GENOTIPAGEM DO *HELICOBACTER PYLORI* PELO MÉTODO MULTIPLE-LOCUS VARIABLE NUMBERS OF TANDEM REPEATS ANALYSIS NO SUL DO BRASIL

HALICKI, Priscila Cristina Bartolomeu; RAMIS, Ivy Bastos; VIANNA, Júlia Silveira; GAUTÉRIO, Thaísa Bozzetti; VON GROLL, Andrea DA SILVA, Pedro Eduardo Almeida
priscilahalicki@hotmail.com

Evento: XVII Encontro de Pós-Graduação
Área do conhecimento: Microbiologia médica

Palavras-chave: *Helicobacter pylori*, genotipagem, VNTR

1 INTRODUÇÃO

Este estudo analisou a variabilidade genética de cepas de *Helicobacter pylori* presentes em biópsias gástricas de pacientes das cidades de Rio Grande e Pelotas – RS.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Apesar de ser utilizado como um método de genotipagem para diferentes microrganismos, poucos estudos tem sido publicados com a utilização do Multiple-Locus Variable Numbers of Tandem Repeats Analysis (MLVA) para a investigação da diversidade clonal do *H. pylori*. Esta técnica permitiu caracterizar genotipicamente cepas de *H. pylori* existentes nas populações japonesa, chinesa e russa e determinar a sua diversidade clonal (1, 2).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

Foram analisadas 95 amostras de biópsias gástricas obtidas de pacientes *H. pylori*-positivos, das cidades de Rio Grande e Pelotas. A presença do *H. pylori* foi confirmada pela detecção dos genes *ureA* (3) e *glmM* (4), através da PCR.

Foi realizada uma análise *in silico*, com o software Vector NTI, a fim de confirmar as regiões de anelamento dos primers previamente descritos por Guo et al. (2011) (1) para a identificação de 12 loci a serem analisados. Após PCR, eletroforese e coloração em brometo de etídio, foi calculada a diversidade alélica de cada locus e o poder discriminatório do método MLVA através do índice Hunter e Gaston (HGDI) (5).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Dos 12 loci previamente descritos, apenas quatro foram selecionados para a análise genotípica do *H. pylori*: VNTR 180, VNTR 263, VNTR 557 e VNTR 2181. Os primers utilizados para a identificação de outros cinco loci apresentaram 100% de similaridade com mais de uma região genômica, o que gera amplicons inespecíficos. Outros três primers, apesar de serem considerados específicos, não apresentaram relação entre o número de alelos presentes em cada locus e o tamanho esperado do fragmento. Por isso, estes oito loci foram excluídos da análise genotípica.

Pelo método MLVA, utilizando os quatro loci selecionados, foi possível determinar 13 diferentes padrões genotípicos: 90 cepas foram distribuídas em 8

diferentes grupos e cinco apresentaram perfis únicos. Cepas provenientes das cidades de Rio Grande e Pelotas compartilham genótipos similares. Considerando a variabilidade genética encontrada, o MLVA apresentou um poder discriminatório de 0,855, de acordo com o HGDI. Os loci analisados apresentaram os seguintes índices de diversidade alélica: VNTR180= 0,11; VNTR 263= 0,67; VNTR 557= 0; VNTR 2181= 0,47.

A baixa diversidade clonal encontrada neste estudo deve ser observada com cautela, uma vez que apenas quatro loci foram utilizados para a genotipagem do *H. pylori*. Isto é uma importante limitação, já que interfere no poder discriminatório do método empregado.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo reforçam a necessidade de identificação de novos marcadores em cepas de *H. pylori*, a fim de se obter uma melhor discriminação da diversidade clonal, considerando que as ferramentas utilizadas para a genotipagem do *H. pylori* devem ser criticamente avaliadas antes da sua utilização na nossa região.

REFERÊNCIAS

1. GUO C. et al. Genotyping analysis of *Helicobacter pylori* using Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeats analysis in five regions of China and Japan. **BMC Microbiol**, v. 11, p. 197-203. 2011.
2. SOROKIN V.M. et al. Development of a Multiple-Locus Variable Number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) for *Helicobacter pylori* and its application to *Helicobacter pylori* isolates from Rostov region, Russia. **Rev Electron Biomed / Electron J Biomed**, v. 3, p. 1-55. 2012.
3. ROTA C.A. et al. Consensus and variable region PCR analysis of *Helicobacter pylori* 3' region of *cag*A gene in isolates from individuals with or without peptic ulcer. **J Clin Microbiol**, v. 39, p. 606-612. 2001.
4. ESPINOZA M.G.C. et al. Detection of the *glmM* Gene in *Helicobacter pylori* Isolates with a Novel Primer by PCR. **J Clin Microbiol**, v. 49, p. 1650-1652. 2011.
5. HUNTER P.R.; GASTON M.A. Numerical Index of the Discriminatory Ability of Typing Systems: an Application of Simpson's Index of Diversity. **J Clin Microbiol**, v. 26, p. 2465-2466. 1988.