

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NINA HABJANI

**INVAZIVNA IN NEINVAZIVNA DIAGNOSTIKA TER ZDRAVLJENJE
OKUŽBE S HELICOBACTER PYLORI PRI OTROCIH**

**INVASIVE AND NONINVASIVE DIAGNOSTICS AND TREATMENT
OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION IN CHILDREN**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo sem opravljala na Pediatri ni kliniki Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Jožka Osredkarja, mag. farm., višjega svetnika. Somentor pri izdelavi naloge je bil doc. dr. Rok Orel, dr. med.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Jožku Osredkarju, mag. farm., višjemu svetniku za pedagoško vodenje pri izdelavi diplomske naloge.

Najlepša hvala somentorju doc. dr. Roku Orlu, dr. med. za pofirtvovalno mentorstvo in strokovno svetovanje.

Zahvaljujem se tudi vsem zaposlenim na Oddelku za gastroenterologijo za razumevanje in pomoč pri zbiranju podatkov.

Posebna zahvala gre moji družini in Gregorju za njihovo oporo in spodbudo med študijem.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof.dr. Jožka Osredkarja, mag. farm., višjega svetnika in somentorstvom doc. dr. Roka Orla, dr. med.

KAZALO VSEBINE

KAZALO SLIK	III
KAZALO PREGLEDNIC	IV
POVZETEK	V
ABSTRACT	VI
1 UVOD	1
1.1 fiELODEC.....	1
1.1.1 ZGRADBA fiELODCA	1
1.1.2 AGRESIVNI DEJAVNIKI.....	3
1.1.2.1 fielod na kislina	3
1.1.2.2 Pepsin	4
1.1.2.3 Bakterijska okuflba	5
1.1.2.4 Nesteroidna protivnetna zdravila.....	5
1.1.3 DEJAVNIKI ZA™ ITE	5
1.1.3.1 Sluz.....	5
1.1.3.2 Epitelij in sluznica	6
1.2 BAKTERIJA HELICOBACTER PYLORI.....	6
1.2.1 UVOD.....	6
1.2.2 LASTNOSTI BAKTERIJE HELICOBACTER PYLORI	7
1.2.3 NASELITEV.....	8
1.2.4 VIR IN PRENOS OKUfiBE	8
1.2.5 EPIDEMIOLOGIJA	9
1.2.6 PATOGENEZA.....	10
1.2.6.1 DISPEPSIJA	11
1.2.6.2 GASTRITIS	11
1.2.6.3 PEPTI NA RAZJEDA.....	12
1.2.6.4 GASTROEZOFAGEALNA REFLUKSNA BOLEZEN.....	13
1.2.6.5 MALT LIMFOM.....	15
1.2.7 DIAGNOSTIKA OKUfiBE	15
1.2.7.1 INVAZIVNE METODE.....	16
1.2.7.2 NEINVAZIVNE METODE.....	18
1.2.8 ZDRAVLJENJE OKUfiBE S H. PYLORI	20
2 NAMEN DELA	24

3	MATERIALI IN METODE	25
3.1	PRIDOBIVANJE PODATKOV	25
3.2	STATISTI NA OBDELAVA PODATKOV	26
3.3	PROU EVANE DIAGNOSTI NE METODE	28
3.3.1	EZOFAOGASTRODUODENOSKOPIJA.....	28
3.3.2	HISTOLO ^{SKI} PREGLED VZORCA SLUZNICE.....	30
3.3.3	<i>Helicobacter pylori</i> Quick Test (BIOHIT OYJ, Finska).....	31
3.3.4	Test <i>Helicobacter</i> INFAL.....	32
4	REZULTATI	38
4.1	GASTROSKOPIJA	38
4.2	HITRI UREAZNI TEST	39
4.3	HEME ZDRAVLJENJA	40
4.4	KONTROLA USPET ^{NI} OSTI ZDRAVLJENJA Z DIHALNIM TESTOM	41
5	RAZPRAVA	43
6	SKLEP	47
7	LITERATURA	48

KAZALO SLIK

SLIKA 1: SHEMAJSKI PRIKAZ ZGRADBE ŽELODCA	2
SLIKA 2: SHEMAJSKI PRIKAZ ZGRADBE ŽELODČNE STENE	2
SLIKA 3: MEHANIZEM IZLOČANJA HCl	3
SLIKA 4: URAVNAVANJE IZLOČANJA ŽELODČNE KISLINE.....	4
SLIKA 5: DELEŽ IGG POZITIVNIH PO 10-LETNIH STAROSTNIH RAZREDIH	10
SLIKA 6: POMEN OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI.....	26
SLIKA 7: NODULARNA ŽELODČNA SLUZNICA PRI OTROKU	29
SLIKA 8: MODIFICIRANA METODA PO GIEMSI (A) IN IMUNOHISTOKEMIČNA METODA (B).....	30
SLIKA 9: HITRI BIOPTIČNI UREAZNI TEST HELICOBACTER PYLORI QUICK TEST.....	32
SLIKA 10: TESTNI KOMPLET HELICOBACTER INFAI	33
SLIKA 11: POSTOPEK TESTIRANJA S TESTOM HELICOBACTER INFAI.....	36
SLIKA 12: REZULTATI GASTROSKOPIJE GLEDE NA HISTOLOŠKI PREGLED SLUZNICE	38
SLIKA 13: REZULTATI HITREGA UREAZNEGA TESTA GLEDE NA HISTOLOŠKI PREGLED SLUZNICE	40
SLIKA 14: SHEMA ZDRAVLJENJA PO DELEŽIH.....	41
SLIKA 15: RAZLIKE V USPEŠNOSTI ZDRAVLJENJA OSNOVNIH TERAPEVTSKIH SHEMA.....	42

KAZALO PREGLEDNIC

TABELA I: MINIMALNA INHIBITORNA KONCENTRACIJA ANTIBIOTIKOV GLEDE NA PH ŽELODČNEGA SOKA.....	21
TABELA II: REZULTATI GASTROSKOPIJE GLEDE NA HISTOLOŠKI PREGLED SLUZNICE.....	38
TABELA III: DIAGNOSTIČNA VREDNOST GASTROSKOPIJE	39
TABELA IV: REZULTATI HITREGA UREAZNEGA TESTA GLEDE NA HISTOLOŠKI PREGLED SLUZNICE	39
TABELA V: DIAGNOSTIČNA VREDNOST HITREGA UREAZNEGA TESTA.....	40
TABELA VI: SCHEME ZDRAVLJENJA PO DELEŽIH	41
TABELA VII: USPEŠNOST ZDRAVLJENJA PO SCHEMAH	42

POVZETEK

Okuflba s *Helicobacter pylori* lahko ima različne posledice, ki so odvisne od virulence bakterijskega seva, s katerim je posameznik okufljen, njegovega imunskega odziva na to bakterijo, starosti ob okuflbi in vplivov okolja. Zelo je pomembno zgodnje odkrivanje okuflbe in njeno zdravljenje. Obstajajo različne invazivne in neinvazivne diagnostične metode, s katerimi lahko potrdimo okuflbo.

Z namenom ovrednotiti diagnostično uporabnost gastrokopskega pregleda sluznice in hitrega biopsičnega ureaznega testa smo zbrali podatke o 383 otrocih in mladostnikih v starosti od 1 do 19 let, ki so imeli opravljeno gastrokopijo v letih 2006-2008. Ugotavljali smo diagnostično vrednost (specifičnost, občutljivost, pozitivno in negativno napovedno vrednost ter natančnost) makroskopskega videza sluznice želodca in hitrega ureaznega testa za ugotavljanje okuflbe s *H. pylori*. Z dihalnim testom s sebi smo preverili uspešnost zdravljenja okuflbe, ugotavljali morebitne razlike v uspešnosti zdravljenja pri različnih terapijah ter preverili, v kolikšnem deležu se predpisuje katera terapija.

Na naši skupini bolnikov smo ugotovili, da je občutljivost gastrokopskega pregleda sluznice 93,2 % in njegova specifičnost 64,8 %. Pozitivna napovedna vrednost gastrokopije je 50,23 %, negativna napovedna vrednost 96,1 % in natančnost 72,6 %. Boljšo diagnostično uporabnost smo ugotovili pri hitrem ureaznem testu. Njegova občutljivost znaša 90,1 %, specifičnost pa 99,6 %. Pozitivna napovedna vrednost je 98,1 %, negativna napovedna vrednost 96,6 % in natančnost 97,1 %. Ugotovili smo, da se najpogosteje predpisuje tritirna terapija, in sicer antibiotika metronidazol in klaritromicin skupaj z zaviralcem protonске rpalke, temu pa sledi amoksicilin v kombinaciji z metronidazolom ali klaritomicinom ter zaviralcem protonске rpalke. Uspešnost zdravljenja okuflbe je znašala 77,3 %. Med različnimi shemami zdravljenja nismo našli statistično značilnih razlik.

Dokazali smo, da makroskopski videz želodčne sluznice ob gastrokopiji (nodularnost sluznice antruma želodca) ni zadosten pokazatelj okuflbe s *H. pylori*. Vendar pa ostaja gastrokopija nenadomestljiva zaradi možnosti jemanja vzorcev sluznice. Hitri ureazni test je lahko zaradi svoje zanesljivosti ter visoke občutljivosti in specifičnosti edini uporabljeni test pod pogojem, da se vzorci sluznice vzamejo iz različnih delov želodca.

ABSTRACT

Infection with *H. pylori* has various consequences, depending on type of *H. pylori* bacteria, host immune response, age at the infection and influences from the environment. Early detection and treatment of *H. pylori* infection is of major importance. For detection of *H. pylori* infection several invasive and non-invasive methods are known.

With the aim to evaluate diagnostic value of upper endoscopy and rapid urease bioptic test, we selected information about 383 children and adolescents aged 1 to 19, who underwent upper endoscopy in years 2006-2008. We studied diagnostic value (specificity, sensitivity, positive and negative predictive value and accuracy) of macroscopic view of gastric mucosa and rapid urease bioptic test for diagnosis of *H. pylori* infection. With ¹³C-urea breath test, we evaluated eradication rate, compared effectiveness of different therapy regimens and examined which therapy regimens are most widely used.

The sensitivity of endoscopy is 93,2 % and specificity 64,8 % with positive predictive value of 50,23 %, negative predictive value of 96,1 % and accuracy of 72,6 %. Rapid urease test showed better diagnostic value. Its sensitivity is 90,1 % and specificity 99,6 % with positive predictive value of 98,1 %, negative predictive value of 96,6 % and accuracy of 97,1 %. Triple therapy of a proton pump inhibitor, clarithromycin, and either amoxicillin or metronidazole is most widely prescribed. The eradication rate is 77,3 %. Between different triple therapies, there is no statistically significant difference in their eradication effectiveness.

The results indicated that macroscopic view of gastric mucosa (gastric nodularity) is a poor predictor of *H. pylori* infection, but endoscopy is mandatory for adequate diagnosis because of its biopsy possibility. Rapid urease bioptic test showed high specificity and sensitivity in children and could be the only test used for diagnosis, if multiple bioptic samples are examined.

SEZNAM OKRAJTMAV

CagA	citotoksi ni protein
COX	cyclooxygenase; ciklooksigenaza
EGDS	ezofagogastroduodenoskopija
GERB	gastroezofagealna refluksna bolezen
H. pylori	Helicobacter pylori
HUT	hitri ureazni test
MALT	mucosa-associated lymphoid tissue; mukozno limfoidno tkivo
MIK	minimalna inhibitorna koncentracija
n	prostostne stopnje
P	verjetnost
PCR	polymerase chain reaction; verifna reakcija s polimerazo
VacA	vakuolizirajo i toksin
ZP	zaviralec protonske rpalke

1 UVOD

1.1 Želodec

1.1.1 ZGRADBA ŽELODCA (1)

želodec je naj-ir-i del prebavne cevi. Njegova velikost in oblika se spreminjata in sta odvisni od polnitve, telesnega poloflaja, starosti in spola. Njegova kapaciteta je približno 2,5 l. Prazen želodec je plo-at in ima polmese no obliko. Pofliralnik, ki ima obliko cevi, prehaja v želodec preko ofline. Pri prehodu iz želodca v dvanajstnik se prebavna cev ponovno zofli in izhod iz želodca zapira vratar (pilorus).

Makroskopsko so robovi želodca razdeljeni na dve krivini:

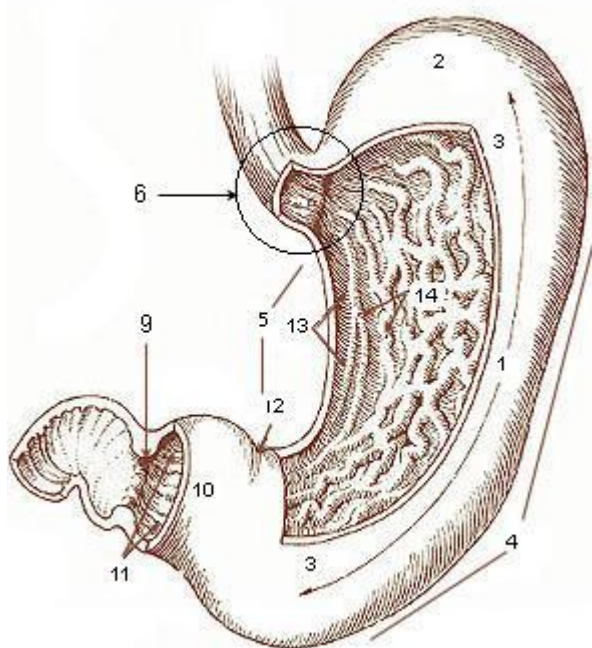
- **malo želod no krivino** ó desna, konkavna polmese na krivina
- **veliko želod no krivino** ó leva, konveksna krivina

želodec je razdeljen na pet odsekov - vsak med njimi ima razli no zgradbo in funkcijo (Slika 1):

- **kardija** - predstavlja lo nico med pofliralnikom in želodcem
- **želod ni svod** (*fundus*) - lefli vi-je in desno od kardije in je obi ajno zapolnjen z zrakom
- **telo želodca** (*korpus*) ó srednji, najobsefnej-i del želodca
- **antrum** - kon ni, horizontalno lefle i del
- **vratar** (*pilorus*) - predstavlja mejo z dvanajstnikom in ga obdaja mo an sfinkter

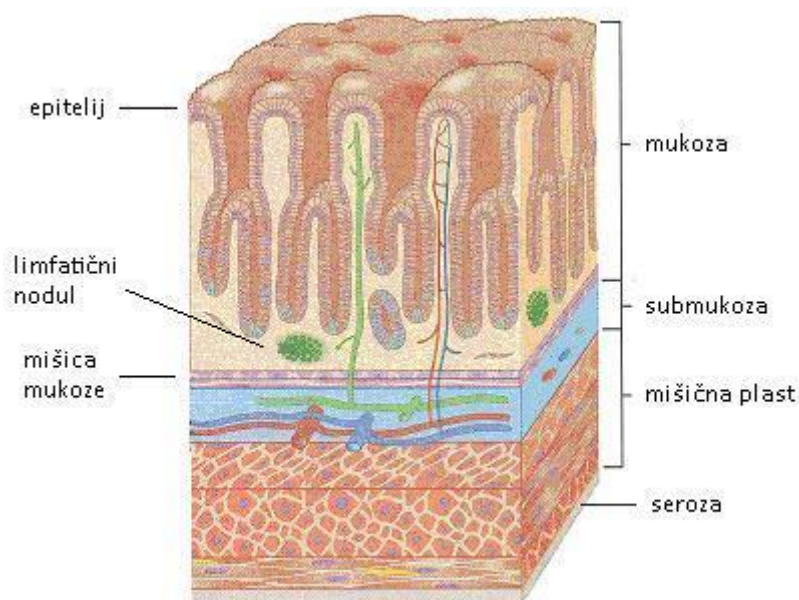
želod na stena je zgrajena iz treh plasti (Slika 2):

- **serozna mreža** (*Tunica serosa*) ó je del peritoneja, obdaja zunanjo stran želodca
- **mi-i na plast** (*Tunica muscularis*) ó gladka muskulatura, ki se deli na tri plasti
- **želod na sluznica** (*Tunica mucosa*) ó sivorde kasta sluznica je s submukozo premakljivo vezana na mi-i no podlago. Sluznica je precej debela v antrumu, tanj-a v predelu korpusa in najtanj-a v fundusu želodca. Pri praznem želodcu je nagubana, pri polnem pa se gube delno izravnavajo. Poleg -tevilnih flez vsebuje tudi kepice limfati nega tkiva.



- 1. telo fælodca (korpus)
- 2. fælod ni svod (fundus)
- 3. fælod na stena
- 4. velika fælod na krivina
- 5. mala fælod na krivina
- 6. kardija
- 9. vratar (pilorus)
- 10. antrum
- 11. pilori ni kanal
- 12. angularna incizura fælodca
- 13. fælod ni kanal
- 14. fælod ne gube

Slika 1: Shematski prikaz zgradbe fælodca



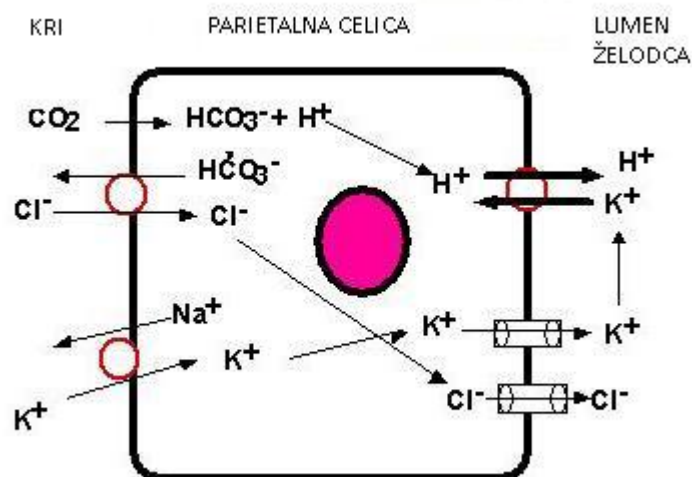
Slika 2: Shematski prikaz zgradbe fælod ne stene

Na želodno sluznico delujejo številni agresivni in zaščitni dejavniki. Problemi se pojavijo, ko se ravnovesje med njimi poruši.

1.1.2 AGRESIVNI DEJAVNIKI

1.1.2.1 Želodčna kislina

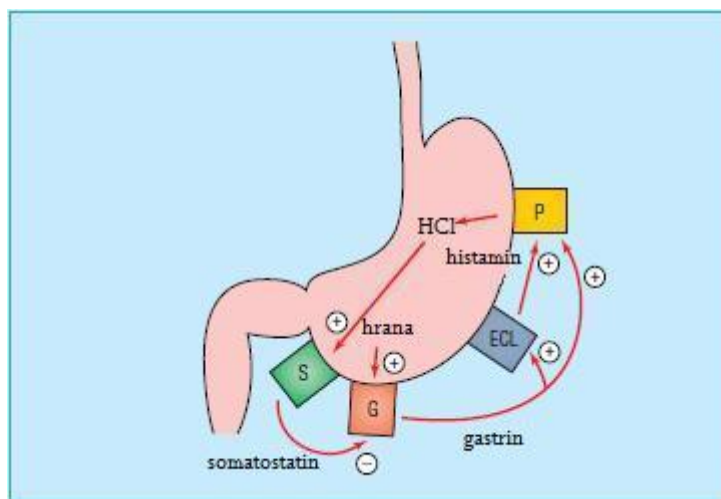
V povprečju želodec vsak dan izloči okrog 2 l želodnega soka. Želodni sok je kisel (pH = 1-3) zaradi klorovodikove kisline (HCl). V fizioloških pogojih je želodčna kislina pomembna, saj uniči s hrano zaužite mikroorganizme, aktivira proteolitni encim pepsinogen v pepsin in pomaga pri prebavi. Kislina lahko vpliva na strjevanje krvi in agregacijo trombocitov. Nastaja v parietalnih celicah želodne sluznice v od ATP odvisnem procesu. Kljub temu encim pri nastanku HCl je karbonska anhidraza. Vodikovi protoni, ki nastanejo v parietalni celici, se s pomočjo protonske pialke (H^+/K^+ -ATP-aze) prenesejo v svetlo želodca, vsakemu protonu pa sledi tudi kloridni anion (Slika 3). HCl se lahko izloči, če je luminalna stran prepustna za Cl^- in K^+ , ki prehajata iz celice in če je kontraluminalna stran prepustna za Cl^- iz krvne plazme in HCO_3^- , ki prehaja v kri (2).



Slika 3: Mehanizem izločanja HCl

Izlo anje kisline se tekom dneva spreminja, na kar vplivajo različni spodbujevalni in zaviralni mehanizmi (Slika 4). Lojimo bazalno in refleksno spodbujeno izlo anje, ki ga sprofi misel na hrano, pogled ali vonj, kasneje pa tudi vstop hrane v floddec.

Pri uravnavanju izlo anja flod ne kisline sodelujejo celice G (izlo ajo gastrin), celice S (izlo ajo somatostatin) in enterokromafinim celicam podobne celice, ki izlo ajo histamin. Histamin vpliva na bazalno izlo anje flod ne kisline ter spodbuja izlo anje gastrina, ki je najmo nej-i spodbujevalec nastanka kisline. Somatostatin zavira izlo anje kisline po 2 mehanizmih, in sicer neposredno z delovanjem na receptorje na membrani parietalnih celic ter preko zmanj- evanja spro- anja gastrina in histamina (2).



Slika 4: Uravnavanje izlo anja flod ne kisline. Hrana stimulira spro- anje gastrina iz celic G. Gastrin spodbuja enterokromafinim celicam podobne celice (ECL) k izlo anju histamina. Ta spodbuja parietalne celice (P) k spro- anju HCl. Izlo ena kislina spodbuja spro- anje somatostatina iz celic S, ki zavre nadaljnje spro- anje gastrina.

1.1.2.2 Pepsin

Pepsin izlo ajo t.i. glavne celice v flodcu. Izlo a se v obliki neaktivnega pepsinogena, njegovo aktivacijo v pepsin, ki ima proteoliti no aktivnost, pa katalizira kislina. Njegovo izlo anje spodbujajo podobni dejavniki kot tisti, ki pove ujejo izlo anje flod ne kisline (2).

1.1.2.3 Bakterijska okužba

Okužba z bakterijo *H. pylori* je najpomembnejši dejavnik okolja, ki prispeva k razvoju razjede na želodcu in dvanajstniku. Temu v prid kaže podatek, da se po odpravi okužbe pri manj kot 15 % bolnikov ulkus ponovno razvije. Okužba s *H. pylori* okvari inhibitorni mehanizem uravnavanja izločanja želodčne kisline preko somatostatina. Zmanjšano izločanje somatostatina se odraža v povečanem bazalnem in spodbujenem izločanju gastrina, ki spodbuja izločanje želodčne kisline. Po odstranitvi bakterije se ponovno vzpostavi normalno izločanje gastrina, posledično pa se normalizira tudi bazalno in spodbujeno izločanje kisline.

Dodatno delujejo škodljivo na sluznico amonijak, ki nastaja pri hidrolizi sečnine pod vplivom bakterijske ureaze, bakterijski vakuolizirajoči toksin (VacA) in citotoksični protein (CagA), bakterijske proteaze in fosfolipaze.

1.1.2.4 Nesteroidna protivnetna zdravila

Nesteroidna protivnetna zdravila zavirajo nastanek prostaglandinov, ki imajo ugoden vpliv na obnovo epitelija, prekrvavitev sluznice in nastajanje sluzi. Večina nesteroidnih protivnetnih zdravil zavira encima COX-1 in COX-2. Ob vnetju pride do indukcije COX-2 encima in protivnetni učinki teh zdravil so posledica zaviranja le-tega. Neselektivna protivnetna zdravila pa blokirajo tudi COX-1, ki je prisoten v večini tkiv. Njegova blokada je kriva za škodljive učinke, ki se kažejo v teh tkivih. Na trfti so šteje selektivni COX-2 inhibitorji, ki bodo zmanjšali verjetnost okvar sluznice pri bolnikih, ki potrebujejo kronično protivnetno terapijo (2, 3).

1.1.3 DEJAVNIKI ZAŠČITE

1.1.3.1 Sluz

Sluz (mukus) pokriva površino sluznice in predstavlja mehansko in kemijsko oviro pepsinu in kislini. Mehansko in kemijsko draženje želodčne sluznice ter holinergična stimulacija spodbujajo izločanje sluzi iz mukusnih celic. Prisotna je v dveh oblikah, in sicer topna v želodčnem soku ter kot netopna plast, ki se tesno prilega epiteliju. Tako sluz preprečuje stik med želodčno vsebino in želodčnim epitelijem. Njena najpomembnejša sestavina

so mukusni glikoproteini. Glikoproteinske podenote so zgrajene iz linearnega proteinskega jedra, na katerega so vezane stranske verige oligosaharidov. Sialni kislini daje glikoproteinom negativni naboj, prav tako pa k celotnemu negativnemu naboju glikoproteinov prispevajo sulfatne skupine, vezane na sladkorne verige. Nesteroidna protivnetna zdravila lahko zmanjšajo hidrofobnost flegma ne sluzi in s tem pepsinu in flegmu ni kislini omogojen dostop do površine epitelija in nastanek poškodbe (2).

1.1.3.2 Epitelij in sluznica

Tesni stiki med epitelijskimi celicami preprečujejo difuzijo H^+ v notranjost sluznice. Zelo pomembno je konstantno in hitro obnavljanje epiteljskih celic iz zarodnih celic. Za vzdrževanje obnove so zelo pomembni prostaglandini E, nasprotno delovanje pa imajo nesteroidna protivnetna zdravila, alkohol in fluoridne soli. Za normalno zaščitno delovanje sluznice je zelo pomembna njena prekrvavitev, na kar imajo ugoden vpliv prostaglandini.

Zaščitno vlogo ima tudi bikarbonat, ki se izloča iz epiteljskih celic v sluznici. Tik ob površini epitelija je zato pH skoraj nevtralen, saj gosta sluz preprečuje mešanje kislega flegma ne vsebine in bikarbonatne plasti tik ob sluznici (2).

1.2 Bakterija *Helicobacter pylori*

1.2.1 UVOD

Rod *Helicobacter* združuje skoraj 20 bakterijskih vrst in ima velik pomen v medicini. Glede na to da *H. pylori* naseljuje približno polovico svetovne populacije, je prav neverjetno, da je ostala neodkrita vse do leta 1983. Njeno odkritje je bilo proglašeno za najpomembnejše odkritje na področju flegmih bolezni v 20. stoletju, saj je povzročilo pravo revolucijo na področju zdravljenja razjed flegmca in dvanajstnika. Odkriteljema patologu J. R. Warrenu in gastroenterologu B. J. Marshallu je bila za njun dosežek leta 2005 podeljena Nobelova nagrada za medicino.

Okužba s *Helicobacter pylori* lahko ima različne posledice, ki so odvisne od virulence bakterijskega seva, s katerim je posameznik okužen, njegovega imunskega odziva na to bakterijo, starosti ob okužbi in vplivov okolja. Mednarodna agencija za raziskavo raka pri

Svetovni zdravstveni organizaciji je razglasila *Helicobacter pylori* za karcinogen I. stopnje. Prav zato je pomembno zgodnje odkrivanje okužbe in njeno zdravljenje.

1.2.2 LASTNOSTI BAKTERIJE HELICOBACTER PYLORI

H. pylori je Gram-negativna spiralna bakterija, široka 0,5-0,9 μm in dolga 2-4 μm . Ob odkritju so jo uvrstili v rod *Campilobacter*, vendar so s kasnejimi raziskavami odkrili, da se od tega rodu razlikuje v zgradbi in številu bi kov, obliki celic in v biokemijskih lastnostih. Kot bakterije rodu *Campilobacter* je striktno mikroaerofilna in za rast potrebuje ogljikov dioksid. Na enem polu ima 4-6 zadebeljenih bi kov, ki ji omogoajo svedrasto gibanje (4). V neugodnih pogojih lahko spremeni obliko do paliaste ali celo okrogle (5).

Proizvaja encim ureazo, ki ji omogoaja preživetje v izjemno neugodnih pogojih želodca. Ureaza katalizira razgradnjo sečnine v želodcu in želodni sluznici do amonijaka in bikarbonata in s tem nevtralizira kislino okoli bakterije ter hkrati okvarja želodno sluznico (4).

Pomembna sta tudi vakuolizirajoči toksin (VacA) in citotoksični protein (CagA). Toksin VacA je glavni virulencijski faktor pri boleznih, povezanih z bakterijo *H. pylori*. Aktivira se po krajši izpostavljenosti nizkemu pH-ju, tako aktiviran pa je odporen na želodčno kislino in pepsin. Povzroča vakuolizacijo v epitelijskih celicah in njihov propad (6,7). Citotoksični protein povzroča povečano produkcijo interleukina-8 (IL-8) v želodni sluznici. Ta kemotaktično privablja neutrofile in omogoaja njihovo adhezijo na endotelij ter stimulira nastajanje kisikovih radikalov, kar privede do razvoja lokalnega vnetja. K temu pripomore tudi trombocite spodbujajoči dejavnik (platelet activating factor, PAF), ki deluje proinflammatory. Številne fosfolipaze in proteaze razgrajujejo sluz in naredijo sluznico bolj ranljivo (8, 9).

Encim hidrogenaza omogoaja *H. pylori*, da uporablja kot vir energije molekularni vodik, ki nastaja kot stranski produkt fermentacije v debelem črevesu. Ogljikovi hidrati, ki se nepopolno absorbirajo v tankem črevesu, v debelem črevesu fermentirajo pod vplivom bakterij, ki so del normalne črevesne flore. Nastanejo kratkoverižne maščobne kisline, ogljikov dioksid in molekularni vodik. Plini zapustijo gostiteljevo telo z blatom ali pa jih

porabijo druge bakterije. Nekatere –tudi je kafejo, da se signifikanten del vodika absorbira v krvni obtok in se celo lahko detektira v izdihanem zraku. Raziskave so pokazale, da je vodik prisoten tudi v tkivih, ki jih naseljuje *H. pylori* - to je posledica trans-epidermalne difuzije plina iz revesja in vodika, ki se prenaša s krvnim obtokom. Mutirani sevi, ki ne morejo uporabiti vodika, so tudi neuspešni pri kolonizaciji želodca (10).

1.2.3 NASELITEV

H. pylori je zelo dobro prilagojena na življenje na želodni sluznici. Najraje se naseli v antralnem delu želodca, kjer ni celic, ki izločajo želodčno kislino. Kolonizacija strmo upade na mestih, kjer se konča želodčna sluznica, vendar pa je možna tudi na metaplasti nem epitelijskega želodca v dvanajstniku. Ta nastane pri ljudeh, ki izločajo veliko kisline. Ker priteka v dvanajstnik zelo kisla vsebina, se sluznica dvanajstnika, neprilagojena na tako kislost, spremeni v želodčno sluznico. Pri ljudeh, ki jemljejo zdravila za zmanjšanje izločanja želodčne kisline, kot so npr. H_2 antagonisti ali zaviralci protonske pumpe, je naseelitev možna tudi na drugih delih želodca.

Bakterija je prisotna v sluzi, ki pokriva želodčno sluznico. Pogosto se kolonizacija razširi tudi na področje žlez, ki izločajo sluz. K uspešni naseelitvi pripomorejo tudi ti, s katerimi se lahko hitro giblje skozi zaščitno mukozno plast in se pritrdi na površino želodčne epitelijske celice (5).

1.2.4 VIR IN PRENOS OKUŽBE

Poznavanje možnih virov okužbe je zelo pomembno za preprečevanje širjenja okužbe in pri prepoznavanju populacij s povečanim tveganjem za okužbo, posebej v območjih z veliko pojavnostjo želodčne razjede, limfoma ali karcinoma.

Najpogostejši prenos okužbe je iz človeka na človeka po oralno-oralni ali fekalno-oralni poti. V prid teoriji o prenosu okužbe iz človeka na človeka govori večja pojavnost okužbe s *H. pylori* med otroci in odraslimi v različnih ustanovah in znotraj družin (5,11,12). DNK molekule *H. pylori* so odkrili v slini, izbljuvkih, zobnih oblogah, želodčni soku in blatu.

Fekalno-oralni prenos je mogoč zaradi nenehnega obnavljanja vrhnjega sloja črevesne sluznice, stalnega odtoka črevesnega soka v rektum in sposobnosti *H. pylori*, da preživi v blatu. Pomemben vir okužbe je tudi voda predvsem zaradi sanitarnih odpadkov v delih sveta, kjer uporabljajo opore no vodo. Dokazano je bilo, da lahko *H. pylori* preživi več dni v mleku ali pitni vodi v svoji infektivni, paliasti obliki ali celo več mesecev v rekah v kokoidni obliki. Vemo, da lahko *H. pylori* v neugodnih pogojih spremeni svojo obliko v kokoidno, vendar pa še ni dokaza, da je v človeku možna obratna transformacija, torej nazaj v aktivno obliko. *H. pylori* so izolirali tudi iz hišnih mačk, opic, ovčic vendar kljub verjetno niso pomemben vir za človeka. Najnovejša raziskava kaže, da je možen prenos okužbe z muhami, ki so bile v stiku z blatom okuženim s *H. pylori* (11).

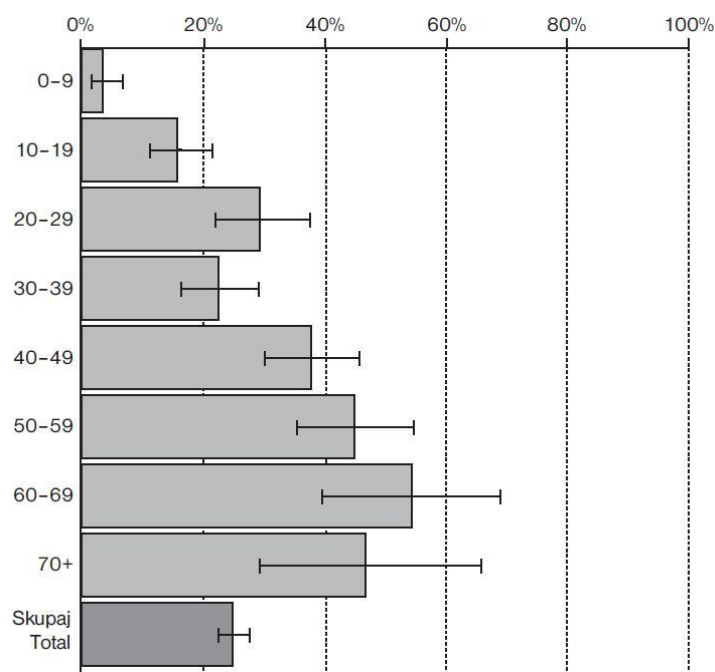
1.2.5 EPIDEMIOLOGIJA

Razširjenost okužbe s *H. pylori* se pri ljudeh razlikuje glede na geografski položaj, starost, raso in socialnoekonomski status. Z bakterijo je okuženega več kot polovica človeštva, le 20% pa jih razvije klinično pomembne simptome. Hitrost širjenja okužbe je veliko večja v državah v razvoju, tam do okužbe pride že v otroštvu. Tako je v teh državah do pubertete okuženih že 80 % otrok. V razvitem svetu nastopi okužba običajno kasneje, stopnja okuženosti populacije pa se večja s starostjo (11,12).

V Združenih državah Amerike so opazili razlike v razširjenosti okužbe s *H. pylori* med rasami. Ugotovili so, da je okužba pogostejša pri priseljencih iz Afrike in Južne Amerike kot pri belcih. To je lahko poleg razlik v socialnoekonomskem statusu odraz etničnih razlik ali različne genetske predispozicije pa tudi različne uporabe antibiotikov za zdravljenje drugih okužb, še posebej v otroštvu (11).

V razvitih državah zadnja desetletja opazujemo padanje deleža okuženih s *H. pylori*. To je najverjetneje posledica boljših higienskih razmer (boljša osebna higiena, izboljšane sanitarije, kontrolirana kakovost tekočine vode) in bivanjskih razmer (manj oseb v skupnih gospodinjstvih). Razlog za to je lahko tudi zavedanje pomena okužbe za druge bolezni prebavil in zato posebej usmerjeno zdravljenje okužbe s *H. pylori*.

O podobnem trendu padanja števila okuženih s *H. pylori* v Sloveniji pri raziskavi Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani, izvedena leta 2005. Določena vrednost protiteles IgG in IgA. *H. pylori* pozitivnih je bilo 25,1 % preiskovancev, pri čemer ni bilo razlik med moškimi in ženskami. Največji delež s pozitivnimi protitelesi IgG je bil v starostnem obdobju med 60 in 69 let (54 %). V starostni skupini do 19 let je bilo pozitivnih le 9,4 % preiskovancev, v skupini od 20 do 49 let pa 29,6 % (12). Te rezultate lahko primerjamo z rezultati raziskave, opravljene leta 1990. Takrat je bila prevalenca prisotnosti protiteles 51,6 %, največji delež *H. pylori* pozitivnih pa je bil v starostni skupini od 30 do 39 let, in sicer kar 73,5 % (13). Vidimo lahko, da se je ocenjena prevalenca v celotni populaciji prepolovila, porazdelitev pozitivnih preiskovancev pa se je pomaknila v smeri višje starosti (Slika 5).



Slika 5: Delež IgG pozitivnih po 10-letnih starostnih razredih

1.2.6 PATOGENEZA

Okužba s *H. pylori* lahko ima različne posledice, ki so odvisne od virulence bakterijskega seva, s katerim je posameznik okužen, njegovega imunskega odziva na to bakterijo, starosti ob okužbi in vplivov okolja. Večina okužb ne povzroča težav, pri približno 20 %

okufenih pa se pojavijo zapleti, kot je vnetje želodčne sluznice (gastritis), razjeda dvanajstnika ali rak želodca (14).

1.2.6.1 DISPEPSIJA

Za dispepsijo je značilna kronična ali ponavljajoča se bolečina ali neugodje v zgornjem delu trebuha. Bolečina lahko spremlja tudi slabost, bruhanje, spahovanje, napenjanje, občutek hitre sitosti in zgaga. Po definiciji morajo biti navedeni simptomi prisotni vsaj dvanajst, ne nujno zaporednih tednov v letu. Prevalenca dispepsije v razvitem svetu je med 15 in 25 % (15). Pri približno polovici prizadetih bolnikov s takimi simptomi z diagnostičnimi preiskavami odkrijejo organske spremembe na prebavilih (razjeda želodca, dvanajstnika, refluksni ezofagitis, rak želodca). Pri bolnikih, pri katerih ni vidnih morfoloških sprememb, pa govorimo o funkcionalni dispepsiji. V tem primeru so možni razlogi za dispepsijo upočasnjeno praznjenje želodca, motnje v prilagoditvi prostornine želodca na hrano, visceralna preobčutljivost ali psihološki razlogi. Raziskave so pokazale, da odstranitev bakterije *H. pylori* nekoliko zniža tveganje za dispeptične simptome (15, 16).

Zdravljenje dispepsije je odvisno od prevalence okužbe s *H. pylori*. Tako se pri prevalenci okužbe nad 12 % svetuje pristop »testiraj na prisotnost okužbe s *H. pylori* in zdravi«, v nasprotnem primeru pa empirično zdravljenje z zaviralci protonске pumpe. Gastroskopija se opravi pri bolnikih, ki so starejši od 50 let ali imajo znake alarma (izguba teže, krvavitev iz prebavil, anemija, obilno bruhanje, dolgotrajna bolečina v zgornjem delu trebuha (17)). Vse bolnike se testira na prisotnost okužbe s *H. pylori* in pozitivnim predpisane terapije za zdravljenje okužbe. Če se po 4 tednih ugotovi, da je bila okužba z bakterijo odstranjena, simptomi pa so še vedno prisotni, zdravimo bolnika naprej z zaviralci protonске pumpe. Pri vseh bolnikih se odsvetuje jemanje nesteroidnih protivnetnih zdravil in salicilatov (15).

1.2.6.2 GASTRITIS

Gastritis ali vnetje želodčne sluznice je ena najpogostejših bolezni prebavil v vseh starostnih obdobjih. Običajno se kaže kot topa stalna bolečina v trebuhu, napihnjenost, občutek polnosti, peko občutek v fliki, spahovanje, izguba apetita itd. Pojav gastritisa

lahko povzročijo vsi dejavniki, ki lahko neposredno poškodujejo sluznico ali zmanjšajo uinkovitost različnih faktorjev (16).

Gastritis je lahko akutni ali kronični, glede na stopnjo poškodbe pa lahko imo tudi erozivni ali neerozivni gastritis. *Erozivni gastritis* je največkrat akutni, lahko pa tudi kronični. Krvavitev iz erozij lahko povzroči slabokrvnost, sledovi krvi pa so prisotni tudi v izbruhani. Najhujša oblika erozivnega gastritisa je *akutni stresni gastritis*, ki se v 90 % razvije pri hudih akutnih bolezenskih stanjih, kot so šok, hude poškodbe ali obsevalne opekline. Najverjetneje je vzrok za nastanek ishemijskega vnetja sluznice in s tem zmanjšana zaščitna funkcija sluznice. Najpogostejši povzročitelji erozivnega gastritisa so nesteroidna protivnetna zdravila, alkohol, stres, redkeje tudi sevanje ali virusna infekcija. *Neerozivni gastritis* je največkrat rezultat kroničnega vnetja s *H. pylori*. Kronični gastritis največkrat zajame antrum in korpus želodca. Povzročijo atrofijo ali metaplazijo celic želodčne sluznice in posledično zmanjšano izločanje želodčne kisline, gastrina, pepsina (16).

Specifično zdravljenje je odvisno od vzroka in tipa gastritisa. Pri blažjih oblikah gastritisa zadostuje odstranitev faktorja, ki je bolezen povzročil in zdravila za zmanjševanje želodčne kislosti. V primeru kroničnega gastritisa povzročena z okužbo s *Helicobacter pylori* pa je ključna terapija za odstranitev bakterije (16).

1.2.6.3 PEPTIČNA RAZJEDA

Peptična razjeda sodi med najpogostejše bolezni, saj za to boleznijo zbolijo vsaka deseta odrasla oseba. Peptična razjeda je posledica kroničnega vnetja želodčne ali dvanajstnikove sluznice. Vnetje sluznice se pojavi, ko se poruši ravnovesje med dejavniki, ki lahko poškodujejo sluznico in med dejavniki zaščitnimi. Razjeda sluznice nastane v želodcu, dvanajstniku ali pyloriku in sega skozi mišično plast sluznice. Redko se razvijejo zapleti, kot je krvavitev ali predrtnje prebavne cevi. Najpogostejša povzročitelja peptične razjede sta okužba s *H. pylori* ter jemanje nesteroidnih protivnetnih zdravil (3).

Razjeda na dvanajstniku se največkrat pojavi, ko se povečajo uinkovnosti agresivnih dejavnikov. Znano je, da bolniki z razjedo dvanajstnika v povprečju izločajo več kisline kot zdravi. To je največkrat posledica okužbe s *H. pylori*, saj le-ta zmanjša izločanje somatostatina. Stopnja okvare inhibitornega mehanizma uravnavanja izločanja želodčne kisline je obratno sorazmerna s količino amonijaka, ki ga proizvede bakterija (2, 16). Vendar pa rezultati

tevilnih raziskav kažejo na zanimiv pojav, katerega mehanizem nastanka še ni popolnoma znan: pri tretini bolnikov z razjedo dvanajstnika, pri katerih so izkoreninili okužbo, se v obdobju nekaj let razvije refluksno vnetje požiralnika. Bolezen je dvakrat pogostejša kot pri bolnikih, pri katerih so okužbo zdravili simptomatsko in tudi pogostejša kot pri bolnikih z razjedo želodca (17).

Obratno je za razjedo želodca največkrat kriva zmanjšana obrambna sposobnost želodčne sluznice. Pri bolnikih velikokrat opazijo zmanjšano izločanje gastrina in posledično tudi zmanjšano izločanje želodčne kisline. Pogosteje se pojavlja pri starejših osebah, za katere je značilna pogostejša raba nesteroidnih protivnetnih zdravil in salicilatov (3, 16).

Razjeda dvanajstnika je 5-krat pogostejša kot razjeda želodca. Okužba s *H. pylori* je prisotna pri 70 % razjede na želodcu in 90 % razjede na dvanajstniku. Raziskave so potrdile, da je izkoreninjenje okužbe najučinkovitejše zdravljenje, hkrati pa se zmanjša verjetnost ponovitve peptične razjede in zapletov te bolezni (2).

1.2.6.4 GASTROEZOFAGEALNA REFLUKSNA BOLEZEN

Gastroezofagealna refluksna bolezen (GERB) nastane zaradi prekomernega zatekanja želodčne in/ali dvanajstnikovega soka v požiralnik. Kisla želodčna vsebina lahko povzroči tudi poškodbo vnetje sluznice grla in žrela. Ob nenehnem refluksu želodčne vsebine v požiralnik se lahko epitelij požiralnika spremeni v cilindrični, t.i. Barrettov epitelij, kar lahko vodi do karcinoma požiralnika (16, 18).

Vodilna bolezenska simptoma gastroezofagealne refluksne bolezni sta zgaga in odtekanje želodčne vsebine v požiralnik. Zgaga je pekoč občutek, ki ga bolniki opisujejo visoko v prsih (v dolbini pod spodnjim delom prsnice) in za prsnico. O GERB-u govorimo, če so refluksni simptomi prisotni vsaj dva dni v tednu in bistveno vplivajo na kakovost življenja. Refluksna bolezen požiralnika nastane zaradi neuspešnosti protirefluksnih mehanizmov (pogostejše odpiranje ali zmanjšan tonus spodnjega požiralnega sfinktra), neuspešnih istilnih mehanizmov požiralnika ali počasnejšega praznjenja želodca. Razširjenost GERB-a v Sloveniji je okrog 20 %, kar bolezen uvršča med pogostejše zdravstvene težave. Bolnike z GERB-om lahko delimo v tri skupine:

- Endoskopsko negativni GERB (neerozivna refluksna bolezen) pri kateri ne najdemo vnetnih in erozivnih sprememb na sluznici pofiralnika.
- Erozivna refluksna bolezen pofiralnika, pri kateri je prisotno vnetje in po-kodbe (erozije) sluznice pofiralnika.
- Erozivna refluksna bolezen pofiralnika z zapleti (krvavitve, razjede, predrtje, zofitve pofiralnika, Barrettov pofiralnik).

Neerozivno obliko ima skoraj 70% bolnikov; preostanek bolnikov (30 %) ima erozivno obliko. Zaplete bolezn razvij do 10% bolnikov z erozivno refluksno boleznijo. Tevilo bolnikov nara- a s starostjo, nekoliko pogostej-e je pri flenskah, teffje oblike bolezn pa so pogostej-e pri mo-kih. GERB je kroni na bolezen z letno stopnjo ponovitve do 80% (18).

V primeru, da ima bolnik ob simptomih GERB-a tudi katerega od znakov alarma (krvavitv, disfagija, huj-anje, slabokrvnost) in pri starej-ih od 50 let, pri katerih je ve ja verjetnost raka pofiralnika, je potrebna endoskopija pofiralnika. Pri veliki ve ini bolnikov pa lahko osebni zdravnik opravi le test s poskusnim zdravljenjem z zaviralcem protonske rpalke. Pri tem testu bolnik 14 dni ufliva terapevtski odmerek zaviralca protonske rpalke. e s tem pri bolniku doseffemo zmanj-anje simptomov za 50% ali ve in se po prekinitvi zdravljenja simptomi ponovno pojavijo, je to dokaz, da ima bolnik GERB. Bolniku z laffjimi simptomi se predpi-e H₂ antagonist in antacid po potrebi. V primeru da je tak-no zdravljenje uspe-no, se nadaljuje najmanj dva meseca. Ker tovrstna zdravila ne vplivajo na vzrok nastanka GERB-a, ampak gre samo za simptomatsko zdravljenje, se v -estih mesecih po ukinitvi terapije bolezen ponovno pojavi pri ve ini bolnikov. Pri bolnikih, pri katerih ob zdravljenju ne pride do izbolj-anja, ali pa se simptomi GERB pojavijo kmalu po prenehanju zdravljenja, pa je potrebna endoskopija zgornjih prebavil (18).

Vloga okufbe z bakterijo *Helicobacter pylori* pri refluksni bolezn pofiralnika ni popolnoma jasna. Nekateri raziskovalci so dokazali, da uspe-no zdravljenje okufbe pri bolnikih z ulkusno boleznijo (predvsem dvanajstnika) povzro i poslab-anje simptomov refluksne bolezn (17). Pri tem ni jasno, ali se GERB pojavi le pri bolnikih, ki so bili fle pred odstranitvijo bakterije dovzetni za to bolezen ali pa se z odstranitvijo ustvarijo druga ne razmere v zgornjih prebavilih, ki so krive za nastanek GERB. Prav tako opaflajo, da se z manj-anjem prevalence okufbe s *H. pylori* ve a deleff obolelih z GERB. Za to bi

naj bili odgovorni predvsem *cag+* sevi, ki sprofljo vnetni proces v korpusu flodca, kjer so parietalne celice, in tako zmanj–ajo izlo anje flod ne kisline (19).

1.2.6.5 MALT LIMFOM

MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) limfom je podvrsta malignih limfomov. To je heterogena skupina novotvorb, ki nastanejo zaradi nenadzorovanega razra–anja celic limfati nega tkiva. So klonske bolezni, ki nastanejo z maligno preobrazbo ene celice limfati ne vrste B,T ali NK (naravnih ubijalk). Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) je leta 2002 sprejela mednarodno klasifikacijo limfomov, ki temelji na razlikah v izvoru maligne celice, histolo–ki sliki, klini ni sliki, poteku in prognozi malignega limfoma ter jih deli na Hodgkinove (HL) in neHodgkinove limfome (NHL) (20, 21).

Kljub nespecifi ni sliki flod nega limfoma je gastroskopija referen na metoda pri njegovi diagnostiki, saj omogo a jemanje biopsijskih vzorcev, ki so nujni za postavitev diagnoze. Pri bolnikih z MALT limfomom je pred tem pogosto kroni no vnetje s *H. pylori* (v ve kot 90 %) ali avtoimunska bolezen. Razvoj MALT limfoma flodca pri bolnikih, okuflnih s *H. pylori*, je posledica aktivacije limfocitov T z antigeni *H. pylori* (16). To potrjujejo tudi doseflene remisije oz. zmanj–anje MALT limfoma flodca po zdravljenju z antibiotiki. Nekatere raziskave poro ajo o 95 % uspe–nosti zdravljenja MALT limfoma s tak–no terapijo (22).

1.2.7 DIAGNOSTIKA OKUŽBE

Bakterija *Helicobacter pylori* je vpletena v nastanek velikega –tevila bolezni flod ne sluznice, zato je pomembno, da bakterijo z zdravljenjem odstranimo. Za ugotavljanje prisotnosti okuflbe imamo na voljo ve diagnosti nih metod, ki jih lahko razdelimo na dve skupini: invazivne in neinvazivne.

Med invazivne metode se uvr–ajo:

- Hitri biopti ni ureazni test (HUT)
- Histolo–ka preiskava biopta
- Faznokontrastni mikroskopski pregled sveflega biopta

- Kultura biopta
- Verifna reakcija s polimerazo (PCR)

K neinvazivnim metodam pa spadajo:

- Serolo-ke preiskave
- Dihalni test s se nino
- Dokazovanje antigenov *H. pylori* v blatu

Ve metod izkori- a lastnost *H. pylori*, da izlo a velike koli ine ureaze. Ta omogo a preflivetje bakterije v kislih pogojih flodca. Kljub temu se bakterija ob prihodu v flodec sre a z agresivnostjo flod nega soka. Ker je gibljiva, se lahko umakne v manj kislo podro je med sluzjo in epitelijem.

Vloga ureaze v citoplazmi bakterijske celice je razgradnja se nine in tako oskrba z amonijakom in du-ikom, ki sta nujna gradnika aminokislin. Druga naloga je nevtralizacija flod ne kisline, saj pri hidrolizi se nine nastajata amonijak in karbamat. Karbamat spontano hidrolizira do amonijaka in karbonilne kisline. Iz amonijaka pa v reakciji z vodo nastane amonijev hidroksid, ki povzro i hiter porast pH vrednosti in alkalizacijo okolice bakterije (23).

1.2.7.1 INVAZIVNE METODE

1.2.7.1.1 Hitri bioptični ureazni test

Hitri biopti ni ureazni test je zelo specifi en (med 95 % in 100 %), v primeru pozitivnega izvida je lahko tudi edini uporabljeni diagnosti ni test (24). Ob utljivost testa je nekoliko nifja (med 75 in 98 %), kar je lahko posledica neenakomerne razporeditve bakterije v flodcu in s tem odvzem neprimerne vzorca. Z odvzemi najmanj dveh vzorcev se ob utljivost testa izbolj-a, saj se zmanj-a mofnost napake vzor enja. Temelji na lastnosti bakterijskega encima ureaze, da razgradi se nino na amonijak in ogljikov dioksid. Hitrost reakcije je premosorazmerna koncentraciji *H. pylori* v vzorcu.

Najstarej-i komercialno uporabljeni HUT je CLO (Campyobacter-like organism) test (DeltaWest, Australia). V posebni plasti ni posodici je se nina vklopljena v agar gel

skupaj z barvnim indikatorjem fenol rde e in bakterio stati nim sredstvom. Vzorec flelod nega tkiva, ki ga vzamemo pri gastroskopiji, potopimo v agar s sterilno iglo. V primeru prisotnosti H. pylori pride do razgradnje se nine, pH se spremeni v alkalno smer, kar povzro i spremembo barve pH indikatorja iz slamnato rumene v rde o barvo. Na pozitiven izvid je treba po akati do nekaj ur, pri ve ini (75 %) okufljenih bolnikov pa je rezultat pozitiven fle po 20 minutah. Segrevanje medija z vzorcem lahko pospe-i reakcijo, na specifi nost in ob utljivost pa nima vpliva. Prednost tega testa je predvsem v nizki ceni in hitrosti. Novi testi, ki imajo namesto agar medija le testni trak, naj bi bili klini no bolj uporabni zaradi hitrej-e reakcije. V uporabi so tudi testne tablete, ki vsebujejo se nino in indikator fenol rde e. Po raztopitvi tablete v destilirani vodi se doda vzorec sluznice in po aka na morebitno spremembo barve v rofnato (14, 24, 25).

1.2.7.1.2 Histološka preiskava vzorca želodčne sluznice

Gre za diagnosti no metodo z visoko specifi nostjo in ob utljivostjo, ki se priblifata 100 %, e pri gastroskopiji odvzamemo vzorce na dveh razli nih mestih. Preiskava nam da zraven odgovora, ali je prisotna bakterija H. pylori, tudi -tevilne druge podatke, npr. o vrsti gastritisa, atrofiji, metaplaziji, displasti ni ali maligni spremembi. Pri rutinskih histolo-kih preiskavah se uporablja barvilo hematoksilin-eozin, za natan nej-e dolo anje prisotnosti H. pylori pa barvanje po Giemsi. Po barvanju se vzorci pregledajo pod mikroskopom. Barvanje po Giemsi ima -tevilne prednosti pred drugimi tehnikami barvanja, med drugim enostavnost, nizko ceno in hitrost izvedbe. Slabost metode je ta, da med tkivom in bakterijo ni velikega barvnega kontrasta (14, 26).

1.2.7.1.3 Fazno kontrastna mikroskopija

Pri tej metodi lahko preverimo prisotnost bakterije v vzorcu flelod ne sluznice s fazno kontrastnim mikroskopom brez predhodnega barvanja. V praksi se ta metoda redko uporablja (14).

1.2.7.1.4 *Kultura*

Metoda se uporablja za določitev odpornosti *H. pylori* na antibiotike predvsem po neuspešni terapiji prvega izbora. Vzorec sluznice nanese na gojišče, rezultate pa dobimo po 3-14 dneh. Velika pazljivost je potrebna pri prenosu vzorca do laboratorija. Vzorci morajo biti v transportnem mediju, ki bakteriji omogoča preživetje do 48 ur. Vsakršne napake na tej stopnji lahko pomenijo nifjo ob utljivost metode (14).

1.2.7.1.5 *Verižna reakcija s polimerazo*

Visoka ob utljivost metode nam omogoča, da lahko z njo ugotavljamo prisotnost majhnega števila bakterij po protimikrobni terapiji. Ugotovimo lahko, kakšne genetske značilnosti ima posamezen bakterijski sev in s tem napovemo virulenco tega. Metoda pa se uporablja tudi za preverjanje odpornosti bakterije na antibiotike (26, 27).

1.2.7.2 NEINVAZIVNE METODE

1.2.7.2.1 *Serološke preiskave*

Serološke metode so v primerjavi z drugimi metodami, pri katerih je potrebna endoskopija, pri pacientih veliko bolj sprejete. So enostavne, brez kontraindikacij in relativno poceni.

Okužba z bakterijo *Helicobacter* povzroči pri bolnikih močan imunski odziv, ki je lokalni - v želodcu in sluznici in sistemski. Lokalni imunski odziv se kaže v nastanku protiteles razreda IgA, cirkulirajo pa so predvsem iz razredov IgG in IgM. Serološki testi temeljijo na encimskim imunoloških tehnikah (ELISA), prirejeni pa so za določanje v različnih vzorcih: polna kri, serum, plazma, slina ali želodčni sok, vendar ima največjo diagnostično vrednost dokazovanje protiteles v serumu. Serološke metode so večinoma kvalitativne, podatek o številu protiteles nima velikega pomena za diagnostiko. Antigeni za določanje protiteles so pripravljene iz različnih sevov *H. pylori* ter so visoko specifični, tako da so lažno negativni rezultati zelo redki (14, 28).

Serološko diagnosticiranje okužbe z bakterijo *H. pylori* se opravlja v glavnem z določanjem protiteles IgG. Koncentracija IgA in IgG protiteles po zdravljenju okužbe s *H. pylori* pada zelo počasi. V šestih tednih po zdravljenju pade koncentracija za 20-30 %, v šestih mesecih

pa –ele na 50 % vrednosti pred zdravljenjem. Zaradi tega serolo–ki testi niso primerni za potrditev uspe–nosti zdravljenja v prvih tednih po terapiji. Z njimi tudi ne moremo z zanesljivostjo lo iti –e navzo e okuflbe od fle ozdravljene okuflbe v preteklosti (28).

1.2.7.2.2 Dihalni test s se–nino

Tudi dihalni test temelji na sposobnosti bakterije, da z encimom ureazo razgrajuje se –nino. Pri testu se uporablja se –nina, ozna ena s ^{13}C ali ^{14}C izotopom. Preiskovanec pred in po zaufflitju testnega obroka, ki vsebuje ozna eno se –nino, piha v epruveto. e je bakterija *H. pylori* prisotna, bo bakterijska ureaza se –nino hidrolizirala do NH_3 in CO_2 , ki bo vseboval ^{13}C ali ^{14}C izotop. Ozna eni CO_2 se vklopi v kislinsko-bazni metabolizem in se preko venskega sistema izlo i skozi plju a. Posledi no lahko v izdihanem zraku zaznamo porast ozna enega CO_2 . e bakterija ni prisotna, se ozna ena se –nina hidrolizira –ele v debelem revesu pod vplivom bakterij, ki so del normalne revesne flore (23).

Dihalni test se praviloma opravlja vsaj 4 tedne po kon ani terapiji za zdravljenje okuflbe s *H. pylori*, saj lahko v nasprotnem primeru dobimo lafno negativne rezultate. Testni obrok najve krat predstavlja 200 ml 0,1 N citronske kisline. Namen je dvojen: upo asni praznjenje flodca, kar pove a kontaktni as med bakterijo in ozna eno se –nino ter omogo i optimalno razporeditev se –nine po flodcu. Porast izotopa ^{13}C izdihanem zraku dolo imo z masnim spektrometrom (IRMS ó isotope ratio mass spectrometry) (28).

Obstaja tudi 5 radioaktivnih izotopov ogljika, med njimi tudi ^{14}C , z razpolovno dobo od 0,72 s do 5736 let. ^{14}C ozna ena se –nina se aplicira v flatinast kapsuli, s imer se izognemo lafno pozitivnemu rezultatu zaradi razpada se –nine fle v ustni votlini, skupaj s citronsko kislino. Najve ja ovira pri uporabi ^{14}C izotopa je njegova radioaktivnost, vendar ta ne presefle 1 μCi , kar je enako dnevni dozi sevanja, prejetega iz naravnega okolja. V primerjavi z uporabo ^{13}C ozna ene se –nine je test enostavnej-i, hitrej-i in ne zahteva uporabe masnega spektrometra. Rezultat je na voljo fle po 10 minutah. Podamo ga v –tevilu razpadov na minuto, ki jih dolo imo s scintilacijskim –tevcem (29).

1.2.7.2.3 Bakterijski antigen v blatu

V zadnjem času so v uporabi tudi testi, pri katerih dokazujemo antigene *H. pylori* v blatu. Gre za neinvazivno metodo, ki je hitra in poceni.

Na mikrotitersko ploščo so adsorbirana monoklonalna anti-*H. pylori* protitelesa. Na ploščo nanesemo razredjen vzorec blata in s peroksidazo konjugirana poliklonalna protitelesa. Po enourni inkubaciji na sobni temperaturi speremo nevezana protitelesa in dodamo substrat za peroksidazo. Če je prisotna do vezave s peroksidazo konjugiranih poliklonalnih protiteles, pride do obarvanja, ki ga določimo spektrofotometrično. Pozitivni rezultat je definiran kot tisti, kjer je absorbanca večja ali enaka 0,160. Test se lahko opravi v vsakem laboratoriju, saj razen spektrofotometra ne zahteva posebne opreme. Omogoča obdelavo več vzorcev naenkrat (23, 30).

Obstaja tudi hitra različica testa, ki nam rezultat poda že po 5 minutah (npr. ImmunoCard STAT! HpSA od Meridian Bioscience). Gre za imunokromatografsko tehniko, kjer so na membrano nanesena monoklonalna anti-*H. pylori* protitelesa. Na reagenčno kartico nanesemo nekaj kapljic vzorca blata, razrednega z dilucijskim medijem. Če se po 5 minutah zraven modre, kontrolne črte, pojavi tudi rdečata, to pomeni pozitiven rezultat. Zanesljivost testa je primerljiva z zgoraj opisanim, prednost hitre različice pa je tudi v tem, da lahko hitro in enostavno analiziramo samo 1 vzorec (31, 32).

1.2.8 ZDRAVLJENJE OKUŽBE S *H. PYLORI*

Bakterija je *in vitro* občutljiva na mnoge antibiotike, vendar vsi ne povzročijo njene odstranitve *in vivo*. Vemo, da se bakterija naseli na površino želodčne sluznice in je prekrita s slojem sluzi, kar jo ščiti pred antibiotiki. Hitro praznjenje želodca zmanjša koncentracijo antibiotika na mestu okužbe. Mnogi antibiotiki pa so tudi manj učinkoviti pri nizki vrednosti pH (33).

Za odstranitev bakterije *H. pylori* je potrebna hkratna aplikacija več antibiotikov in po potrebi tudi ponovitev zdravljenja z drugo kombinacijo zdravil. Ker se po svetu pojavljajo vedno novi sevi, odporni na različne antibiotike, predstavlja to še poseben izziv (34).

Dokazano je, da je odprava okuflbe s *H. pylori* pomembna pri zdravljenju flod ne razjede, MALT limfoma ali dispepsije. Nekatere študije so potrdile, da odstranitev okuflbe zmanjša tveganje za nastanek raka na flodcu. Zato evropske smernice priporo ajo zdravljenje okuflbe s *H. pylori* ne samo pri pacientih, ki so fle zboleli za rakom flodca, ampak tudi pri tistih, pri katerih obstaja ve je tveganje za to bolezen (offji sorodniki bolnikov) (34, 35).

Najve jo u inkovitost in vivo so ugotovili pri zdravljenju z metronidazolom in drugimi imidazoli ter z makrolidom klaritromicinom. Oba se aktivno izlo ata skozi flod no sluznico v flod ni sok. Imidazoli so baktericidni tudi pri nizki vrednosti pH, klaritromicin pa je mnogo bolj u inkovit pri vi-jem pH. eprav je ob utljivost bakterije *H. pylori* na ampicilin in vitro zelo visoka, je u inkovina zaradi nizke biolo-ke uporabnosti neu inkovita in vivo oz. so potrebni ve ji odmerki. V nasprotju s tem je amoksicilin u inkovit in vivo in organizem tudi zelo redko razvije odpornost nanj, eprav je pogosto predpisan za zdravljenje drugih okuflb. Vloga antisekretornih zdravil pri zdravljenju okuflbe je poleg zve anja vrednosti pH flod nega soka tudi ta, da zmanjš-a viskoznost sluznega sloja, s tem pa olaj-a prehajanje antibiotikov na mesto okuflbe. Pri tem so najuspe-nej-i zaviralci protonske rpalke (omeprazol, pantoprazol, lansoprazol) (33, 36).

Tabela I: Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) antibiotikov glede na pH flod nega soka

antibiotik	MIK 90 (mg/l)		
	pH 7,5	pH 6,0	pH 5,5
penicilin	0,03	0,5	0,5
ampicilin	0,06	0,25	0,5
klaritromicin	0,03	0,06	0,25
ciprofloksacin	0,12	0,5	2
metronidazol	2	2	2

Obstajajo razli ni na ini zdravljenja okuflbe. Enotirna in dvotirna terapija, ki poleg antibiotika vklju uje tudi zaviralec protonske rpalke, nista dosegli zadovoljivih rezultatov. fie leta 1993 so poro ali o izjemno uspe-ni tritirni terapiji, ki je vklju evala omeprazol, tinidazol in klaritromicin. Podobne rezultate so dosegli tudi z uporabo amoksicilina ali metronidazola namesto tinidazola. Od takrat je najbolj priporo ljiva tritirna terapija, ki jo sestavljata 2 antibiotika: klaritromicin, amoksicilin ali metronidazol ter zaviralec protonske

rpalke. V zadnjem času se v terapiji uveljavljata tudi antibiotika rifabutin in furazolidin (34, 35, 37).

Veina američkih in evropskih smernic priporo 14 dnevno zdravljenje. Zadnje raziskave kažejo, da podaljševanje terapije nad 7 dni prinaša povečano uspešnost zdravljenja. Tako podaljševanje tritirne terapije na 10 dni pomeni 4 % več uspešnih odstranitvev bakterije, podaljševanje na 14 dni pa 5 % več. Podaljševanje terapije prinese več uspeha pri bolnikih z dispepsijo kot pri tistih z fleodno razjedo (34).

Največkrat je terapija neuspešna zaradi odpornosti bakterije. Najpogosteje se pojavlja odpornost na klaritromicin in metronidazol. Vzrok za to je pogosta uporaba klaritromicina pri okužbah dihal in metronidazola pri infekcijskih driskah in okužbah rodil. Zato se na območjih s povečano pojavnostjo odpornosti na klaritromicin (>15-20 %) ali pri bolnikih, ki so že prej prejeli makrolidni antibiotik, priporo druga terapija. V tem primeru se lahko poslužimo tritirne terapije, ki jo sestavljajo zaviralec protonske pialke, bizmutova sol, metronidazol in tetraciklin. Uspešnost terapije je primerljiva s tritirno. Glavne omejitve tritirne terapije predstavljajo bizmutove soli, ki so toksične in zaradi tega nekoliko odrinjene. Bizmut je eno najstarejših protiulkusnih zdravil. Na *H. pylori* deluje bakteriostatično in citoprotektivno (33, 34).

Pomembna je tudi komplanca bolnika, ki pride do izraza pri tako kompleksni terapiji.

Uspešnost terapije ugotavljamo z neinvazivnimi testi visoke občutljivosti in specifičnosti. Metoda izbora je dihalni test s sešninom, ki ga izvajamo vsaj štiri tedne po končanem zdravljenju. Gastroskopija se izvede, če zanjo obstaja tudi medicinski razlog (MALT limfom, fleodna razjeda).

Možnosti za ponovno okužbo s *H. pylori* v štirih tednih po končanem zdravljenju so zelo majhne. Največkrat pride do ponovnega razrasta osnovnega seva in ne do ponovne okužbe z drugim sevom. V Sloveniji je takih primerov le 0,5 % leto, v državah v razvoju pa je ta odstotek višji (34, 36).

Priporo ena shema zdravljenja ob upoštevanju, da v Sloveniji ni na voljo pripravkov bizmutovega subcitrate/salicilate (36):

Priporo ena 14-dnevna shema: zaviralec protonske ppalke v standardnem odmerku (npr. omeprazol 20 mg) 2-krat dnevno; amoksicilin 1000 mg 2-krat dnevno in klaritromicin 500 mg 2-krat dnevno.

ali

zaviralec protonske ppalke v standardnem odmerku 2-krat dnevno; amoksicilin 1000 mg 2-krat dnevno in metronidazol (tinidazol) 500 mg 2-krat dnevno.

ali

zaviralec protonske ppalke v standardnem odmerku 2-krat dnevno; klaritromicin 500 mg 2-krat dnevno in metronidazol 500 mg 2-krat dnevno.

V kolikor je tudi to zdravljenje neuspešno, se bolnika zdravi glede na antibiogram, v primeru ponovnega neuspeha pa se doda bizmutov subcitrát/salicilat ali drug antibiotik po antibiogramu.

Ker je z bakterijo *Helicobacter pylori* okuflena ve kot polovica svetovne populacije in se pojavljajo vedno ve ji problemi z njeno odpornostjo na antibiotike, je smiselno razviti u inkovito cepivo. To bi bilo ceneje in manj zapleteno kot tritirno zdravljenje, predvsem pa bi rezultiralo v manj-i pojavnosti z njo povezanih bolezni. Potekajo intenzivne raziskave zunanje membrane *H. pylori*, saj le-ta sodeluje pri pritrditvi bakterije na flod ni epitelij in tudi stimulira imunski odgovor gostitelja, -tevilni antigeni so fle tudi odkriti. Ker je ve ino okuflenih vse flivljenje brez simptomov in obstajajo razli ni bakterijski sevi, bo potrebno pred uvedbo cepljenja dodobra prou iti njegov vpliv pri populacijah z visokim in nizkim tveganjem za pojavnostjo flod nega limfoma, raka ali razjede. Cepiva ne bo na voljo -e nekaj let, prevalenco okuflbe s *Helicobacter pylori* pa lahko zaenkrat zmanj-amo z izbolj-anjem higienskih razmer in socialnoekonomskega statusa (37, 38).

2 NAMEN DELA

Odkritje, da gastritis v večini primerov povzroča bakterija *H. pylori*, je pomembno vplivalo na razvrstitev in zdravljenje bolezni želodca. Zaradi mornega razvoja neoplasti njih sprememb je smiselno zgodnje odkrivanje in zdravljenje okužbe s *H. pylori*.

V diplomski nalogi želimo ugotoviti diagnostično uporabnost makroskopske ocene videza želodčne sluznice ter hitrega biopsijskega ureaznega testa pri otrocih. Izračunali bomo njihovo občutljivost, specifičnost, pozitivno in negativno napovedno vrednost ter natančnost. V naslednji stopnji bomo ugotavljali, katere sheme zdravljenja se predpisujejo za zdravljenje okužbe ter kakšna je njihova uspešnost.

S tem namenom bomo zbrali podatke o otrocih in mladostnikih, ki so bili v letih 2006 do 2008 obravnavani na Pediatrični kliniki Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani zaradi okužbe s *H. pylori* in imeli z gastroskopijo odkrit nodularni gastritis, opravljen HUT ali kontrolo zdravljenja okužbe s *H. pylori* z dihalnim testom s sešino. Glede na izvid histološkega pregleda želodčne sluznice, ki predstavlja zlati standard, bomo ovrednotili diagnostično uporabnost gastroskopije ter HUT. Uspešnost zdravljenja bomo ugotavljali z dihalnim testom s sešino.

Naše predpostavke so, da gastroskopija in nodularnost sluznice nista zanesljiva pokazatelja okuženosti s *H. pylori*. Obratno pričakujemo pri HUT boljšo diagnostično uporabnost. Predvidevamo, da bodo med različnimi shemami zdravljenja statistično pomembne razlike v njihovi uspešnosti.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Pridobivanje podatkov

Izvedli smo retrospektivno raziskavo o diagnostiki in zdravljenju okuflbe s *H. pylori* pri otrocih s sumom na to okuflbo. Podatke smo pridobili s pregledom medicinske dokumentacije pacientov, ki so imeli opravljeno gastroskopijo ali dihalni test s se nino v letih 2006 do 2008. Gre za paciente, ki so imeli gastroskopijo opravljeno ambulantno na Klini nem oddelku za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko Pediatri ne klinike v Ljubljani ali so bili tam hospitalizirani. Dihalni testi s se nino so bili opravljeni na Klini nem in-titutu za klini no kemijo in biokemijo, histolo-ki pregled vzorcev sluznice pa na In-titutu za patologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani. Raziskavo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko.

fieleli smo ovrednotiti diagnostiki na testa za ugotavljanje okuflbe s *H. pylori*, in sicer uporabnost makroskopske ocene videza flod ne sluznice (gastroskopija) in hitrega ureaznega testa (HUT). Nadalje smo fleleli oceniti uspe-nost zdravljenja s tremi najpogostej-imi terapevtskimi shemami, ugotoviti v kolik-nem deleflu se predpisuje katera terapija ter morebitne razlike v uspe-nosti zdravljenja med njimi. Uspeh zdravljenja smo ugotavljali z dihalnim testom s se nino ali s ponovno gastroskopijo.

Najprej smo v zdravstveni dokumentaciji poiskali vse paciente, ki jim je bil endoskopsko ugotovljen nodularni gastritis. Pregledali smo tudi njihove histolo-ke izvide, predpisano terapijo in morebitno kontrolo zdravljenja z dihalnim testom s se nino ali z gastroskopijo. V naslednji stopnji smo pregledali kartoteke vseh bolnikov, ki so imeli v treh letih opravljen HUT ter prav tako poiskali njihove histolo-ke izvide, predpisano terapijo in morebitno kontrolo zdravljenja. Na enak na in smo raziskali bolnike, ki so imeli v enakem obdobju opravljen dihalni test s se nino.

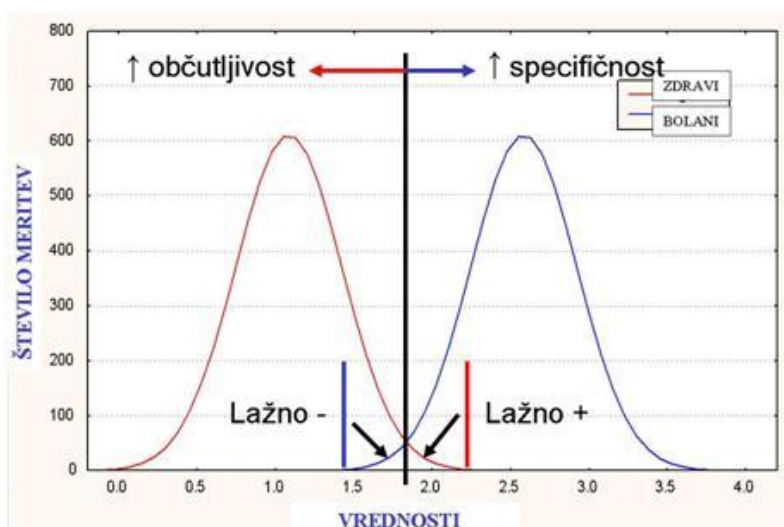
Na- vzorec je tako obsegal 383 oseb, ki so imele skupaj opravljenih 461 gastroskopij. Otroci so bili stari od 1 do 19 let, med njimi je bilo 136 fantov in 247 deklet. Povpre na starost preiskovancev je bila 12,75 let. Izvzeti so bili preiskovanci, pri katerih ni bilo dostopnega histolo-kega izvida, saj je le-ta sluffil kot zlati standard pri ugotavljanju okuflbe s *H. pylori* in je bila nadaljnja obdelava rezultatov brez njega nemogo a.

3.2 Statistična obdelava podatkov

Gastroskopijo in hitri ureazni test smo ovrednotili tako, da smo izračunali njuno občutljivost, specifičnost, natančnost ter pozitivno in negativno napovedno vrednost.

Ob občutljivost in specifičnost: Ob občutljivost (ena ba 1) je razmerje oseb s pozitivnim rezultatom do vseh oseb, ki so resni no bolne (resni no pozitivne in lažno negativne). Na simetrični in pa je specifičnost (ena ba 2) merilo, ki nam pove delež tistih, ki smo jih na osnovi testa spoznali za zdrave v odnosu do vseh, ki so resni no brez bolezni (resni no negativni in lažno pozitivni). Pojma občutljivost in specifičnost označujeta torej sposobnost testov, da zaznajo bolezen v prvem oz. da zaznajo nebolezen v drugem primeru. Izračunavanje občutljivosti in specifičnosti zahteva poznavanje dejanskega stanja oseb glede na proučevano bolezen. V praksi se poslužujemo referenčnih diagnostičnih metod, ki so zelo blizu pravemu stanju in oba parametra izračunamo v odnosu do teh referenčnih vrednosti. Referenčna diagnostična metoda je v našem primeru histološka preiskava biopsije. Število lažno negativnih pomeni pomanjkanje občutljivosti. Število lažno pozitivnih pomeni pomanjkanje specifičnosti.

Na sliki 6 je prikazan antagonizem med občutljivostjo in specifičnostjo metode. S premikanjem vrednosti praga v desno lahko izboljšamo specifičnost in zmanjšamo občutljivost, s premikanjem v levo pa dosegamo ravno obratno. Če želimo zajeti čim več bolnih, povečamo občutljivost. S tem povzročimo, da imamo veliko lažno pozitivnih (39).



Slika 6: Pomen občutljivosti in specifičnosti

$$\text{ob utljivost} = \frac{RP}{RP + LN} \quad (1)$$

$$\text{specifi nost} = \frac{RN}{RN + LP} \quad (2)$$

Napovedna vrednost: Ob utljivost in specifi nost ozna uje vrednost neke metode merjenja dolo enega parametra glede na referen no metodo. Dobljene vrednosti niso v povezavi s prevalenco iskanega parametra v populaciji. To pomanjkljivost do neke mere popravlja napovedna vrednost. Pozitivna napovedna vrednost (ena ba 3) je merilo razmerja vseh resni no bolnih do vseh, ki so bili razvr–eni v skupino z boleznijo (resni no pozitivni in lafno pozitivni). Negativna napovedna vrednost (ena ba 4) pa je razmerje med vsemi brez boleznii z vsemi, ki so bili razvr–eni v skupino brez boleznii (resni no negativni in lafno negativni). Pozitivna napovedna vrednost ni odvisna samo od uporabljene metode, ampak je tudi funkcija prevalenze boleznii in opazovanega znaka. Pri enaki ob utljivosti pozitivna napovedna vrednost raste z vi–anjem prevalenze boleznii in pada s prevalenco znaka. Ali z drugimi besedami, napovedna mo pozitivnega znaka je bolj–a, e je bolezen pogosta in znak redek. Analogno velja za negativno napovedno vrednost. Njena napovedna mo (ob odsotnosti znaka) je torej bolj–a, e je bolezen redka in znak pogost (39).

$$\text{pozitivna napovedna vrednost} = \frac{RP}{RP + LP} \quad (3)$$

$$\text{negativna napovedna vrednost} = \frac{RN}{RN + LN} \quad (4)$$

Natan nost: merska zna ilnost dihotomnega diagnosti nega testa, izra unljiva kot koli nik vsote –tevil pravilno pozitivnih in pravilno negativnih rezultatov ter vsote –tevil vseh rezultatov (ena ba 5)

$$\text{natan nost} = \frac{RP + RN}{RP + LP + RN + LN} \quad (5)$$

Legenda:

Resni no pozitivni rezultati (RP): pozitiven histološki izvid in pozitiven izvid gastrokopije oz. HUT

Resni no negativni rezultati (RN): negativen histološki izvid in negativen izvid gastrokopije oz. HUT

Lafno pozitivni rezultati (LP): negativen histološki izvid in pozitiven izvid gastrokopije oz. HUT

Lafno negativni rezultati (LN): pozitiven histološki izvid in negativen izvid gastrokopije oz. HUT

Test hi-kvadrat:

S testom hi-kvadrat (ena ba 6) smo preverili, ali so med shemami zdravljenja statisti no pomembne razlike v uspešnosti odstranitve bakterije. Pri tem nismo upoštevali sheme s ciprofloksacinom, saj je bila le-ta uporabljena v primerih, ko so bile tudi druge sheme neuspešne in zato ugotovljena nizka stopnja uspešnosti ne kafe dejanskega stanja.

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_d - f_p)^2}{f_d} \quad (6)$$

f_d : dejanska frekvenca

f_p : priakovana frekvenca

3.3 Proučevane diagnostične metode

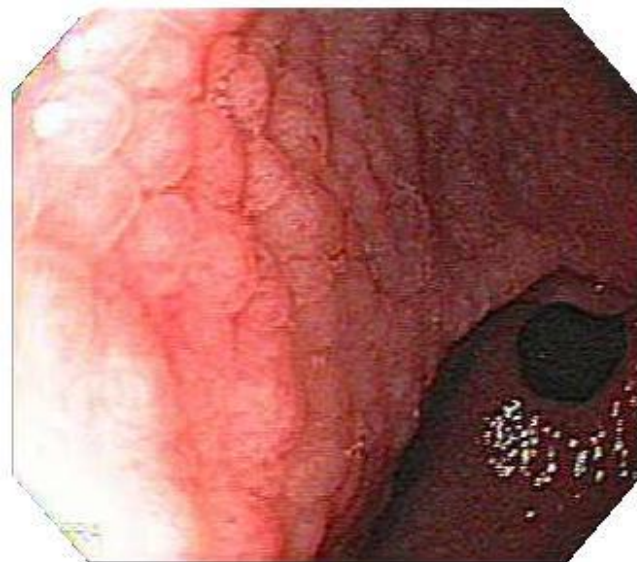
3.3.1 EZOFAGOGASTRODUODENOSKOPIJA

Ezofagogastroduodenoskopija (v nadaljevanju gastrokopija) je endoskopski pregled zgornjih prebavil, ki zdravniku omogoča neposreden pogled v notranjost požiralnika, želodca in dvanajstnika. Naredi jo z upogljivim instrumentom, endoskopom, ki ima na konci vir hladne svetlobe ter majhno kamero, ki pošilja sliko prebavne cevi na zaslon. Zdravnik med preiskavo premika konico instrumenta in si na ta način ogleda sluznico in notranjost prebavne cevi. Endoskopi imajo vgrajene kanale za izpiranje in

vsrkavanje ter delovne kanale. Skozi le-te se med samo preiskavo lahko uvedejo različni instrumenti in pripomočki (biopsijske kleščice, sonde, zanke) za izvedbo določenih posegov (40).

Pri okužbi s *H. pylori* je vidna hiperemija ali marogasto hiperemija, edematozna flek na sluznici ali celo erozije. Specifičen za okužbo s *H. pylori* pa je pri otroku nodularni videz sluznice (največkrat antruma), ki ga ugotavljajo pri 50-80 % otrok s kroničnim gastritisom. Limfocitno tkivo je hiperplastično, limfociti nodularno dvignejo flek na sluznico, ki je videti, kot bi bila tlakovana (Slika 7). Vzrok za tak videz fleka na sluznici pri otroku ni povsem pojasnjen. Lahko gre za odgovor nezrelega imunskega sistema na okužbo. Znano je tudi, da imajo otroci bolj reaktivno limfocitno tkivo kot odrasli. Nodularni videz sluznice izgine zelo počasi tudi po uspešnem zdravljenju okužbe. Kljub vsemu pa normalni endoskopski izvid pri otroku ne izključuje kroničnega gastritisa, povzročena s *H. pylori*.

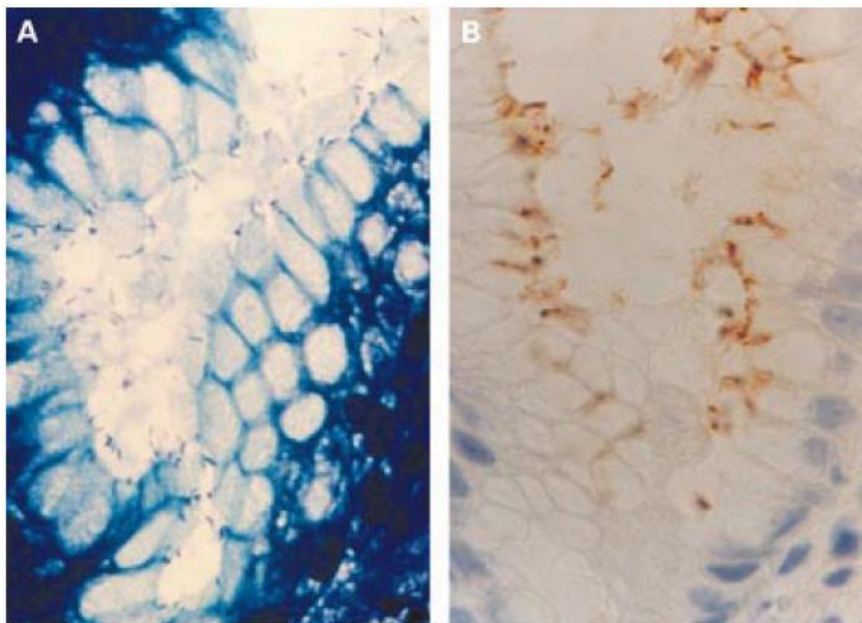
Otroci imajo ob kroničnem gastritisu tudi vnetje dvanajstnika in pylorika, redkeje pa je diagnosticirana razjeda na dvanajstniku. V otroštvu se zelo redko ugotovi limfom ali karcinom želodca (33).



Slika 7: Nodularna flek na sluznici pri otroku

3.3.2 HISTOLOŠKI PREGLED VZORCA SLUZNICE

Za dokaz *H. pylori* v histoloških preparatih se rutinsko uporablja modificirana metoda po Giemsi (Slika 8A). Kadar je prisotnost bakterije negotova, npr. po antibiotičnem zdravljenju, pa se poslužujemo imunohistokemične metode s poliklonskimi protitelesi (Slika 8B).



Slika 8: Modificirana metoda po Giemsi (A) in imunohistokemična metoda (B)

Bakterije se nahajajo na površini sluznice, največje so v sluzi, ki pokriva epitelij, redkeje pa so v samem epiteliju. Dokazovanje je lahko zelo težavno, kadar je bakterij malo ali so v kokoidni obliki. Takrat se uporablja imunohistokemična metoda dokazovanja in pregled pri 1000-kratni povečavi (26, 33).

Po Sydneyjskem sistemu za oceno gastritisa, povzročena s *H. pylori*, je potrebno odvzeti vsaj štiri biopsijske vzorce, dva z antralnega in dva s korpusnega dela želodca. Biopsijski vzorci s področja korpusa so potrebni zlasti za dokaz *H. pylori* po zdravljenju. Sydneyjska klasifikacija zahteva ovrednotenje naslednjih histoloških parametrov:

- akutno vnetje (aktivnost)
- kronično vnetje
- okužba s *H. pylori*
- intestinalna metaplazija
- atrofija flegznega dela sluznice

Vsi parametri se ocenjujejo po stopnji izraženosti (blaga, zmerna, huda ali 1, 2, 3), posebej za antralno in korpusno sluznico.

Najbolj značilna sprememba pri okužbi s *H. pylori* je difuzno enakomerno razporejena nevtrofilna vnetna infiltracija v področju vratov in je tudi merilo aktivnosti gastritisa. Vratovi sluznice so mesta med foveolami in flegznim delom sluznice. Tu poteka proliferacija in regeneracija foveolnega in flegznega dela, zato je posledica poškodbe vratov in hkrati najpomembnejša posledica HP gastritisa atrofija flegznega dela. Ob znakih akutnega vnetja so vedno prisotni tudi znaki kroničnega vnetja, ki se kaže v obliki difuznega mononuklearnega vnetnega infiltrata. Vidni so tudi limfoidni agregati, ki dajejo endoskopsko granuliran izgled sluznice. So posledica kronične stimulacije proliferacije limfocitnega tkiva v sluznici in lahko vodijo do malignega limfoma. Pozne posledice okužbe s *H. pylori* so lahko tudi atrofija, metaplazija in karcinom intestinalnega tipa (33).

Če je odstranitev bakterije *H. pylori* uspešna, histološki znaki aktivnega gastritisa takoj izginejo, kar je najboljši dokaz za etiološko povezavo med okužbo s *H. pylori* in gastritisom ter hkrati zanesljiv pokazatelj uspešnosti zdravljenja (33).

3.3.3 *Helicobacter pylori* Quick Test (BIOHIT OYJ, Finska) (41)

Gre za hitri ureazni test za kvantitativno diagnostiko okužbe s *H. pylori*. Temelji na sposobnosti bakterijskega encima ureaze, da razgradi v testnem gelu prisotno sečnino. Posledica razgradnje sečnine je porast pH vrednosti medija ter posledična sprememba barve indikatorja (fenol rdeča) iz rumene v rdečnato. Hitrost reakcije je premo sorazmerna koncentraciji *H. pylori* v vzorcu. Proizvajalec navaja, da je specifičnost testa 87,7 % in njegova občutljivost 93,7 %.

- **Vsebina kompleta**

Testni komplet vsebuje 50 testnih plošč, ki imajo vdolbino z rumenim indikatorskim gelom (Slika 9). Ploščice so že pripravljene za uporabo in jih je do uporabe potrebno hraniti v hladilniku na temperaturi med 2 in 8°C.



Slika 9: Hitri biopsijski urezani test Helicobacter pylori quick test

- **Odvzem vzorcev**

Biopsijski vzorec se odvzame iz antruma želodca. Za zagotavljanje večje občutljivosti je priporočljivo testirati več biopsijskih vzorcev. Pred izvedbo testa je potrebno vzorec sluznice nežno obrisati s sterilno gazo, da se odstrani kri, ki bi lahko motila potek reakcije.

- **Izvedba testa**

Vsaj 30 minut pred uporabo testa vzamemo testno ploščico iz hladilnika in pustimo, da doseže sobno temperaturo. Odmaknemo ploščico, ki pokriva vdolbino z gelom, in dodamo vzorec sluznice. Inkubiramo 1-2 minuti pri sobni temperaturi, nato pa ocenimo spremembo barve s pomočjo legende na ploščici. Če pride do spremembe barve iz rumene v intenzivno rdečo, je test pozitiven. V nasprotnem primeru nadaljujemo inkubacijo še 30 minut. Če se tudi v tem času ne razvije rdeča barva, je test negativen. Lahko negativni rezultati se lahko pojavijo, če je bolnik jemal antibiotike ali zaviralce protonske pmpalke 2-4 tedne pred izvedbo testa.

3.3.4 Test Helicobacter INFAI (42)

¹³C dihalni test je neinvaziven in neradioaktiven test za odkrivanje okužbe z bakterijo Helicobacter pylori. Primeren je tudi za nosečnice in otroke. Ima visoko občutljivost in specifičnost.

Test Helicobacter INFAI je dihalni test za enkratno uporabo. Uporabljamo ga za in vivo diagnosticiranje gastroduodenalne okužbe s *H. pylori* pri odraslih in mladostnikih.

Testni komplet (Slika 10) vsebuje:

sestavine	koli ina
plastenka (prostornina 10 ml, iz polistirena s polietilenskim pokrov kom), ki vsebuje 75 mg ^{13}C -se nine pra-ka za peroralno raztopino	1
ozna ene steklene (ali plasti ne) epruvete za zbiranje, shranjevanje in prena-anje vzorcev za analizo: as vzor enja: 00-minutna vrednost	2
as vzor enja: 30-minutna vrednost	2
upogljiva slamica za zbiranje vzorcev izdihanega zraka v ustrezne vsebnike	1
podatkovni list za dokumentacijo bolnika	1
navodilo za uporabo	1
list z etiketami s rtno kodo in nalepka	1

Na voljo je tudi Test Helicobacter INFAI za otroke v starosti 3 ó 11 let, ki vsebuje 45 mg ^{13}C -se nine pra-ka za peroralno raztopino.



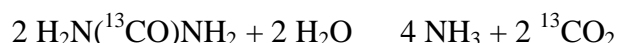
Slika 10: Testni komplet Helicobacter INFAI

- **Farmakodinami ne lastnosti**

Za koli ino 75 mg ¹³C-se nine, ki se uporabi za dihalni test, farmakodinami ni u inki niso opisani.

Izotop ¹³C je popolnoma ne-kodljiv, stabilen izotop, prisoten tudi v naravi. V molekuli ogljika je prisoten v deleflu 1,108 % in ima glede na izotop ¹²C dodaten nevtron. Povpre ni dnevni vnos ¹³C je med 2 in 3 g, kar je veliko manj, kot ga pacient zauffije pri preiskavi.

Ozna ena se nina se po zauffitju raz-iri v flelod no sluznico. V prisotnosti bakterije Helicobacter pylori se ¹³C-se nina presnovi z ureazo bakterije H. pylori:



¹³CO₂ preide v krvne file. Od tam se v obliki bikarbonata prenese v plju a in se sprosti v izdihanem zraku.

V prisotnosti bakterijske ureaze se razmerje med ¹³C in ¹²C-ogljikovimi izotopi znatno spremeni. Delefl ¹³CO₂ v izdihanem zraku je dolo en s spektrometri no metodo dolo anja razmerja mase izotopov (IRMS, isotope ratio mass spectrometry) in predstavljen kot absolutna razlika (vrednost) med 00-minutnimi in 30-minutnimi vrednostmi.

Ureazo v flelodcu proizvaja samo Helicobacter pylori. V flelod ni flori so zelo redko na-li druge bakterije, ki proizvajajo ureazo.

V odsotnosti bakterijske ureaze se vsa koli ina zauffite se nine po absorpciji iz prebavil presnovi enako kot endogena se nina. Amoniak, ki nastane z bakterijsko hidrolizo (kot je opisano zgoraj), se vklju i v presnovo v obliki NH₄⁺.

- **Farmakokineti ne lastnosti**

Zauffita ¹³C-se nina se presnovi v ogljikov dioksid in amoniak ali se vklju i v cikel se nine v telesu. Pove anje koli ine ¹³CO₂ merimo z izotopno analizo.

Absorpcija in porazdelitev ¹³CO₂ sta hitrej-i od reakcije ureaze. Torej je razkroj ¹³C-se nine z bakterijsko ureazo tista stopnja, ki omejuje hitrost celotnega postopka.

Samo pri bolnikih, ki so okuženi s *Helicobacter pylori*, 75 mg označene sevine povzroči znatno povečanje $^{13}\text{CO}_2$ v izdihanem zraku v prvih 30 minutah po zaužitju.

- **Odvzem vzorcev zraka**

Med testom mora preiskovanec mirovati, ne sme jesti, ne kaditi. Pije lahko le negazirano vodo. Postopek testiranja traja približno 40 minut.

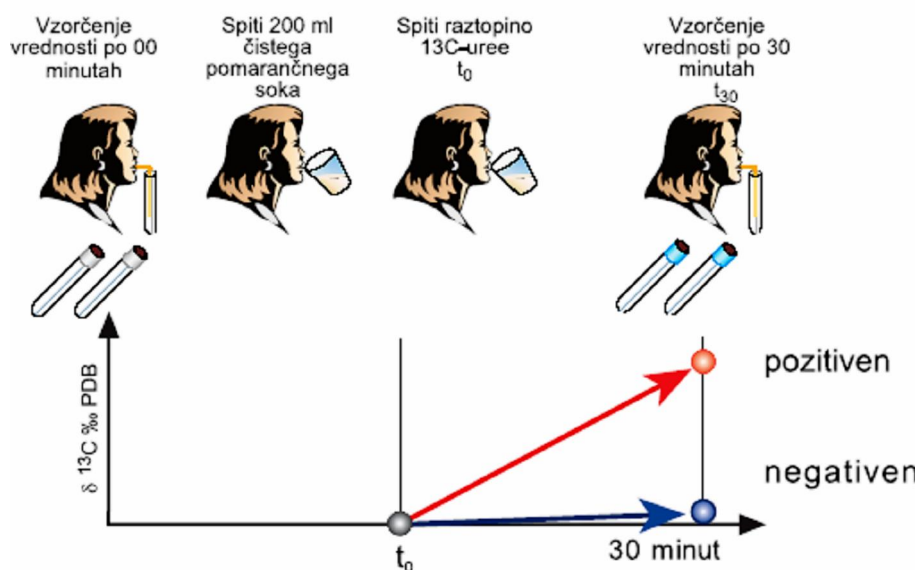
1. Zbiranje vzorca zraka v belo epruveto za določitev začetne vrednosti (čas 0) ó pacient rahlo vpahuje preko plastične cevke v epruveto z napisom » čas vzorčenja: 00-minutna vrednost«, dokler se notranja površina epruvete ne zarosi. Izvlečemo slamico in epruveto takoj zapremo s priloženim zamažkom. Označimo jo s serijsko kodo.

2. Pacient popije 200 ml 100 % pomarančnega soka ali 1 g citronske kisline v 200 ml vode, da upočasni praznjenje želodca, nato pa sledi priprava raztopine s sevevinno ^{13}C : plastenko z napisom » ^{13}C -sevevina prašek« odpremo in jo do $\frac{3}{4}$ napolnimo z navadno vodo. Zapremo in stresamo, da se prašek raztopi, nato pa vsebino prelijemo v kozarec in plastenko splahnemo, tako da je celotna količina vode približno 30 ml. Raztopino mora bolnik popiti takoj.

3. 30 minut po zaužitju testne raztopine ponovno zberemo vzorec zraka v epruveto z oznako » čas vzorčenja: 30-minutna vrednost« in jo označimo s serijsko kodo.

4. Epruvete v originalni ovojnini pošljemo v usposobljen laboratorij, kjer jih bodo analizirali.

Helicobacter test INFAI® - postopek testiranja



Slika 11: Postopek testiranja s testom Helicobacter INFAI

- **Analiza vzorcev**

Vzorci izdihanega zraka, zbrane v 10 ml steklenih ali plasti nih epruvetah, analiziramo s spektrometri no metodo dolo anja razmerja mase izotopov (IRMS).

Analiza razmerja med ^{13}C in ^{12}C v izdihanem ogljikovem dioksidu je sestavni del diagnostičnega postopka testa Helicobacter INFAI. Natančnost testa je močno odvisna od kakovosti analize izdihanega zraka.

Podroben opis parametrov analize zraka o linearnost, stabilnost (natančnost referenčnega plina), ter natančnost meritev o sta bistvena pogoja za točnost testnih rezultatov.

ÉPriprava vzorcev za IRMS

Za določitev razmerja med ^{13}C in ^{12}C v izdihanem ogljikovem dioksidu z masno spektrometri no analizo, moramo ogljikov dioksid ločiti od zraka in ga vnesti v masni spektrometer. Avtomatski sistem priprave vzorcev za masne spektrometre, namenjen analizi izdihanega zraka, je osnovan na plinsko-kromatografski tehniki ločevanja z neprekinjenim pretokom.

Vodo odstranimo iz vzorca z vodno zaporo z nafionom ali s plinsko-kromatografskim sistemom, ki loči posamezne pline v plinsko-kromatografski koloni s helijem kot

eluentom. Z ionizacijskim detektorjem določimo vrste posameznih plinov, ko ti prehajajo skozi kolono. V masni spektrometer vnesemo frakcijo ogljikovega dioksida, ki jo določimo z znanim retencijskim časom.

É Masno spektrometrična analiza

Za analizo enega ogljikovega dioksida se morajo njegove molekule ionizirati in oblikovati v flarke. Molekule se nato pospešijo v električnem polju, odklonijo v magnetnem polju in na koncu detektirajo. Teh pet procesov poteka v analizatorju masnega spektrometra, ki je sestavljen iz treh ločenih delov: vira, cevi in detektorja. Ionizacija, tvorba flarka in pospešek potekajo v viru, magnetni odklon poteka v cevi in detekcija v kolektorju.

- **Rezultat**

Mejna točka za razločevanje na *Helicobacter pylori* negativne in pozitivne bolnike je določena kot Δ - vrednost 4. To pomeni, da povečanje Δ -vrednosti za več kot 4 pomeni okužbo.

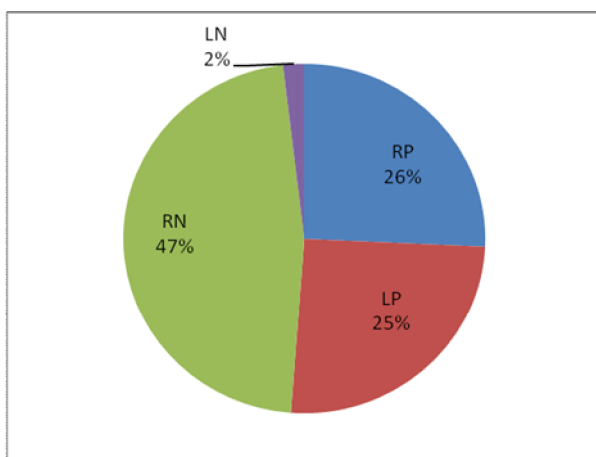
4 REZULTATI

4.1 Gastroskopija

Podatke o makroskopski oceni videza fletod ne sluznice smo pridobili v 424 primerih, med katerimi je bilo 217 (51,2 %) primerov nodularnega gastritisa. Rezultate smo primerjali z izvidi patohistološke preiskave vzorca fletod ne sluznice. Na podlagi tega smo izračunali njeno občutljivost, specifičnost, pozitivno in negativno napovedno vrednost ter natančnost.

Tabela II: Rezultati gastroskopije glede na histološki pregled sluznice

rezultat gastroskopije	število
resnično pozitiven (RP)	109
lažno pozitiven (LP)	108
resnično negativen (RN)	199
lažno negativen (LN)	8
skupaj	424



Slika 12: Rezultati gastroskopije glede na histološki pregled sluznice

Na podlagi teh rezultatov smo izra unali, da je ob utljivost makroskopske ocene videza felod ne sluznice 93,16 %, njena specifi nost pa 64,82 %. Pozitivna napovedna vrednost je 50,23 %, negativna napovedna vrednost 96,1 % in natan nost 72,6 %.

Tabela III: Diagnosti na vrednost gastroskopije

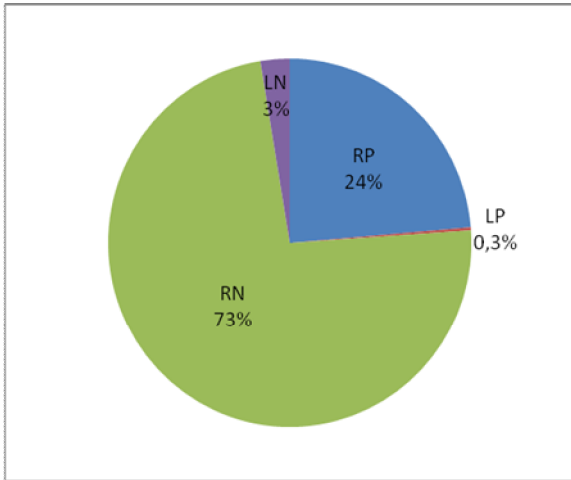
parameter	vrednost
občutljivost	93,16%
specifičnost	64,82%
poz. nap. vredn.	50,23%
neg. nap. vredn.	96,14%
natančnost	72,64%

4.2 Hitri ureazni test

Podatke o HUT smo pridobili pri 385 primerih, od tega je bilo 92 (23,9 %) pozitivnih. HUT se tako kot patohistolo-ka preiskava vzorca sluznice pri ve ini gastroskopij opravi rutinsko. S primerjavo rezultatov HUT s patohistolo-ko preiskavo vzorca sluznice smo pri-li so naslednjih rezultatov:

Tabela IV: Rezultati hitrega ureaznega testa glede na histolo-ki pregled sluznice

rezultat HUT	število
resnično pozitivni (RP)	91
lažno pozitivni (LP)	1
resnično negativni (RN)	283
lažno negativni (LN)	10
skupaj	385



Slika 13: Rezultati hitrega ureaznega testa glede na histološki pregled sluznice

Na podlagi tega smo izračunali, da je občutljivost hitrega ureaznega testa 90,1 % in njegova specifičnost 99,65 %. Pozitivna napovedna vrednost HUT je 98,91 %, negativna napovedna vrednost 96,59 % ter natančnost 97,14 %.

Tabela V: Diagnostična vrednost hitrega ureaznega testa

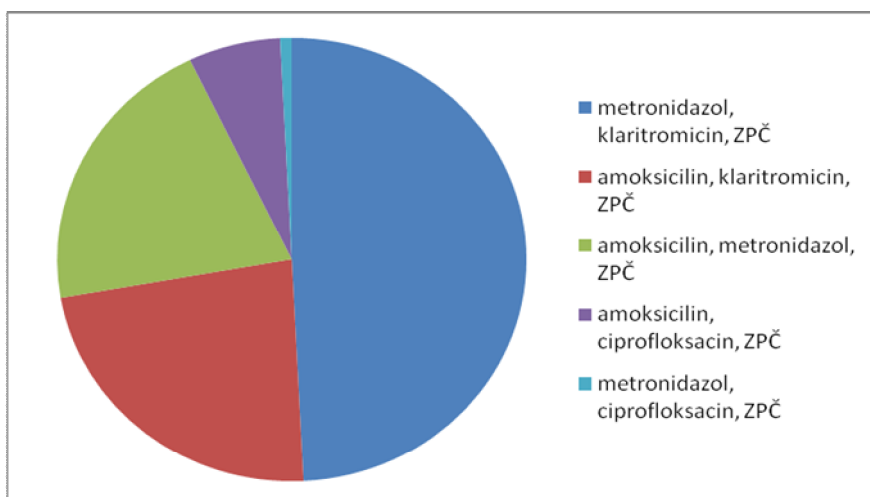
parameter	vrednost
občutljivost	90,10%
specifičnost	99,65%
poz. nap. vredn.	98,91%
neg. nap. vredn.	96,59%
natančnost	97,14%

4.3 Sheme zdravljenja

Okužbo s *H. pylori* so v pretečnem obdobju zdravili pri 126 bolnikih. Ugotovili smo, da se najbolj številno predpisuje terapija z metronidazolom in klaritromicinom (49,2 %). Tejsledita kombinacija amoksisilin-klaritromicin (23,0 %) in amoksisilin-metronidazol (20,6 %). Amoksisilin in ciprofloksacin sta bila predpisana v 6,3 %, metronidazol in ciprofloksacin pa le 1 bolniku.

Tabela VI: Sheme zdravljenja po deflekih

SHEMA ZDRAVLJENJA	ŠTEVILO	DELEŽ [%]
metronidazol, klaritromicin, ZPČ	62	49,21
amoksisilin, klaritromicin, ZPČ	29	23,02
amoksisilin, metronidazol, ZPČ	26	20,63
amoksisilin, ciprofloksacin, ZPČ	8	6,35
metronidazol, ciprofloksacin, ZPČ	1	0,79
skupaj	126	100,00



Slika 14: Sheme zdravljenja po deflekih

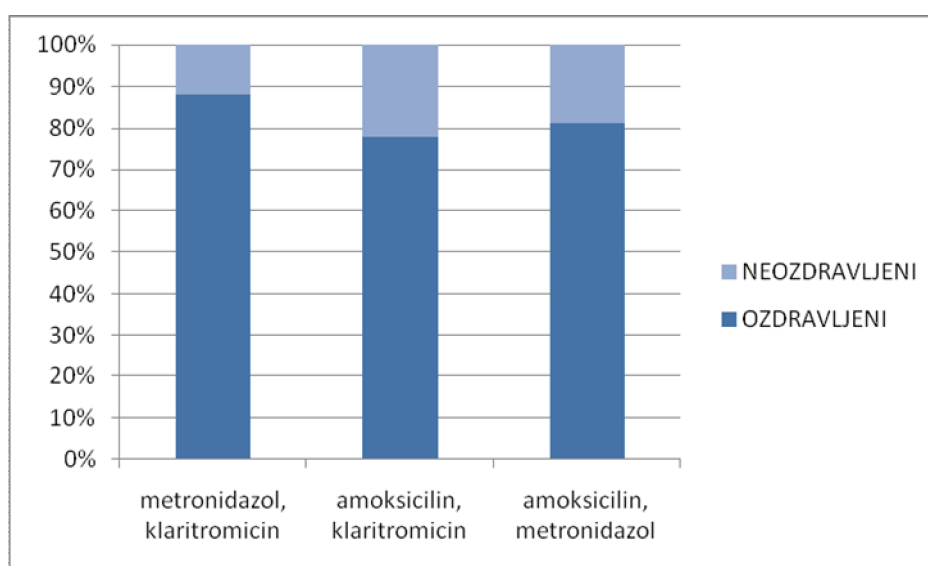
4.4 Kontrola uspešnosti zdravljenja z dihalnim testom

Pri ugotavljanju uspešnosti zdravljenja smo imeli na voljo podatke o dihalnem testu s se nino pri 66 pacientih. Rezultat je bil pozitiven v 15 primerih in v 51 primerih negativen. Uspešnost zdravljenja okuflbe s *H. pylori* ne glede na predpisano shemo zdravljenja je zna-ala 77,3 %.

Uspešnost zdravljenja je najvi-ja pri kombinaciji metronidazola in klaritromicina, in sicer 88,0 %. Po uspešnosti ji sledita kombinaciji amoksisilin-metronidazol (81,25 %) in amoksisilin-klaritromicin, kjer je uspešnost 77,78 %. Najnižjo uspešnost zdravljenja smo ugotovili pri antibiotikih amoksisilinu in ciprofloksacinu, kjer je zna-ala le 28,57 %.

Tabela VII: Uspešnost zdravljenja po shemah

SHEMA ZDRAVLJENJA	USPEŠNO OZDRAVLJENI	NEUSPEŠNO OZDRAVLJENI	SKUPAJ	USPEŠNOST [%]
metronidazol, klaritromicin, ZPČ	22	3	25	88,00
amoksisilin, klaritromicin, ZPČ	14	4	18	77,78
amoksisilin, metronidazol, ZPČ	13	3	16	81,25
amoksisilin, ciprofloksacin, ZPČ	2	5	7	28,57



Slika 15: Razlike v uspešnosti zdravljenja osnovnih terapevtskih shem

S testom hi-kvadrat smo preverili, ali so med tremi osnovnimi terapevtskimi shemami razlike v njihovi uspešnosti. Izračunano vrednost primerjamo s tabelarno vrednostjo pri $P=0,05$ in $n=2$ (upoštevanje 5 % tveganje in dve stopnji prostosti), ki znaša 5,991.

$$\chi^2 = 0,94 \text{ (izračunana vrednost)}$$

Ker je izračunana vrednost manjša od tabelarne, to pomeni, da med proučevanimi shemami zdravljenja ni statistično pomembnih razlik v uspešnosti zdravljenja okužbe.

5 RAZPRAVA

Osnovni cilj naše raziskave je bil ovrednotiti diagnostično vrednost makroskopske ocene videza flegodne sluznice in hitrega ureaznega testa pri odkrivanju okužbe s *H. pylori* pri otrocih. Preverili smo tudi uspešnost zdravljenja okužbe glede na različne sheme zdravljenja in iskali morebitne razlike v uspešnosti med njimi. S tem namenom smo zbrali rezultate gastroskopij, HUT in dihalnega testa s sešino, opravljenih v letih 2006 do 2008. Naš vzorec je tako obsegal 383 oseb, ki so imele skupaj opravljenih 461 gastroskopij. To so otroci in mladostniki v starosti od 1 do 19 let (povprečna starost 12,75 let), ki so imeli gastroskopijo opravljeno ambulantno na gastroenterološkem oddelku Pediatrične klinike v Ljubljani ali so bili tam hospitalizirani. Izvzeti so bili preiskovanci, pri katerih ni bilo dostopnega histološkega izvida, saj je na njem temeljila odločitev, ali je bolnik dejansko okužen. Za vrednotenje vsakega parametra smo znotraj vzorca izbrali bolnike, pri katerih so bili potrebni podatki na voljo.

Vlogo in uporabno vrednost posameznega diagnostičnega testa bolj natančno opredelimo s pojmom občutljivost in specifičnost. Na naši skupini bolnikov smo ugotovili, da je občutljivost gastroskopskega pregleda sluznice 93,2 %. To pomeni, da se pri bolnikih, okuženih s *H. pylori* skoraj zagotovo kaže nodularni gastritis. Redki so primeri, ko je flegodna sluznica normalna. Vendar pa traja zelo dolgo časa, da se izgled sluznice povrne v normalno stanje, kar se kaže v nizki specifičnosti metode, ki znaša 64,8 %. Razmeroma nizka vrednost pomeni, da z njo dobimo veliko lažno pozitivnih rezultatov. Taka metoda je primerna kot presejalna metoda, kjer želimo zgodnjo detekcijo bolezni. Nikakor pa z njo ne moremo kontrolirati uspešnosti zdravljenja. Zdravljenje velikega števila lažno pozitivnih bolnikov bi samo povečalo v zadnjem času naraščajoče probleme z bakterijsko odpornostjo na antibiotike. Pozitivna napovedna vrednost gastroskopskega pregleda flegodne sluznice je 50,23 %, negativna napovedna vrednost 96,1 % in natančnost 72,6 %. Drugi avtorji poročajo o različni pojavnosti nodularnega gastritisa pri okuženih s *H. pylori* med 30 in 100 % (43). Nekateri raziskovalci podobno kot mi ugotavljajo, da je nodularnost flegodne sluznice slab pokazatelj okužbe s *H. pylori* (38, 44).

Veliko boljše rezultate je pokazal hitri ureazni test. Njegova občutljivost znaša 90,1 %, specifičnost pa 99,6 %. Pozitivna napovedna vrednost je 98,1 %, negativna napovedna

vrednost 96,6 % in natančnost 97,1 %. Na vzorcu 385 primerov je dal le 1 lažno pozitiven rezultat in 10 lažno negativnih. Rezultati so posledica dejstva, da ureazo v želodcu proizvaja samo *Helicobacter pylori*. V želodni flori so zelo redko našli druge bakterije, ki bi jo proizvajale. Zaključimo lahko, da je pozitiven HUT zadosten za potrditev okužbe s *H. pylori*. Tudi v drugih raziskavah so hitri ureazni test opredelili kot 100 % specifičen in zelo visoko občutljivega ter 98 % zanesljivega (24). Znana je nižja občutljivost HUT pri bolnikih s krvavitvijo, saj lahko v teh primerih natančnost določanja *H. pylori* pade skoraj za 20%. V teh primerih je zato bolje uporabiti druge invazivne in neinvazivne teste.

Naši rezultati so boljše, kot jih navaja proizvajalec uporabljenega testa. V literaturi najdemo podatke o 86 do 98 % občutljivosti HUT in skoraj 100 % specifičnosti. Velika slabost HUT je ta, da gre za invazivno metodo, saj je za odvzem vzorca sluznice nujna gastrokopija.

Okužbo s *H. pylori* so v prejšnjem obdobju zdravili pri 126 bolnikih. Najbolj številno se predpisuje terapija z metronidazolom in klaritromicinom (49,2 %). Tej sledita kombinacija amoksicilin klaritromicin (23,0 %) in amoksicilin metronidazol (20,6 %). Amoksicilin in ciprofloksacin sta bila predpisana v 6,3 %, metronidazol in ciprofloksacin pa le 1 bolniku. Protokol zdravljenja je sledeč: najprej kot prva terapija predpišemo amoksicilin v kombinaciji s klaritromicinom ali metronidazolom. Če je ta terapija neuspešna, se zamenja eden izmed antibiotikov, v primeru ponovnega neuspeha pa se bolnika zdravi glede na antibiogram. Obstajajo primeri, kjer je zdravljenje uspešno, ko se v terapijo vključi bizmutov subcitrat/salicilat. Vsaka shema zdravljenja se predpiše za 14 dni, naslednje 4 tedne pa bolnik jemlje zaviralce protonske pmpalke.

Pri ugotavljanju uspešnosti zdravljenja smo imeli na voljo podatke o dihalnem testu s se nino pri 66 pacientih. Uspešnost zdravljenja okužbe, ne glede na predpisano shemo zdravljenja, je znašala 77,3 %. Pri tem velja omeniti, da je bila kontrola z dihalnim testom večkrat opravljena pri istih pacientih, ki so bili okuženi z rezistentnimi sevi *H. pylori* in je bilo več različnih terapij neuspešnih. Bolniki, pri katerih je zdravljenje uspešno odstranilo bakterijo in s tem tudi izboljšalo simptome, se največkrat ne vrnejo na kontrolo. Po posameznih shemah zdravljenja smo pridobili naslednje rezultate o njihovi uspešnosti:

Metronidazol, klaritromicin in ZP 88,0 %

Amoksicilin, klaritromicin in ZP 77,8 %

Amoksicilin, metronidazol in ZP 81,3 %

Amoksicilin, ciprofloksacin in ZP 28,6 %

Antibiotik ciprofloksacin je bil predpisan le 7 bolnikom, med njimi je bilo 5 okuženih z rezistentnimi sevi, zato je bilo zdravljenje neuspešno. Zaradi nereprezentativnega vzorca sheme zdravljenja s ciprofloksacinom nismo upotevali pri hi-kvadrat testu. Omenjeni test je pokazal, da med preostalimi tremi shemami ni statistično značilnih razlik v uspešnosti zdravljenja okužbe s *H. pylori*. Do podobnih zaključkov so prišli raziskovalci pri proučevanju uspešnosti zdravljenja okužbe pri japonskih otrocih. Pri terapevtski shemi amoksicilin, klaritromicin in ZP navajajo 77 % uspešnost zdravljenja, pri shemi amoksicilin, metronidazol, ZP pa 87 % (38). Drugi viri poročajo o 54-92 % uspešnosti terapevtske sheme amoksicilin, klaritromicin, ZP ter o 73-87 % uspešnosti pri terapiji z amoksicilinom in metronidazolom. Med tremi osnovnimi shemami je najučinkovitejša kombinacija metronidazola in klaritromicina skupaj z ZP, kjer navajajo 87,5-95 % uspešnost (37). Tudi v naši raziskavi smo ugotovili najvišjo uspešnost zdravljenja okužbe s *H. pylori* pri zadnji navedeni shemi. Podatki o uspešnosti posameznih shem zdravljenja korelirajo z rezultati proučevanja odpornosti *H. pylori* na antibiotike. Odpornost bakterije na metronidazol in klaritromicin se po delih sveta razlikuje, enotno pa poročajo o nišnih oz. zelo nizki rezistenci na amoksicilin. Japonski raziskovalci navajajo 12,5 % odpornost na metronidazol in približno 35 % odpornost na klaritromicin. Obratno kažejo rezultati raziskav v Evropi in Ameriki, da je odpornost na klaritromicin 12-24 % in 20-40 % na metronidazol (45, 46). Na voljo so tudi podatki o odpornosti *H. pylori* na antibiotike v Sloveniji. Odpornosti na amoksicilin niso ugotovili, tudi odpornosti na klaritromicin in metronidazol je relativno nizka, in sicer 3,7 % in 18,5 % (36).

Trotirna terapija je v svetu najbolj priporočena in potrjena učinkovita (34, 35, 37, 38). Pri tako kompleksni terapiji je pomembna komplanca bolnika. Jemanje zdravil enkrat dnevno ali zdravljenje brez zaviralca protonske pmpalke zmanjša uspešnost zdravljenja (46).

Zaradi neinvazivnosti ter visoke občutljivosti in specifičnosti je dihalni test s sebinino zelo priporočljiv za kontrolo zdravljenja okužbe. Izvedba testa je enostavna, pihanje v epruveto je lahko problematično le pri najmlajših. Nekateri raziskovalci priporočajo, da se mejna vrednost za potrditev okužbe pri mlajših od 6 let poveča na 7 \ddot{Y} , saj je v nasprotnem primeru lahko veliko rezultatov lažno pozitivnih (46). Zaradi večje reprezentativnosti

rezultatov o uspešnosti zdravljenja okužbe s *H. pylori* bi bilo potrebno dihalni test s se nino izvajati rutinsko pri vseh bolnikih, ki so se zdravili zaradi okužbe s *H. pylori*.

Iz rezultatov vidimo, da vse sheme zdravljenja dosegajo podobne rezultate. V praksi predpisovanje sheme, ki ne dosega 80 % uspešnosti zdravljenja, ni zadovoljiva.

6 SKLEP

Cilj naše raziskave je bil, ugotoviti diagnostično uporabnost makroskopske ocene izgleda flek na sluznici ter hitrega biopsijskega ureaznega testa pri otrocih. S tem namenom smo zbrali 383 otrok in mladostnikov, ki so imeli omenjene preiskave opravljene med leti 2006 in 2008. Izračunali smo njihovo občutljivost, specifičnost, pozitivno in negativno napovedno vrednost ter natančnost. Pregledali smo, katere sheme zdravljenja se predpisujejo za zdravljenje okužbe ter kakšna je njihova uspešnost.

Ugotovili smo:

1. Ob občutljivost gastrokopskega pregleda flek na sluznici je 93,2 %. Njegova specifičnost je nizka in znaša 64,8 %. Pozitivna napovedna vrednost gastrokopskega pregleda flek na sluznici je 50,23 %, negativna napovedna vrednost 96,1 % in natančnost 72,6 %. Sklepamo lahko, da nodularnost flek na sluznici ni zanesljiv pokazatelj okužbe s *H. pylori*. Vendar pa ostaja gastrokopija nenadomestljiva zaradi možnosti jemanja vzorcev sluznice in opazovanja makroskopskih sprememb.
2. Ob občutljivost hitrega biopsijskega ureaznega testa znaša 90,1 %, specifičnost pa 99,6 %. Njegova pozitivna napovedna vrednost je 98,1 %, negativna napovedna vrednost 96,6 % in natančnost 97,1 %. Ima dobro diagnostično uporabnost in bi lahko bil edini uporabljen test pri ugotavljanju okužbe s *H. pylori*.
3. Najbolj pogosto se predpisuje terapija z metronidazolom in klaritromicinom (49,2 %), sledita kombinacija amoksisicilin-klaritromicin in amoksisicilin-metronidazol. Zelo redko je predpisan ciprofloksacin ali kateri drugi antibiotik.
4. Uspešnost zdravljenja okužbe s *H. pylori* v proučevani populaciji, ne glede na predpisano shemo zdravljenja, znaša 77,3 %. Med različnimi shemami zdravljenja ni statistično značilnih razlik v njihovi uspešnosti.

7 LITERATURA

1. Kobe V, Dekleva A, Lenart I F, Trca A, Velep M: Anatomija 4. del, Medicinska fakulteta, Ljubljana, 1988: 33-6
2. Bresjanac M in sod.: Izbrana poglavja iz patološke fiziologije, 9. izdaja, Ljubljana, 2001: 171-8
3. Skok P, Kriflman I, Skok M: Krvave a pepti na razjeda, nesteroidna protivnetna zdravila in okuflba s *Helicobacter pylori* ó preospektivna, kontrolirana, randomizirana raziskava. Zdrav vestn 2002; 71: 357-62
4. Gubina M, Ihan A: Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo, Medicinski razgledi, Ljubljana, 2002: 221-4
5. Greenwood D, Slack R, Peutherer J: Medical microbiology: a guide to microbial infections: pathogenesis, immunity, laboratory diagnosis and control, 16. izdaja, Churchill Livingstone, Edinburgh, 2003: 288-95
6. Tombola F, Carlesso C, Szabò I, de Bernard M in sod.: H. pylori vacuolating toxin forms anion-selective channels in planar lipid bilayers. Biophys J. 1999; 76(3): 1401ó 1409
7. de Bernard M, Papini E, de Filippis V, Gottardi E in sod.: Low pH activates the vacuolating toxin of H. pylori of H. pylori, which become acid and pepsin resistant. J Biol Chem. 1995; 270(41):23937-40
8. Peek R M: Helicobacter pylori infection and disease: from humans to animal models. Dis Model Mech 2008; 1: 50ó5
9. Amedei A, Cappon A, Codolo G, Cabrelle A in sod.: The neutrophil-activating protein of Helicobacter pylori promotes Th1 immune responses. J Clin Invest. 2006; 116(4): 1092ó1101
10. Maier R J: Use of molecular hydrogen as an energy substrate by human pathogenic bacteria. Biochem Soc Trans. 2005; 33:83-5
11. Morris Brown L: Helicobacter pylori: Epidemiology and routes of transmission. Epidemiologic Reviews 2000; 22: 283-297

12. Gubina M, Tepe– B, Vidmar G, Ihan A in sod.: Prevalenca protiteles proti bakteriji *Helicobacter pylori* v Sloveniji v letu 2005. Zdrav vestn 2006; 75: 169-73
13. Gubina M, Newell DG, Hawtin PR, fiupanc-Av-i T, Kriflman I. *Helicobacter pylori* IgG antibodies in an asymptomatic Slovenian population. Zdrav Vestn 1991; 60: 449-52
14. Tepe– B: Diagnostika okuflbe z bakterijo *Helicobacter pylori*. Farm vestn 1998; 49: 353-361
15. Tepe– B: Predlog priporo il za zdravljenje bolnikov z dispepsijo v Sloveniji. Zdrav vestn 2006; 75: 297-302
16. Kocijan i A, Mrevlje F, TMajer D: Interna medicina, 3. izdaja, Littera Picta, Ljubljana, 2005: 8-12, 444-51, 478-83
17. Skok P, Kriflman I, Skok M: Refluksna bolezen pofliralnika, pepti na razjeda in okuflba s *Helicobacter pylori* ó preospektivna, kontrolirana raziskava. Zdrav vestn 2003; 72: 71-7
18. Tepe–B: Gastroezofagealna refluksna bolezen. Med razgl 2004; 43: 2616277
19. Magalhães Queiroz D M, Rocha G A, de Oliveira C A in sod.: Role of corpus gastritis and *cagA*-Positive *Helicobacter pylori* infection in reflux esophagitis; J Clin Microbiol. 2002; 40: 284962853
20. Fischbach W: Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. A challenge for endoscopy. Gastrointestinal endoscopy 2008; 68: 632-4
21. Smernice za obravnavo bolnikov z malignimi limfomi; www.onko-i.si/uploads/pdf/doc/Doktrina_limfomi_2008.pdf
22. Montalban C, Santon A, Boixeda D, Redondo C in sod.: Treatment of low grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma in stage I with *Helicobacter pylori* eradication. Long-term results after sequential histologic and molecular follow-up. Haematologica 2001; 86: 609-617
23. Osredkar J: Dihalni test s se nino ó njegovo mesto v diagnostiki. Zdrav vestn 2004; 73: 13-7

24. Tepe–B: Primerjava dveh ureaznih biopti nih testov za dokaz okuflbe s *Helicobacter pylori* pred antimikrobnim zdravljenjem in po njem. Zdrav vestn 2003; 72: 50365
25. Yatrox® -H.p.-Test, user information
26. Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon M F: Histological identiŁcation of *Helicobacter pylori*: comparison of staining methods. J Clin Pathol 2000; 53: 75669
27. Lage A P, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A in sod.: Diagnosis of helicobacter pylori infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. J Clin Microbiol 1995; 33: 275262756
28. Osredkar J: Diagnosti ne metode za odkrivanje infekcije s *Helicobacter pylori*. Farm vestn 1998; 49: 363-9
29. Kulo lu Z, Kansu A in sod.: A rapid lateral flow stool antigen immunoassay and 14C-urea breath test for the diagnosis and eradication of *Helicobacter pylori* infection in children. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2008; 62: 351-6
30. Koletzko S, Konstantopoulos N, Bosman D, Feydt-Schmidt A in sod.: Evaluation of a novel monoclonal enzyme immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool from children. Gut. 2003; 52: 8046806
31. Krausse R, Müller G, Doniec M: Evaluation of a rapid new stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult patients. J Clin Microbiol 2008; 46: 2062-65
32. Meridian Bioscience; www.mdeur.com/hpsa-doctor.htm
33. Prvi slovenski simpozij o bakteriji *Helicobacter pylori*, zbornik predavanj, Ljubljana, 1998
34. Fuccio L, Laterza L, Zagari R M, Cennamo V, Grilli D, Bazzoli F: Treatment of *Helicobacter pylori* infection. BMJ 2008; 337: 746-50
35. Ables A Z, Simon I, Melton E R: Update on *Helicobacter pylori* treatment. Am Fam Physician 2007; 75: 351-8
36. Tepe–B, Gubina M: Razlogi za neuspeh antimikrobnega zdravljenja okuflbe z bakterijo *Helicobacter pylori* in na–e terapevtske moflnosti. Zdrav vestn 2004; 73: 50366

37. Chelimsky G, Blanchard S S, Czinn S J: Helicobacter pylori in children and adolescents. Adolescent Medicine Clinics 2004; 15
38. Vandenplas Y: The role of Helicobacter pylori in paediatrics. Curr Opin Infect Dis 2001; 14:315-21
39. Premik M: Vrednotenje presejalnih programov; animus.mf.uni-lj.si/~socmed/C14.doc
40. Navodila in pojasnila bolnikom pred endoskopsko preiskavo. Dostopno na http://213.172.226.70/kc/admin/dokumenti/00000116-0000007f-interna_endoskopija.pdf
41. Helicobacter pylori Quick Test, BIOHIT OYJ (Finska), instructions for use
42. Test Helicobacter INFAI, povzetek glavnih zna ilnosti zdravila; www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/Helicobacter/H-140-PI-sl.pdf
43. Koh H, Noh T-W, Baek S-Y, Chung K-S: Nodular gastritis and pathologic findings in children and young adults with Helicobacter pylori infection. Yonsei Med J. 2007; 48: 2406246
44. Amini-Ranjbar S, Nakhaee N: Diagnostic utility of nodular gastritis in children with chronic abdominal pain undergoing endoscopy. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 2008; 3: 494-6
45. Megraud F: H. pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut 2004; 53: 1374-84
46. Elitsur Y, Yahav J: Helicobacter pylori infection in pediatrics. Helicobacter 2005; 10:47-53