2,12)	38 (26,8)	1,16 (0,65-2,06)	
3º quartil		85 (23,6)	9 (36,0)	8,85 (0,56-6,28)	32 (27,4)	1,19 (0,63-2,23)	41 (28,9)	1,25 (0,70-2,24)	
4º quartil		95 (26,3)	2 (8,0)	4,14 (0,04-1,32)	28 (23,9)	1,02 (0,54-1,92)	30 (21,1)	0,87 (0,47-1,60)	
Ingestão de sódio^e (mg/dia)									
1º quartil		60 (25,8)	4 (25,0)	1 ^f	15 (22,7)	1 ^f	19 (23,2)	1 ^f	
2º quartil		52 (22,3)	5 (31,3)	1,95 (0,37-10,16)	22 (33,3)	1,84 (0,79-4,32)	27 (32,9)	1,81 (0,83-3,96)	
3º quartil		61 (26,2)	1 (6,3)	0,19 (0,01-2,35)	16 (24,2)	1,32 (0,54-3,21)	17 (20,7)	1,06 (0,46-2,44)	
4º quartil		60 (25,8)	6 (37,5)	1,99 (0,28-13,98)	13 (19,7)	1,38 (0,47-4,10)	19 (23,2)	1,52 (0,58-3,99)	

^a OR ajustado para a idade e sexo da criança, número de irmãos, cuidador desde o nascimento, idade, naturalidade, escolaridade e estado de infecção da mãe e rendimento familiar mensal; ^b para cada criança, multiplicou-se a exposição ao sódio através do consumo de cada leite (teor de sódio do leite teor médio de sódio dos leites reportados (20 mg/100 ml) dividido pelo teor médio de sódio dos leites reportados (20 mg/100 ml)), pelo respetivo tempo de exposição em meses (diferença entre a data de término e a data de início do consumo), para as crianças cujos pais que reportaram o consumo de diferentes leites, as várias parcelas de exposição ao sódio foram somadas num único score; ^c calculado através do teor de sódio dos alimentos consumidos aos 6 meses*intervalo de exposição ao sódio (meses); ^d calculado através do teor de sódio dos alimentos consumidos aos 4 anos*frequência semanal de consumo através de um questionário de frequência alimentar; ^e informação obtida através de diários alimentares de três dias aplicados aos 4 anos de idade; ^f OR adicionalmente ajustado para o valor energético dos alimentos.

Discussão

Aproximadamente um quarto das crianças estavam infetadas com *H. pylori* aos 4 anos de idade e apresentavam uma ingestão diária de sódio que excedia em 26% a recomendação da OMS (< 2 g por dia) (41), estando 83% das crianças desta amostra com uma ingestão de sódio acima do nível máximo tolerável.

Num estudo realizado anteriormente, já havia sido descrita a elevada prevalência de *H. pylori* nesta população, existindo uma associação positiva com a frequência de creches/infantários, em concordância com uma meta-análise prévia que mostrava que a associação é mais forte em locais com alta prevalência de infecção (68). Os resultados obtidos para a prevalência de *H. pylori* encontram-se também em concordância com outros estudos realizados em Portugal para a nossa população, tal como verificado para os adolescentes (18) e para os adultos (16), assim como com o observado num estudo conduzido em Lisboa em que a prevalência em crianças dos 0 aos 5 anos de idade era cerca de 20% e aumentava com a idade (19). No entanto, a prevalência de infecção por *H. pylori* na nossa amostra é superior ao que se verifica no sul de Portugal e também superior aos resultados apresentados em outros países (2, 11, 18, 19)

No que respeita à forma de medição do estado de infecção por *H. pylori* os testes serológicos de medição IgG por meio de um ensaio imunoenzimático podem apresentar menor sensibilidade em pediatria do que em adultos. Por outro lado, embora a precisão do teste ELISA utilizado neste estudo não tenha sido avaliada em crianças, há evidências indiretas que apoiam a validade dos resultados. Segundo o fabricante, é afirmado que em 88 crianças com idade inferior a 10 anos a proporção de resultados positivos foi de 9 %, o que está de acordo com o resultado esperado para aquela população, principalmente tendo em conta que, numa amostra saudável de 500 dadores de sangue, a prevalência da infecção foi de 25%.

Na avaliação aos 4 anos de idade, a média da ingestão semanal de sódio das crianças era de 2375 mg, valor ligeiramente inferior ao apresentado por NHANES III para a população Americana, nesta faixa etária (2864 mg/dia), também avaliado por questionário alimentar (69). Em particular, em França, entre 1998 e 1999, verificou-se que a ingestão de sódio tanto em crianças como em adultos estava acima do recomendável para ambos e que a sua ingestão excessiva se verificava desde o início da vida, sendo superior na idade adulta (70). Por conseguinte, têm sido realizados vários estudos sobre a avaliação da ingestão de sódio através da excreção pela urina.

Trata-se de um método considerado como o mais adequado para a análise da excreção de sódio, principalmente se feito através da colheita de urina 24h, uma vez que o uso de questionários alimentares e bases de dados que estimam o teor de sódio dos alimentos podem induzir em sub ou sobrestimação da ingestão de sódio real (71, 72). Num estudo realizado entre 2003 e 2009, com crianças e adolescentes alemãs, verificou-se que estas apresentavam um valor de excreção de sódio na urina de 1,4 g/dia a 3,2 g/dia(73). Concomitantemente, em Portugal, entre janeiro e junho de 2014, numa avaliação da excreção de sódio através da urina 24h, em crianças dos 8 aos 10 anos de idade, verificou-se que a excreção média de sódio na urina era significativamente mais elevada nos rapazes do que nas raparigas, sendo a média diária para ambos os sexos de 2657 mg (74).

Embora, neste estudo, não tenha sido utilizado o método de medição do teor de sódio através da urina 24h para estimar a ingestão de sódio, foram utilizados vários métodos para a medição do mesmo: através do consumo de diversos tipos de leite, em que foi feita uma recolha dos teores de sódio de todos os leites reportados e calculada a sua exposição; foi feita uma recolha dos teores de sódio dos alimentos cuja introdução foi avaliada aos 6 meses de idade e calculado o seu intervalo de exposição. Também através da lista de alimentos que mais contribuem para a ingestão de sódio aos 4 anos de idade (67), estimou-se a frequência da ingestão semanal de sódio. Além disso, a elaboração de uma tabela em que se analisaram os leites e respetivas marcas reportados (tabela em anexo), permitiram colmatar algumas falhas de informação reportadas pelos inquiridos.

Uma vez que há evidências de que a *H. pylori*, ao ser sujeita a elevadas concentrações de sódio aumenta a sua resistência através da expressão da CagA (62), teria sido importante perceber se esse efeito também estaria presente na amostra em estudo. No entanto, uma vez que não havia informação disponível relativamente aos diferentes subtipos da bactéria presentes na nossa amostra, não nos foi possível avaliar a resistência das estirpes nestas concentrações de sódio.

Apesar de não existir uma associação estatisticamente significativa entre a exposição ao sódio e a infecção por *H. pylori*, de acordo com o consumo alimentar reportado aos 6 meses de idade, verificou-se que existe uma elevada proporção de crianças com infecção por *H. pylori* nas crianças que consomem fruta e sopa. Este resultado poderá ser justificável pelo facto de, em Portugal, a sopa ser um dos alimentos que mais contribui para a ingestão de sódio (75, 76). Também em França, tanto em crianças como em adultos, verificou-se que o pão, a sopa, carne de

porco cozinhada, alimentos de conveniência, doces e produtos açucarados eram os maiores responsáveis pela elevada ingestão de sódio (70).

Além disso, em Portugal, observou-se que nas mulheres, com o aumento da escolaridade, o consumo de pão, que é um dos alimentos que mais contribui para a ingestão de sódio, tinha tendência a diminuir (77). No presente estudo, 73,4% das mães estava infetada com *H. pylori*, o que, de acordo com os dados da população geral, está abaixo do que era esperado para este grupo etário com esta escolaridade (16). Sendo que a maioria das mães das crianças participantes possuíam um nível educacional superior a 10 anos e idade superior a 30 anos, pode-se considerar a possibilidade de um viés de seleção, que poderá ter contribuído para a ausência de uma associação estatisticamente significativa entre a ingestão de sódio e a infecção por *H. pylori* nos resultados apresentados. De facto, as mães incluídas nesta análise classificam a sua alimentação como sendo igualmente saudável à semana e ao fim-de-semana, enquanto as mães excluídas da presente amostra reportam que a sua alimentação ao fim-de-semana tende a ser menos saudável. Isto pode levar-nos a supor que os nossos resultados estão subestimados em relação ao valor real, uma vez que é provável que estas mães estejam mais consciencializadas para os cuidados alimentares a ter com as crianças, o que também pode ter resultado numa subestimação da prevalência da infecção. Por outro lado, têm vindo a ser implementadas várias estratégias em Portugal, que visam a redução da ingestão de sódio na população, as quais vão de encontro aos objectivos preconizados pela OMS para 2025 e por isso os seus efeitos deverão ser avaliados em investigações futuras desta coorte.

Conclusão

Cerca de um quarto das crianças estavam infetadas com *H. pylori* aos 4 anos de idade e tinham uma ingestão diária de sódio que excedia em cerca de 26% a recomendação da OMS. Apesar de existir uma elevada prevalência de infecção por *H. pylori* na nossa amostra não se verificaram diferenças estatisticamente significativas nos resultados obtidos, o que não nos permite inferir que o sódio é um dos causadores do desenvolvimento da infecção por *H. pylori*. Além disso não foi possível determinar o efeito da ingestão de sódio de acordo com o subtipo de *H. pylori*, o que poderia ter contribuído para uma avaliação mais específica do efeito do sódio na expressão da infecção.

O presente estudo, apresenta-se, até à data como sendo o primeiro estudo epidemiológico a testar a influência da ingestão de sódio na infecção por *H. pylori*, uma vez que, até então, esta hipótese apenas tinha sido testada em laboratório. Se a relação da ingestão de sódio com o estado de infecção por *H. pylori* se confirmasse e a infecção fosse necessária com o aumento da ingestão de sódio, o conhecimento desta causa-efeito poderia permitir que se definissem estratégias de prevenção da doença desde o início da vida. Deste modo, são necessários mais estudos nesta área, utilizando diferentes métodos para a avaliação da ingestão de sódio e uma análise do estado de infecção em função do subtipo de *H. pylori*, nesta faixa etária.

Referências

1. Ford AC, Forman D, Hunt R, Yuan Y, Moayyedi P. Helicobacter pylori eradication for the prevention of gastric neoplasia. The Cochrane database of systematic reviews. 2015;7:Cd005583.
2. Morais S, Ferro A, Bastos A, Castro C, Lunet N, Peleteiro B. Trends in gastric cancer mortality and in the prevalence of Helicobacter pylori infection in Portugal. European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP). 2015.
3. Instituto Nacional de Estatística. Causas de Morte - 2013. INE, Portugal. 2015.
4. Direcção - Geral de Saúde. Portugal - Doenças Oncológicas em Números - 2013. Lisboa, Portugal. 2013.
5. RORCentro. Registo Oncológico Nacional 2008. Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil – EPE, 2014. ROR-Centro.
6. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. International journal of cancer Journal international du cancer. 2006;118(12):3030-44.
7. International Agency for Research on Cancer Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. In: IARC., editor. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon: IARC; 1994.
8. Brown LM. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. Epidemiologic reviews. 2000;22(2):283-97.
9. Asfeldt AM, Straume B, Steigen SE, Locher ML, Florholmen J, Bernersen B, et al. Changes in the prevalence of dyspepsia and Helicobacter pylori infection after 17 years: the Sorreisa gastrointestinal disorder study. European journal of epidemiology. 2008;23(9):625-33.
10. Harvey RF, Spence RW, Lane JA, Nair P, Murray LJ, Harvey IM, et al. Relationship between the birth cohort pattern of Helicobacter pylori infection and the epidemiology of duodenal ulcer. QJM : monthly journal of the Association of Physicians. 2002;95(8):519-25.
11. Peleteiro B, Bastos A, Ferro A, Lunet N. Prevalence of Helicobacter pylori infection worldwide: a systematic review of studies with national coverage. Digestive diseases and sciences. 2014;59(8):1698-709.
12. Levi F, Lucchini F, Gonzalez JR, et al. Monitoring falls in gastric cancer mortality in Europe. Annals of Oncology 2004;15:338-45.
13. Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2006;24(14):2137-50.
14. Bertuccio P, Chatenoud L, Levi F, Praud D, Ferlay J, Negri E, et al. Recent patterns in gastric cancer: a global overview. International journal of cancer Journal international du cancer. 2009;125(3):666-73.
15. Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. GLOBOCAN 2008: cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
16. Bastos J, Peleteiro B, Barros R, Alves L, Severo M, de Fatima Pina M, et al. Sociodemographic determinants of prevalence and incidence of Helicobacter pylori infection in Portuguese adults. Helicobacter. 2013;18(6):413-22.

17. Lunet N. *Helicobacter pylori* infection in a region with high risk of gastric cancer. *Arquivos de Medicina* 2011;25:213–7 [in Portuguese].
18. Bastos J, Peleteiro B, Pinto H, Marinho A, Guimaraes JT, Ramos E, et al. Prevalence, incidence and risk factors for *Helicobacter pylori* infection in a cohort of Portuguese adolescents (EpiTeen). *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2013;45(4):290-5.
19. Oleastro M, Pelerito A, Nogueira P, Benoliel J, Santos A, Cabral J, et al. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* Infection in a healthy pediatric population in the Lisbon area. *Helicobacter*. 2011;16(5):363-72.
20. Lunet N, Pina F, Barros H. Regional trends in Portuguese gastric cancer mortality (1984-1999). *European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. 2004;13(4):271-5.
21. Monteiro L, de Mascarel A, Sarrasqueta AM, Bergey B, Barberis C, Talby P, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: noninvasive methods compared to invasive methods and evaluation of two new tests. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(2):353-8.
22. Lopes AI, Vale FF, Oleastro M. *Helicobacter pylori* infection - recent developments in diagnosis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2014;20(28):9299-313.
23. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2007;21(2):299-313.
24. Megraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clinical microbiology reviews*. 2007;20(2):280-322.
25. Herbrink P, van Doorn LJ. Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring of eradication therapy. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2000;19(3):164-73.
26. Chehter EZ, Bacci MR, Fonseca FL, Goncalves JA, Buchalla G, Shiraichi SA, et al. Diagnosis of the infection by the *Helicobacter pylori* through stool examination: method standardization in adults. *Clinical biochemistry*. 2013;46(15):1622-4.
27. Choi J, Kim CH, Kim D, Chung SJ, Song JH, Kang JM, et al. Prospective evaluation of a new stool antigen test for the detection of *Helicobacter pylori*, in comparison with histology, rapid urease test, (13)C-urea breath test, and serology. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2011;26(6):1053-9.
28. Tonkic A, Tonkic M, Lehours P, Megraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2012;17 Suppl 1:1-8.
29. Guarner J, Kalach N, Elitsur Y, Koletzko S. *Helicobacter pylori* diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009. *European journal of pediatrics*. 2010;169(1):15-25.
30. Gisbert JP, Pajares JM. Review article: 13C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection -- a critical review. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2004;20(10):1001-17.
31. Gisbert JP, de la Morena F, Abaira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of gastroenterology*. 2006;101(8):1921-30.
32. Xu Y, Jing JJ, Gong YH, Xu Q, Zhang WL, Piao Y, et al. Changes in biological and virulent characteristics of *Helicobacter pylori* exposed to high salt. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2011;12(10):2637-41.
33. D'Elia L, Rossi G, Ippolito R, Cappuccio FP, Strazzullo P. Habitual salt intake and risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective studies. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2012;31(4):489-98.

34. Ge S, Feng X, Shen L, Wei Z, Zhu Q, Sun J. Association between Habitual Dietary Salt Intake and Risk of Gastric Cancer: A Systematic Review of Observational Studies. *Gastroenterology research and practice*. 2012;2012:808120.
35. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer research*. 1992;52(24):6735-40.
36. Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet (London, England)*. 1975;2(7924):58-60.
37. Dias-Neto M, Pintalhão M, Ferreira M, Lunet N. Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. *Nutrition and cancer*. 2010;62(2):133-47.
38. Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline in gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. *Epidemiologic reviews*. 1986;8:1-27.
39. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research (2007) Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. In: AICR, Washington DC.
40. Epplen M, Zheng W, Li H, Peek RM, Jr., Correa P, Gao J, et al. Diet, *Helicobacter pylori* strain-specific infection, and gastric cancer risk among Chinese men. *Nutrition and cancer*. 2014;66(4):550-7.
41. Guideline: sodium intake for adults and children. Geneva, World Health Organization, 2012 (http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sodium_intake_printversion.pdf).
42. Elliott, Paul. Sodium intakes around the world / Paul Elliott and Ian Brown, Background document prepared for the Forum and Technical meeting on Reducing Salt Intake in Populations (Paris 5-7th October 2006). Geneva. WHO, 2007.
43. Stamler J. The INTERSALT Study: background, methods, findings, and implications. *The American journal of clinical nutrition*. 1997;65(2 Suppl):626s-42s.
44. Graça P. Relatório - Estratégia para a redução do consumo de sal na população em Portugal. Direcção-Geral da Saúde, 2013.
45. Polonia J, Maldonado J, Ramos R, Bertoquini S, Duro M, Almeida C, et al. Estimation of salt intake by urinary sodium excretion in a Portuguese adult population and its relationship to arterial stiffness. *Revista portuguesa de cardiologia : orgao oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia = Portuguese journal of cardiology : an official journal of the Portuguese Society of Cardiology*. 2006;25(9):801-17.
46. Polonia J, Martins L, Pinto F, Nazare J. Prevalence, awareness, treatment and control of hypertension and salt intake in Portugal: changes over a decade. The PHISA study. *Journal of hypertension*. 2014;32(6):1211-21.
47. WHO Forum on Reducing Salt Intake in Populations (2006 : Paris, France) Reducing salt intake in populations : report of a WHO forum and technical meeting, 5-7 October 2006, Paris, France.
48. Lei nº 75/2009 (2009) Diário da República, 1.ª série - N.º 155 - 12 de agosto de 2009.
49. Bingham SA. The dietary assessment of individuals; methods, accuracy, new techniques and recommendations. *Nutr Abstr Rev A*. 1987;57:706-42.
50. James WP, Ralph A, Sanchez-Castillo CP. The dominance of salt in manufactured food in the sodium intake of affluent societies. *Lancet (London, England)*. 1987;1(8530):426-9.
51. Pietinen P. Estimating sodium intake from food consumption data. *Annals of nutrition & metabolism*. 1982;26(2):90-9.
52. Stamler J, Elliott P, Appel L, Chan Q, Buzzard M, Dennis B, et al. Higher blood pressure in middle-aged American adults with less education--role of multiple dietary factors: the INTERMAP study. *Journal of human hypertension*. 2003;17(9):655-775.

53. Bates CJ. Biochemical Markers of Nutrient Intake. In: Margetts BM, Nelson M, eds. Design concepts in nutritional epidemiology. Oxford, Oxford Medical Publications, 1991:192–265.
54. Hunter D. Biochemical indicators of dietary intake. In: Willett W, ed. Nutritional Epidemiology. Oxford, Oxford University Press, 1998:174–243.
55. Wesson LG, Jr. ELECTROLYTE EXCRETION IN RELATION TO DIURNAL CYCLES OF RENAL FUNCTION. *Medicine*. 1964;43:547-92.
56. Stanbury SW, Thomson AE. Diurnal variation in electrolyte excretion. *Clinical science (London, England : 1979)*. 1951;10(3):267-93.
57. Ferreccio C, Rollan A, Harris PR, Serrano C, Gederlini A, Margozzini P, et al. Gastric cancer is related to early *Helicobacter pylori* infection in a high-prevalence country. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2007;16(4):662-7.
58. Zhong C, Li KN, Bi JW, Wang BC. Sodium intake, salt taste and gastric cancer risk according to *Helicobacter pylori* infection, smoking, histological type and tumor site in China. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2012;13(6):2481-4.
59. Fox JG, Dangler CA, Taylor NS, King A, Koh TJ, Wang TC. High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances *Helicobacter pylori* colonization in C57BL/6 mice. *Cancer research*. 1999;59(19):4823-8.
60. Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T, Tanaka H, Kumagai T, Ota H, et al. High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2006;119(7):1558-66.
61. Charnley G, Tannenbaum SR. Flow cytometric analysis of the effect of sodium chloride on gastric cancer risk in the rat. *Cancer research*. 1985;45(11 Pt 2):5608-16.
62. Loh JT, Torres VJ, Cover TL. Regulation of *Helicobacter pylori* cagA expression in response to salt. *Cancer research*. 2007;67(10):4709-15.
63. Loh JT, Friedman DB, Piazuelo MB, Bravo LE, Wilson KT, Peek RM, Jr., et al. Analysis of *Helicobacter pylori* cagA promoter elements required for salt-induced upregulation of CagA expression. *Infection and immunity*. 2012;80(9):3094-106.
64. Alves E, Correia S, Barros H, Azevedo A. Prevalence of self-reported cardiovascular risk factors in Portuguese women: a survey after delivery. *International journal of public health*. 2012;57(5):837-47.
65. Larsen PS, Kamper-Jorgensen M, Adamson A, Barros H, Bonde JP, Brescianini S, et al. Pregnancy and birth cohort resources in Europe: a large opportunity for aetiological child health research. *Paediatric and perinatal epidemiology*. 2013;27(4):393-414.
66. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Tabela da Composição de Alimentos. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição, INSA. Lisboa. 2007.
67. Lopes C.; Oliveira A.; Afonso L.; Moreira T.; Durão C.; Severo M. et al. Consumo alimentar e nutricional de crianças em idade pré-escolar: resultados da coorte Geração 21. Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto. 2014
68. Lunet N, Peleteiro B, Bastos J, Correia S, Marinho A, Guimaraes JT, et al. Child day-care attendance and *Helicobacter pylori* infection in the Portuguese birth cohort Geracao XXI. *European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. 2014;23(3):193-8.
69. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. Washington, DC: National Academies Press; 2004.

70. Meneton P, Lafay L, Tard A, Dufour A, Ireland J, Menard J, et al. Dietary sources and correlates of sodium and potassium intakes in the French general population. *European journal of clinical nutrition*. 2009;63(10):1169-75.
71. Bingham SA: The dietary assessment of individuals; methods, accuracy, new techniques and recommendations. *Nutrition abstract review* 1987, 57(10):705–741.
72. Margetts BM.; Nelson M. Design concepts in nutritional epidemiology. New York: Oxford University Press. 1997.
73. Alexy U, Cheng G, Libuda L, Hilbig A, Kersting M. 24 h-Sodium excretion and hydration status in children and adolescents--results of the DONALD Study. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*. 2012;31(1):78-84.
74. Oliveira AC, Padrao P, Moreira A, Pinto M, Neto M, Santos T, et al. Potassium urinary excretion and dietary intake: a cross-sectional analysis in 8-10 year-old children. *BMC pediatrics*. 2015;15:60.
75. Bastos J, Lunet N, Peleteiro B, Lopes C, Barros H. Dietary patterns and gastric cancer in a Portuguese urban population. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010;127(2):433-41.
76. Peleteiro B, La Vecchia C, Lunet N. The role of *Helicobacter pylori* infection in the web of gastric cancer causation. *European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. 2012;21(2):118-25.
77. Moreira P, Padrao P. Educational, economic and dietary determinants of obesity in Portuguese adults: a cross-sectional study. *Eating behaviors*. 2006;7(3):220-8.

Anexo

Tabela em anexo - Leites reportados pelos pais das crianças, aos 6 meses de idade

Nome comercial do produto	Faixa etária	Função/tipo	Teor de sódio (mg/100ml)
Agros® leite meio gordo	-	-	40
Aptamil® FMS	Recém-nascidos	Para prematuros, suplemento ao leite materno	70
Aptamil® prematil	Recém-nascidos	Para bebés prematuros ou com baixo peso à nascença	50
Aptamil® PDF	Recém-nascidos	Para prematuros, com prebióticos	28
Aptamil® pepti junior	Desde o nascimento	Para lactentes com alergia às proteínas do leite de vaca e intolerância alimentar	18
Aptamil® 1	0 aos 6 meses	Para lactentes	18
Aptamil® 1 AO	0 aos 6 meses	Anti obstipante	20
Aptamil® premium 1	0 aos 6 meses	Com prebióticos	125
Aptamil® 1 AR	0 aos 6 meses	Anti regurgitação	22
Aptamil® 1 HA	0 aos 6 meses	Parcialmente hidrolisado	25
Aptamil® 1 confort	0 aos 6 meses	Anti cólica e anti obstipante	20
Aptamil® 2	A partir dos 6 meses	Transição	21
Aptamil® 2 AR	A partir dos 6 meses	Anti regurgitação	22
Aptamil® 2 confort	A partir dos 6 meses	Anti cólica e anti obstipante	25
Aptamil® 2 HA	A partir dos 6 meses	Parcialmente hidrolisado	25

Aptamil® 3	A partir dos 9 meses	Transição	22
Aptamil® 3 HA	A partir dos 9 meses	Transição, hipoalergénico	27
Baby Bio®	-	Biológico	156
Bebida de soja (média de várias)	-	Bebida vegetal	32
Bledilac®	-	-	20
Cerelac® multifrutos	A partir dos 6 meses	Transição	28
Cerelac® baunilha	A partir dos 6 meses	Transição	28
Enfalac® prematuros	Recém-nascidos	Para lactentes prematuros e com baixo peso	39
Enfalac® 1	0 aos 6 meses	Para lactentes	18
Enfalac® 1 AR	0 aos 6 meses	Anti regurgitação	24
Enfalac® 1 HA digest	0 aos 6 meses	Hipoalergénico	26
Enfalac® 1 premium	0 aos 6 meses	Contém oligossacarídeos e ácidos gordos	18
Enfalac® 2	A partir dos 6 meses	-	28
Enfalac® 2 AR	A partir dos 6 meses	Anti regurgitação	200
Enfalac® 2 premium	A partir dos 6 meses	Transição	28
Enfalac® 2 HA	A partir dos 6 meses	Hipoalergénico	26
Enfalac® o-lac	Desde o nascimento	Para intolerantes à lactose e com diarreia	31

Leite meio gordo (média dos leites)	-	-	40
Leite gordo (média dos leites)	-	-	40
Leite sem lactose	-	Intolerantes à lactose	72
Miltina® 1	Desde o nascimento	Com GOS (prebióticos) e ácido gordos	28
Miltina® 1 progress	Desde o nascimento	Enriquecido com LC-PUFAs e prebióticos	28
Miltina® AR	Desde o nascimento	Anti regurgitação	22
Miltina® 2 progress	A partir dos 6 meses	Transição	20
Milkid® HA	0 aos 12 meses	Parcialmente hidrolisado	19
Mimosa® leite meio gordo	-	-	40
Mimosa® leite gordo	-	-	40
Mimosa® (média dos leites Mimosa)	-	-	40
Mimosa® crescimento 1-3	Do 1 aos 3 anos	Com teor de proteína ajustado	36
Mimosa® sabor a cereais	-	-	40
NAN® pré NAN	Recém-nascidos	Para bebés prematuros ou com baixo peso à nascença	35
NAN® 1	0 aos 6 meses	Para lactentes	17
NAN® 1 HA	0 aos 6 meses	Parcialmente hidrolisado	26
NAN® 1 confort	0 aos 6 meses	Anti cólica e anti obstipante	26

NAN® 1 AR	0 aos 6 meses	Anti regurgitação	26
NAN® 2	6 aos 12 meses	Transição	23
NAN® 2 HA	6 aos 12 meses	Parcialmente hidrolisado	30,4
NAN® 2 confort	6 aos 12 meses	Anti cólica e anti obstipante	25
Nestlé® + crescidos 1-3anos	Do 1 aos 3 anos	-	28
Nestlé® crescimento junior 1+	A partir de 1 ano	-	26,1
Nestlé® Ninho 1+	0 aos 6 meses	Para lactentes, sem lactose	71
Nidina® HA/AR	Desde o nascimento	Parcialmente hidrolisado e anti regurgitação	26
Nidina® 1	0 aos 6 meses	Para lactentes	17
Nidina® 1 HA	0 aos 6 meses	Parcialmente hidrolisado	26
Nidina® 2	6 aos 12 meses	Transição	26
Nidina® 2 HA	6 aos 12 meses	Parcialmente hidrolisado	26
Nidina® AL 110	Desde o nascimento	Sem lactose	172
Novalac® 1	0 aos 6 meses	Para lactentes	19,5
Novalac® 1 premium	0 aos 6 meses	Para lactentes	19,5
Novalac® 2	6 aos 12 meses	Transição	19,5
Novalac® 2 premium	6 aos 12 meses	Transição	20,8

Novalac® AO	Desde o nascimento	Anti obstipação	20
Novalac® AC	Desde o nascimento	Com baixo teor de lactose	19,5
Novalac® AD	Desde o nascimento	Anti diarreia	31,2
Novalac® AR	Desde o nascimento	Anti regurgitação	22,1
Novalac® HA	Desde o nascimento	Parcialmente hidrolisado	24
Novalac® SA 1	0 aos 12 meses	Saciedade	19,5
Nutramigen® 1 LGG	0 aos 6 meses	Parcialmente hidrolisado e sem lactose	32
Nutribén® natal	0 aos 6 meses	Para lactentes	20
Nutribén® natal AR	Desde o nascimento	Anti regurgitação	20
Nutribén® natal HA	Desde o nascimento	Hipoalergénico para lactentes atópicos	20
Nutribén® AC	Desde o nascimento	Anti cólicas	20
Nutribén® 2 continuação	A partir dos 6 meses	Transição	25
Nutribén® crescimento	A partir dos 12 meses	Transição	25
Nutricia® Nutrilon 1	0 aos 6 meses	Lactentes	17,5
Nutricia® Nutrilon 1 AR	0 aos 6 meses	Anti regurgitação	18
Nutricia® Nutrilon 2	6 aos 12 meses	Transição	23
Nutricia® Nutrilon 2 AR	6 aos 12 meses	Anti regurgitação	23

Nutricia® Nutrilon 1 HA digest	0 aos 6 meses	Parcialmente hidrolisado para fácil digestão	25
Nutricia® Nutrilon 2 HA digest	6 aos 12 meses	Parcialmente hidrolisado para fácil digestão	26
Parmalat® (média dos leites)	-	-	60
S26® gold 1	0 aos 6 meses	Lactentes	16
S26® gold 2	6 aos 12 meses	Transição	16
S26® AR	Desde o nascimento	Anti regurgitação	22
S26® gold HA	Desde o nascimento	Parcialmente hidrolisado	20
S26® sem lactose	Desde o nascimento	Sem lactose	16
Terra Nostra® (leite meio gordo)	-	-	40
Visoy®	A partir dos 4/6 meses	Proteína de soja	144