

SOROEPIDEMIOLOGIA DE ANTICORPOS IGG (IMUNOGLOBINA G) ANTI-
HELICOBACTER PYLORI EM UNIVERSITÁRIOS¹SEROEPIDEMIOLOGY OF ANTIBODIES IGG (IMMUNOGLOBULIN G) ANTI-*HELICOBACTER PYLORI*
AT UNIVERSITYGabriel Dalio Bernardes da SILVA² e Luciano Lobo GATTI³

RESUMO

Objetivo: caracterização do perfil sorológico de anticorpos anti-*H. pylori* da classe IgG (Imunoglobulina G) de amostras de soro de estudantes universitários, a fim de verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*H. pylori* em universitários de uma instituição privada do interior de São Paulo. **Método:** a técnica a ser empregada refere-se à técnica de ImmunoComb H. Pylori IgG (ELISA) comercial da empresa Orgenics. **Resultados:** foram analisadas 90 amostras de estudantes voluntários, sendo 45 do sexo masculino. Verificou-se que 75,5% (68/90) amostras analisadas eram soropositivas para IgG anti-*H. pylori*, sendo 86,6% (39/45) do sexo feminino e 64,4% (29/45) do sexo masculino. **Conclusões:** estes resultados indicam alta prevalência de anticorpos anti-*H. pylori*, predominantemente para o sexo feminino, quando comparado com as amostras do sexo masculino.

DESCRITORES: *Helicobacter pylori*, Doença Gástrica, anti-*H. pylori*, IgG

INTRODUÇÃO

O *Helicobacter pylori* tem sido descrito na literatura como o responsável pela gênese de doenças gástricas¹, sendo uma característica típica desta espécie a produção abundante de uma enzima denominada urease, a qual é responsável pela degradação da uréia em amônia alcalinizando o pH gástrico². Inicialmente, a busca por fatores de virulência envolvidos na patogenicidade da bactéria levou ao isolamento de uma proteína denominada citotoxina vacuolizante (VacA), de 87 kDa, a partir do sobrenadante de cultura. Esta proteína está presente no sobrenadante de 50% das cepas de *H. pylori* e foi assim denominada por induzir a vacuolização de diversas linhagens de células eucariontes, *in vitro*³.

Estudos de Xiang et al., (1995) consistiram na separação de cepas de *H. pylori*, segundo sua patogenicidade, em dois grupos: Tipo I (virulento) e Tipo II (não virulento). Extratos de bactérias Tipo I, injetados em camundongos, induziram vacuolização, erosão, necrose e ulceração nas células epiteliais do estômago. Estes danos são os mesmos encontrados em biópsias gástricas de pacientes infectados com *H. pylori*. O mesmo não

acontece com a injeção de extrato de bactérias Tipo II, nos camundongos.

Além disso, os autores verificaram que as bactérias do Tipo I expressam a citotoxina vacuolizante codificada pelo gene *vacA* e a proteína denominada citotoxina associada codificada pelo gene *cagA*, enquanto que as do Tipo II só expressam *vacA*, indicando que o *cagA* também possa estar relacionado a patogenicidade das bactérias⁵. O gene *cagA* encontra-se presente em 60-70% das cepas de *H. pylori* e codifica uma proteína imunodominante de alto peso molecular, 120-140 kDa, de função ainda desconhecida⁶. Este gene situa-se em um *locus* genômico que contém genes que potencialmente codificam o sistema de secreção tipo IV⁷. Portanto, a presença desta região pode ser uma indicação de maior virulência dessa bactéria⁸.

Outros trabalhos associam a presença do gene *cagA* a uma maior capacidade de colonização das bactérias, desenvolvendo um processo inflamatório, com estímulo da liberação de interleucina-8 (IL-8). A IL-8 é responsável pelo aumento da migração de neutrófilos na região da infecção. Este

¹ Trabalho realizado no Laboratório de Análises Clínicas das Faculdades Integradas de Ourinhos (FIO) – Ourinhos, São Paulo, Brasil

² Graduando do Curso de Farmácia das Faculdades Integradas de Ourinhos

³ PhD. Geneticista, Professor Doutor e Pesquisador das Faculdades Integradas de Ourinhos

aumento não é suficiente para reprimir a infecção, ocorrendo desintegração de neutrófilos, liberação de óxido nítrico e radicais hidroxil. Estes são potencialmente mutagênicos induzindo danos na mucosa, proliferação de células com elevado risco de erro na síntese de DNA, perda de estruturas epiteliais, subsequente atrofia e eventual metaplasia^{9,10,11}.

No Brasil, Queiroz et al., (1998) demonstraram que existe uma correlação entre a presença do gene *cagA* e a ocorrência de câncer gástrico distal. Em outro estudo Gatti et al., (2006) demonstraram uma associação entre a presença do gene *cagA* com um aumento do processo inflamatório em crianças. Além disso, cada um dos genes citados parece interferir em fases específicas do ciclo celular, podendo ser este um dos fatores responsáveis pela predisposição dos pacientes infectados ao desenvolvimento de câncer e outros distúrbios do ciclo celular.

OBJETIVO

Verificar através de um estudo sorológico a incidência de anticorpos anti-*H. pylori* em uma população de estudantes universitários de uma instituição privada do Estado de São Paulo como forma de prevenção da doença.

MÉTODO

Coleta do material biológico

Coletou-se sangue periférico de 90 universitários, de forma aleatória, através de punção venosa. Todos os alunos participantes assinaram o termo de consentimento informado. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, Protocolo 1394/11. O material após a coleta foi encaminhado ao Laboratório de Análises Clínicas das Faculdades Integradas de Ourinhos (FIO) e levado à Banho Maria 37° para potencializar a coagulação e retração deste coágulo e centrifugado para obtenção do soro onde foi feito a pesquisa para detecção dos anticorpos anti-*H. pylori*, conforme técnica abaixo, descrita pelo fabricante do teste.

Procedimento técnico para detecção de anticorpos anti-*H. pylori*:

A placa reveladora foi incubada a 37°C por um período de 20 minutos. Para cada amostra e controle foi dispensado 100 µL de diluente no microtubo; e, para cada microtubo foi adicionado 10 µL da amostra ou do Controle Positivo ou Controle Negativo.

Para a fileira A da Placa Reveladora (reação antígeno-anticorpo) foi dispensado 25 µL da amostra pré-diluída. Cada cavidade da fileira A foi homogeneizada com a ponteira da pipeta e, o pente foi colocado por 30 minutos exatos. Ao final dos 30 minutos, o pente foi colocado na fileira B (primeira lavagem), agitando-o por 10 segundos, com repetições, por um período de 2 minutos.

Na fileira C (ligação do conjugado) deixou-se o pente por 20 minutos e, posteriormente foi colocado para uma segunda lavagem (fileira D) por um período de 2 minutos. Após este período, uma terceira lavagem foi realizada (fileira E) utilizando-se a mesma técnica.

Na fileira F (reação de cor) o pente foi inserido e deixado por 10 minutos. Ao término, retirou-se o pente e foi colocado novamente na fileira E (lavagem) por 1 minuto. Após 1 minuto, retirou-se e foi deixado secar ao ar livre para a leitura visual dos resultados.

RESULTADOS

Foram analisadas 90 amostras de universitários voluntários, sendo destes, 45 do sexo masculino (50%) e 45 do sexo feminino (50%). A idade média dos alunos envolvidos no trabalho foi de 25 anos de idade.

Quanto ao sexo, observa-se um predomínio do sexo feminino, 86,6% (39/45); e para o sexo masculino, 64,4% (29/45) – Tabela I e II. Não foi encontrado, na literatura pesquisada, nenhuma associação entre a infecção pelo *H. pylori* com os sexos.

Tabela I – Soroprevalência de anticorpos anti-*H. pylori* em universitários em relação à faixa etária

		19 - 29	30 - 40	41 - 45	Total
Homens	Positivo	23	6	0	29
	Negativo	13	3	0	16
Mulheres	Positivo	32	2	5	39
	Negativo	6	0	0	6

Tabela II - Soroprevalência de anticorpos anti-*H. pylori* em universitários em relação ao sexo

	Positivo	Negativo
Homens	29 (64,4%)	16 (35,6%)
Mulheres	39 (86,6%)	6 (13,4%)

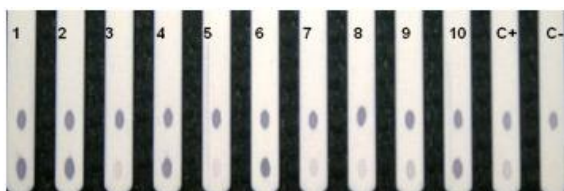


Figura II - Pentes sensibilizados com anticorpos de cabra (ponto superior) e antígenos *H. pylori* inativados (ponto inferior) para detecção de anticorpos IgG anti-*H. pylori* nos Soros testados, onde 1-10 referem-se a amostras de soro, C+ Controle positivo e C- Controle Negativo. Amostras 1-10 positivo. Controle Negativo (Negativo).

DISCUSSÃO

O *H. pylori* leva à morte, por ano, pelo menos 1 milhão de indivíduos. Estudos com esta bactéria tem revelado que sua principal consequência é a gastrite crônica e a gênese da úlcera péptica^{14,15}.

Wisniewski, Peura, em 1997 relataram que metade da população mundial está infectada por este microorganismo, sendo que 80% desses indivíduos permanecem sem nenhuma evidência clínica de doença, situação esta que está de acordo com os nossos resultados, uma vez que todos os indivíduos participantes da pesquisa não apresentavam sintomatologia clínica de doença gástrica.

A gênese da doença gástrica está relacionada a vários fatores, inclusive a aquisição na infância, o tipo de cepa da bactéria, a predisposição genética do hospedeiro e o meio ambiente parecem estar relacionados a sua fisiopatogenia, o que torna o estudo da bactéria extremamente importante

para uma melhor compreensão e prognóstico nas doenças gástricas¹⁷.

Mccallion et al., descreveram em 1995, que o *H. pylori* é igualmente encontrado em homens e mulheres, diferindo dos nossos resultado em que 86,6% das mulheres foram soropositivos, enquanto a soropositividade no sexo masculino foi 64,4%.

Alguns estudos revelam que a soroprevalência aumenta progressivamente com a idade¹⁹. Nesse estudo, observou-se uma prevalência de positividade na faixa etária que compreende entre 19 e 29 anos (71,1%) em indivíduos do sexo feminino, enquanto 51,1% na mesma faixa etária entre indivíduos do sexo masculino. Estes dados confrontam o estudo anteriormente citado, fato este que pode ser justificado pelas amostras colhidas serem de estudantes (19-25 anos). Outros estudos podem ser desenvolvidos com mais amostras de outras faixas etárias para verificar a soroprevalência de acordo com a idade.

Neste estudo foi realizado a técnica de ImmunoComb *H. pylori* IgG (ELISA), comercial da empresa Orgenics. O pente contém 12 dentes para cada amostra, sendo os 2 últimos, respectivamente, Controle Positivo e Controle Negativo. A Figura II é o pente pronto para a leitura Na fileira superior é o controle interno da reação contendo anticorpos de cabra antiglobulina humana. Na fileira inferior, antígenos *H. pylori*.

CONCLUSÃO

Observou-se uma alta prevalência de anticorpos anti-*H. pylori*, predominantemente para o sexo feminino, quando comparado com as amostras do sexo masculino, não mostrando diferença entre as idades observadas. Tais dados são de extrema importância em saúde publica visto a importância da bactéria na gênese de doenças gástricas, como gastrites, úlceras e adenocarcinoma gástrico. Outros estudos devem ser realizados para verificar a soroprevalência quanto à idade e sexo, em uma próxima etapa aumentando o número de amostras a serem testadas.

SUMMARY

SEROEPIDEMIOLOGY OF ANTIBODY IGG (IMMUNOGLOBULIN G) ANTI-*HELICOBACTER PYLORI* AT UNIVERSITY

Gabriel Dalio Bernardes da SILVA e Luciano Lobo GATTI

Objective: to characterize the serological profile of anti-*H. pylori* IgG (Immunoglobulin G) of degree students samples at private university to determine the seroprevalence of antibodies anti-*H. pylori*. **Methods:** Therefore, the technique to be used refers to ImmunoComb *H. pylori* IgG technique (ELISA) of Organics company's. **Results:** 90 samples of students were analyzed with 45 male samples. It was found that 75,5% (68/90) samples were seropositive for IgG anti-*H. pylori*, with 86,6% (39/45) female and 64,4% (29/45) male. **Conclusions:** these results indicated a high prevalence of IgG anti-*H. pylori* predominantly in females compared with male samples.

KEYWORD: *Helicobacter pylori*, peptic diseases, anti-*H. pylori*, IgG

REFERÊNCIAS

1. Andersen, LP; Kiilerick, S; Pedersen, G; Thoreson, AC; Jorgesen, F; Rath, J *et al.* An analysis of seven different methods to diagnose *Helicobacter pylori* of infections. Scand J Gastroenterol, v.33, p.24-30. 1998.
2. Jerris, RC. *Helicobacter* In: Manual of Clinical Microbiology. 7.ed. Washington, D.C: AMS, 1999. 1773p.
3. Leunk, RD; Johnson, PT; David, BC; Kraft, WG; Morgan DR. Cytotoxic activity in broth culture filtrates of *Campylobacter pylori*. J Med Microbiol, v.26, p.93-99. 1988.
4. Xiang, ZY; Censini, S; Bayeli, PF; Telford, JL; Figura, N; Rappuoli, R *et al.* Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two majors types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating citotoxin. Immun, v.63, p.94-98. 1995.
5. Telford, JL; Ghiara, P; Dell'orco, M; Comanducci, M; Burroni, D; Bugnoli, M *et al.* Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. J Exp Med, v.179, p.1653-1658. 1994.
6. Covacci, A; Censini, S; Bugnoli, M; Petracca, R; Burroni, D; Macchia, G *et al.* Molecular characterization of the 128-KDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. Proc Natl Acad Sci USA, v.90, p.5791-5795. 1993.
7. Hacker, J; Bender, L; Ott, M; Wingender, J; Lund, B; Marre, R *et al.* Deletions of chromosomal regions coding for fimbriae and hemolysins occur in vitro and in vivo in various extraintestinal *Escherichia coli* isolates. Microb Pathog, v.8, p.213-225. 1990.
8. Censini, S; Lange, C; Xiang, Z; Crabtree, JE; Ghiara, P; Borodovsky, M *et al.* Cag A pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease – associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA, v.93, p.14648-14653. 1996.

9. Correa, P. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *Amer J surg Pathol*, v.19, p.S37-S43. 1995.
10. Akopyants, NS; Clifton, SW; Kersulyte, D; Crabtree, JE; Youree, BE; Reece, CA *et al.* Analyses of the cag pathogenicity island in *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol*, v.28, p.37-53. 1998.
11. Keates, S; Keates, AC; Warny, M; Peek Junior, RM; Murray, PG; Kelly, CP. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in AGS gastric epithelial cells by cag+ and cag- *Helicobacter pylori*. *J Immunol*, v.163, p.5552-9. 1999
12. Queiroz, DMM; Mendes, EM; Rocha, GA; Oliveira, NA; Oliveira, CA; Magalhães, PP *et al.* CagA-positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int J Cancer*, v.78, p.135-139. 1998.
13. Gatti, LL; Labio, RW; Silva, LC; Smith, MAC; Payao, SLM. cagA Positive *Helicobacter pylori* in Brazilian Children Related to Chronic Gastritis. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.10, n.4, p.254-258. 2006.
14. Peek Junior, RM; Blaser, MJ; Mays, DJ; Forsyth, MH; Cover, TL; Song, SY *et al.* *Helicobacter pylori* strain-specific genotypes and modulation of gastric epithelial cell cycle. *Cancer Res*, v.59, p.6124-31. 1999.
15. Sullivan, PB; Thomas, JE; Wight, DG; Neale, G; Eastham, EJ; Corrah, T *et al.* *Helicobacter pylori* in Gambia children with chronic Diarrhoea and malnutrition. *Arch Dis Child*, v.65, p.189-91. 1990.
16. Wisniewski, RM; Peura, DA. *Helicobacter pylori*: beyond peptic ulcer disease. *Gastroenterologist*, v.5, p.295-305. 1997.
17. Tebbe, B; Geilen, CC; Schulzke, JD. *Helicobacter pylori* infection and chronic urticaria. *J Am Acad Dermatol*, v.34, p.685-6. 1996.
18. McCallion, WA; Ardill, JE; Bamford, KB; Potts, SR; Boston, VE. Age dependent hypergastrinaemia in children with *Helicobacter pylori* gastritis – evidence of early acquisition of infection. *Gut*, v.37, p.35-38. 1995.
19. Mitchell, A; Silva, TM; Barrett, LJ; Lima, AA; Guerrant, RL. Age-specific *Helicobacter pylori* seropositivity rates of children in an impoverished urban area of northeast Brazil. *Clin Microbiol*, v.4, p.1326-8. 2003.

Endereço para Correspondência :

Prof. Dr. Luciano Lobo Gatti
Laboratório de Análises Clínicas
Faculdades Integradas de Ourinhos – FIO
Rodovia BR153 Km339 + 400m - Bairro Água do Cateto - Ourinhos/SP
e-mail: lobogatti@yahoo.com.br
Fone : 14 – 3302 6400 (Ramal 6424)

Recebido em 26.04.2012 – Aprovado em 27.03.2013