Diagnosticul serologic al infecției cu *Helicobacter pylori* la copil și utilitatea acestuia – un studiu prospectiv

Maria Oana Săsăran¹, Lorena Elena Meliț², Simona Mocanu³, Ecaterina Daniela Dobru⁴

¹Pediatrie III, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade”, Tg. Mureș, România

²Pediatrie I, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade”, Tg. Mureș, România

³Anatomie Patologică, Spitalul Județean de Urgență, Tg. Mureș, România

⁴Medicină Internă VII, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade”, Tg. Mureș, România

REZUMAT

Introducere. *Helicobacter pylori*, o bacterie răspândită ubicuar, este unul dintre factorii etiologici majori ai gastritei și ai ulcerului peptic la copil. Diverse metode de diagnostic ale infecției, atât invazive, cât și noninvazive, au fost dezvoltate cu scopul de a depista precoce această bacterie, prevenind astfel complicațiile asociate. Testele serologice, bazate pe detectarea anticorpilor circulanți ai *Helicobacter pylori*, unele dintre primele teste diagnostice utilizate, sunt larg răspândite, noninvazive, grevate de costuri reduse, însă nu posedă sensibilitatea și specificitatea examenului histopatologic.

Obiective. Prin acest studiu, ne propunem să identificăm cât de utilă este dozarea anticorpilor de tip IgA și IgG în diagnosticul infecției cu *Helicobacter pylori*, prin comparație cu examinarea histopatologică. Pe lângă aceasta, ne dorim să stabilim dacă există o corelație între prezența nivelurilor circulante de anticorpi și diferite tipuri de modificări ale mucoasei gastrice.

Material și metode. Am efectuat un studiu prospectiv, incluzând 84 pacienți cu vârste cuprinse între 4 și 17 ani, cu simptomatologie dispeptică cronică, care au fost supuși unei endoscopii digestive superioare, cu prelevare de material biptic de la nivelul mucoasei gastrice. La fiecare dintre pacienți s-a efectuat serologia pentru *Helicobacter pylori*, rezultatele acesteia fiind comparate cu descrierea histologică a biopsiilor gastrice.

Rezultate. Testele serice de tip IgA și IgG au prezentat atât sensibilitate (50%, respectiv 81,25%), cât și specificitate (88,88%, respectiv 81,08%) inferioare examenului histopatologic. Pozitivarea anticorpilor de tip IgA, ca răspuns serologic singular sau în combinație cu anticorpi IgG, s-a corelat semnificativ statistic cu prezența gastritei cronice cu *Helicobacter pylori* ($p < 0,001$).

Concluzii. Testele serologice au o sensibilitate și o specificitate diagnostică inferioară examinării anatomopatologice în infecția cu *Helicobacter pylori*, conform studiului nostru. Prezența acestei bacterii la examenul microscopic s-a asociat cu gastrită cronică în toate cazurile, astfel încât studiul de față nu poate oferi o viziune de ansamblu cu privire la tipurile de modificări histologice asociate anticorpilor serici pozitivi.

Cuvinte cheie: *Helicobacter pylori*, ulcer peptic, copii, anticorpi, diagnostic serologic

INTRODUCERE

Helicobacter pylori (*H. pylori*) este considerată una dintre cele mai răspândite infecții umane (1). Deși colonizarea antrală a acestei bacterii nu determină uzual simptome clinice, *H. pylori* are, totuși, o incidență crescută în cazul copiilor cu status socio-economic precar (2) și este unul dintre factorii etiologici

majori ai inflamației gastrice cronice, ai ulcerului peptic, ai afecțiunilor preneoplazice și ai cancerului gastric (3,4). Multiple teste diagnostice, atât invazive, cât și noninvazive, au fost implementate pentru depistarea infecției (5). Fiecare dintre acestea trebuie utilizat în funcție de contextul clinic, testele noninvazive fiind mai eficiente din punctul de vedere al costurilor, în timp ce cele invazive, cum ar fi endoscopia digestivă

Corresponding author:

Asist. Univ. Dr. Lorena Elena Meliț

E-mail: lory_chimista89@yahoo.com

Article History:

Received: 1 March 2020

Accepted: 14 March 2020

vă superioară, însoțită de prelevare de țesut biptic gastric, reprezintă alegerea potrivită în cazul prezenței simptomelor de alarmă (6).

Dozarea anticorpilor serici este unul dintre primele teste diagnostice utilizate (7). Aceasta reprezintă un mijloc de investigație larg răspândit, care furnizează rapid rezultate, dar nu se recomandă la populațiile cu prevalență redusă a infecției și nu poate oferi informații cu privire la momentul expunerii infecțioase (8). Pe de altă parte, determinarea anticorpilor serici este o variantă care se preferă în cazul pacienților care au beneficiat recent de tratament antibiotic sau cu inhibitori de pompă de protoni, întrucât această medicație ar trebui în mod normal să fie întreruptă cu cel puțin două săptămâni înainte de efectuarea endoscopiei digestive superioare, din cauza potențialelor obstacole care apar în identificarea leziunilor microscopice sau a bacteriilor (7).

Testele serologice pot fi utilizate, de asemenea, în scop de screening, întrucât toți anticorpii circulanți (IgA, IgM, IgG) specifici împotriva *H. pylori* pot fi detectați. Majoritatea testelor utilizate în practica curentă se bazează pe detectarea IgG (8). Costurile reduse ale acestora au stimulat testarea serologică empirică la o scară largă. Anticorpii de tip imuno-globulină G (IgG) sunt pozitivi la marea majoritate a pacienților care au fost infectați cu *H. pylori*, conform datelor din literatură (9). Cu toate acestea, este cunoscut faptul că acești anticorpi nu pot identifica infecția activă, cronică sau pe cea din trecut (10). Câteva studii au subliniat, totuși, rolul important al depistării anticorpilor specifici de tip IgA, care par să fie asociați cu infecția activă cu *H. pylori*, la mai mult de două treimi dintre cazurile de ulcer peptic (11). Secreția semnificativă, izolată a anticorpilor de tip IgA a fost raportată însă și la populațiile sănătoase, cu o frecvență de până la 54%, rezultată în urma unui screening al unei populații pediatrice din Arabia Saudită (3). Întrucât ambele tipuri de anticorpi (IgA, IgG) par să fie detectabile la subiecții asimptomatici, nu este de mirare că recomandările recente ale ghidului reunit ESPGHAN/NASPGHAN cu privire la abordarea infecției cu *H. pylori* contraindică efectuarea testărilor serologice pentru diagnosticul infecției active sau pentru urmărirea răspunsului la tratament (12).

Obiectivul acestui studiu este identificarea utilității dozării anticorpilor de tip IgA și IgG în diagnosticul infecției cu *H. pylori*, prin comparație cu examinarea histopatologică. Mai mult decât atât, ne propunem să stabilim dacă există o corelație între prezența nivelurilor circulante de IgA, individuale sau în combinație cu anticorpi de tip IgG detectabili și anumite tipuri de modificări microscopice ale mucoasei gastrice.

MATERIAL ȘI METODE

Am efectuat un studiu prospectiv pe 84 pacienți cu simptomatologie dispeptică cronică, având vârste cuprinse între 4 și 17 ani, care au fost spitalizați în Clinica Pediatrie I din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș. Studiul a inclus pacienți cu simptome printre care s-au numărat durerea abdominală/epigastrică, grețurile, vărsăturile, inape-tența, pirozismul, meteorismul abdominal sau deficitul ponderal, fiind desfășurat între februarie 2018 și noiembrie 2019. Anticorpii de tip IgA și IgG pentru *H. pylori* au fost determinați la fiecare pacient în parte utilizând tehnica imunoenzimatică ELISA, precedând efectuarea endoscopiei digestive superioare (cu ajutorul unui gastroscop Olympus GIF P30), cu biopsii de la nivelul mucoasei gastrice – cel puțin două piese biptice, de la nivelul antrului și al corpului gastric. Examinarea microscopică a fragmentelor tisulare gastrice a fost realizată inclusiv cu colorația Giemsa, cu scopul de a identifica *H. pylori*. Rezultatele testelor serologice au fost ulterior comparate cu buletinele anatomo-patologice.

Prelucrarea statistică a datelor a fost realizată cu ajutorul soft-ului GraphPad PrismT. Testul Chi pătrat a fost utilizat pentru determinarea asocierilor între variabilele calitative. Testul nonparametric Spearman a fost utilizat pentru investigarea corelației dintre variabilele binare (prezența/absența anticorpilor împotriva *H. pylori* și statusul infecției la microscopia optică). Pentru valoarea p, pragul de semnificație statistică a fost stabilit la 0,05 (corespunzător unui interval de confidență CI de 95%).

Sensibilitatea a fost calculată prin împărțirea numărului de cazuri cu *H. pylori* confirmat histologic în cazul pacienților cu anticorpi IgA pozitivi la numărul total de pacienți infectați cu *H. pylori*, în timp ce specificitatea a reprezentat raportul dintre numărul de subiecți cu anticorpi de tip IgA negativi, afirmativ fără infecție cu *H. pylori*, și numărul total de pacienți neconfirmați cu *H. pylori*.

Algoritmul de cercetare a fost realizat în concordanță cu declarația de la Helsinki. Protocolul de studiu a fost aprobat de comisia de etică a Universității de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Tg. Mureș (nr. 64/2018 și nr. 507/2019). Au fost incluși în studiu doar pacienții ai căror tutori legali au semnat consimțământul informat cu privire la înrolarea în studiu.

REZULTATE

Vârsta medie a pacienților incluși în studiu a fost de $12,82 \pm 3,13$ DS. Dintre cei 84 subiecți înrolați în

FIGURA 1. Distribuția pe sexe a lotului de studiu

FIGURA 2. Distribuția pe sexe în funcție de prezența/absența infecției cu *H. pylori*

studiu, *H. pylori* a fost confirmat histologic la 16 (19,04%) dintre ei. Figura 1 ilustrează distribuția pe sexe a lotului de studiu, cu un raport sex feminin: sex masculin de 1.27:1.

O distribuție similară, aproape egală între cele două sexe poate fi remarcată la divizarea lotului de studiu în două grupe, în funcție de prezența/absența *H. pylori* (figura 2).

Sexul feminin/masculin nu pare să aibă vreo influență asupra statusului infecțios ($p = 0,7592$, $OR = 1,39$, $CI = 95\%$). Figura 3 oferă informații cu privire la mediul de proveniență al grupului de studiu, în timp ce figura 4 relevă relația dintre mediul de proveniență rural/urban și infecția cu *H. pylori*.

Majoritatea copiilor cu *H. pylori* confirmat histopatologic provin din mediul rural. Mai mult decât atât, mediul rural a fost asociat pozitiv semnificativ cu riscul de a dezvolta infecție cu *H. pylori* ($p = 0,002$, $OR = 15,909$, $CI = 95\%$).

Anticorpul IgA au fost pozitivi la doar jumătate dintre pacienții cu *H. pylori*, în timp ce analogii lor de

tip IgG au fost pozitivi la 13 (81,25%) dintre aceștia. Sensibilitatea diagnostică a anticorpilor de tip IgA (calculată prin comparație cu aspectul microscop) a fost de 50%, în timp ce specificitatea de 88,88%. Aceiași parametri au fost calculați și pentru anticorpii de tip IgG, obținând o valoare mai mare a sensibilității (81,25 %), dar mai redusă a specificității (81,08 %) ca în cazul IgA. Un răspuns pozitiv, izolat de tip IgA a fost identificat în doar 3 (3,57 %) cazuri, *H. pylori* fiind confirmat în toate acestea.

În ceea ce privește aspectul morfopatologic, anticorpii IgA pozitivi s-au corelat semnificativ din punct de vedere statistic cu gastrita cronică – figura 5 ($p < 0,001$, $OR = 16,36$, $CI = 95\%$), dar nu și cu modificările inflamatorii acute ale mucoasei gastrice ($p = 0,93$, $CI = 95\%$).

81,08% dintre pacienții cu gastrită cronică și anticorpi IgA pozitivi au avut o infecție confirmată cu *H. pylori*. Prezența simultană a anticorpilor IgA și IgG pozitivi s-a dovedit a fi predictivă pentru gastrita cronică cauzată de *H. pylori* în toate cazurile. Cu toate

FIGURA 3. Mediul de proveniență al grupului de studiu

FIGURA 4. Distribuția mediului de proveniență rural/urban în funcție de prezența/absența infecției cu *H. pylori*

FIGURA 5. Relația dintre anticorpii de tip IgA pozitivi/negativi și modificările inflamatorii cronice ale mucoasei gastrice versus aspect histologic normal

acestea, trebuie să menționăm că toți pacienții cu *H. pylori* depistat la examinarea microscopică a biopsiilor de țesut gastric au prezentat modificări inflamatorii cronice ale mucoasei gastrice.

DISCUȚII

Există multiple studii care susțin rolul și importanța dozării anticorpilor serici, întrucât titrurile acestora

pot fi legate de patogeniza infecției cu *H. pylori*. Secreția unor niveluri crescute de IgA și IgG împotriva acestei bacterii este legată de factorii de virulență ai acesteia, unul dintre ei fiind antigenul CagA, cu binecunoscutul lui rol în promovarea oncogenezei (13). În ciuda faptului că se asociază cu dispepsia, prezența antigenului nu semnifică neapărat că bacteria deține și capacitatea de a secreta proteina CagA (14,15). Datele din literatură sugerează existența unei asocieri între prezența anticorpilor IgG sau IgA direcționați împotriva întregului antigen celular și producția aceluiași tipuri de anticorpi împotriva antigenului CagA (16). Cu toate acestea, un studiu efectuat în Finlanda pe o perioadă de 21 ani a susținut cu tărie utilizarea IgG ca anticorp universal al întregului antigen celular, întrucât acest tip de imunoglobulină specifică este secretat mai frecvent ca IgA și este corelat, de asemenea, cu răspunsurile de tip IgG împotriva antigenului CagA (17). În ciuda faptului că studiul nostru a investigat doar anticorpii produși împotriva întregului antigen celular, am obținut o rată mai mare de răspuns de tip IgG decât IgA la pacienții cu infecție cu *H. pylori*, similar cu studiul menționat anterior. Utilizarea acestor anticorpi de tip IgG este însă limitată de faptul că ei nu pot furniza informații cu privire la statusul infecțios, menținându-se pozitivi o perioadă lungă de timp după eradicarea bacteriei (18).

Este important de menționat că am obținut valori mai scăzute ale sensibilității anticorpilor de tip IgA decât în majoritatea studiilor citate în literatură, însă este binecunoscut faptul că acest parametru variază semnificativ în funcție de tipul de metodă de detecție utilizat (19). Sensibilitatea diagnosticului serologic s-a dovedit, așadar, a fi mai ridicată odată cu avansarea în vârstă (20), aspect care ar putea explica de ce în cadrul studiului nostru sensibilitatea testelor serologice a fost departe de alte procente raportate în alte articole de specialitate, care au depășit 90%, prin determinări cu kituri specifice, la populații adulte (21).

Importanța producției anticorpilor protectori de tip IgA împotriva infecției cu *H. pylori* a fost descrisă de Magen și colab., într-un studiu pe un eșantion populațional cu deficit selectiv de IgA. Autorii descriu o mai mare incidență a complicațiilor legate de infecția cu *H. pylori* la acești pacienți. Producția de anticorpi la nivelul mucoasei gastrice nu pare să fie legată de nivelurile serice ale anticorpilor IgA sau IgG, răspunsul seric de tip IgA fiind dependent de activitatea celulelor T reglatoare. Prin urmare, a fost pusă sub semnul întrebării implicația individuală a anticorpilor specifici de tip IgA în patogeniza afecțiunilor gastro-intestinale asociate cu *H. pylori*, sugerând că o malfuncție a căii celulelor T reglatoare-IgA poate fi implicată în

acest proces, necesitând investigații suplimentare (22). Astfel, se poate explica de ce un răspuns seric izolat de tip IgA a fost documentat doar la un procentaj mic de subiecți în majoritatea studiilor efectuate la copii, ca exemplu fiind 4,9% la un eșantion din Serbia (23). Un procent similar a fost obținut în studiul de față.

Principala limitare a studiului curent este, probabil, numărul redus de pacienți incluși și numărul și mai mic de copii cu infecție confirmată cu *H. pylori*. Un alt dezavantaj este faptul că am investigat doar anticorpii direcționați împotriva întregului antigen celular. Un aspect particular al studiului a fost faptul că doar modificările inflamatorii cronice ale mucoasei gastrice au fost asociate infecției cu *H. pylori*. Se explică astfel corelația pozitivă obținută între răspunsul de tip IgA și gastrita cronică, precum și lipsa de asociere cu modificările inflamatorii de tip acut ale mucoasei gastrice, dar lipsa datelor cu privire la răspunsul serologic în gastritele acute cu *H. pylori* ne împiedică să tragem concluzii în acest sens. Cercetările recente susțin faptul că există un răspuns pozitiv, semnificativ, de tip IgA și IgG atât în cadrul gastritelor cronice, cât și în cadrul celor acute cu *H. pylori* (10,13), sugerând astfel că aceste tipuri de răspunsuri serologice nu pot fi folosite pentru a prezice gradul de afectare microscopică a mucoasei.

CONCLUZII

Anticorpii serici ai *H. pylori* au o sensibilitate și o specificitate diagnostică mai mică decât examenul anatomopatologic, conform rezultatelor studiului nostru. Cu toate acestea, ei pot fi folosiți în scop de screening, în facilitarea diagnosticului în asociere cu endoscopia digestivă superioară însoțită de biopsii gastrice sau individual, constituind o opțiune mai bună în cazurile pretratate. Întrucât prezența bacteriei la nivelul mucoasei gastrice s-a asociat cu gastrită cronică în toate cazurile, studiul de față nu poate oferi o viziune asupra valorii predictive a anticorpilor serici ai *H. pylori* în identificarea anumitor grade de leziuni inflamatorii la nivelul mucoasei.

Mulțumiri

Acest articol a beneficiat de sprijinul grantului intern de cercetare „Rolul genomicii și al markerilor inflamatori în determinismul gastritei la copil” nr. 615/11/17.01.2019 al Universității de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Tg. Mureș.

Conflict of interest: none declared

BIBLIOGRAFIE

1. Atherton JC, Blaser MJ. Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: Ancient history, modern implications. *J Clin Invest*. 2009 Sep; 119 (9):2475-87.
2. Eusebi LH, Zagari RM, Bazzoli F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2014 Sep;19 Suppl 1:1-5.
3. Al-Hussaini AA, Al Jurayyan AN, Bashir SM, Alshahrani D. Where are we today with *Helicobacter pylori* infection among healthy children in Saudi Arabia? *Saudi J Gastroenterol*. 2019 Oct;25 (5):309-18.
4. Yilmaz O, Sen N, Küpelioglu AA, Simsek I. Detection of *H. pylori* infection by ELISA and Western blot techniques and evaluation of anti CagA seropositivity in adult Turkish dyspeptic patients. *World J Gastroenterol*. 2006 Sep 7;12 (33):5375-8.
5. Wang Y-K, Kuo F-C, Liu C-J, Wu M-C, Shih H-Y, Wang SS et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments. *World J Gastroenterol*. 2015 Oct 28;21 (40):11221-35.
6. Atkinson NSS, Braden B. *Helicobacter pylori* Infection: Diagnostic Strategies in Primary Diagnosis and After Therapy. *Dig Dis Sci*. 2016 Jan;61 (1):19-24.
7. Lopes AI, Vale FF, Oleastro M. *Helicobacter pylori* infection – recent developments in diagnosis. *World J Gastroenterol*. 2014 Jul 28;20 (28):9299-313.
8. Stefano K, Rosalia A, Chiara B, Federica G, Marco M, Gioacchino L, et al. Non-invasive tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori*: State of the art. *Acta Biomed*. 2018;89 (Suppl 8):58-64.
9. Schumann C, Triantafilou K, Rasche FM, Möricke A, Vogt K, Triantafilou M et al. Serum antibody positivity for distinct *Helicobacter pylori* antigens in benign and malignant gastroduodenal disease. *Int J Med Microbiol*. 2006 Aug;296 (4-5):223-8.
10. Chen T-S, Li F-Y, Chang F-Y, Lee S-D. Immunoglobulin G antibody against *Helicobacter pylori*: Clinical implications of levels found in serum. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002 Sep;9 (5):1044-8.
11. Granberg C, Mansikka A, Lehtonen OP, Kujari H, Grönfors R, Nurmi H et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by using pyloriset EIA-G and EIA-A for detection of serum immunoglobulin G (IgG) and IgA antibodies. *J Clin Microbiol*. 1993 Jun;31 (6):1450-3.
12. Jones NL, Koletzko S, Goodman K, Bontems P, Cadranet S, Casswall T et al. Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the Management of *Helicobacter pylori* in Children and Adolescents (Update 2016). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017;64 (6):991-1003.
13. Seo J-H, Lim CW, Park JS, Yeom JS, Lim J-Y, Jun J-S et al. Correlations between the CagA Antigen and Serum Levels of Anti-*Helicobacter pylori* IgG and IgA in Children. *J Korean Med Sci*. 2016 Mar;31 (3):417-22.
14. Lepper PM, Möricke A, Vogt K, Bode G, Trautmann M. Comparison of different criteria for interpretation of immunoglobulin G immunoblotting results for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004 May;11 (3):569-76.
15. Azuma T, Yamazaki S, Yamakawa A, Ohtani M, Muramatsu A, Suto H et al. Association between diversity in the Src homology 2 domain – containing tyrosine phosphatase binding site of *Helicobacter pylori* CagA protein and gastric atrophy and cancer. *J Infect Dis*. 2004 Mar 1;189 (5):820-7.
16. Suarez G, Reyes VE, Beswick EJ. Immune response to *H. pylori*. *World J Gastroenterol*. 2006 Sep 21;12 (35):5593-8.
17. Perez-Perez GI, Maw AM, Feingold-Link L, Gunn J, Bowers AL, Minano C et al. Longitudinal analysis of serological responses of adults to *Helicobacter pylori* antigens. *J Infect Dis*. 2010 Sep 15;202 (6):916-23.
18. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon ATR, Bazzoli F et al. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 2012 May; 61 (5):646-64.
19. Buruoa C, Delchier J-C, Courillon-Mallet A, de Korwin J-D, Mégraud F, Zerbib F et al. Comparative evaluation of 29 commercial *Helicobacter pylori* serological kits. *Helicobacter*. 2013 Jun;18 (3):169-79.
20. Chen TS, Chang FY, Lee SD. Extending the reading time increases the accuracy of rapid whole blood test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001 Dec;16 (12):1341-5.
21. Kullavanijaya P, Thong-Ngam D, Hanvivatvong O, Nunthapisud P, Tangkijvanich P, Suwanagool P. Analysis of eight different methods for the detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004 Dec;19 (12):1392-6.
22. Magen E, Waitman D-A, Goldstein N, Schlesinger M, Dickstein Y, Kahan NR. *Helicobacter pylori* infection in patients with selective immunoglobulin A deficiency. *Clin Exp Immunol*. 2016 Jun;184 (3):332-7.
23. Dinić M, Tasić G, Stanković-Dordević D, Otasević L, Tasić M, Karanikolic A. Serum anti-*Helicobacter pylori* IgA and IgG antibodies in asymptomatic children in Serbia. *Scand J Infect Dis*. 2007;39 (4):303-7.