

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

GREGA KONDA

**OCENJEVANJE DIAGNOSTIČNE UPORABNOSTI DOKAZOVANJA PRIKRITE
KRVAVITVE V BLATU S KVANTITATIVNO IMUNOKEMIJSKO METODO**

**EVALUATION OF DIAGNOSTIC USABILITY OF DETERMINING FECAL
OCCULT BLOOD WITH QUANTITATIVE IMMUNOCHEMICAL METHOD**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom prof. dr. Janje Marc, mag. farm., spec. med. biokem. in somentorstvom mag. Štefke Krivec, mag. farm., spec. med. biokem..

Praktični del diplomske naloge sem v celoti opravil na Oddelku za laboratorijsko medicino v Splošni bolnišnici Celje.

Zahvala

Zahvaljujem se prof. dr. Janji Marc, mag. farm., spec. med. biokem., ki je uslišala moje želje in mi omogočila opravljati diplomsko nalogo pod njenim mentorstvom.

Posebej se zahvaljujem somentorici mag. Štefki Krivec, mag. farm., spec. med. biokem., ki me je skrbno vodila skozi praktični del diplomske naloge.

Velika zahvala gre tudi vsem zaposlenim na Oddelku za laboratorijsko medicino, ki so mi vedno priskočili na pomoč ter mi pomagali s svojimi bogatimi delovnimi izkušnjami.

Prav tako se zahvaljujem tudi predstojnici Oddelka za bolezni prebavil Renati Šibli, dr. med., spec. int. med., ter ostalim zaposlenim na oddelku, ki so mi pomagali pri zbiranju vzorcev in podatkov, potrebnih za interpretacijo rezultatov.

Hvala tudi mojim najbližjim, ki so mi ves čas stali ob strani in me podpirali.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom izr. prof. dr. Janje Marc, mag. farm., spec. med. biokem. in somentorstvom mag. Štefke Krivec, mag. farm., spec. med. biokem..

Ljubljana, april 2010

Grega Konda

Predsednik diplomske komisije: izr. prof. dr. Vojko Kmetec, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Janez Ilaš, mag. farm.

KAZALO

POVZETEK.....	III
ABSTRACT.....	IV
SEZNAM OKRAJŠAV.....	V
SEZNAM SLIK.....	VI
SEZNAM TABEL.....	VII
1. UVOD.....	1
1.1. KRI.....	1
1.2. ERITROCITI.....	1
1.2.1 HEMOGLOBIN.....	2
1.3. ŽELEZO.....	3
1.4 ANEMIJA.....	4
1.5. PREBAVILA.....	5
1.5.1. POŽIRALNIK.....	6
1.5.2. ŽELODEC.....	6
1.5.3. TANKO ČREVO.....	8
1.5.4. DEBELO ČREVO.....	9
1.6. DIAGNOSTIKA OBOLENJ PREBAVIL.....	13
1.6.1. ANAMNEZA IN KLINIČNI PREGLED.....	13
1.6.2. LABORATORIJSKE PREISKAVE KRVI, URINA IN BLATA.....	13
1.6.3. ENDOSKOPSKE PREISKAVE.....	15
1.6.4. ULTRAZVOČNE PREISKAVE (EHOSKOPIJA).....	16
1.6.5. KONTRASTNE RENTGENSKE PREISKAVE.....	17
1.6.6. RAČUNALNIŠKA TOMOGRAFIJA (CT).....	17
1.6.7. POZITRONSKA EMISIJSKA TOMOGRAFIJA (PET).....	17
1.6.8. SCINTIGRAFIJA.....	17
1.6.9. MAGNETNA REZONANCA (MR).....	17
1.6.10. HISTOLOŠKE PREISKAVE.....	18
1.7. KRVAVITVE IZ PREBAVIL.....	18
1.7.1. AKUTNE KRVAVITVE IZ ZGORNJEGA DELA PREBAVIL.....	18
1.7.2. AKUTNE KRVAVITVE IZ SPODNJEGA DELA PREBAVIL.....	19
1.7.3. KRONIČNE KRVAVITVE IZ PREBAVIL.....	20
1.7.4. DOKAZOVANJE PRIKRITE KRVAVITVE V BLATO.....	20
1.7.5. PRESEJANJE PREBIVALSTVA.....	21
2. NAMEN DELA.....	24
3. MATERIALI IN METODE.....	25
3.1. ZBIRANJE VZORCEV.....	25
3.2. ANALIZA VZORCEV.....	26
3.3. BARVNI KVALITATIVNI TEST.....	26
3.3.1. PRINCIP METODE.....	27
3.3.2. MATERIAL IN OPREMA.....	27
3.3.3. DELOVNI POSTOPEK.....	28

3.3.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV	28
3.3.5. OMEJITVE IN OPOZORILA.....	28
3.4. IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	29
3.4.1. PRINCIP METODE.....	29
3.4.2. MATERIAL IN OPREMA	30
3.4.3. DELOVNI POSTOPEK	31
3.4.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV	32
3.4.5. OMEJITVE IN OPOZORILA.....	32
3.5. IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	32
3.5.1. PRINCIP METODE.....	33
3.5.2. MATERIAL IN OPREMA	33
3.5.3. DELOVNI POSTOPEK	34
3.5.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV	36
3.5.5. OMEJITVE IN OPOZORILA.....	36
3.6. PRIDOBIVANJE REZULTATOV OSTALIH DIAGNOSTIČNIH PREISKAV	38
3.7. STATISTIČNE METODE	38
4. REZULTATI IN RAZPRAVA.....	39
4.1. OPIS PREISKOVANCEV	39
4.1.1. SPOL IN STAROST PREISKOVANCEV	39
4.2. REZULTATI LABORATORIJSKIH PREISKAV KRVÍ	39
4.2.1. SLABOKRVNI PREISKOVANCI	39
4.2.2. TUMORSKI OZNAČEVALCI.....	40
4.3. REZULTATI DOKAZOVANJA PRIKRITE KRVAVITVE V BLATO	41
4.3.1. DOLOČITEV MEJNE VREDNOSTI IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA	44
4.3.2. NATANČNOST IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA	47
4.3.3. UJEMANJE REZULTATOV TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB.....	49
4.4. PRIMERJAVA REZULTATOV TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB Z IZVIDI ENDOSKOPSKIH PREISKAV	52
4.4.1. ENDOSKOPSKÉ PREISKAVE, OPRÁVLJENE PRI PREISKOVANCIH	52
4.4.2. IZVIDI ENDOSKOPSKIH PREISKAV	53
4.4.3. VREDNOTENJE DIAGNOSTIČNE UPORABNOSTI TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB.....	56
4.5. PRIMERJAVA IZVIDOV HISTOLOŠKIH PREISKAV Z IZVIDI ENDOSKOPSKIH PREISKAV	60
5. SKLEP.....	62
6. LITERATURA	64
PRILOGA 1.....	68
PRILOGA 2.....	69
PRILOGA 3.....	70

POVZETEK

Obolenja prebavil predstavljajo velik del vseh obolenj v svetovni populaciji ter tako tudi v Sloveniji. V zadnjih letih strmo narašča število obolelih za rakom debelega črevesa in danke, ki je najpogostejše maligno obolenje prebavil ter drugi najpogostejši rak v Sloveniji. Veliko obolenj prebavil poteka brez značilnih znakov, zato se velikokrat odkrijejo naključno. Večina jih lahko povzroča prikrite krvavitve iz prebavil, posledično se razvije anemija. Dokazovanje prikrite krvavitve v blato se uporablja predvsem za presejanje za raka na debelem črevesu in danki. S presejanjem prebivalstva lahko tako pomembno zmanjšamo obolevanje in umrljivost. Za odkrivanje predrakavih sprememb in zgodnjih oblik raka na debelem črevesu in danki so poleg dokazovanja prikrite krvavitve v blato izrednega pomena tudi endoskopske in histološke preiskave.

V raziskavo smo vključili 83 simptomatskih preiskovancev. S tremi različnimi laboratorijskimi metodami (z barvnim kvalitativnim testom, imunokemijskim kvalitativnim testom ter imunokemijskim kvantitativnim testom) smo dokazovali prikrito krvavitev v blato.

Ugotovili smo, da je za diagnostiko adenomov in raka na debelem črevesu in danki najbolj učinkovit imunokemijski kvantitativni test. Z uporabo najbolj ugodne mejne vrednosti 55 ng/mL ima test tako najvišjo diagnostično specifičnost (92,3 %) ter pozitivno napovedno vrednost (77,8 %) ima tudi največjo površino pod ROC krivuljo (73,0 %). Ujemanje testov za dokazovanje prikrite krvavitve v blato med seboj je bilo slabo ($k = 0,39$ do $0,49$), prav tako smo s Kruskal-Wallis testom dokazali statistično značilne razlike med testi ($P = 0,004$). Ugotovili smo tudi, da s kombinacijo barvnega kvalitativnega testa s kvalitativnim in/ali kvantitativnim imunokemijskim testom ne moremo zanesljivo dokazati ali gre za krvavitve iz zgornjega ali spodnjega dela prebavil. Prav tako uporaba kombinacije barvnega kvalitativnega testa kot presejalnega testa in imunokemijskega kvalitativnega testa kot potrditvenega testa ni najbolj učinkovita, saj ima barvni kvalitativni test 20 % slabšo diagnostično občutljivost kot imunokemijski kvalitativni test. Med endoskopsko preiskavo je bilo pri 5 preiskovancih (6 % vseh preiskovancev) diagnosticirano maligno obolenje prebavil, vsa maligna obolenja so bila nato potrjena s histološko preiskavo.

ABSTRACT

Among the world population, gastrointestinal diseases represents a large part of all diseases, and so also in Slovenia. In recent years, the incidence of colorectal cancer is rising. It is the most frequent cancer of gastrointestinal tract and the second most frequent cancer in Slovenia. Many gastrointestinal diseases take place without the typical signs, and are often discovered accidentally. Most of them can cause occult bleeding in the gastrointestinal tract and, consequently, cause anemia. Determination of fecal occult blood is used primarily for screening for colorectal cancer. With screening of the population, we can reduce morbidity and mortality. In addition to fecal occult blood testing, endoscopy and histological investigation is also very important for the detection of precancerous polyps and colorectal cancer in an early stage of development.

We included 83 symptomatic examiners in the study. With three different laboratory methods (with color qualitative test, immunochemical qualitative test and immunochemical quantitative test) we have been determining fecal occult blood.

We found that the immunochemical quantitative test is the most effective for the diagnosis of polyps and colorectal cancer. With the use of the most favorable cut-off value of 55 ng/mL, the test has the highest diagnostic specificity (92,3 %) and positive predictive value (77,8 %), and also has the largest area under the ROC curve (73,0 %). The agreement of tests for determining fecal occult blood is poor ($k = 0,39$ to $0,49$), and also with the Kruskal-Wallis test we have proven, that there are statistically significant differences between tests ($P = 0,004$). We have also found that with a combination of color qualitative test and qualitative and/or quantitative immunochemical test we can not definitely determine whether the patient is bleeding from upper or lower part of gastrointestinal tract. Also the use of a combination of color quantitative test, used as a screening test, and immunochemical qualitative test, used as a confirmatory test, is not very efficient, since the color qualitative test has 20 % lower diagnostic sensitivity than immunochemical qualitative test. During endoscopy the malignant disease was diagnosed at 5 examiners (6 % of all examiners), all malignant diseases were subsequently confirmed histologically.

SEZNAM OKRAJŠAV

Hb	hemoglobin
HbO ₂	oksigenirani hemoglobin
MCV	povprečni volumen eritrocitov
MCH	povprečna količina Hb v eritrocitu
RDČD	rak debelega črevesa in danke
TO	tumorski označevalec
CEA	tumorski označevalec karcinoembrionalni antigen
CA 19-9	tumorski označevalec karbohidratni antigen 19-9
AFP	tumorski označevalec alfa-fetoprotein
CA 15-3	tumorski označevalec karbohidratni antigen 15-3
CA 72-4	tumorski označevalec karbohidratni antigen 72-4
CT	računalniška tomografija
PET	pozitronska emisijska tomografija
MR	magnetna resonanca
FOB	prikrita krvavitev v blato (angl. fecal occult blood)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
Ag	antigen
Pt	protitelo
NaN ₃	natrijev azid
BSA	goveji serumski albumin
LIS	laboratorijski informacijski sistem
BIRPIS	bolnišnični integrirani računalniško podprt informacijski sistem
ROC	receiver operating characteristic
AUC	površina pod ROC krivuljo
RP	resnično pozitiven
LP	lažno pozitiven
RN	resnično negativen
LN	lažno negativen

SEZNAM SLIK

SLIKA 1: SHEMA DELOVANJA PROGRAMA SVIT-----	23
SLIKA 2: TESTNI KOMPLET BARVNEGA KVALITATIVNEGA TESTA -----	27
SLIKA 3: PRINCIP IMUNOKEMIJSKEGA KVALITATIVNEGA TESTA -----	30
SLIKA 4: TESTNI KOMPLET IMUNOKEMIJSKEGA KVALITATIVNEGA TESTA -----	30
SLIKA 5: PRIPRAVA EKSTRAKTA VZORCA BLATA S POMOČJO TESTNE EPRUVETE -----	31
SLIKA 6: NEGATIVEN IN POZITIVEN REZULTAT IMUNOKEMIJSKEGA KVALITATIVNEGA TESTA-----	32
SLIKA 7: TESTNI KOMPLET IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA -----	33
SLIKA 8: ROC KRIVULJA ZA DOLOČITEV MEJNE VREDNOSTI IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA -----	44
SLIKA 9: ROC KRIVULJE VSEH TREH TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB -----	59

SEZNAM TABEL

TABELA I: REFERENČNE VREDNOSTI ZA ŠTEVILČNO KONCENTRACIJO ERITROCITOV V KRV	1
TABELA II: VRSTE NORMALNIH HB	2
TABELA III: REFERENČNE VREDNOSTI ZA KONCENTRACIJO HEMOGLOBINA V KRV	2
TABELA IV: REFERENČNE VREDNOSTI ZA KONCENTRACIJO ŽELEZA V SERUMU	4
TABELA V: RAZDELITEV ANEMIJ	4
TABELA VI: REFERENČNE VREDNOSTI ZA KONCENTRACIJE TUMORSKIH OZNAČEVALCEV V SERUMU	15
TABELA VII: SHEMA ZA PRIPRAVO DELOVNIH KALIBRATORJEV	34
TABELA VIII: DOVOLJENO ODPSTOPANJE KONTROLNEGA MATERIALA ZA IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	35
TABELA IX: MOŽNE INTERFERENCE PRI IMUNOKEMIJSKEM KVANTITATIVNEM TESTU	37
TABELA X: ŠTEVILO PREISKOVANCEV Z NORMALNIMI IN ZNIŽANIMI VREDNOSTMI KONCENTRACIJE HB TER ŠTEVILČNE KONCENTRACIJE ERITROCITOV V KRV	39
TABELA XI: PREISKOVANCI Z ZVIŠANO KONCENTRACIJO VSAJ ENEGA TUMORSKEGA OZNAČEVALCA	40
TABELA XII: ANALITIČNA OBČUTLJIVOST TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB	42
TABELA XIII: RAZVRSTITEV PREISKOVANCEV V SKUPINE GLEDE NA REZULTATE DOKAZOVANJA FOB	43
TABELA XIV: ŠTEVILO TER DELEŽ PREISKOVANCEV V POSAMEZNI SKUPINI	43
TABELA XV: DIAGNOSTIČNE OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI GLEDE NA POSAMEZNO MEJNO VREDNOST IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA	45
TABELA XVI: DIAGNOSTIČNE OBČUTLJIVOSTI IN SPECIFIČNOSTI GLEDE NA POSAMEZNO MEJNO VREDNOST IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA	46
TABELA XVII: PREISKOVANCI, PRI KATERIH JE BILA KONC. HB V BLATU IZMERJENA Z IMUNOKEMIJSKIM KVANTITATIVNIM TESTOM MED 50 IN 100 NG/ML	46
TABELA XVIII: PONOVLJIVOST MED SERIJAMI, ANALIZIRAN KONTROLNI VZOREC FOB GOLD CONTROL 1	47
TABELA XIX: PONOVLJIVOST MED SERIJAMI, ANALIZIRAN KONTROLNI VZOREC FOB GOLD CONTROL 2	48
TABELA XX: PONOVLJIVOST V SERIJI, ANALIZIRAN KONTROLNI VZOREC FOB GOLD CONTROL 1	49
TABELA XXI: PONOVLJIVOST V SERIJI, ANALIZIRAN KONTROLNI VZOREC FOB GOLD CONTROL 2	49
TABELA XXII: DELEŽI UJEMANJA REZULTATOV TESTOV MED SEBOJ	50
TABELA XXIII: REZULTATI KAPPA TESTA	50
TABELA XXIV: INTERPRETACIJA REZULTATOV KAPPA TESTA	51
TABELA XXV: REZULTATI KRUSKAL-WALLIS TESTA	52
TABELA XXVI: ENDOSKOPSKE PREISKAVE, OPRAVLJENE PRI PREISKOVANCIH	52
TABELA XXVII: REZULTATI TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB PRI PREISKOVANCIH Z ENDOSKOPSKO VIDNIMI KRVAVITVAMI	54
TABELA XXVIII: PREISKOVANCI Z DOMNEVNIMI PRIKRITIMI KRVAVITVAMI IZ ZGORNJEGA DELA PREBAVIL	55
TABELA XXIX: OPREDELITEV REZULTATOV TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB GLEDE NA IZVID ENDOSKOPSKE PREISKAVE	56
TABELA XXX: VREDNOSTI PARAMETROV ZA OCENO DIAGNOSTIČNE UPORABNOSTI TESTOV	57
TABELA XXXI: POVRŠINE POD ROC KRIVULJAMI	59

1. UVOD

Dokazovanje prikrite krvavitve v blato se uporablja za presejanje prebivalstva za raka debelega črevesa in danke. V Sloveniji se od leta 2009 izvaja program Svit, ki je namenjen zgodnjemu odkrivanju polipov in zgodnjih oblik raka na debelem črevesu in danki. Testi, ki se uporabljajo za dokazovanje prikritih krvavitev v blato, temeljijo na dokazovanju Hb, kot sestavnega dela krvi, v blatu. V primeru pozitivnega rezultata se preiskovanca napoti na nadaljnje endoskopske preiskave prebavil. Prikrite krvavitve iz prebavil lahko povzročajo tudi številna druga obolenja prebavil.

1.1. KRI

Kri je tekoče tkivo, ki ves čas kroži po žilah in je v stiku z vsemi tkivi v telesu. Sestavljena je iz krvne plazme in krvnih celic. Krvna plazma vsebuje 90 % vode ter 10 % plazemskih beljakovin (albumini, globulini, fibrinogen) in ostalih snovi. Krvne celice v krvi so eritrociti, levkociti in trombociti.

Volumen krvi odraslega človeka je povprečno 7-8 % telesne teže, kar pomeni približno 5-6 litrov krvi pri moškem in 4-5 litrov krvi pri ženski. Volumen krvi se pri zdravi osebi zelo malo spreminja, saj se manjše izgube hitro nadomestijo (1, 2).

1.2. ERITROCITI

Eritrociti so bikonkavne ploščice, brez jedra in organelov. Glavna naloga eritrocitov je prenašanje kisika in ogljikovega dioksida. Življenjska doba eritrocitov je 80-120 dni, nastajajo v kostnem mozgu, odmirajo pa predvsem v vranici, delno tudi v jetrih in kostnem mozgu (1, 2). V enem dnevu odmre približno 0,8 % vseh eritrocitov (3).

Referenčne vrednosti za številčno koncentracijo eritrocitov se razlikujejo glede na spol in starost, podane so v tabeli I.

Tabela I: Referenčne vrednosti za številčno koncentracijo eritrocitov v krvi

SPOL IN STAROST	REFERENČNE VREDNOSTI
Odrasli moški	4,50 - 6,30 *10 ¹² /L
Odrasle ženske	4,20 - 5,40 *10 ¹² /L
Novorojenčki	4,40 - 6,60 *10 ¹² /L

1.2.1 HEMOGLOBIN

Hemoglobin (Hb) je bazična globularna beljakovina, ki prenaša kisik do celic po telesu in odnaša CO₂ nazaj do pljuč. Citoplazma eritrocita vsebuje 33 % hemoglobina (1).

1.2.1.1. SESTAVA HEMOGLOBINA

Molekula Hb je tetramer, sestavljen iz štirih verig beljakovine globina. Vrsto verige označujemo z grškimi črkami alfa (α), beta (β), gama (γ), delta (δ), zeta (ζ) in epsilon (ϵ). Molekula Hb je sestavljena iz dveh alfa verig in dveh ne-alfa verig. Verigi zeta in epsilon sta prisotni samo v embrionalnih Hb.

Tako glede na vrsto ne-alfa globinskih verig pri odraslemu človeku ločimo tri vrste normalnih Hb, kot prikazuje tabela II.

Tabela II: Vrste normalnih Hb

VRSTA Hb	SESTAVA Hb	DELEŽ V ERITROCITIH ODRASLEGA
HbA	Dve verigi alfa in dve verigi beta ($\alpha_2\beta_2$)	96-98 %
HbA₂	Dve verigi alfa in dve verigi delta ($\alpha_2\delta_2$)	1,5-3 %
HbF	Dve verigi alfa in dve verigi gama ($\alpha_2\gamma_2$)	0,5-1 %

HbF imenujemo fetalni Hb, saj je glavna vrsta Hb pri plodu v poznem fetalnem obdobju in pri novorojenčku.

Vsaka veriga ima vezano eno molekulo pigmenta hema, ki je sestavljen iz protoporfirina, v katerem je vezan atom dvovalentnega železa. Na železo se veže molekula kisika, takšen Hb imenujemo oksigenirani Hb (HbO₂) in daje arterijski krvi svetlo rdečo barvo. S kisikom nasičena kri vsebuje približno 20 % O₂ (1, 2, 4).

Referenčne vrednosti za koncentracijo Hb se razlikujejo glede na spol in starost, podane so v tabeli III.

Tabela III: Referenčne vrednosti za koncentracijo hemoglobina v krvi

SPOL IN STAROST	REFERENČNE VREDNOSTI
Moški	140 - 180 g/L
Ženske	120 - 160 g/L
Novorojenčki	140 - 215 g/L

1.2.1.2. RAZGRADNJA HEMOGLOBINA

Dnevno se v vranici, jetrih in kostnem mozgu razgradi približno 6,25 g Hb. Pri razpadu eritrocitov se večina sestavin Hb ponovno uporabi pri tvorbi novih eritrocitov. Sproščeni Hb se v makrofagih razgradi v globin in hem. Beljakovina globin se razgradi v aminokisline, ki se porabijo za sintezo novih beljakovin. Hem se pretvori v biliverdin, ki se nato reducira v bilirubin. Del železa iz hema se veže na beljakovino apotransferin v krvni plazmi in kot transferin potuje do kostnega mozga, kjer se porabi za ponovno sintezo eritrocitov. Preostalo železo se deloma shrani v obliki feritina, deloma pa presnovi v biliverdin, ki se nato reducira v bilirubin. Bilirubin iz makrofagov prehaja v kri, kjer se veže na serumsko beljakovino albumin. Takšen bilirubin imenujemo nekonjugirani ali indirektni bilirubin in ni topen v vodi. Bilirubin se nato v jetrih konjugira z glukuronsko kislino. Takšen bilirubin imenujemo konjugirani ali direktni bilirubin, je vodotopen in se izloči z žolčem. V debelem črevesu ga nato črevesne bakterije reducirajo v sterkobilinogen in urobilinogen, ki oksidiran v sterkobilin in urobilin daje barvo blatu. Del urobilinogena se resorbira in se preko jeter ponovno izloči v žolč, nekaj pa se ga izloči z urinom, kjer je oksidiran v urobilin in daje barvo urinu (4, 5).

1.3. ŽELEZO

Železo je sestavina celic in sodeluje v številnih kemičnih reakcijah v telesu, nastopa v fero obliki (Fe^{2+}) in v feri obliki (Fe^{3+}). V tkivih je vezano na različne beljakovine, tako se nahaja predvsem v hemoglobinu, pa tudi v mioglobinu, citokromih, peroksidazah ter katalazah.

Povprečni dnevni vnos železa je 10-20 mg, absorbira se v tankem črevesu v obliki Fe^{2+} , vendar se absorbira le 10 % celotne vnesene količine. Hemsko železo, ki je v živilih živalskega izvora se absorbira bolje od nehemskega železa, ki je v rastlinskih živilih. Pri pomanjkanju železa se absorpcija železa iz hrane poveča do 30 % (6). Preden železo vstopi v kri, se oksidira v Fe^{3+} , nato se po krvi prenaša s transferinom, ki veže dva atoma Fe^{3+} . Normalno je z železom nasičenega okoli 30 % vsega transferina. Železo se skladišči v obliki feritina in hemosiderina, predvsem v makrofagih kostnega mozga, vranice in jeter.

Dnevno izgubimo približno 1 mg železa, kar je manj kot 0,1 % celotne količine železa, izloča se z blatom, urinom in znojem, ženske pa ga med menstruacijo izgubijo še malenkost več (4, 7).

Referenčne vrednosti za koncentracijo železa v serumu se razlikujejo glede na spol, podane so v tabeli IV.

Tabela IV: Referenčne vrednosti za koncentracijo železa v serumu

SPOL	REFERENČNE VREDNOSTI
Moški	10,6-28,3 $\mu\text{mol/L}$
Ženske	6,6-26,0 $\mu\text{mol/L}$

(Serumska koncentracija železa se nanaša na Fe^{3+} železo, ki je vezano na transferin in ne vključuje železa vezanega na hemoglobin (7). Navedene so referenčne vrednosti Oddelka za laboratorijsko medicino Splošne bolnišnice Celje).

1.4 ANEMIJA

Anemija je znižanje številčne koncentracije eritrocitov, koncentracije Hb in hematokrita (Ht) v krvi pod referenčne vrednosti in je posledica neke osnovne bolezni. Ločimo akutne in kronične anemije. Pri akutni anemiji bolnik v kratkem času izgubi okoli 30 % volumna krvi. Pri kronični anemiji pa gre za manjše krvavitve, ki trajajo dlje časa, tudi po več mesecev, vendar se bolnik sproti, delno prilagaja na spremembe, zato ima težave samo pri fizičnem naporu. Pogostost anemije s starostjo narašča (3, 5). Na podlagi raziskave je v slovenskih ambulantah anemija po pogostosti obravnavanih zdravstvenih problemov šele na 41. mestu z 0,5 % med vsemi diagnozami oziroma 8 na 1000 obiskovalcev splošnih ambulant (3).

Tabela V: Razdelitev anemij

Glede na trajanje anemije	▪ akutna ▪ kronična
Glede na povprečni volumen eritrocita (MCV)	▪ normocitna (normalen MCV) ▪ mikrocitna (zmanjšan MCV) ▪ makrocitna (povečan MCV)
Glede na povprečno količino Hb v eritrocitu (MCH)	▪ normokromna (normalen MCH) ▪ hipokromna (znižan MCH) (6)

Najpogostejša anemija je anemija zaradi pomanjkanja železa (sideropenična anemija). Je mikrocitna, hipokromna anemija z moteno sintezo hema. Pojavlja se pri ljudeh vseh starosti, različnega socialnega in ekonomskega položaja. Pogostejša je pri ženskah v rodni

dobi, saj izgubljajo kri med menstruacijami, ter pri nosečnicah, pogost vzrok za nastanek sideropenične anemije pri odraslih pa so tudi kronične krvavitve iz prebavil in ostalih organskih sistemov (5). Zato so bolniki s sideropenično anemijo velikokrat napoteni na endoskopske preiskave prebavil (6). Sideropenična anemija se razvije postopno. Najprej se porabi uskladiščeno železo, zmanjša se koncentracija feritina v serumu, kasneje pa se zmanjša še koncentracija železa v serumu in zasičenost transferina s železom. Sideropenično anemijo zdravimo s pripravki železa (4).

1.5. PREBAVILA

Prebavila sestavljajo prebavna cev in prebavne žleze. V prebavni cevi se hrana razgradi v enostavne molekule, ki se nato vsrkajo v krvni in mezgovni obtok, odpadne snovi pa se izločijo z blatom.

Prebavno cev sestavljajo:

- ustna votlina
- žrelo
- požiralnik
- želodec
- tanko črevo
- debelo črevo (1)

S prebavno cevjo so povezane prebavne žleze. To so velike žleze slinavke, žleze v želodčni in črevesni sluznici ter jetra in trebušna slinavka, ki v prebavila izločajo sokove, ki pomagajo pri prebavi hrane.

Histološko je prebavna cev zgrajena iz štirih plasti:

- Sluznica: Sestavljajo jo epitelij z žlezami, rahlo vezivo ter žile in živci.
- Podsluznica
- Mišična plast
- Zunanja vezivna plast (serozna mrena): Je iz nežne plasti rahlega veziva, je vlažna in omogoča gladko drsenje organov (2).

1.5.1. POŽIRALNIK

Požiralnik (*oesophagus*) povezuje žrelo z želodcem, dolg je približno 30 cm, širok 2 cm. Sluznica požiralnika je nabrana v vzdolžne gube, podsluznica vsebuje mukozne žleze, ki izločajo sluz, in obsežen preplet ven, mišičje pa je skeletno in gladko, krči se peristaltično. Zunanja plast je serozna plast (1, 2).

1.5.1.1. OBOLENJA POŽIRALNIKA

- **Varice požiralnika:** Pri boleznih jeter nastane obstranski krvni obtok skozi vene požiralnika, pojavijo se varice, ki lahko zelo močno krvavijo.
- **Ahalazija požiralnika:** Je redka bolezen požiralnika, značilna je oslABLJENA oz. odsotna peristaltika požiralnika. Zaradi tega hrana zastaja v požiralniku, kar povzroča vnetje in razjede, ki lahko krvavijo.
- **Refluksna bolezen požiralnika (kronični refluksni ezofagitis):** Je vnetje sluznice, ki je lahko akutno ali kronično, nastane zaradi vračanja želodčne vsebine nazaj v požiralnik. Posledično se pojavijo razjede, ki lahko krvavijo, veliko je tudi tveganje za nastanek raka na požiralniku.
- **Maligna obolenja požiralnika:** So pogosti pri starejših, povezani so s kajenjem, alkoholizmom in kroničnimi vnetji požiralnika. V poznejši fazi bolezni so pogoste tudi kronične krvavitve iz novotvorb (5). Za rakom požiralnika obolevajo predvsem moški, leta 2006 je v Sloveniji zbolelo 67 moških in 16 žensk (8).

1.5.2. ŽELODEC

Anatomske značilnosti

Želodec (*ventriculus, gaster*) je najširši del prebavne cevi, večji del želodca leži na levi strani telesa. Volumen praznega želodca je 50 mL, volumen polnega pa od 1000 do 1500 mL. Vhod v želodec imenujemo kardija (*cardia*), največji del želodca je telo (*corpus*), vratar (*pylorus*) pa je del želodca, ki uravnava prehod želodčne vsebine v dvanajstnik. Prebava hrane v želodcu traja do 7 ur (1, 2, 4).

Histološka zgradba in prebava

Sluznica želodca je vzdolžno nagubana, v njej so številne različne žleze, ki izločajo sluz, encime in solno kislino. V želodcu se začne prebava beljakovin, nadaljuje se prebava ogljikovih hidratov. Sluznico pokriva enoskladni visokoprizmatški epitelij. Podsluznica je

iz rahlega veziva in številnih krvnih in limfnih žil. Mišična plast ima tri sloje, je gladko, vlakna pa potekajo vzdolžno, krožno in poševno, mišičje se krči peristaltično. Zunaj pokriva želodec potrebušnica (peritonej) (1, 2).

1.5.2.1. OBOLENJA ŽELODCA

- **Gastritis:** Je vnetje želodčne sluznice, ki je lahko akutno ali kronično. Akutni gastritis je zelo pogosto obolenje in navadno prehodno stanje, krvavitve zaradi vnetja so redke. Hujša oblika je akutni erozivni gastritis, ki je najpogostejši vzrok krvavitev iz prebavil v enotah intenzivne terapije. Kronični gastritis poteka brez znakov, največkrat ga povzroča okužba s *Helicobacter pylori*. Obolenje velikokrat napreduje v razvoj želodčnega raka.
- **Peptična razjeda (ulkus):** Je omejena razjeda sluznice, ki lahko sega do mišične plasti, zaradi poškodovanih žil se pojavijo tudi močne krvavitve. Razjeda želodca je ena najpogostejših obolenj želodca, pogostejša je pri starejših ljudeh. Najpogostejši vzrok za nastanek je okužba s *Helicobacter pylori*. Nekaj odstotkov razjed napreduje v maligno obolenje.
- **Benigne novotvorbe (polipi):** Polipi so redki, običajno se naključno najdejo med gastrokopijo, s pomočjo endoskopa se odstranijo in pošljejo na histološko analizo. Najpogostejši so hiperplastični polipi, ki so manjši od 2 cm. Polipi v želodcu se v nasprotju s polipi v debelem črevesu le redko spremenijo v maligne novotvorbe (4, 5).
- **Maligne novotvorbe:** Karcinom želodca je najpogostejša maligna novotvorba želodca. Pojavlja se pri moških in ženskah približno enako pogosto, je 7. najpogostejši rak v Sloveniji. Leta 2006 je za rakom želodca zbolelo 268 moških in 159 žensk. Po svetu ter tudi v Sloveniji število obolelih upada, verjetno zaradi vedno manjšega števila okužb s *Helicobacter pylori*. Pomemben vzrok za nastanek raka je tudi način prehrane ter kajenje. Karcinom želodca je najpogostejši v spodnjem delu želodca, histološko je najpogostejši adenokarcinom (5, 8). V poznejši fazi bolezni so pogoste tudi kronične krvavitve iz novotvorb (4).

1.5.3. TANKO ČREVO

Anatomske značilnosti

Tanko črevo (*intestinum tenue*) je najdaljši odsek prebavne cevi, meri od 3 do 5 metrov, hrana skozi njega s pomočjo peristaltike potuje od 1 do 6 ur. Tanko črevo delimo v tri odseke, in sicer dvanajstnik (*duodenum*), tešče črevo (*jejunum*) in vito črevo (*ileum*) (1, 2).

Histološka zgradba in prebava

V dvanajstnik se izlivajo prebavni sokovi iz žolčnika ter trebušne slinavke, v njemu se začne prebava maščob, nadaljuje se prebava ogljikovih hidratov in beljakovin. Sluznica tankega črevesa je krožno nagubana in ima številne resice, epitelij in črevesne žleze sestavlja več vrst celic. Žleze izločajo črevesni sok, ki pomaga pri prebavi hrane, saj vsebuje številne encime. Dnevno izločijo žleze 1 do 3 litre črevesnega soka. S pomočjo resic se ogljikovi hidrati, beljakovine, maščobe, voda, vitamini in elektroliti absorbirajo v kri in limfo. Mišična plast je iz zunanjega vzdolžnega in notranjega krožnega sloja gladkih mišic, mišičje se krči peristaltično. Zunanja plast tankega črevesa je potrebušnica (peritonej) (1, 2).

1.5.3.1. OBOLENJA TANKEGA ČREVEŠA

- **Razjeda dvanajstnika:** Je veliko pogostejša kot razjeda požiralnika ali želodca. Oboli približno 10 % populacije, od teh je večina okuženih s *Helicobacter pylori*, ki je najpogostejši vzrok za to obolenje. Večina bolnikov nima znakov bolezni, so pa pogoste krvavitve zaradi razjed.
- **Crohnova bolezen (regionalni enteritis):** Je kronično vnetje tankega črevesa, največkrat prizadene končni del ileuma, ter tudi debelo črevo. Vnetje zajema vse plasti črevesne stene, pojavijo se razjede in zožitve črevesa zaradi brazgotinjenja, krvavitve ter driska so pogoste. V blatu lahko najdemo tudi maščobe. Obolevajo mlajši moški in ženske.
- **Malabsorpcijski sindrom in celiakija:** Je bolezensko stanje črevesne sluznice, ki ne absorbira ene ali več sestavin hrane. V blatu najdemo maščobe (steatoreja), pojavita se lahko tudi driska in anemija, ki pa ni posledica krvavitve iz prebavil. Celiakija je najpogostejši vzrok malabsorpcije otrok in odraslih, značilna je atrofija črevesnih resic zaradi preobčutljivosti na gluten.

- **Zapora črevesa (intestinalna obstrukcija):** Je ovira v pretoku črevesne vsebine skozi tanko črevo. Lahko nastane zaradi prenehanja peristaltike ali pa zaradi mehanične zapore, kjer je potreben kirurški poseg za razrešitev zapore.
- **Peritonitis:** Je vnetje trebušne mrene, ki se lahko razširi po celotni trebušni votlini. Krvavitve iz prebavil zaradi peritonitisa so redke, je pa značilno bruhanje blata (miserere) (4, 5, 6).
- **Maligne novotvorbe:** Maligne novotvorbe v tankem črevesu so zelo redke, predstavljajo okoli 5 % vseh malignih novotvorb prebavil. Najpogosteje se razvije adenokarcinom dvanajstnika ter teščega črevesa. Vzrok za malo število malignih obolenj tankega črevesa je verjetno v dobri pretočnosti in relativni sterilnosti tankega črevesa (6).

1.5.4. DEBELO ČREVO

Anatomske značilnosti

Debelo črevo (*intestinum crassum*) obsega slepo črevo (*caecum*), kolon (*colon*) in danko (*rectum*). Na slepem koncu slepega črevesa je slepič (*appendix vermiformis*). Kolon razdelimo še na navzgornji kolon (*colon ascendens*), prečni kolon (*colon transversum*), navzdolnji kolon (*colon descendens*) in esasti kolon (*colon sigmoideum*). Danko je dolga približno 15 cm, njen končni del je zadnjik (*anus*). V sluznici zadnjika so gosti venski prepleti (hemeroidalne vene). Debelo črevo je dolgo približno 1,5 m in široko 6,5 cm, črevesna kaša skozi njega s pomočjo peristaltike potuje od 12 do 36 ur (1, 2).

Histološka zgradba

Sluznica ni nagubana in nima resic, pokriva jo enoskladni visokoprizmatški epitelij s številnimi čašastimi celicami. Čašaste celice izločajo precej sluzi, ki omogoča lažji prehod blata in nevtralizira kisle produkte bakterijske razgradnje, ne vsebuje pa prebavnih encimov. Mišična plast je združena v tri debele vzdolžne trakove (tenije), krči se peristaltično, pogosto se krči tudi proti tankemu črevesu, da gnete nastajajoče blato. V danki je mišičje krožno, ob zadnjiku je okrepljeno v notranji analni sfinkter in zunanji analni sfinkter. Debelo črevo, razen danke, od zunaj obdaja potrebušnica (peritonej) (1, 2).

Prebava

Naloge debelega črevesa so absorpcija vode in elektrolitov, bakterijska aktivnost ter oblikovanje in izločanje blata. Črevesne bakterije so neškodljive, sintetizirajo vitamin K in B₁₂ ter povzročajo organsko vrenje in gnitje organskih snovi. Posledica njihove aktivnosti je tvorba črevesnih plinov. Ostanki hrane, ki se niso prebavili in absorbirali v tankem črevesu, preidejo v debelo črevo, praviloma črevesna kaša ne more več nazaj v tanko črevo. Ker žleze v sluznici debelega črevesa ne izločajo encimov, je prebava hrane zelo omejena, nekaj jo razgradijo še prebavni sokovi iz tankega črevesa. Ogljikovi hidrati se z organskim vrenjem presnovijo na CO₂ in H₂O, beljakovine pa se presnovijo z gnilobnimi procesi na CO₂ in H₂O ter dušikove in druge spojine. Zaradi gnilobnih procesov nastaja tudi fenol in ostali strupi, nekaj se jih izloči z blatom, nekaj pa absorbira v kri, nato se razstrupijo v jetrih in izločijo z urinom.

Tudi absorpcija prebavljenih hranilnih snovi je veliko manjša, saj sluznica debelega črevesa nima resic. Znatno pa se absorbira voda, največ se je absorbira v navzgorjem in prečnem kolonu, neabsorbirana pa postane del blata. (1, 2).

1.5.4.1. BLATO

Pri zdravem, odraslem človeku je blato (feces) mehka, oblikovana masa, svetlo do temno rjave barve. Blatu dajejo rjavo barvo barvila urobilin in sterkobilin, ki nastajajo v črevesu iz žolčnih barvil in koprosterin, ki nastaja iz holesterola (2). Blato je v glavnem brez hranilnih snovi, vsebuje:

- 60 - 80 % vode
- 20 - 40 % suhe snovi (predvsem bakterije in celuloze, ostanke neprebavljene hrane, odluščene celice, vitamine, sluz, anorganske snovi (P, Fe, Ca), škrob, elektrolite, žolčna barvila, proste maščobne kisline, dušikove spojine)

Sestava blata se dnevno spreminja, odvisna je od zaužite hrane. Približno 10 % zaužite hrane se ne prebavi in absorbira (1).

Zdrav človek odvaja blato enkrat do dvakrat na dan ali pa enkrat na dva dni. Dnevno izločimo okoli 200 g blata (2).

1.5.4.2. OBOLENJA DEBELEGA ČREVEESA

- **Vnetje slepiča:** Je najpogostejše obolenje prebavil, ki se zdravi kirurško. Vnet slepič je zadebeljen in zamašen. Obolenje lahko napreduje v nekrozo ter perforacijo slepiča, zato se vnet slepič kirurško odstrani.
- **Ishemija kolona:** Je posledica akutne ali kronične motnje krvnega obtoka v črevesu. Pojavijo se podsluznične krvavitve, pogosta je krvava driska ali hematohezija. Če je ishemija blažja se stanje kmalu popravi, lahko pa tudi napreduje v kronični ulcerozni kolitis.
- **Divertikuloza:** Divertikli so izbočenja sluznice (kile) skozi šibka mesta mišične plasti stene debelega črevesa. Pojavljati se začnejo po 35. letu starosti in so s starostjo pogostejši, divertikle ima približno 10 % vseh prebivalcev. Najpogosteje se pojavijo v esastem kolonu, obolenje pa poteka brez znakov. Če pa se vnamejo, stanje imenujemo divertikulitis, se velikokrat perforirajo in krvavijo. Divertikli so najpogostejši vzrok krvavitve iz prebavil pri bolnikih, starejših od 60 let.
- **Ulcerozni kolitis:** Je kronično vnetje sluznice debelega črevesa, ki privede do krvavečih razjed sluznice. Če obolenje zajame samo danko, ga imenujemo *proctitis*. Krvavitve so lahko zelo obsežne in pogoste, pogoste so tudi krvave driske in maligne spremembe. Obolenje je najpogostejše kronično vnetje debelega črevesa, pojavlja se pri moških in ženskah med 20. in 40. letom starosti.
- **Benigne novotvorbe (polipi):** Polip raste v svetlino črevesa. Lahko je posamezen ali pa so številni, lahko so veliki nekaj milimetrov ali tudi nekaj centimetrov. Pred 30. letom starosti polipi redko nastanejo, po 50. letu starosti pa jih ima že skoraj polovico populacije. Vsak polip, ki dolgo raste, se lahko maligno spremeni, zato jih med kolonoskopijo odstranijo in pošljejo na histološke preiskave za opredelitev. Najpogostejši polipi v debelem črevesu so adenomi. Odstranjevanje polipov v debelem črevesu zmanjša tveganje za nastanek raka za približno 80 %. Možnost za napredovanje v maligno novotvorbo je večja, če je polipov več, če so večji od 1 cm, ter če je histološko ugotovljena displazija in metaplazija. Bolnika se napoti na ponovno kolonoskopijo čez 5 let, v nekaterih primerih še prej. Najhujša oblika obolenja je familiarna adenomatozna polipoza, pri kateri ima bolnik več tisoč polipov, ti bolniki zbolijo za rakom debelega črevesa že okoli 40. leta starosti. Polipi so običajno asimptomatski, odkrijejo se naključno. Približno 20 % polipov

povzroča prikrite krvavitve. Prav tako so možne krvavitve še nekaj dni po odstranitvi polipov (4, 5, 9).

- **Rak debelega črevesa in danke:** Najpogostejša maligna obolenja debelega črevesa so karcinomi kolona in danke, sarkomi ter limfomi so redkejši. Najpogostejše se maligno spremeni esasti kolon in danka. Histološko so najpogostejši adenokarcinomi (95 % RDČD), ki zasevajo po bezgavkah v trebuh in jetra.

S starostjo populacije se incidenca raka povečuje, 90 % bolnikov z RDČD je starejših od 50 let. Za večino RDČD ne poznamo jasnega vzroka za njihov nastanek, le približno 20 % primerov RDČD je posledica podedovanega okvarjenega gena. Približno 90 % RDČD se razvije iz polipov - adenomov. Da se polip maligno spremeni traja povprečno 8 do 10 let. Vzroki za nastanek so tako najpogostejše genetski dejavniki v kombinaciji z zgoraj omenjenimi obolenji (ulcerozni kolitis, Chronova bolezen, polipi) in nezdravim življenjskim slogom (premalo gibanja, debelost, kajenje, prekomerno uživanje alkohola) (4, 5, 6, 10, 11). Med dejavnik tveganja za nastanek RDČD veliko strokovnjakov prišteva tudi nepravilno prehrano (uživanje premalo vlaknin, sadja in zelenjave, prekomerno uživanje koncentriranih ogljikovih hidratov, mesa in mastne hrane), vendar so številne raziskave pokazale, da specifične sestavine v hrani nimajo vpliva na nastanek RDČD (4, 5, 12).

Po podatkih registra raka Republike Slovenije za leto 2006 je po pogostosti vseh rakov rak debelega črevesa in danke (RDČD) na drugem mestu, za kožnim rakom (razen melanomom). Od leta 1990 naprej število obolelih strmo narašča. Pri moških je RDČD 4. najpogostejši rak, za rakom pljuč, prostate in kože. Pri ženskah pa je RDČD 3. najpogostejši rak, za rakom dojke in kože. Tako je za RDČD leta 2006 zbolelo 735 moških in 549 žensk. Zaradi RDČD je leta 2006 umrlo 682 ljudi, 143 jih je bilo mlajših od 65 let. Tako je RDČD drugi najpogostejši vzrok smrti med rakavimi obolenji (8).

Pogosto je obolenje na začetku asimptomatsko in se odkrije šele s pomočjo kolonoskopije zaradi iskanja vzroka za anemijo. Kasneje so zaradi malignih sprememb pogosti neznačilni znaki, kot so hujšanje, driska, zaprtje, bolečine v trebuhu, hemoroidi ter prikrita krvavitev iz prebavil in anemija. RDČD se zato večinoma odkrije šele ko je RDČD že napredoval. Zlati standard za diagnostiko RDČD je kolonoskopija s histološkimi preiskavami. Zdravljenje je kirurško, tako

da odstranijo prizadeti del črevesa, po operaciji se zdravi s kemoterapijo in obsevanjem. Ozdravi več kot polovica bolnikov (5, 6, 9, 10, 11, 12).

- **Hemoroidi:** So varikozno spremenjene vene zadnjikovega kanala. Ima jih približno 35 % vseh prebivalcev, razvijejo pa se zaradi napenjanja pri kroničnem zaprtju, jetrnih boleznih, povečani prostati, pri venskem zastoju zaradi novotvorb, razvijejo se lahko tudi zaradi nosečnosti. Ločimo notranje in zunanje hemoroide. Zunanji hemoroidi so nabrekle modrikaste tvorbe, ki srbijo in na dotik bolijo, pojavijo se nad zunanjim sfinktrom zadnjične odprtine. Notranji hemoroidi pogosto krvavijo in niso boleči, pogosto so na blatu vidne kapljice krvi. Kirurško se odstranijo le hemoroidi, ki pogosto krvavijo.
- **Analna razpoka (fisura):** Je razpoka v koži, ki pokriva anus, bolniki pogosto zakrvavijo. Nastane zaradi napornega odvajanja trdega blata pri kroničnem zaprtju.
- **Anorektalni absces:** Je nabiranje gnoja v predelu anusa zaradi gnojnega bakterijskega vnetja (5).

1.6. DIAGNOSTIKA OBOLENJ PREBAVIL

Za odkrivanje obolenj prebavil se uporabljajo številne preiskave, med njimi so za postavitev diagnoze zelo pomembne endoskopske preiskave ter laboratorijske preiskave krvi, urina in blata (5).

1.6.1. ANAMNEZA IN KLINIČNI PREGLED

Zdravnik z izpraševanjem preiskovanca pridobi potrebne podatke ter ugotovi njegove simptome. Pomembna je tudi družinska anamneza, z njo pridobimo podatke o dedni nagnjenosti k določeni bolezni. S kliničnim pregledom npr. otipa določene organe ter osluškuje zvoke, ki nastajajo pri pretakanju črevesne vsebine. Pri zdravem človeku tankega in debelega črevesa ni mogoče tipati (2, 6).

1.6.2. LABORATORIJSKE PREISKAVE KRVİ, URINA IN BLATA

So pomemben del pri odkrivanju obolenj, saj se v splošnem več kot 60 % diagnoz postavi na osnovi rezultatov laboratorijskih preiskav (13). Opravijo se običajne preiskave krvi, kot so npr. kompletna krvna slika ter nekatere biokemične preiskave, ki pa za sama obolenja prebavil niso tako značilne. Za odkrivanje malignih obolenj prebavil se določajo tudi

koncentracije določenih tumorskih označevalcev v serumu, dokazuje se tudi prikrita krvavitev v blato. Za laboratorijske preiskave blata vedno potrebujemo svež vzorec.

1.6.2.1. TUMORSKI OZNAČEVALCI

Tumorski označevalec (TO) je snov v telesu, ki ob zvečanih koncentracijah nakazuje na možno prisotnost malignega obolenja. Določujemo jih lahko za odkrivanje malignih obolenj, za njihovo identifikacijo ter za preverjanje uspešnosti zdravljenja malignih obolenj. Ker so TO v telesnih tekočinah v zelo majhnih koncentracijah jih določamo z visoko občutljivimi imunokemijskimi metodami. Protitelesa proti TO lahko reagirajo tudi z drugimi antigeni v telesu. Koncentracije TO se lahko zvišajo tudi zaradi benignih obolenj, vnetij in različnih fizioloških stanj. Zaradi tega so doslej znani TO zaradi nizke specifičnosti manj primerni za zgodnje odkrivanje malignih obolenj, prav tako se ne uporabljajo za presejanje prebivalstva. Serumske koncentracije TO je dovoljeno interpretirati le v povezavi s klinično sliko in drugimi diagnostičnimi metodami (10, 14).

TO delimo glede na biokemične lastnosti, mesto nastanka in funkcionalnost na:

- onkofetalne proteine
- hormone
- encime
- tumor spremljajoče antigene
- posebne serumske proteine
- mešane TO (10)

Za diagnostiko RDČD ter ostalih malignih obolenj prebavil so pomembni naslednji TO:

- **CEA (karcinoembrionalni antigen):** Je eden najpomembnejših TO, saj ima več kot 65 % bolnikov z RDČD zvečano koncentracijo CEA v serumu. Zvečane koncentracije CEA lahko najdemo tudi pri benignih obolenjih prebavil (polipi, gastritis,...), pri bolnikih z rakom želodca, trebušne slinavke, pljuč, dojk, ščitnice, jeter, mehurja, jajčnikov in endometrija, ter tudi v zdravi črevesni sluznici. CEA spada med onkofetalne proteine, ki so normalo prisotni v embrionalnem razvoju, po rojstvu pa izginejo.
- **CA 19-9 (karbohidratni antigen 19-9):** Je nekoliko bolj specifičen za rak trebušne slinavke in jeter, vendar so pogosto zvečane koncentracije CA 19-9 v

serumu tudi pri RDČD, raku želodca in raku jajčnikov. Normalno ga najdemo tudi v želodčnem soku, izločkih trebušne slinavke in dvanajstnika ter ostalih telesnih tekočinah. CA 19-9 spada v skupino tumor spremljajočih antigenov, ki so bolj specifični za nekatera maligna obolenja kot ostali TO.

- **AFP (alfa-fetoprotein):** Zvečano koncentracijo AFP lahko zasledimo pri raku želodca, trebušne slinavke, pljuč, hepatocelularnem karcinomu ter pri ostalih jetrnih obolenjih. AFP spada med onkofetalne proteine.
- **CA 15-3 (karbohidratni antigen 15-3):** Zvečane koncentracije v serumu zasledimo predvsem pri bolnicah z rakom dojke, pa tudi pri raku prebavil, pljuč, prostate, jajčnikov in materničnega vratu. CA 15-3 spada v skupino tumor spremljajočih antigenov.
- **CA 72-4 (karbohidratni antigen 72-4):** Zvečane koncentracije v serumu zasledimo pri raku debelega črevesa, želodca, trebušne slinavke, dojke, pljuč, jajčnikov ter endometrija. Koncentracije so zvečane tudi pri benignih obolenjih prebavil ter nekaterih ostalih organskih sistemih. CA 72-4 spada v skupino tumor spremljajočih antigenov (10).

Tabela VI: Referenčne vrednosti za koncentracije tumorskih označevalcev v serumu

TUMORSKI OZNAČEVALEC	REFERENČNE VREDNOSTI
CEA	do 4,7 µg/L
CA 19-9	do 37 U/mL
AFP	do 6,7 µg/L
CA 15-3	do 30 U/mL
CA 72-4	do 6,9 U/mL

(Referenčne vrednosti za koncentracije tumorskih označevalcev so odvisne od metode, s katero jih določamo. Navedene so referenčne vrednosti Oddelka za laboratorijsko medicino Splošne bolnišnice Celje).

1.6.3. ENDOSKOPSKE PREISKAVE

So najpomembnejše preiskave prebavil, pri sumu na obolenje prebavil je pogosto prva preiskava, ki se opravi pri preiskovancu. Endoskopske preiskave nam omogočajo pregledovanje notranje površine votlih organov z endoskopi. Razvoj endoskopije je omogočil uvedbo endoskopske kirurgije (odstranjevanje polipov, ustavljanje krvavitev iz varic požiralnika, razjed želodca), velikega pomena za diagnostiko malignih obolenj pa je tudi možnost odvzema vzorca za histološke preiskave. Endoskopija je minimalno invazivni postopek, zapleti (perforacija, krvavitev) so zelo redki.

Endoskop je upogljiva cev z vgrajeno kamero in izvorom svetlobe, slika se vidi na monitorju. Konico endoskopa je možno premikati v vse smeri. Ima tudi naprave za vpihovanje zraka, vbrizgavanje vode, aspirator, klešče in ščetke za odvzem vzorca ter zanke za odščip polipov. Endoskop ter endoskopsko preiskavo poimenujemo po organu, ki ga preiskujemo.

Možna je že tudi endoskopska preiskava celotnega tankega črevesa, vendar so endoskopi zelo dragi, preiskava pa je zelo počasna. Obstaja tudi brezžični endoskop v obliki kapsule (kapsulna endoskopija), ki se enostavno zaužije, na monitorju pa lahko opazujemo kako potuje skozi prebavila (6, 9, 15).

1.6.3.1. GASTROSKOPIJA

Gastroskopija se uporablja za preiskavo zgornjega dela prebavne cevi, zajema:

- **Endoskopsko preiskavo požiralnika** - ezofagoskopija
- **Endoskopsko preiskavo želodca** - gastroskopija
- **Endoskopsko preiskavo dvanajstnika** - duodenoskopija

Gastroskopija traja 10 do 20 minut, običajno so preiskovanci v lokalni anesteziji. Predhodno se morajo preiskovanci pripraviti na preiskavo. (6, 15).

1.6.3.2. KOLONOSKOPIJA

Kolonoskopija, se uporablja za preiskavo spodnjega dela prebavne cevi, zajema:

- **Endoskopsko preiskavo debelega črevesa** - kolonoskopija
- **Endoskopsko preiskavo danke** - rektoskopija

Kolonoskopija traja 15 do 60 minut, običajno so preiskovanci v lokalni anesteziji. Predhodno se morajo preiskovanci pripraviti na preiskavo (PRILOGA 1).

Rektoskopija se lahko izvede tudi kot samostojna preiskava za diagnostiko hemoroidov (6).

Raziskave so pokazale, da je diagnostična občutljivost kolonoskopij za odkritje polipov in RDČD nad 90 % (4).

1.6.4. ULTRAZVOČNE PREISKAVE (EHOSKOPIJA)

Ultrazvočne valove usmerimo proti organu, različni odmevi zvoka se na zaslonu vidijo kot slika - ehogram. Ultrazvok se lahko uporabi tudi v kombinaciji z endoskopskimi preiskavami.

1.6.5. KONTRASTNE RENTGENSKE PREISKAVE

Rentgenski žarki prehajajo skozi telo nekje bolj, nekje manj, odvisno od anatomske strukture organov. Tako dobimo sliko, ki jo imenujemo rentgenogram. Organom, ki jih pregledujemo, se doda kontrastno sredstvo, da jih lažje prepoznamo. Tako lahko opazujemo tudi požiranje hrane, peristaltiko ter pretok krvi skozi črevesje.

1.6.6. RAČUNALNIŠKA TOMOGRAFIJA (CT)

Je posebna metoda rentgenskega slikanja, s pomočjo računalnika prikažemo določeno strukturo bolj jasno, lahko tudi v tridimenzionalni sliki. Prav tako se lahko doda kontrastno sredstvo, da lažje prepoznamo določene organe. CT se skupaj s kolonoskopijo (virtualna kolonoskopija) priporoča kot presejalno metodo za diagnostiko polipov večjih od 10 mm, saj je diagnostična občutljivost in specifičnost višja od 90 %, uporaben je tudi za diagnostiko vnetnih bolezni prebavil ter klasifikacijo malignih obolenj. Vendar pa je takšna metoda še zelo draga, uporaba je manj razširjena, bolniki pa so izpostavljeni sevanju (2, 6, 9, 16).

1.6.7. POZITRONSKA EMISIJSKA TOMOGRAFIJA (PET)

Preiskovancu se v telo vnesejo radioaktivni izotopi, nakopičijo se v tkivih s povečano presnovo glukoze, nato pa pri svojem razpadu emitirajo pozitrone. PET prikaže presnovno aktivnost tumorja, v kombinaciji z ultrazvokom, CT ali MR pa lahko prikažemo še morfološke značilnosti tumorjev (17, 18).

1.6.8. SCINTIGRAFIJA

Opazujemo zgradbo in delovanje organov s pomočjo radioaktivnih izotopov, ki se kopičijo in izločajo skozi prebavila. Izotopi sevajo žarke gama, žarčenje na telesni površini vidimo kot sliko - scintigram (19).

1.6.9. MAGNETNA REZONANCA (MR)

Je računalniško vodena slikovna metoda, s pomočjo radiofrekvenčnih valov in močnega magnetnega polja dobimo jasno in podrobno sliko notranjih organov in tkiv. MR je uporaben predvsem za odkrivanje raka danke ter ostalih obolenj danke (6, 15).

1.6.10. HISTOLOŠKE PREISKAVE

Med endoskopsko preiskavo se z endoskopom odvzame košček tkiva (odščipi sluznice, polip), ki se nato pregleda pod mikroskopom. Poznamo več različnih tehnik priprave bioptičnega vzorca in opazovanja pod mikroskopom. S pomočjo histoloških preiskav opredelimo ali je določeno tkivo normalno, benigno spremenjeno ali gre že za maligne spremembe tkiva. Tako lahko s histološkimi preiskavami potrdimo večino obolenj prebavil. Če je histološki izvid negativen, še ne moremo izključiti malignega obolenja. Zaradi tega se priporoča odvzem bioptičnega vzorca z najmanj osmih sumljivih mest, k diagnostiki pa veliko pripomorejo tudi postržki tkiva za citološke preiskave (2, 6). Po podatkih registra raka Republike Slovenije se skoraj vsi novi primeri malignih obolenj prebavil potrdijo s pomočjo histoloških preiskav (8).

1.7. KRVAVITVE IZ PREBAVIL

Veliko bolezni prebavil poteka brez jasnih znakov. Bolezni prebavil tako pogosto odkrijemo ob iskanju vzroka za krvavitve iz prebavil, ki je pogost zaplet bolezni prebavil. Po načinu nastanka krvavitve ločimo na akutne in kronične, po količini izgubljene krvi na manjše (prikrite) in obilne, ter po izvoru krvavitve na krvavitve iz zgornjega dela ali spodnjega dela prebavne cevi. Skoraj 85 % vseh krvavitvev iz prebavil izvira iz zgornjega dela prebavil (4).

1.7.1. AKUTNE KRVAVITVE IZ ZGORNJEGA DELA PREBAVIL

Pri akutnih krvavitvah gre za nenadne izgube večjih količin krvi. Glavna znaka akutne krvavitve iz zgornjega dela prebavil sta bruhanje krvi (hematemeza) in odvajanje črno obarvanega, mazavega blata (melena).

1.7.1.1. HEMATEMEZA

Če gre za krvavitve iz požiralnika bruhamo svežo, rdečo kri. Če pa gre za krvavitve iz želodca in dvanajstnika bruhamo črno kri, saj v stiku krvi z želodčno vsebino nastane kisli hematin, ki jo obarva črno. Če je krvavitev obilna lahko bruhamo tudi svežo, rdečo kri.

1.7.1.2. MELENA

Melena je pogostejša od hematemeze. Blato se obarva črno zaradi bakterijske razgradnje krvi, dovolj je že enkratna izguba 60 do 100 mL krvi. Črno barvo mu dajo sulfirirani in porfirinski razpadni produkti Hb. Črno blato pomeni, da krvavitev traja že nekaj ur lahko pa se je krvavitev že ustavila. Odvajanje črnega blata je lahko prisotno še nekaj dni po zaustavitvi krvavitve. Tudi takrat ko je blato že normalnega videza, lahko še vedno z laboratorijskimi metodami dokažemo prikrito krvavitev v blato. Črno lahko obarvajo blato tudi nekatera zdravila in hrana (4).

Pri akutnih krvavitvah iz zgornjega dela prebavil nastopi tudi šok, medtem ko šoka ni pri krvavitvah iz spodnjega dela prebavil.

Najpogostejši vzrok za krvavitev so peptične razjede (ulkusi) želodca ter dvanajstnika, in sicer pri približno polovici vseh primerov. Krvavitve so možne tudi zaradi prej omenjenih obolenj požiralnika, medtem ko so krvavitve zaradi gastritisa ali karcinomov želodca redkejše.

Približno 85 % bolnikov preneha krvaveti v 48 urah. Večinoma bolniki izgubijo manjše količine krvi, ki ne zahtevajo urgentnega zdravljenja, izgube se nadomestijo s transfuzijo. Za ugotovitev vzroka krvavitve se običajno opravi gastroskopija. S pomočjo endoskopa lahko tudi ustavimo krvavitev, če ne moremo se krvavitev ustavi s kirurškim posegom. Pri bolnikih, ki močno krvavijo, so v šoku ali pri katerih se sumi na varice požiralnika, se opravi urgentna gastroskopija. Čez nekaj časa se gastroskopija ponovi, da se ugotovi ali bolnik še krvavi ter ali je potrebno nadaljnje zdravljenje (6).

1.7.2. AKUTNE KRVAVITVE IZ SPODNJEGA DELA PREBAVIL

Obilne krvavitve iz spodnjega dela prebavil so redke, največkrat so vzrok divertikli ter ulcerozni kolitis. Manjše akutne krvavitve, ki se ponavljajo ob odvajanju blata, so posledice hemoroidov ter analnih razpok (fisur). Manjše krvavitve se lahko pojavijo tudi nekaj dni po odstranitvi polipov, krvavitve se spontano ustavijo.

1.7.2.1. HEMATOHEZIJA

Hematohezija je odvajanje sveže rdeče krvi, pomešane z blatom, zaradi akutnih krvavitev iz spodnjega dela prebavil. Lahko se pojavi tudi pri obilnih krvavitvah iz zgornjega dela prebavil. Večino krvavitev se začne in preneha spontano. Diagnosticira se jih s

kolonoskopijo. Pri bolnikih, mlajših od 45 let, je za postavitve običajno dovolj samo rektoskopija (4, 6).

1.7.3. KRONIČNE KRVAVITVE IZ PREBAVIL

Povzročijo jih lahko vsa obolenja prebavil, ki lahko povzročajo akutne krvavitve. Krvavitve so manjše in počasne, zato se organizem sproti prilagaja. V blatu primesi krvi niso vidne, zato takim krvavitvam pravimo tudi prikrite krvavitve. Bolniki, ki kronično krvavijo iz prebavil, imajo običajno anemijo zaradi pomanjkanja železa. Pri iskanju vzroka kronične krvavitve prebavil se običajno najprej opravi gastroskopija, nato pa še kolonoskopija, če je izvid gastroskopije negativen (4, 6).

1.7.4. DOKAZOVANJE PRIKRITE KRVAVITVE V BLATO

1.7.4.1. NAMEN DOKAZOVANJA

Dokazovanje prikrite krvavitve v blato (FOB) se večinoma uporablja za presejanje asimptomatske populacije za RDČD. Velikokrat se dokazovanje FOB uporabi pri iskanju vzroka za nastanek anemije. Za samo diagnostiko obolenj prebavil nima velikega pomena, velikokrat se zdravnikom zdi dokazovanje FOB nepotrebno, saj tudi v primeru negativnega rezultata testa za dokazovanje FOB opravijo endoskopski pregled (6).

1.7.4.2. FIZIOLOŠKA IZGUBA KRVIZ BLATOM

Fiziološka izguba krvi z blatom je do 3 mL na dan oz. 2,42 mg Hb/g blata. Izguba krvi, večja od teh vrednosti, je posledica različnih bolezenskih sprememb v prebavilih, vendar pa je lahko izguba krvi tudi npr. pri malignih obolenjih prebavil v mejah fiziološke izgube. Za dokazovanje FOB se priporoča izbira testov z ustrezno analitično občutljivostjo, ta se nanaša na fiziološko izgubo krvi z blatom. Tako se imunokemijski testi, ki zaznajo že fiziološko izgubo krvi, ne smejo uporabljati (20, 21).

1.7.4.3. TESTI ZA DOKAZOVANJE FOB

Testi, ki so v uporabi, temeljijo na dokazovanju Hb, kot sestavnega dela krvi, v blatu. V strokovni literaturi se velikokrat za te teste uporabi izraz hematest. Za dokazovanje FOB uporabljamo kemijske, imunokemijske ali fluorometrične metode.

V laboratorijih po Sloveniji se za dokazovanje FOB običajno najprej uporabi presejalni test. Presejalni testi so npr. testi, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole ter

aminopirinski testi. V primeru pozitivnega rezultata presejalnega testa se opravi potrditveni test. Potrditveni testi imajo boljšo analitično specifičnost, saj temeljijo na specifični imunokemijski reakciji med protitelesi in humanim Hb v blatu. Imunske komplekse, ki tako nastanejo, lahko vidimo ali pa izmerimo z imunodifuzijo, imunofluorescenco in encimskoimunskimi tehnikami, torej lahko določimo koncentracijo Hb v blatu kvalitativno ali kvantitativno.

Testi, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole, lahko poleg Hb reagirajo tudi s hemom. Ta nastane pri krvavitvah iz zgornjega dela prebavne cevi, saj se Hb med potovanjem v prebavilih razgradi. Imunokemijski testi so bolj specifični za dokazovanje krvavitev iz spodnjega dela prebavne cevi, saj pri teh krvavitvah Hb ostane nerazgrajen.

Nekateri novejši testi za dokazovanje FOB temeljijo na imunokemijskem dokazovanju albumina, ki je v krvi v blatu. Testi imajo dobro analitično specifičnost, albumin pa je tudi bolj obstojen v blatu kot Hb. V raziskavi, ki so jo leta 1995 opravili v Izraelu, so ugotovili, da so ti testi po diagnostični občutljivosti in diagnostični specifičnosti za odkrivanje polipov in RDČD povsem primerljivi s kemijskimi testi, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole. (4, 22).

1.7.4.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV

Negativen rezultat testa za dokazovanje FOB ne pomeni, da preiskovanec res nima RDČD oz. katerega drugega obolenja prebavil, ki povzroča FOB. Pozitiven rezultat testa pa samo nakazuje na prisotnost Hb v blatu in so zato za postavitev diagnoze potrebne nadaljnje endoskopske in ostale preiskave prebavil (20, 21). FOB so pogosto le občasne, zato se priporoča, da se testiranje ponovi z vsaj tremi različnimi vzorci blata (4).

1.7.5. PRESEJANJE PREBIVALSTVA

Če se maligno obolenje odkrije v zgodnji fazi razvoja je zdravljenje uspešnejše. Po podatkih registra raka Republike Slovenije za leto 2006 je bilo le 13 % primerov RDČD odkritih v zgodnji fazi razvoja (8). Zato je pomembno presejanje prebivalstva, ki pomaga odkriti predrakave spremembe ter zgodnje oblike RDČD.

Strokovnjaki priporočajo za presejanje prebivalstva za RDČD imunokemijske metode za dokazovanje FOB, saj imajo v primerjavi s kemijskimi metodami višjo analitično in diagnostično specifičnost. Imunokemijske metode imajo tudi lažji postopek vzorčenja, prav tako niso potrebne določene omejitve prehrane ter zdravlil pred testiranjem, zato je

udeležba v presejalnem programu lahko večja (23). Tako imunokemijske metode za dokazovanje FOB v presejalnih programih uporabljajo v Italiji, Franciji, na Japonskem, v Avstraliji, Angliji in Kanadi (9).

Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) priporoča tudi, da se pri ogroženih osebah vsaj enkrat letno opravi digitorektalni pregled (12).

V Veliki Britaniji izvajajo presejalni program UK National Bowel Cancer Screening Programme (NHS BCSP), kjer so zabeležili, da ima ob pozitivnem rezultatu barvnega kvalitativnega testa za dokazovanje FOB približno polovico preiskovancev normalno, zdravo debelo črevo, 40 % jih ima polipe, pri 10 % preiskovancev pa so s pomočjo kolonoskopije res odkrili RDČD.

Ameriška gastroenterološka združenja priporočajo, da naj bi pri starejših od 50 let enkrat letno opravili test za dokazovanje FOB, ter vsakih deset let kolonoskopijo. Razmišljajo tudi o uvedbi presejanja prebivalstva kar z rednimi kolonoskopijami, vendar so te preiskave zaenkrat še predrage in prezapletene za masovno uporabo (4, 6, 9, 12).

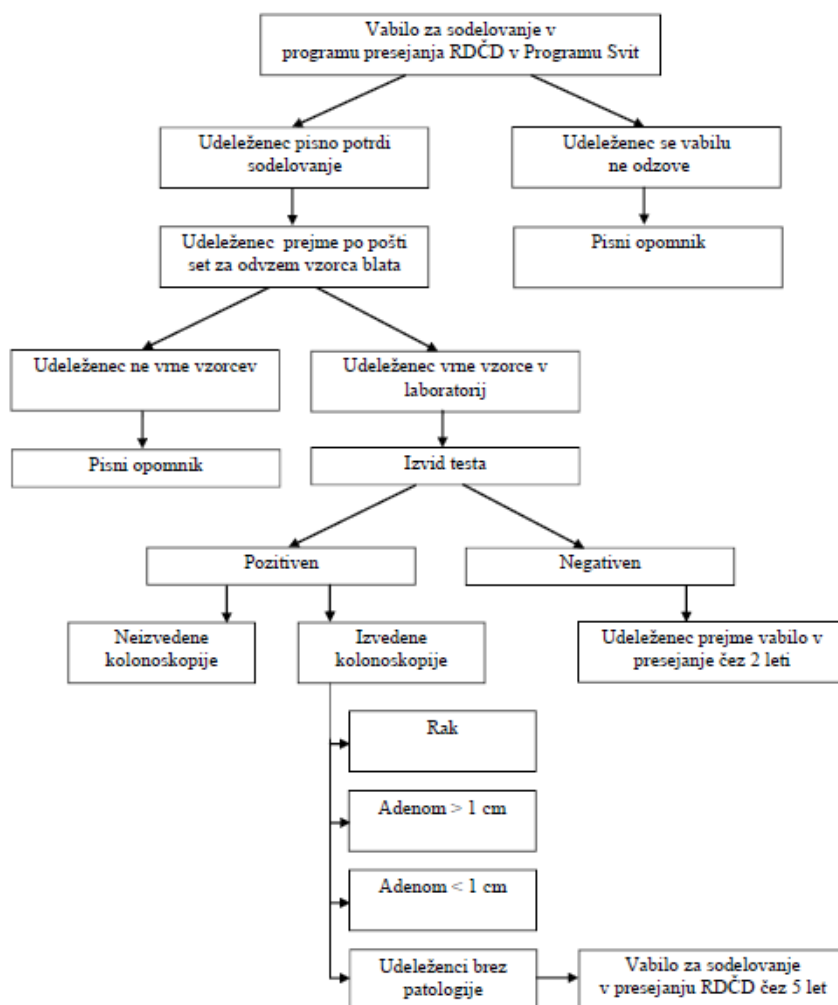
V presejalnih programih so lahko v pomoč tudi genetska testiranja preiskovancev ter molekularno-genetske preiskave blata - testiranje blata na mutacije DNA. Strokovnjaki domnevajo, da predrakave spremembe in RDČD izločajo v blato celice, ki imajo zaradi maligne preobrazbe spremenjeno DNA. Ti testi naj bi imeli visoko diagnostično občutljivost in specifičnost za odkrivanje RDČD, zato so primerni za odkrivanje RDČD v zgodnji fazi razvoja. Slabost testov je zaenkrat izredno visoka cena ter slabša diagnostična občutljivost za dokazovanje polipov (9, 12, 16, 23, 24).

1.7.5.1. PROGRAM SVIT

V Sloveniji se od leta 2009 izvaja presejalni program - Program Svit. Temelji na odkrivanju FOB z imunokemijskim testom za dokazovanje FOB. Vabilo na testiranje prejme vsak prebivalec Slovenije, star od 50 do 69 let, vsaki dve leti. Udeležba je brezplačna. Tako bo vsaki dve leti v program povabljenih približno 540000 prebivalcev Slovenije. Ob pričakovani odzivnosti približno 60 %, bi s kolonoskopijo pri približno 40 % preiskovancev odkrili polipe, pri 6 % pa RDČD.

Preiskovanci, ki se udeležijo programa po pošti prejmejo 2 epruveti z ekstrakcijskim pufrom za odvzem blata. Ko opravijo vzorčenje, epruveti pošljejo nazaj. V primeru pozitivnega testa za dokazovanje FOB se udeleženca programa napoti na kolonoskopijo. Strokovnjaki ocenjujejo, da Program Svit zaradi pravočasne odstranitve polipov letno

prepreči razvoj RDČD pri približno 300 udeležencih programa, ter s tem tudi zmanjša umrljivost za RDČD za 30 % (200 bolnikov na leto). Zdravljenje razširjene oblike RDČD je trikrat dražje kot zdravljenje zgodnje oblike RDČD. Tako z zgodnjim odkrivanjem RDČD lahko prihranimo približno 3,5 milijonov evrov na leto (9, 25).



Slika 1: Shema delovanja Programa Sviti

2. NAMEN DELA

Dokazovanje FOB je ena od osnovnih diagnostičnih metod za odkrivanje RDČD in se v laboratorijih po Sloveniji večinoma uporablja za presejanje simptomatskega prebivalstva. Zelo pomembno je, da se obolenja prebavil, ki povzročajo FOB ter seveda obolenja spodnjega dela prebavil, ki so povezana z nadaljnjim razvojem RDČD, odkrijejo čim prej, saj je možnost ozdravitve večja, če se obolenje odkrije v zgodnji fazi razvoja.

Namen našega dela bo dokazovanje FOB pri preiskovancih z opravljeno gastroskopijo ter kolonoskopijo.

V raziskavo bomo vključili 83 preiskovancev, ki so bili zaradi suma na obolenje prebavil napoteni v Gastroenterološko ambulantno oz. na Oddelek za bolezni prebavil.

V vzorcih blata bomo dokazovali FOB s tremi testi:

- **Hema-Screen Occult Blood Test**, podjetja Stanbio Laboratory - barvni kvalitativni test, ki temelji na oksidaciji gvajakolne smole
- **Diaquick FOB Cassette**, podjetja Dialab - imunokromatografski kvalitativni test
- **FOB Gold**, podjetja Sentinel Diagnostics - kvantitativna imunokemijska metoda

Rezultate analiz s testi za dokazovanje FOB bomo nato primerjali z morebitnimi ostalimi rezultati laboratorijskih preiskav, ki nakazujejo na kronično izgubo krvi, ter s parametri, ki nakazujejo na prisotnost malignih novotvorb v organizmu. Rezultate, ki jih bomo pridobili z laboratorijskimi testi za dokazovanje FOB, bomo nato primerjali še z izvidi endoskopskih preiskav, ki bodo opravljene pri preiskovancih. Pri preiskovancih, pri katerih bodo med endoskopsko preiskavo odvzeti tudi vzorci za histološke preiskave, bomo rezultate primerjali tudi z izvidi histoloških preiskav.

S pomočjo statistične obdelave podatkov bomo:

- vrednotili rezultate laboratorijskih testov za dokazovanje FOB
- ocenili diagnostično uporabnost laboratorijskih metod glede na endoskopske metode
- določili mejno vrednost imunokemijskega kvantitativnega testa za dokazovanje FOB, polipov ter malignih obolenj prebavil

3. MATERIALI IN METODE

3.1. ZBIRANJE VZORCEV

Preiskovanci, ki so bili napoteni v Gastroenterološko ambulantno so ob naročanju na gastroskopijo oz. kolonoskopijo prejeli navodila za pravilen odvzem blata (PRILOGA 2) ter plastično posodico z žličko, v kateri so prinesli vzorec blata v ambulantno na dan preiskave. Prav tako je zdravstveno osebje na Oddelku za bolezni prebavil bolnikom, ki so bili naročeni na gastroskopijo ali kolonoskopijo, odvzelo vzorec blata v plastično posodico z žličko ter ga shranilo v hladilnik. Posebnih navodil glede predhodne diete ter omejitve uživanja določenih zdravil (npr. aspirina, vitamina C) preiskovancem nismo posredovali, saj nas je zanimalo tudi število morebitnih lažno pozitivnih rezultatov, ki bi jih dobili z analizo z barvnim kvalitativnim testom Hema-Screen Occult Blood Test.

Vsi vzorci blata so bili do analize v plastičnih posodicah z žličko zaščiteni pred direktno sončno svetlobo in shranjeni v hladilniku. Če so vzorci blata na sobni temperaturi, se lahko koncentracija Hb v enem dnevu zniža že za 20 %, zato je pomembno, da se hranijo v hladilniku (26).

Vsi preiskovanci so poleg vzorca blata vrnili izpolnjeno navodilo za pravilen odvzem blata, s pomočjo katerega smo pridobili nekatere osnovne podatke o bolniku in odvzemu vzorca. Pred prenosom vzorca v laboratorij smo tako najprej preverili skladnost podatkov na navodilih ter posodici z blatom, ter tako preprečili zamenjavo vzorca.

Preiskovanci, ki so bili napoteni na kolonoskopijo, so ob naročanju na preiskavo dobili tudi navodila za pripravo na kolonoskopijo (PRILOGA 1). Ker je nekaj preiskovancev pričelo s pripravo na pregled še preden so odvzeli vzorec blata, je bilo njihovo blato tekoče, zato teh vzorcev blata nismo analizirali, saj bi bila izmerjena koncentracija Hb v blatu zaradi razredčitve vzorca nižja.

Analiziran je bil po en vzorec blata od vsakega preiskovanca. V primeru, da je bil isti preiskovanec ponovno naročen na endoskopsko preiskavo, novega vzorca blata nismo analizirali.

3.2. ANALIZA VZORCEV

Vsi vzorci so bili analizirani po predpisanem delovnem postopku, zaščiteni pred direktno sončno svetlobo. Vzorce blata smo obravnavali kot potencialno kužen material, zato smo pri delu uporabljali osebna zaščitna sredstva. Za analizo so bili uporabljeni vsi originalni reagenti in kontrolni vzorci, ki so bili shranjeni v originalni embalaži na ustrezni temperaturi. Vsak vzorec blata smo najprej analizirali z barvnim kvalitativnim testom Hema-Screen Occult Blood Test, podjetja Stanbio Laboratory, ki se uporablja kot presejalni test za dokaz FOB in nato še z imunokemijskim kvalitativnim testom Diaquick FOB Cassette, podjetja Dialab, ki se uporablja kot potrditveni test za dokaz FOB. Analizo blata z omenjenima testoma smo opravili v Urinskem laboratoriju Oddelka za laboratorijsko medicino. Iz praktičnih razlogov ter zaradi preprečitve kontaminacije vzorcev smo jih analizirali v digestoriju.

Običajno se mora v primeru pozitivnega presejalnega testa (t.j. barvni kvalitativni test) rezultat potrditi še s potrditvenim testom (t.j. imunokemijski kvalitativni test). V naši raziskavi smo, da bi pridobili podatke o ujemanju laboratorijskih metod, opravili potrditveni kvalitativni test tudi v primeru negativnega presejalnega kvalitativnega testa.

Po končani analizi z omenjenima testoma smo v digestoriju pod enakimi pogoji opravili še vzorčenje za imunokemijski kvantitativni test FOB Gold, podjetja Sentinel Diagnostics. Isti vzorec blata smo v testni plastični epruveti raztopili v ekstrakcijski raztopini in ga takoj prenesli v Biokemični laboratorij Oddelka za laboratorijsko medicino, kjer smo ga shranili v hladilniku. Tako pripravljene vzorce smo enkrat tedensko v seriji analizirali na avtomatiziranem biokemičnem analizatorju Modular P800 + ISE900, podjetja Hitachi/Roche Diagnostics.

3.3. BARVNI KVALITATIVNI TEST

Eden od testov, ki smo jih uporabili za dokazovanje FOB v blatu, je barvni kvalitativni test Hema-Screen Occult Blood Test, podjetja Stanbio Laboratory. Kvalitativni test pomeni, da lahko določimo, ali je Hb prisoten v vzorcu blata ali ne, ne moremo pa določiti točne koncentracije Hb. Test se v laboratorijih po Sloveniji uporablja kot presejalni test za dokazovanje FOB.

Test je sestavljen iz filter papirja na kartonski podlagi, ki je impregniran z gvajakolno smolo. Ena stran testa je namenjena aplikaciji vzorca, druga pa analizi oz. odčitavanju rezultata. Ima tudi vgrajeno notranjo kontrolo kakovosti.

3.3.1. PRINCIP METODE

Metoda je kemijska, test temelji na oksidaciji gvajakolne smole. Hb v prisotnosti H_2O_2 s svojim peroksidaznim delovanjem katalizira oksidacijo gvajakolne smole. Pri tem nastane med fenolno komponento α -gvajakolne kisline in H_2O_2 visoko konjugirana modro obarvana kinonska struktura.

Reakcija, ki poteka:

1. Hb v blatu + razvijalna raztopina: $\text{Hb} + 2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

2. Oksidacija gvajaka:

$\text{O}_2 + \text{gvajakolna smola} \rightarrow \text{modro obarvana oksidirana gvajakolna smola}$

3.3.2. MATERIAL IN OPREMA

Testni komplet vsebuje:

- 100 testov
- dve 15 mL plastični steklenički z razvijalno raztopino
- 100 lesenih palčk za vzorčenje



Slika 2: Testni komplet barvnega kvalitativnega testa

Reagent:

- razvijalna raztopina: 6% H_2O_2 ter etanol

Material in oprema:

- osebna zaščitna sredstva
- štoparica

3.3.3. DELOVNI POSTOPEK

1. Na sprednjo stran kartona smo napisali podatke o preiskovancu.
2. S priloženo palčko za vzorčenje smo na tanko nanegli vzorec blata na levo polje, blato smo vzeli s sumljivega mesta.
3. Iz drugega sumljivega mesta smo s palčko na tanko nanegli vzorec blata na desno polje.
4. Testni karton smo obrnili in po 3-5 minutah po nanosu vzorca na sled odtisa vzorca blata kanili 2 kapljici razvijalne raztopine.
5. Rezultat smo odčitali po 30 sekundah oz. v roku 2 minut.

3.3.3.1. ANALIZA KONTROLNEGA MATERIALA

Notranjo kontrolo kakovosti smo opravili tako, da smo po analizi vzorca blata na mejo med kvadratoma s + in – znakom kanili 2 kapljici razvijalne raztopine. Rezultat smo odčitali po 30 sekundah oz. v roku 2 minut. Rezultati analize so bili zanesljivi, če se je kvadrat z znakom + (pozitivna kontrola) obarval modro, kvadrat z znakom - (negativna kontrola) pa se ni spremenil.

3.3.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV

Pozitiven rezultat predstavlja vsaka najmanjša sled modre barve. Intenziteta barve je premo sorazmerna s koncentracijo Hb v vzorcu. Tudi če se sled modre pojavi npr. samo na levem polju, na desnem pa ne, je rezultat pozitiven.

3.3.5. OMEJITVE IN OPOZORILA

Na rezultate testa vpliva živalski Hb, zato se preiskovancem vsaj 2 dni pred izvedbo testa do odvzema vzorca priporoča dietna prehrana (izogibanje rdečemu mesu, zelenjavi in sadju z visoko vsebnostjo peroksidaz oz. vitamina C). Na rezultate testa vplivajo tudi nekatera zdravila (aspirin in druga protivnetna zdravila, rektalna zdravila, vitaminski pripravki, ki vsebujejo vitamin C) in prekomerno zaužitje alkohola. Odvzem vzorca blata se odsvetuje, če ima preiskovanec krvaveče hemoroide, rane na rokah ali okoli danke. Paziti je potrebno tudi, da se vzorec ne odvzame med menstruacijskim ciklom.

Vzorec blata se lahko s testom analizira takoj, lahko pa se analizira v roku 12 dni. Lažno pozitivnim rezultatom zaradi vpliva rastlinskih peroksidaz se lahko izognemo tako, da razvijalno raztopino kanemo na vzorec šele 48 ur po nanosu vzorca blata na testni karton.

Ker je modra barva ob pozitivnem rezultatu testa slabše zaznavna, moramo rezultat vedno odčitavati pri zadostni svetlobi. Prav tako moramo rezultat odčitati pravočasno, saj modra barva že po približno 3 minutah zbledi.

Test zazna 10 mg Hb/g blata. Zazna samo Hb, ki se je sprostil iz liziranih eritrocitov. Test naj ne bi zaznal krvavitve iz hemoroidov, saj takrat eritrociti niso lizirani (27).

3.4. IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST

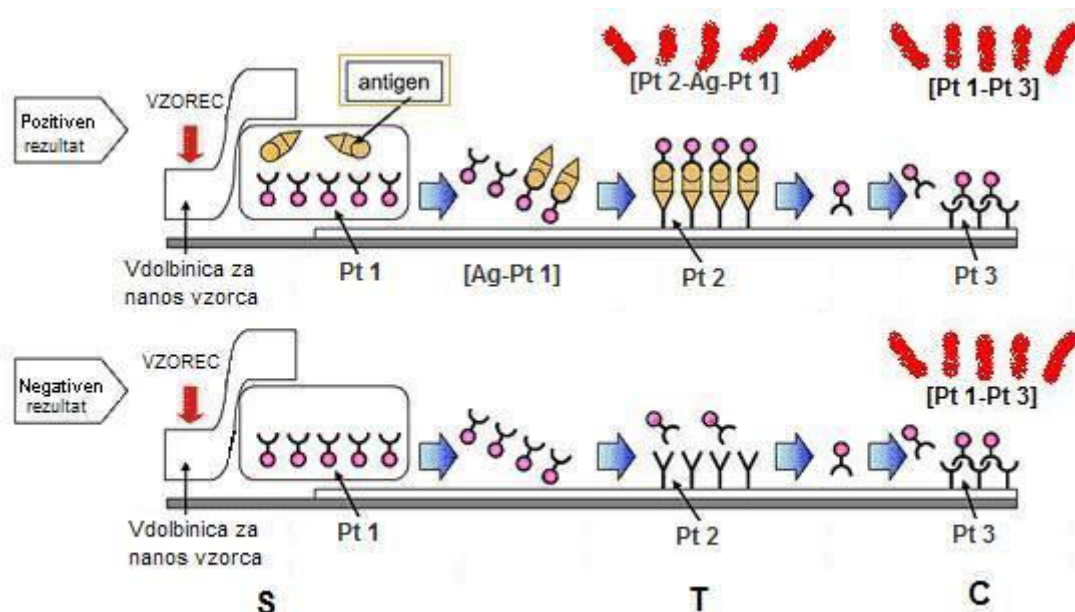
Naslednji test, ki smo ga uporabili za dokazovanje FOB v blatu, je imunokemijski kvalitativni test Diaquick FOB Cassette, podjetja Dialab. Je kvalitativni test, kar pomeni, da lahko določimo, ali je Hb prisoten v vzorcu blata ali ne, ne moremo pa določiti točne koncentracije Hb. Test se v laboratorijih po Sloveniji uporablja kot potrditveni test za dokazovanje FOB.

3.4.1. PRINCIP METODE

Metoda je imunokromatografska, po principu je podobna "sendvič" ELISA tehniki, vendar imunokemijska reakcija poteče s pomočjo kromatografije. V vdolbinici za nanos vzorca (na testni kaseti je regija označena s črko S) so prisotna monoklonska protitelesa proti humanemu Hb, označena s koloidnim zlatom (Pt 1). Ko dodamo ekstrakt vzorca blata (v katerem je Hb, ki predstavlja antigen), nastane imunski kompleks [Ag-Pt 1].

Imunski kompleks, ki skupaj s tekočim ekstraktom blata predstavlja mobilno fazo, s pomočjo kapilarnega vleka potuje po principu tankoplastne kromatografije po membrani, ki predstavlja stacionarno fazo. Membrana je na testni regiji (na testni kaseti je regija označena s črko T) prevlečena s poliklonskimi protitelesi proti humanemu Hb (Pt 2). Ta protitelesa reagirajo z antigenom prej nastalega imunskega kompleksa, nastane "sendvič" imunski kompleks [Pt 2-Ag-Pt 1], kar vidimo kot rdečo obarvano črto.

Ekstrakt vzorca blata potuje naprej po membrani, vsebuje še preostala monoklonska protitelesa proti humanemu Hb, označena s koloidnim zlatom, ki se niso vezala. Ta protitelesa se vežejo na anti-mišja IgG protitelesa (Pt 3), imobilizirana na kontrolni regiji membrane (na testni kaseti je regija označena s črko C). Nastane imunski kompleks [Pt 1-Pt 3], ki ga vidimo kot rdečo obarvano črto (10, 28).



Slika 3: Princip imunokemijskega kvalitativnega testa

3.4.2. MATERIAL IN OPREMA

Testni komplet vsebuje:

- 25 testnih kaset
- 25 testnih epruvet z ekstrakcijskim pufrom
- 25 plastičnih kapalk
- kontrolni vzorec FOB POSITIVE CONTROL, podjetja DIALAB



Slika 4: Testni komplet imunokemijskega kvalitativnega testa

Reagent:

- monoklonska protitelesa proti humanemu Hb, označena s koloidnim zlatom
- poliklonska protitelesa proti humanemu Hb
- anti-mišja IgG protitelesa

Material:

- osebna zaščitna sredstva
- stoparica

3.4.3. DELOVNI POSTOPEK

1. Zamašek na testni epruveti za pripravo ekstrakta vzorca blata smo odvili in s palčko z utori, ki je del zamaška, vzeli blato iz treh različnih sumljivih mest.
2. Nato smo zamašek s palčko privili in stresli epruveto, da se je vzorec blata zmešal z ekstrakcijskim pufrom.
3. Nato smo odvili zamašek na spodnjem delu epruvete in v vdolbinico za nanos vzorca (označena je s črko S) kanili dve kapljici (prib. 100 μL) ekstrakta vzorca blata.
4. Rezultat smo odčitali po 5 minutah, oz. v roku 5 do 10 minut.



Slika 5: Priprava ekstrakta vzorca blata s pomočjo testne epruvete

3.4.3.1. ANALIZA KONTROLNEGA MATERIALA

Test ima vgrajeno notranjo kontrolo kakovosti. Imenuje se kontrolna regija testa in je označena s črko C. Rezultati so bili zanesljivi, če se je po nanosu vzorca pojavila rdeča črta v kontrolni regiji, kar je pomenilo, da smo nanесли dovolj vzorca.

Pri odprtju vsake nove škatle s testi smo opravili tudi analizo s kontrolnim materialom FOB POSITIVE CONTROL, podjetja DIALAB. Analiza se opravi po enakem delovnem postopku, le da namesto ekstrakta vzorca blata v vdolbinico za nanos vzorca (S) kanemo 2 kapljici kontrolnega vzorca. Rezultati so bili zanesljivi, če sta se pojavili dve rdeči črti, ena v kontrolni regiji (C) in druga v testni regiji testa (T).

3.4.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV

Pozitiven rezultat pomeni, da se pojavita dve rdeči črti, ena v kontrolni regiji (C) in druga v testni regiji testa (označena s črko T). Intenziteta rdeče barve črte v testni regiji je premo sorazmerna s koncentracijo Hb v vzorcu. Tudi če je rdeča črta v testni regiji komaj vidna je test pozitiven. Test je negativen, če se rdeča črta pojavi samo v kontrolni regiji testa (C).



Slika 6: Negativen in pozitiven rezultat imunokemijskega kvalitativnega testa

3.4.5. OMEJITVE IN OPOZORILA

Za testiranje se preiskovancem ni potrebno držati specifične diete, saj prehrana (živalski Hb ter rastlinske peroksidaze) ne vpliva na rezultat. Odvzem vzorca blata se odsvetuje, če ima preiskovanec krvaveče hemoroide, rane na rokah ali okoli danke. Paziti je potrebno tudi, da se vzorec ne odvzame med menstruacijskim ciklom. Prav tako se morajo preiskovanci vsaj 2 dni pred odvzemom blata izogniti prekomernemu zaužitju alkohola, aspirina ter ostalih protivnetnih zdravil.

Če hranimo ekstrakt blata na sobni temperaturi ga moramo analizirati v 5. dneh od odvzema, lahko pa ga shranimo na temperaturi 2-8°C za največ 10 dni. Ekstrakt vzorca blata je v testni epruveti stabilen do 6 mesecev na -20°C.

Analitična občutljivost testa je 40 ng/mL Hb oz. 5 µg Hb/g blata in je hkrati mejna vrednost. Test je specifičen na humani Hb, ki se je sprostil iz liziranih eritrocitov. Test je bolj specifičen za detekcijo krvavitev iz spodnjega dela prebavil zaradi razgradnje Hb v prebavilih. Vzorci, ki vsebujejo do 1 mg/mL Hb, še dajo pozitiven rezultat (29).

3.5. IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST

Za dokazovanje FOB v blatu smo uporabili tudi novejši imunokemijski kvantitativni test FOB Gold, podjetja Sentinel Diagnostics. Je kvantitativni test, kar pomeni, da lahko določimo točno koncentracijo Hb v blatu. Možna je avtomatizacija testa na biokemičnih analizatorjih.

3.5.1. PRINCIP METODE

Metoda je imunokemijska, temelji na aglutinacijski reakciji antigena in protiteles na lateks delcih. Antigen predstavlja humani Hb v ekstraktu vzorca blata, poliklonska protitelesa proti humanemu Hb pa so vezana na lateks delce v reagentu. Aglutinacijo izmerimo turbidimetrično, kar pomeni, da merimo upad jakosti svetlobe, ki jo suspenzija prepušča, zaradi sipanja svetlobe. To pomeni, da se absorbanca suspenzije vzorca, ki jo merimo pri valovni dolžini 570 nm, poveča in je premo sorazmerna s koncentracijo humanega Hb v vzorcu blata.

3.5.2. MATERIAL IN OPREMA

Testni komplet vsebuje:

- 100 testnih epruvet FOB Gold Tube z 1,7 mL ekstrakcijskega pufru
- 2 reagenta, pripravljena za uporabo
- liofiliziran kontrolni material FOB Gold Control 1 (2 x 2 mL)
- liofiliziran kontrolni material FOB Gold Control 2 (2 x 2 mL)
- liofiliziran kalibrator FOB Gold Calibrator (2 x 2 mL)



Slika 7: Testni komplet imunokemijskega kvantitativnega testa

Reagent:

- Reagent 1: Good-ov pufer (pH = 8,0), konzervans natrijev azid (manj kot 0,1 %)
- Reagent 2: suspenzija lateks delcev prevlečenih s poliklonskimi Pt proti humanim Hb (pH = 8,0), konzervans natrijev azid (manj kot 0,1 %)

Material in oprema:

- osebna zaščitna sredstva
- polavtomatske pipete Transferpette, podjetja Brand
- plastičnimi nastavki za pipete za enkratno uporabo
- plastične posodice

- plastična stojala za vzorce
- avtomatiziran biokemični analizator
- fiziološka raztopina (0,9 % NaCl), podjetja Roche
- destilirana voda

3.5.2.1. BIOKEMIČNI ANALIZATOR

Pripravljene ekstrakte vzorca blata smo analizirali na avtomatiziranem biokemičnem analizatorju Modular P800 + ISE900, podjetja Hitachi/Roche Diagnostics. Analizator uporablja ion-selektivne elektrode ter spektrofotometrični in turbidimetrični princip merjenja. V analizator se epruvete z vzorci dajejo vložene v plastična stojala, analizator pa ima tudi posebno STAT pozicijo za urgentne vzorce ter vzorce brez črtne kode. Analizator je večkanalni (hkrati lahko opravlja več analiz v istem vzorcu), selektivni (za vsak vzorec lahko izberemo nabor analiz, ki se bodo izvedle) in diskretni (oponaša ročno delo). Kivete, kjer potekajo reakcije, so termostatisirane na 37°C. Reagenti, ki se lahko uporabljajo, so enokomponentni ali dvokomponentni.

3.5.3. DELOVNI POSTOPEK

3.5.3.1. KALIBRACIJA

Za kalibracijo smo uporabili kalibrator FOB Gold Calibrator, ki je vseboval 767 ng/mL humanega Hb. Liofiliziran kalibracijski material smo raztopili z 2 mL destilirane vode ter pripravili kalibracijske raztopine (delovne kalibratorje). Kalibracija je bila stabilna vse tri mesece praktičnega dela.

Delovne kalibratorje smo pripravili po spodnji shemi.

Tabela VII: Shema za pripravo delovnih kalibratorjev

DELOVNI KALIBRATORJI	1	2	3	4	5	6
FOB Gold Calibrator kalibracijska raztopina	500 µL	500 µL	-	-	-	-
Fiziološka raztopina	-	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL
Delovni kalibrator 2	-	-	500 µL	-	-	-
Delovni kalibrator 3	-	-	-	500 µL	-	-
Delovni kalibrator 4	-	-	-	-	500 µL	-
Faktor redčenja	-	1:2	1:4	1:8	1:16	-
Koncentracija Hb [ng/ml]	767	384	192	96	48	0

3.5.3.2. ANALIZA KONTROLNEGA MATERIALA

Pred meritvijo koncentracij humanega Hb v ekstraktih vzorca blata smo opravili analize kontrolnega materiala dveh različnih koncentracij, FOB Gold Control 1 in 2.

Tabela VIII: Dovoljeno odstopanje kontrolnega materiala za imunokemijski kvantitativni test

KONTROLNI VZOREC	KONTROLNI INTERVAL [ng/mL]
FOB Gold Control 1	60 – 75 – 90
FOB Gold Control 2	236 – 295 – 354

Liofiliziran kontrolni material smo raztopili z 2 mL destilirane vode, razdelili v plastične posodice s pokrovom po 200 µL ter ga zamrznili na -20°C. Pred vsako analizo smo odmrznili kontrolna vzorca obeh koncentracij, ju napipetirali v plastično posodico ter analizirali na analizatorju. Če so bili rezultati analize obeh kontrolnih vzorcev znotraj kontrolnega intervala, je pomenilo, da so rezultati zanesljivi in smo lahko nadaljevali z analizo vzorcev.

3.5.3.3. ANALIZA VZORCEV

Priprava ekstrakta vzorca blata:

1. Zamašek na testni epruveti za pripravo ekstrakta vzorca blata smo odvili in s palčko z utori, ki je del zamaška, vzeli blato iz treh različnih sumljivih mest.
2. Zamašek s palčko smo nato privili in stresli epruveto, da se je vzorec blata zmešal z ekstrakcijskim pufrom.
3. Na epruvete smo vpisali zaporedno številko vzorca ter datum priprave ekstrakta vzorca blata. Tako smo preprečili zamenjavo vzorca ter imeli pregled nad tem, koliko časa je epruveta že shranjena v hladilniku.
4. Vzorce smo nato prenesli v hladilnik, kjer smo jih hranili do analize, ki smo jo opravili enkrat tedensko. Za popolno raztopitev blata smo testno epruveto obrnili na glavo in jo v hladilniku pustili vsaj 60 minut pred analizo, tako da so se tudi morebitni delci neraztopljenega blata posedli na dno.

Analiza:

Analizo smo opravili enkrat tedensko zato, da smo prihranili reagente in kontrolni material. Proizvajalec zagotavlja, da so ekstrakti vzorci blata v testni epruveti stabilni 1 teden na temperaturi 2-8°C, zaščiteni pred direktno sončno svetlobo. Reagente smo hranili v hladilniku, pred analizo smo jih segreli na sobno temperaturo in jih vstavili v analizator.

1. Zamašek na spodnjem delu epruvete smo odmašili in pipetirali 200 μL suspenzije v plastično posodico. Proizvajalec sicer navaja, da se lahko testne epruvete postavijo tudi direktno v plastična stojala in le-ta v analizator, vendar smo vzorce raje pipetirali v plastične posodice, da bi preprečili morebitno zamašitev analizatorja.
2. Ker plastične posodice niso bile opremljene s črtnimi kodami smo jih v sistem analizatorja vpisali ročno, nakar smo analizator vklopili.
3. Analizator je v merilno kiveto pipetiral 12 μL vzorca ter 125 μL reagenta 1.
4. Po 300 sekundah je dodal 125 μL reagenta 2.
5. Po 50-70 sekundah je analizator izmeril absorbanco pri 570 nm.
6. Po 90-110 sekundah je analizator ponovno izmeril absorbanco pri 570 nm.
7. Rezultat smo odčitali z monitorja analizatorja po približno 10 minutah od začetka analize.

3.5.4. INTERPRETACIJA REZULTATOV

Pozitiven rezultat pomeni koncentracijo humanega Hb v vzorcu blata nad določeno vrednostjo. To vrednost lahko določimo sami, pravimo ji mejna vrednost. Tako si lahko vsak laboratorij sam postavi svojo mejno vrednost glede na namen dokazovanja prikritih krvavitev v blato.

Proizvajalec priporoča za presejanje prebivalstva mejno vrednost 100 ng/mL oz. 17 $\mu\text{g/g}$ blata, za diagnostiko adenomov in malignih obolenj pri simptomatskih preiskovancih pa priporoča mejno vrednost 50 ng/mL oz. 8,5 $\mu\text{g/g}$ blata.

Proizvajalec navaja, da daje mejna vrednost 50 ng/mL približno 8 % pozitivnih rezultatov, medtem ko daje mejna vrednost 100 ng/mL približno 5 % pozitivnih rezultatov.

Merilno območje testa je bilo 14 do 767 ng/mL. Ekstrakte vzorcev blata, ki so imeli koncentracijo humanega Hb višjo od 767 ng/mL, smo redčili v razmerju 1:10 s fiziološko raztopino, ponovno izmerili koncentracijo in pomnožili rezultat z 10. Ker so nekateri vzorci imeli zelo visoke koncentracije humanega Hb, smo jih po istem principu redčili še v razmerju 1:30 in 1:100.

3.5.5. OMEJITVE IN OPOZORILA

Reagenti, kalibrator in kontrolni vzorci vsebujejo manjše količine konzervansa natrijevega azida (NaN_3), ki je toksičen, zato moramo biti pri delu z njimi previdni in uporabljati osebna zaščitna sredstva.

Za testiranje se preiskovancem ni potrebno držati specifične diete, saj prehrana (živalski Hb ter rastlinske peroksidaze) ne vpliva na rezultat. Odvzem vzorca blata se odsvetuje, če ima preiskovanec krvaveče hemoroide, rane na rokah ali okoli danke. Paziti je potrebno tudi, da se vzorec ne odvzame med menstruacijskim ciklom. Prav tako se morajo preiskovanci vsaj 2 dni pred odvzemom blata izogniti prekomernemu zaužitju alkohola, aspirina ter ostalih protivnetnih zdravil.

Tabela IX: Možne interference pri imunokemijskem kvantitativnem testu

Interferenca	Koncentracija
Bilirubin	nad 200 µg/mL
Askorbinska kislina	nad 90 µg/mL
Lipidi	nad 900 µg/mL
BSA (goveji serumski albumin)	nad 10 g/dL
BaSO ₄	nad 50 µg/mL
Živalski Hb	nad 2,5 µg/mL

Ker ima test visoko analitično občutljivost ter se uporablja na avtomatiziranem biokemičnem analizatorju, je potrebno preveriti, da se pred analizo s testom za dokaz FOB na analizatorju niso analizirali hemolizirani vzorci ter drugi vzorci, ki vsebujejo sledove krvi.

Test je bolj specifičen za detekcijo krvavitev iz spodnjega dela prebavil zaradi razgradnje Hb v prebavilih. Občutljivost testa je meja detekcije (LOD), to je 14 ng/mL oz. 2,38 µg/g blata in ne mejna vrednost kot pri ostalih dveh testih (30).

3.6. PRIDOBIVANJE REZULTATOV OSTALIH DIAGNOSTIČNIH PREISKAV

S pomočjo Laboratorijskega informacijskega sistema (LIS) smo pridobili naslednje podatke:

- Koncentracija Hb ter številčna koncentracija eritrocitov v krvi; parametra sta bila izmerjena v Hematološkem laboratoriju Oddelka za laboratorijsko medicino na hematološkem analizatorju Advia 2120 Hematology System, podjetja Siemens.
- Koncentracija Fe v serumu; izmerjena v Biokemičnem laboratoriju Oddelka za laboratorijsko medicino na biokemičnem analizatorju Modular P800 + ISE900, podjetja Hitachi/Roche Diagnostics.
- Koncentracije tumorskih označevalcev CEA, CA 19-9, AFP, CA 15-3 in CA 72-4 v serumu; parametri so bili izmerjeni v Imunološkem laboratoriju Oddelka za laboratorijsko medicino na imunokemičnem analizatorju Cobas e601, podjetja Roche Diagnostics.

S pomočjo Bolnišničnega integriranega računalniško podprtega informacijskega sistema (BIRPIS) smo pridobili izvide:

- endoskopskih preiskav (gastroskopij in kolonoskopij), opravljenih pri preiskovancih,
- histoloških preiskav vzorcev tkiv, odvzetih med endoskopskimi preiskavami.

3.7. STATISTIČNE METODE

Statistično analizo smo opravili s pomočjo statističnega programa SPSS Statistics 17.0. Za vrednotenje rezultatov testov za dokazovanje FOB smo uporabili Kappa test ter Kruskal-Wallis test. Za ocenitev diagnostične uporabnosti testov za dokazovanje FOB ter za določitev mejne vrednosti imunokemijskega kvantitativnega testa smo izdelali Receiver operating characteristic (ROC) krivuljo.

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

V raziskavo smo vključili 83 preiskovancev, pri katerih je bila opravljena endoskopska preiskava. Analizirali smo 83 vzorcev blata z vsemi tremi testi za dokazovanje FOB. Pridobili smo tudi izvide endoskopskih preiskav vseh preiskovancev ter izvide histoloških preiskav tistih preiskovancev, pri katerih je bil med endoskopsko preiskavo odvzet material za histološke preiskave. Žal pa pri vseh preiskovancih niso bile opravljene laboratorijske preiskave krvi, zato statistična primerjava s temi podatki ni mogoča in lahko ovrednotimo le posamezne primere.

4.1. OPIS PREISKOVANCEV

4.1.1. SPOL IN STAROST PREISKOVANCEV

V raziskavo smo vključili 46 moških in 37 žensk. Povprečna starost preiskovancev je bila 58 let, v razponu od 17 do 88 let. Povprečna starost moških je bila 59 let, povprečna starost žensk pa 57 let. Kar 72 % preiskovancev je bilo starejših od 50 let, kar potrjuje dejstvo, da pogostost obolenj prebavi s starostjo narašča.

4.2. REZULTATI LABORATORIJSKIH PREISKAV KRVİ

4.2.1. SLABOKRVNI PREISKOVANCI

Podatke o koncentraciji Hb ter številčni koncentraciji eritrocitov v krvi smo pridobili za 58 preiskovancev.

Tabela X: Število preiskovancev z normalnimi in znižanimi vrednostmi koncentracije Hb ter številčne koncentracije eritrocitov v krvi

KONCENTRACIJA Hb TER ŠTEVILČNA KONCENTRACIJA ERITROCITOV V KRVİ	ŠTEVILO PREISKOVANCEV	DELEŽ GLEDE NA VSE PREISKOVANCE (N=83)
V okviru referenčnih vrednosti	24	29 %
Znižane vrednosti	34	41 %
SKUPAJ	58	70 %

Serumska koncentracija Fe je bila izmerjena le pri 24 (29 %) preiskovancih. Od teh 24 preiskovancev je imelo 10 preiskovancev znižano tudi koncentracijo Hb in številčno koncentracijo eritrocitov v krvi.

23 (28 %) preiskovancev ni imelo opravljenih nobenih laboratorijskih analiz krvi, zato so zgoraj navedeni podatki zgolj orientacijski.

Če kot slabokrvne opredelimo tiste preiskovance, ki so imeli koncentracijo Hb in številčno koncentracijo eritrocitov v krvi pod mejo referenčnih vrednosti ter zanemarimo manjkajoče podatke, je slabokrvnih približno polovica vseh preiskovancev.

4.2.2. TUMORSKI OZNAČEVALCI

Podatke o koncentracijah tumorskih označevalcev (TO) CEA, CA 19-9, AFP, CA 15-3 in CA 72-4 v serumu smo pridobili za 25 preiskovancev. Pri nekaterih preiskovancih so bile določene serumske koncentracije le posameznih TO.

Tako je imelo serumske koncentracije TO v okviru referenčnih vrednosti 20 preiskovancev, 5 preiskovancev pa je imelo zvišane koncentracije vsaj enega TO.

Tabela XI: Preiskovanci z zvišano koncentracijo vsaj enega tumorskega označevalca

ZAP. ŠT.	IZVID ENDOSKOPSKE PREISKAVE	IZVID HISTOLOŠKE PREISKAVE	KONCENTRACIJE TO V SERUMU
29	0	0	CA 19-9 = 1,6 [do 37] U/mL CEA = 9,6 H [do 4,7] µg/L
52	1	1	CA 19-9 = 9,0 [do 37] U/mL CEA = 11,0 H [do 4,7] µg/L
59	0	0	AFP = 1,3 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 15,3 [do 30] U/mL CA 19-9 = 18,7 [do 37] U/mL CEA = 4,8 H [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 1,4 [do 6,9] U/mL
64	1	1	AFP = 2,8 [do 6,7] µg/L CA 19-9 = 2,3 [do 37] U/mL CA 72-4 = 18,4 H [do 6,9] U/mL
73	1	1	AFP = 2,6 [do 6,7] µg/L CA 19-9 = 77,0 H [do 37] U/mL CEA = 193,3 H [do 4,7] µg/L CA 72-4 = >300 H [do 6,9] U/mL

(0 = negativen izvid endoskopske in histološke preiskave - benigno obolenje prebavil, 1 = pozitiven izvid endoskopske in histološke preiskave - maligno obolenje prebavil, **H** = zvišana koncentracija TO)

Preiskovanca z zap. št. 29 in 59 sta imela zvišano koncentracijo CEA, vendar nimata malignega obolenja prebavil. Ker so CEA ter tudi ostali TO slabo organ specifični, je lahko pri teh dveh preiskovancih šlo za katero drugo maligno obolenje ali bolezensko stanje. Za diagnostiko RDČD sta najpomembnejša TO CEA in CA 19-9. Pri preiskovancu z zaporedno številko 52 je bilo s pomočjo endoskopske in histološke preiskave diagnosticirano maligno obolenje danke, koncentracije CEA so zvišane, koncentracije CA 19-9 pa so v okviru referenčnih vrednosti.

Pri preiskovancu z zaporedno številko 64 je bilo diagnosticirano maligno obolenje želodca. Izmerjene so bile koncentracije AFP, CA 19-9 ter CA 72-4, katerih koncentracije so lahko zvišane tudi pri malignem obolenju želodca, vendar je bila zvišana le koncentracija CA 72-4, ki je še najbolj specifičen za maligno obolenje želodca, kar ponovno nakazuje na slabo specifičnost TO.

Pri preiskovancu z zaporedno številko 73 je bilo diagnosticirano maligno obolenje debelega črevesa. Močno so bile zvišane koncentracije CA 19-9, CEA in CA 72-4, ki se lahko zvišajo zaradi raka na debelem črevesu, AFP, ki pa je neznačilen za RDČD, je bil v okviru referenčnih vrednosti.

Pri dveh preiskovancih (zap. št. 54 in 82) je bilo s pomočjo endoskopske in histološke preiskave diagnosticirano maligno obolenje, koncentracije TO pa so v okviru referenčnih vrednosti, kar pa sicer ne izključuje malignega obolenja.

Kljub malemu številu preiskovancev s zvišanimi koncentracijami TO lahko opazimo, da zaradi slabe specifičnosti res niso najbolj uporabni za odkrivanje ali identifikacijo malignih obolenj prebavil. Zvišane koncentracije samo nakazujejo na prisotnost malignega obolenja. Še kar uporaben za diagnostiko RDČD pa je CEA, ki je zvišan pri več kot 65 % bolnikov z RDČD, zvišan je bil namreč tudi pri dveh preiskovancih, ki sta imela RDČD.

4.3. REZULTATI DOKAZOVANJA PRIKRITE KRVAVITVE V BLATO

Rezultate analiz vzorcev blata s testi za dokazovanje FOB smo zbrali v tabelah, ki so v PRILOGI 3. Preiskovance smo glede na rezultate teh testov razvrstili v šest skupin, kot je razvidno iz tabele XIII. Pri imunokemijskem kvantitativnem testu smo uporabili mejno vrednost 55 ng/mL. Določitev te mejne vrednosti je opisana v poglavju 4.3.1. Testi, ki smo jih uporabili, imajo različne analitične občutljivosti.

Tabela XII: Analitična občutljivost testov za dokazovanje FOB

TEST	ANALITIČNA OBČUTLJIVOST
BARVNI KVALITATIVNI TEST	10 mg Hb/g blata
IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	5 µg Hb/g blata (40 ng/mL Hb)
IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	2,38 µg/g blata (14 ng/mL Hb)

Barvni kvalitativni test ima kar tisočkrat slabšo analitično občutljivost kot imunokemijska testa, 10 mg Hb/g blata se zdi zelo visoka koncentracija, prav tako se nam je (pre)visoka zdela vrednost fiziološke izgube krvi z blatom (2,42 mg Hb/g blata), saj naj bi se analitična občutljivost testov nanašala na to vrednost (20, 21). V literaturi smo zasledili, da se imunokemijski testi, ki zaznajo že fiziološko izgubo krvi, ne bi smeli uporabljati, kar pa je v nasprotju z večino imunokemijskih testov, ki so na tržišču. Če opravimo preprost izračun s podatki, da je povprečna koncentracija Hb v krvi približno 150 g/L, da izločimo približno 200 g blata na dan ter da izgubimo približno 2 mL krvi z blatom na dan, dobimo podatek, da je fiziološka izguba krvi z blatom približno 1,5 mg Hb/g blata, kar se ujema s podatki, navedenimi v strokovni literaturi.

Negativen rezultat testa smo v tabelah v PRILOGI 3 opredelili kot 0, pozitiven rezultat testa pa kot 1.

- Pozitiven rezultat barvnega kvalitativnega testa ima 26 (31 %) preiskovancev
- Pozitiven rezultat imunokemijskega kvalitativnega testa ima 38 (46 %) preiskovancev
- Pozitiven rezultat imunokemijskega kvantitativnega testa ima 18 (22 %) preiskovancev

Ker smo testirali simptomatske preiskovance je bil delež pozitivnih endoskopskih rezultatov višji kot bi bil, če bi testirali asimptomatske preiskovance.

Tabela XIII: Razvrstitev preiskovancev v skupine glede na rezultate dokazovanja FOB

SKUPINA	BARVNI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST
1	NEG	NEG	< 55 (NEG)
2	NEG	POZ	< 55 (NEG)
3	NEG	POZ	> 55 (POZ)
4	POZ	POZ	< 55 (NEG)
5	POZ	POZ	> 55 (POZ)
6	POZ	NEG	< 55 (NEG)

Tabela XIV: Število ter delež preiskovancev v posamezni skupini

SKUPINA	ŠTEVILO PREISKOVANCEV	DELEŽ PREISKOVANCEV
1	40	48 %
2	11	13 %
3	6	7 %
4	9	11 %
5	12	15 %
6	5	6 %
SKUPAJ	83	100 %

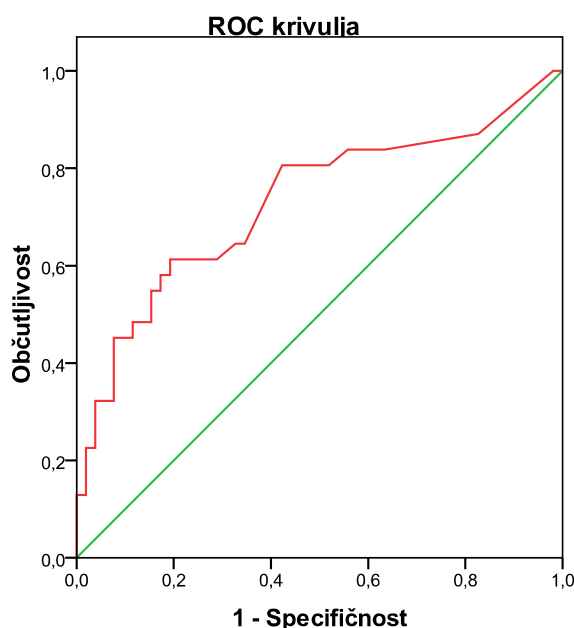
Najbolj številna je skupina 1, ki predstavlja približno polovico vseh preiskovancev. V tej skupini je večina preiskovancev zdravih ali pa imajo blažja benigna obolenja prebavil. Po številu preiskovancev ji sledi skupina 5, v kateri so preiskovanci, pri katerih smo dokazali FOB z vsemi tremi laboratorijskimi testi. Značilnost skupine 6 so pričakovani lažno pozitivni rezultati barvnega kvalitativnega testa, saj preiskovanci pred izvedbo tega testa niso dobili navodil o omejitvi določene hrane ter zdravil, ki vplivajo na rezultat testa. Različne raziskave so pokazale, da testi, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole, dajo pozitiven rezultat pri 3-5 % preiskovancev v presejalnih programih, lažno pozitivnih rezultatov pa naj bi bilo 1-2% (27). Lažno pozitivnim rezultatom zaradi vpliva rastlinskih peroksidaz bi se lahko izognili tako, da bi razvijalno raztopino kanili na vzorec šele 48 ur po nanosu vzorca blata na testni karton, kar so potrdile številne raziskave (27, 31, 32).

Zanimivi so tudi izsledki raziskave, kjer so s kvantitativnim imunokemijskim testom, z mejno vrednostjo 75 ng/mL, dokazali, da je pri preiskovancih, ki so jemali aspirin in druga protivnetna zdravila, diagnostična občutljivost testa celo večja (66,7 %), kot pri preiskovancih, ki teh zdravil niso jemali (51,2 %). Diagnostična specifičnost je ostala približno enaka. To pomeni, da omejitve glede jemanja določenih zdravil pri imunokemijskih testih niso potrebne (33).

4.3.1. DOLOČITEV MEJNE VREDNOSTI IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA

Mejna vrednost testa je vrednost, s pomočjo katere smo opredelili, da je rezultat pozitiven ali negativen. Pri barvnem kvalitativnem testu in imunokemijskem kvalitativnem testu je mejna vrednost enaka občutljivosti testa, pri imunokemijskem kvantitativnem testu pa je mejna vrednost nastavljiva. Želeli smo postaviti takšno mejno vrednost, s katero bi zajeli kar največ preiskovancev s polipi, endoskopsko vidnimi krvavitvami in malignimi obolenji, diagnosticiranimi s pomočjo endoskopske preiskave. Proizvajalec priporoča za presejanje asimptomatskega prebivalstva mejno vrednost 100 ng/mL oz. 17 µg/g blata, za bolj občutljivo diagnostiko adenomov in malignih obolenj pri simptomatskih preiskovancih pa priporoča mejno vrednost 50 ng/mL oz. 8,5 µg/g blata. Proizvajalec navaja, da mejna vrednost 50 ng/mL pri presejanju asimptomatske populacije da približno 8 % pozitivnih rezultatov, medtem ko mejna vrednost 100 ng/mL da približno 5 % pozitivnih rezultatov (30).

S pomočjo statističnega programa SPSS Statistics 17.0 smo izdelali Receiver operating characteristic (ROC) krivuljo (slika 8). Kot testno spremenljivko smo v program vnesli koncentracije humanega Hb v blatu, izmerjene z imunokemijskim kvantitativnim testom. Kot obolele smo opredelili tiste preiskovance, pri katerih so bili s pomočjo endoskopije diagnosticirani polipi, maligno obolenje ali pa so bile med endoskopijo vidne krvavitve.



Slika 8: ROC krivulja za določitev mejne vrednosti imunokemijskega kvantitativnega testa

S pomočjo ROC krivulje lahko izberemo najbolj ustrezno mejno vrednost, takšno, s katero bi dobili najboljšo diagnostično občutljivost ob čim višji diagnostični specifičnosti.

Tabela XV: Diagnostične občutljivosti in specifičnosti glede na posamezno mejno vrednost imunokemijskega kvantitativnega testa

MEJNA VREDNOST [ng/mL]	OBČUTLJIVOST (Y os)	1 - SPECIFIČNOST (X os)	SPECIFIČNOST
9,50	0,645	0,327	0,673
10,50	0,613	0,288	0,712
11,50	0,613	0,231	0,769
12,50	0,613	0,212	0,788
13,50	0,613	0,192	0,808
15,00	0,581	0,192	0,808
16,50	0,581	0,173	0,827
19,50	0,548	0,173	0,827
23,00	0,548	0,154	0,846
26,00	0,516	0,154	0,846
29,00	0,484	0,154	0,846
30,50	0,484	0,135	0,865
31,50	0,484	0,115	0,885
42,00	0,452	0,115	0,885
52,50	0,452	0,096	0,904
55,00	0,452	0,077	0,923
64,00	0,419	0,077	0,923
75,00	0,387	0,077	0,923
78,50	0,355	0,077	0,923
100,00	0,323	0,077	0,923
130,50	0,323	0,058	0,942
143,00	0,323	0,038	0,962
179,50	0,290	0,038	0,962

Namesto mejne vrednosti 100 ng/mL, ki jo proizvajalec predlaga za presejanje asimptomatskega prebivalstva, smo se odločili za mejno vrednost 55 ng/mL, saj se ob enaki diagnostični specifičnosti testa (92,3 %) diagnostična občutljivost testa poveča za dobrih 10 % (iz 32,3 % na 45,2 %).

V raziskavi, ki so jo opravili na Škotskem, so dobili podobne rezultate. Z enakim kvantitativnim imunokemijskim testom so dokazovali FOB pri 376 preiskovancih. Kot je razvidno iz tabele XVI je bila diagnostična občutljivost testa v primerjavi z našo raziskavo približno 10 % višja, na račun 10 % nižje specifičnosti. Kot optimalno mejno vrednost so vzeli 27 ng/mL (34).

Tabela XVI: Diagnostične občutljivosti in specifičnosti glede na posamezno mejno vrednost imunokemijskega kvantitativnega testa

MEJNA VREDNOST [ng/mL]	OBČUTLJIVOST	SPECIFIČNOST
25	0,742	0,671
50	0,596	0,799
75	0,532	0,842
100	0,468	0,872

Več kot je lažno negativnih rezultatov, slabša je diagnostična občutljivost in več kot je lažno pozitivnih rezultatov, slabša je diagnostična specifičnost. Ker je koncentracijo humanega Hb v blatu izmerjeno z imunokemijskim kvantitativnim testom med 50 in 100 ng/mL imelo le 6 preiskovancev, ni velikih razlik v diagnostični občutljivost in specifičnosti v tem območju.

Tabela XVII: Preiskovanci, pri katerih je bila konc. Hb v blatu izmerjena z imunokemijskim kvantitativnim testom med 50 in 100 ng/mL

ZAP. ŠT.	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST [ng/mL]	IZVID ENDOSKOPSKE PREISKAVE
50	52	0
51	53	0
52	56	1 (maligno obolenje danke)
53	72	1 (polipi)
54	79	1 (maligno obolenje požiralnika)
67	78	1 (polip)

(0 = negativen izvid endoskopske preiskave - brez obolenja ali benigno obolenje prebavil, 1 = pozitiven izvid endoskopske preiskave - maligno obolenje prebavil, prisotnost polipov ali endoskopsko vidne krvavitve)

Iz tabele XVII je razvidno, da z mejno vrednostjo 55 ng/mL, dobimo negativen rezultat testa pri dveh preiskovancih, ki imata endoskopski izvid negativen, rezultat testa je torej resnično negativen. Pri ostalih štirih preiskovancih dobimo rezultat testa pozitiven, kar pomeni, da bi bili v primeru presejanja populacije s tem testom napoteni na nadaljnje diagnostične (endoskopske) preiskave, rezultat testa je tako resnično pozitiven.

4.3.2. NATANČNOST IMUNOKEMIJSKEGA KVANTITATIVNEGA TESTA

Natančnost oz. nenatančnost imunokemijskega kvantitativnega testa smo opredelili s ponovljivostjo med serijami in znotraj serije, uporabili smo rezultate analiz kontrolnih vzorcev. Ponovljivost med serijami opisuje, kako se sipajo rezultati analiz istega kontrolnega vzorca v različnih serijah. Ponovljivost znotraj serije nam pove, kako se sipajo rezultati analiz istega kontrolnega vzorca v seriji.

Tabela XVIII: Ponovljivost med serijami, analiziran kontrolni vzorec FOB Gold Control 1

ZAP. ŠT.	KONCENTRACIJA [ng/mL]
1.	84
2.	80
3.	78
4.	76
5.	76
6.	76
7.	74
8.	70
9.	71
10.	68
11.	64
12.	63
N = 12	X prečno = 73,3 ng/mL SD = 6,3 ng/mL KV = 8,6%
VREDNOSTI, KI JIH NAVAJA PROIZVAJALEC	
N = 20	X prečno = 100,7 ng/mL SD = 4,1 ng/mL KV = 4,1 %

(X prečno = povprečje rezultatov, SD = standardni odklon, KV = koeficient variacije)

Tabela XIX: Ponovljivost med serijami, analiziran kontrolni vzorec FOB Gold Control 2

ZAP. ŠT.	KONCENTRACIJA [ng/mL]
1.	346
2.	342
3.	329
4.	332
5.	332
6.	319
7.	304
8.	298
9.	288
10.	268
11.	267
12.	264
N = 12	X prečno = 307,4 ng/mL SD = 30,2 ng/mL KV= 9,8 %
VREDNOSTI, KI JIH NAVAJA PROIZVAJALEC	
N = 20	X prečno = 384,9 ng/mL SD = 13,1 ng/mL KV= 3,4 %

(X prečno = povprečje rezultatov, SD = standardni odklon, KV = koeficient variacije)

Koeficienti variacije, ki smo jih izračunali so sicer višji od tistih, ki jih je navedel proizvajalec, vendar vseeno ne presegajo 10 %, kar pomeni, da je ponovljivost rezultatov med serijami dobra.

Tabela XX: Ponovljivost v seriji, analiziran kontrolni vzorec FOB Gold Control 1

ZAP. ŠT.	KONCENTRACIJA [ng/mL]
1.	63
2.	62
3.	65
4.	64
5.	64
6.	63
7.	66
8.	64
9.	65
10.	63
N = 10	X prečno = 63,9 ng/mL SD = 1,2 ng/mL KV = 1,9 %
VREDNOSTI, KI JIH NAVAJA PROIZVAJALEC	
N = 20	X prečno = 101,9 ng/mL SD = 2,5 ng/mL KV = 2,4 %

(X prečno = povprečje rezultatov, SD = standardni odklon, KV = koeficient variacije)

Tabela XXI: Ponovljivost v seriji, analiziran kontrolni vzorec FOB Gold Control 2

ZAP. ŠT.	KONCENTRACIJA [ng/mL]
1.	264
2.	260
3.	264
4.	263
5.	271
N = 5	X prečno = 264,4 ng/mL SD = 4,0 ng/mL KV = 1,5 %
VREDNOSTI, KI JIH NAVAJA PROIZVAJALEC	
N = 20	X prečno = 376,6 ng/mL SD = 7,9 ng/mL KV = 2,1

(X prečno = povprečje rezultatov, SD = standardni odklon, KV = koeficient variacije)

Koeficienti variacije so manjši od 5 %, kar pomeni, da je ponovljivost rezultatov v seriji zelo dobra, koeficienti variacije so podobni tistim, ki jih navaja proizvajalec.

4.3.3. UJEMANJE REZULTATOV TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB

Podatke o ujemanje rezultatov laboratorijskih testov za dokazovanje FOB smo vrednotili na tri načine. Izračunali smo deleže ujemanja posameznih testov med seboj ter uporabili Kappa test in Kruskal-Wallis test.

4.3.3.1. DELEŽI UJEMANJA POSAMEZNIH TESTOV MED SEBOJ

Če bi dva testa pri vsakem preiskovancu dala enak rezultat (pozitiven ali negativen), bi bilo njuno ujemanje 100 %.

Tabela XXII: Deleži ujemanja rezultatov testov med seboj

	BARVNI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST
BARVNI KVALITATIVNI TEST	-	73,5 %	75,9 %
IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	73,5 %	-	75,9 %
IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	75,9 %	75,9 %	-

Deleži ujemanja testov so relativno visoki, med njimi ni bistvene razlike. Imunokemijski kvantitativni test se z obema ostalima testoma ujema v 75,9 %.

Rezultati vseh treh laboratorijskih metod se ujemajo v 62,7 %, to je pri 52 preiskovancih od 83. Delež ujemanja je visok tudi zaradi visokega števila preiskovancev, ki so imeli vse tri teste za dokazovanje FOB negativne (40 preiskovancev oz. 48%).

4.3.3.2. KAPPA TEST

S pomočjo statističnega programa SPSS Statistics 17.0 smo izračunali stopnjo ujemanja testov za dokazovanje FOB s Kappa statističnim testom.

Tabela XXIII: Rezultati Kappa testa

k ≠ 0	BARVNI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST
BARVNI KVALITATIVNI TEST	-	0,45 *(0,27 - 0,64)	0,39 *(0,17 - 0,60)
IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	0,45 *(0,27 - 0,64)	-	0,49 *(0,33 - 0,66)
IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	0,39 *(0,17 - 0,60)	0,49 *(0,33 - 0,66)	-

(*) = 95 % interval zaupanja, **k ≠ 0** = ujemanje rezultatov testov ni posledica naključja

Tabela XXIV: Interpretacija rezultatov Kappa testa

KAPPA VREDNOST	UJEMANJE
< 0,20	zelo slabo
0,21 - 0,40	slabo
0,41 - 0,60	zmerno
0,61 - 0,80	dobro
0,81 - 0,99	zelo dobro
1	popolno

Stopnje ujemanja posameznih testov med seboj se razlikujejo od deležev ujemanja, ki smo jih navedli v prejšnjem odstavku. Vzrok je verjetno v tem, da pri Kappa testu na sam izračun vpliva tudi število določenih neujemanj rezultatov. Ujemanje rezultatov imunokemijskega kvantitativnega testa z barvnim kvalitativnim testom je slabo ($k = 0,39$), ujemanje rezultatov imunokemijskega kvalitativnega testa z barvnim kvalitativnim testom ($k = 0,45$) in imunokemijskim kvantitativnim testom ($k = 0,49$) pa je slabo do zmerno. Pričakovali smo večje ujemanje med imunokemijskima metodama, saj sta imela dokaj podobne mejne vrednosti (40 in 55 ng/mL).

V raziskavi, ki je bila opravljena leta 2009 v UKC Maribor, so prav tako s Kappa testom vrednotili teste za dokazovanje FOB pri 80 preiskovancih. Kvalitativna testa sta sicer bila od drugega proizvajalca, vendar je princip metode enak. Uporabili so tudi isti imunokemijski kvantitativni test, odločili so se za mejno vrednost 50 ng/mL. Ujemanje rezultatov barvnega kvalitativnega testa z imunokemijskim kvalitativnim ($k = 0,36$) in imunokemijskim kvantitativnim ($k = 0,43$) je bilo slabo, ujemanje imunokemijskih metod pa je bilo občutno boljše kot v naši raziskavi ($k=0,84$) (35).

4.3.3.3. KRUSKAL-WALLIS TEST

Kruskal-Wallis je neparametrični test za testiranje razlike v mediani med dvema ali več neodvisnimi spremenljivkami, uporablja se za testiranje podatkov, ki niso normalno porazdeljeni. P vrednost testa je signifikanca ali stopnja značilnosti. To je tveganje ob zavrnitvi ničelne hipoteze, ki je resnična oz. tveganje, s katerim trdimo, da so spremenljivke v populaciji povezane. Ničelno hipotezo, ki predpostavlja, da povezanost spremenljivk ni statistično značilna, lahko zavrnemo, če je signifikanca manjša od 0,05. Če je signifikanca večja od 0,05 ničelno hipotezo potrdimo.

Tabela XXV: Rezultati Kruskal-Wallis testa

Prilagojena H vrednost	11,011
d.f.	2
P vrednost	0,004

(d.f. = stopinje prostosti)

P vrednost testa je 0,004 in je manjša od 0,05, kar pomeni, da so razlike statistično značilne. Zato smo zavrnili ničelno hipotezo in sprejeli alternativno. Da so razlike statistično značilne pomeni, da ni vseeno kateri test uporabimo za dokazovanje FOB.

4.4. PRIMERJAVA REZULTATOV TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB Z IZVIDI ENDOSKOPSKIH PREISKAV

4.4.1. ENDOSKOPSKÉ PREISKAVE, OPRAVLJENE PRI PREISKOVANCIH

64 preiskovancev je bilo napotnih na endoskopsko preiskavo v Gastroenterološko ambulantno, 19 preiskovancev pa je bilo hospitaliziranih na Oddelku za bolezni prebavil. Spodnja tabela prikazuje katere endoskopske preiskave so bile opravljene pri preiskovancih.

Tabela XXVI: Endoskopske preiskave, opravljene pri preiskovancih

Opravljená endoskopska preiskava	Število preiskovancev	Delež preiskovancev
Samo gastroskopija	51	61 %
Samo kolonoskopija	20	24 %
Gastroskopija in kolonoskopija	12	15 %
SKUPAJ	83	100 %

Opazimo lahko, da je delež preiskovancev, pri katerih je bila opravljena gastroskopija, veliko večji, kot delež preiskovancev, pri katerih je bila opravljena kolonoskopija, verjetno zaradi tega, ker so obolenja zgornjega dela prebavil pogostejša kot obolenja spodnjega dela prebavil. Po podatkih Inštituta za varovanje zdravja Republike Slovenije je bil leta 2007 na primarni ravni zdravstvenega varstva najpogostejši vzrok za obisk zdravnika pri obolenjih prebavil gastritis in duodenitis (36).

Pri 12 preiskovancih je bila opravljena gastroskopija in kolonoskopija. Pri teh preiskovancih se je običajno najprej opravila gastroskopija, katere izvid je bil pri 11

preiskovancih normalen ali pa je šlo za blago benigno obolenje prebavil, zato so pri preiskovancih opravili še kolonoskopijo.

4.4.2. IZVIDI ENDOSKOPSKIH PREISKAV

Izvide endoskopskih preiskav smo opredelili kot:

- **Pozitivne**, če so bili diagnosticirani polipi ali maligno obolenje ali pa so med endoskopijo bile vidne krvavitve iz prebavil.
- **Negativne**, če endoskopska preiskava ni bila opravljena, če je bil izvid endoskopske preiskave normalen ali če je bilo diagnosticirano katero drugo benigno obolenje

Endoskopski izvid je pozitiven pri 31 preiskovancih (37 % vseh preiskovancev):

- pri 18 preiskovancih (22 % vseh preiskovancev) so bili diagnosticirani polipi
- pri 5 preiskovancih (6 % vseh preiskovancev) je bilo diagnosticirano maligno obolenje
- pri 10 preiskovancih (12 % vseh preiskovancev) so bile vidne krvavitve iz prebavil

V pilotni fazi presejalnega programa Svit, ki je potekala v letu 2008, so v program povabili 9091 preiskovancev, starih od 65-69 let, odzivnost je bila 42 %. Izmed 2738 prejetih vzorcev blata je bilo 204 (7,5 %) testov za dokazovanje FOB pozitivnih. Pri 165 preiskovancih so opravili kolonoskopijo, endoskopski izvid je bil pozitiven kar pri 111 (67 %) preiskovancih, vendar je visok delež pozitivnih endoskopskih izvidov verjetno povezan z visoko starostjo preiskovancev (25).

4.4.2.1. ENDOSKOPSKO VIDNE KRVAVITVE IZ PREBAVIL

Specialisti so bili med endoskopsko preiskavo še posebej pozorni na morebitne vidne znake krvavitve. V primeru, da so diagnosticirali obolenje prebavil, katerega posledica je velikokrat krvavitev (npr. razjede sluznice, hemoroidi,...), so v izvidu opredelili ali so bili prisotni znaki krvavitve ali ne. Tako so diagnosticirali obolenje z vidnimi znaki krvavitve pri 10 preiskovancih (12 % vseh preiskovancev):

- Pri 8 preiskovancih je endoskopsko vidne krvavitve povzročalo benigno obolenje zgornjega dela prebavil

- Pri 1 preiskovancu je endoskopsko vidne krvavitve povzročalo maligno obolenje zgornjega dela prebavil
- Pri 1 preiskovancu je endoskopsko vidne krvavitve povzročalo benigno obolenje spodnjega dela prebavil

Pri teh preiskovancih so testi, ki smo jih uporabili za dokazovanje FOB, dali naslednje rezultate:

Tabela XXVII: Rezultati testov za dokazovanje FOB pri preiskovancih z endoskopsko vidnimi krvavitvami

ZAPOREDNA ŠT. VZORCA	BARVNI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	VZROK ENDOSKOPSKO VIDNE KRVAVITVE
39	0	0	0	Benigno obolenje požiralnika
57	0	1	1	Benigno obolenje želodca
58	1	1	0	Benigno obolenje dvanajstnika
59	1	1	0	Benigno obolenje požiralnika
64	1	1	0	Maligno obolenje želodca
68	1	1	1	Benigno obolenje želodca
69	1	1	1	Benigno obolenje debelega črevesa
72	1	1	1	Benigno obolenje želodca
75	1	1	1	Benigno obolenje želodca
78	1	1	1	Benigno obolenje želodca

Kot je razvidno iz tabele XXVII je barvni kvalitativni test dal dva lažno negativna rezultata, imunokemijski kvalitativni test enega in imunokemijski kvantitativni test 4 lažno negativne rezultate. Lažno negativni rezultati testov za dokazovanje FOB so možni, saj so lahko krvavitve iz prebavil le občasne.

Pri preiskovancih z zaporedno številko 68, 69 in 78 smo opazili, da je bilo blato obarvano črno, kar nakazuje na obilnejše krvavitve iz zgornjega dela prebavil. Pri preiskovancu z zap. št. 69 je sicer v endoskopskem izvidu navedeno, da gre za krvavitve iz hemoroidov ter polipov, vendar glede na to, da je blato bilo črno, je lahko preiskovanec krvavel tudi iz razjede dvanajstnika, ki jo ima.

4.4.2.2. SPECIFIČNOST TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB IZ ZGORNJEGA DELA PREBAVIL

Imunokemijski testi naj bi bili bolj specifični za dokazovanje krvavitev iz spodnjega dela prebavil, saj pri teh krvavitvah Hb ostane nerazgrajen. Testi, ki pa temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole, lahko reagirajo tudi s hemom, ki nastane z razgradnjo Hb v prebavilih, zato naj bi ti testi bolje zaznali krvavitve iz zgornjega dela prebavil kot imunokemijski testi. Tako bi lahko na podlagi te značilnosti, s kombinacijo obeh testov, ločili ali gre za krvavitve iz zgornjega dela ali spodnjega dela prebavil.

V raziskavi, ki so jo leta 2005 opravili v Splošni bolnišnici Maribor, so pri 200 preiskovancih dokazovali FOB s kemijskim testom, ki temelji na oksidaciji gvajakolne smole. Pozitiven rezultat testa je imelo 76 (38 %) preiskovancev. S pomočjo endoskopskih preiskav so pri 37 preiskovancih dokazali krvavitve iz zgornjega dela prebavil, pri 34 preiskovancih pa iz spodnjega dela prebavil, torej je barvni kvalitativni test občutljiv tudi na krvavitve iz zgornjega dela prebavil (37).

V raziskavi, ki so jo opravili leta 1999 v Združenih državah Amerike, je 10 zdravih preiskovancev pilo manjše količine (nekaj mL) lastne krvi. FOB so dokazovali s kemijskimi testi, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole ter imunokemijskimi testi. S kemijskimi testi so pri večini preiskovancev zaznali FOB, medtem ko z imunokemijskimi testi niso zaznali nobene FOB (38).

Od 31 preiskovancev, ki so imeli pozitiven endoskopski izvid, je 16 preiskovancev imelo domnevne prikrite krvavitve iz zgornjega dela prebavil, 15 pa iz spodnjega dela prebavil.

Tabela XXVIII: Preiskovanci z domnevnimi prikritimi krvavitvami iz zgornjega dela prebavil

BARVNI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	ŠTEVILO PREISKOVANCEV
NEG	NEG	< 55 (NEG)	2
NEG	POZ	< 55 (NEG)	2
NEG	POZ	> 55 (POZ)	2
POZ	POZ	< 55 (NEG)	3
POZ	POZ	> 55 (POZ)	6
POZ	NEG	< 55 (NEG)	1

Od 16 preiskovancev, ki naj bi imeli prikrite krvavitve iz zgornjega dela prebavil, smo pri 13 preiskovancih te krvavitve dokazali tudi z vsaj enim imunokemijskim testom, pri 2 preiskovancih so bili vsi trije testi za dokaz FOB negativni, pri enem preiskovancu pa

smo prikrito krvavitev iz zgornjega dela prebavil dokazali le z barvnim kvalitativnim testom. Tako nismo opazili, da bi bili imunokemijski testi slabše občutljivi za dokazovanje prikritih krvavitev iz zgornjega dela prebavil, prav tako ne moremo na podlagi rezultatov testov zanesljivo določiti ali gre za krvavitve iz zgornjega dela ali spodnjega dela prebavil.

4.4.3. VREDNOTENJE DIAGNOSTIČNE UPORABNOSTI TESTOV ZA DOKAZOVANJE FOB

Rezultate, ki smo jih dobili s testi za dokazovanje FOB, smo opredelili kot resnično pozitivne (RP), lažno pozitivne (LP), lažno negativne (LN) in resnično negativne (RN) glede na izvid endoskopske preiskave.

Tabela XXIX: Opredelitev rezultatov testov za dokazovanje FOB glede na izvid endoskopske preiskave

	ENDOSKOPSKI IZVID				
BARVNI KVALITATIVNI TEST	POZITIVEN	N	NEGATIVEN	N	SKUPAJ
POZITIVEN	RP	16	LP	10	26
NEGATIVEN	LN	15	RN	42	57
SKUPAJ		31		52	83

	ENDOSKOPSKI IZVID				
IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	POZITIVEN	N	NEGATIVEN	N	SKUPAJ
POZITIVEN	RP	23	LP	15	38
NEGATIVEN	LN	8	RN	37	45
SKUPAJ		31		52	83

	ENDOSKOPSKI IZVID				
IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST	POZITIVEN	N	NEGATIVEN	N	SKUPAJ
POZITIVEN	RP	14	LP	4	18
NEGATIVEN	LN	17	RN	48	65
SKUPAJ		31		52	83

S pomočjo zgornjih podatkov smo izračunali naslednje parametre za oceno diagnostične uporabnosti testov:

- **Diagnostična občutljivost:** Verjetnost, da bo test pozitiven, ko je endoskopski izvid pozitiven. $\frac{RP}{RP + LN}$
- **Diagnostična specifičnost:** Verjetnost, da bo test negativen, ko je endoskopski izvid res negativen. $\frac{RN}{LP + RN}$
- **Pozitivna napovedna vrednost:** Verjetnost, da bo endoskopski izvid pozitiven, ko je test pozitiven. $\frac{RP}{RP + LP}$
- **Negativna napovedna vrednost:** Verjetnost, da bo endoskopski izvid negativen, ko je test negativen. $\frac{RN}{LN + RN}$
- **Diagnostična učinkovitost (zanesljivost testa):** Verjetnost, da rezultat ni lažno pozitiven ali lažno negativen (39). $\frac{RP + RN}{RP + RN + LP + LN}$

Tabela XXX: Vrednosti parametrov za oceno diagnostične uporabnosti testov

	BARVNI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVALITATIVNI TEST	IMUNOKEMIJSKI KVANTITATIVNI TEST
DIAGNOSTIČNA OBČUTLJIVOST	51,6 %	74,2 %	45,2 %
DIAGNOSTIČNA SPECIFIČNOST	80,8 %	71,2 %	92,3 %
POZITIVNA NAPOVEDNA VREDNOST	61,5 %	60,5 %	77,8 %
NEGATIVNA NAPOVEDNA VREDNOST	73,7 %	82,2 %	73,9 %
DIAGNOSTIČNA UČINKOVITOST (ZANESLJIVOST)	70 %	72 %	75 %

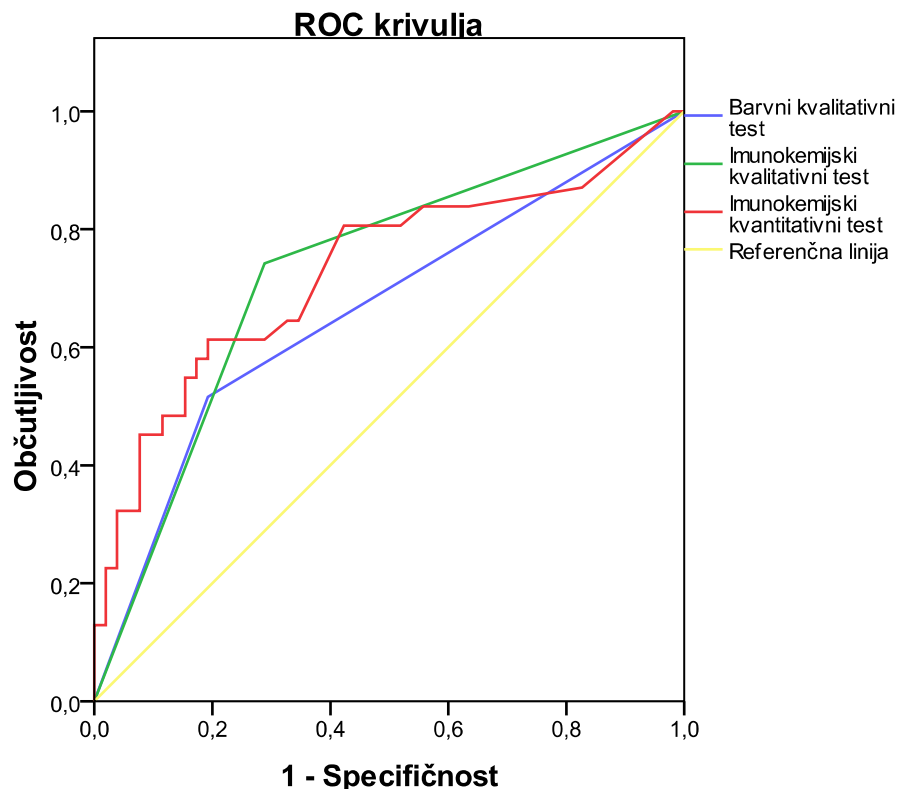
Najboljšo diagnostično občutljivost ima imunokemijski kvalitativni test, vendar pa ima posledično najnižjo specifičnost. Imunokemijski kvantitativni test ima zelo visoko diagnostično specifičnost ter relativno slabo občutljivost, medtem ko se barvni kvalitativni

test uvršča med oba testa. Diagnostična specifičnost ter pozitivna napovedna vrednost barvnega kvalitativnega testa bi bile verjetno višje, in bilo bi manj LP rezultatov, če bi preiskovanci pred testiranjem dobili ustrezna navodila glede omejitve določene hrane in zdravil.

Napovedne vrednosti so odvisne od prevalence bolezni v populaciji. V naši raziskavi je tako kot bolezen opredeljen pozitiven endoskopski izvid. Če ne bi imeli dovolj negativnih in pozitivnih rezultatov testov, prevalenca bolezni v populaciji ne bi bila reprezentativna in bi bile napovedne vrednosti preveč optimistične. Boljša kot je diagnostična specifičnost, boljša je pozitivna napovedna vrednost.

Nekateri strokovnjaki kemijske teste, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole, odsvetujejo za presejanje prebivalstva, ker naj bi imeli prenizko diagnostično občutljivost. Če bi testirali več vzorcev blata od vsakega preiskovanca, bi bilo verjetno manj LN rezultatov oz. bi bila diagnostična občutljivost višja zaradi tega, ker so krvavitve iz prebavil lahko le občasne. Imunokemijski testi imajo višjo diagnostično občutljivost, vendar je zaradi tega več LP rezultatov, kar pomeni, da se pri bolnikih po nepotrebnem opravljajo endoskopske preiskave, stroški se zvišajo (12). Zato so testi z višjo diagnostično specifičnostjo oz. nižjo občutljivostjo bolj primerni za presejanje prebivalstva (22). Za presejanje populacije bi bil tako še najbolj uporaben kvantitativni imunokemijski test, saj ima visoko analitično in diagnostično specifičnost ter visoko pozitivno napovedno vrednost in zato tudi največjo diagnostično učinkovitost.

Nekateri strokovnjaki priporočajo dokazovanje FOB s kombinacijo kemijskih testov, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole in kvalitativnih imunokemijskih testov (40, 41). Tako se v primeru pozitivnega rezultata kemijskega testa rezultat potrdi s kvalitativnim imunokemijskim testom. Vendar pa ima ravno imunokemijski kvalitativni test (kar je razvidno tudi iz naše raziskave) večjo diagnostično občutljivost kot barvni kvalitativni test, torej da kvalitativni imunokemijski test več LP rezultatov. Zato bi bilo teoretično bolj smiselno ravno obratno postopanje, najprej presejanje populacije z bolj občutljivim imunokemijskim kvalitativnim testom, ter nato izločanje preiskovancev, ki bi imeli lažno pozitiven rezultat, s pomočjo bolj specifičnega barvnega kvalitativnega testa. Vendar bi bila takšna rešitev verjetno finančno prezahtevna, saj so imunokemijski testi dražji od kemijskih, poleg tega ima barvni kvalitativni test slabo analitično specifičnost ter 1000x slabšo analitično občutljivost.



Slika 9: ROC krivulje vseh treh testov za dokazovanje FOB

Tabela XXXI: Površine pod ROC krivuljami

	POVRŠINA POD KRIVULJO	STANDARDNA DEVIACIJA	95 % INTERVAL ZAUPANJA
Barvni kvalitativni test	66,2 %	6,4 %	53,7 - 78,7 %
Imunokemijski kvalitativni test	72,7 %	5,8 %	61,2 - 84,1 %
Imunokemijski kvantitativni test	73,0 %	6,1 %	61,0 - 84,9 %

Da je imunokemijski kvantitativni test najbolj diagnostično učinkovit, kažejo tudi vrednosti površin pod ROC krivuljami testov za dokazovanje FOB v tabeli XXXI. Površina pod ROC krivuljo (AUC) nam pove zmožnost testa, da daje pravilne rezultate. Večja kot je AUC, bolj uporaben je test. Če je AUC manjša od 50 % pomeni, da so rezultati testa povsem naključni in je tako test neprimeren za uporabo. Tako so vrednosti površin pod ROC krivuljami sorazmerne z diagnostično učinkovitostjo (zanesljivostjo) testov.

Uporabnost testa pa lahko ocenimo tudi kar z vizualno oceno ROC krivulje. Bolj kot je ROC krivulja testa na začetku strma, bolj uporaben je test. To pomeni, da bolj kot je

krivulja strma, vedno večja je občutljivost ob relativno majhnem upadanju specifičnosti. Tako ima imunokemijski kvantitativni test še najbolj strmo krivuljo, vendar pa ob večanju občutljivosti nad 60 % specifičnost izrazito upade.

Ker se nam je diagnostična občutljivost imunokemijskega kvantitativnega vseeno zdela nekoliko prenizka, so nas zanimali izsledki drugih raziskav. V raziskavi, ki so jo opravili leta 2005 v Izraelu, so vrednotili diagnostično uporabnost imunokemijskega kvantitativnega testa, testirali so 500 simptomatskih preiskovancev. Pri uporabljeni mejni vrednosti 100 ng/mL je bila diagnostična občutljivost testa 76,5 %, diagnostična specifičnost pa 95,3 %, pri uporabljeni mejni vrednosti 50 ng/mL pa je bila občutljivost 79,4 % in specifičnost 89,7 %. Raziskava je pokazala tudi, da je test slabo občutljiv za odkrivanje adenomov manjših od 1 cm (42). Leta 2007 so v Izraelu opravili še eno raziskavo, s kvantitativnim imunokemijskim testom so pri 1000 preiskovancih dokazovali FOB, diagnostična občutljivost testa pri uporabljeni mejni vrednosti 75 ng/mL je bila 67 %, specifičnost pa 91 % (43).

4.5. PRIMERJAVA IZVIDOV HISTOLOŠKIH PREISKAV Z IZVIDI ENDOSKOPSKIH PREISKAV

Histološke preiskave biopičnega materiala so bile opravljene pri 37 preiskovancih (45 % vseh preiskovancev). Pri 19 preiskovancih je bil material za histološke preiskave odvzet med gastroskopijo, pri 18 preiskovancih pa med kolonoskopijo.

Pri 14 preiskovancih je bil histološko pregledan odščipnjen polip, pri 23 preiskovancih pa je bil pregledan odščip sluznice.

Izvide histoloških preiskav smo opredelili kot:

- **negativne (0):** če histološka preiskava ni bila opravljena, če je bil izvid histološke preiskave normalen ali če je bilo diagnosticirano benigno obolenje
- **pozitivne (1):** če je bilo diagnosticirano maligno obolenje

S pomočjo histološke preiskave je bilo pri 6 preiskovancih (7 % vseh preiskovancev) diagnosticirano maligno obolenje, in sicer:

- 1 adenokarcinom požiralnika

-
- 3 adenokarcinomi želodca
 - 2 adenokarcinoma debelega črevesa in danke

Tako so histološke preiskave potrdile maligno obolenje pri vseh 5 preiskovancih, pri katerih je bilo z endoskopsko preiskavo diagnosticirano maligno obolenje. Po podatkih registra raka Republike Slovenije za leto 2006 je bilo s histološkimi preiskavami potrjenih povprečno 98 % vseh primerov RDČD (8).

Preiskovanec z zaporedno številko 38 je imel s pomočjo endoskopije diagnosticirano benigno obolenje želodca, histološki izvid pa je bil adenokarcinom želodca. Pri temu preiskovancu so testi za dokazovanje FOB bili negativni, prav tako je imel koncentracije TO CA 15-3 in CEA v mejah referenčnih vrednosti. Obstaja verjetnost lažno pozitivnega rezultata histološke preiskave.

5. SKLEP

RDČD je ozdravljiva bolezen, če ga diagnosticiramo že v zgodnji fazi razvoja, zato je pomembno presejanje prebivalstva z ustreznimi diagnostičnimi metodami. Uporaba testov za dokazovanje FOB, ki ji sledijo endoskopske ter histološke preiskave, lahko pomembno zmanjša število obolelih za RDČD. Cilj naše raziskave je bil dokazovanje FOB z različnimi metodami ter vrednotenje teh rezultatov in ocena diagnostične uporabnosti laboratorijskih metod.

FOB smo dokazovali pri 83 simptomatskih preiskovancih, medtem ko se v presejalnih programih testira asimptomatske preiskovance. Več kot 70 % preiskovancev je bilo starejših od 50 let, kar se ujema s splošno znanim dejstvom, da pogostost obolenj prebavil narašča s starostjo. Ker pri vseh preiskovancih niso bile opravljene laboratorijske preiskave krvi, smo sklepali, da je bilo zaradi prikritih krvavitev iz prebavil približno polovica preiskovancev slabokrvnih. Ugotovili smo tudi, da so za zgodnje odkrivanje malignih obolenj TO res neprimerni zaradi slabe diagnostične specifičnosti.

Kljub temu, da ima barvni kvalitativni test tisočkrat slabšo občutljivost, se je po številu pozitivnih rezultatov testa uvrstil med oba imunokemijska testa, vendar je nekaj rezultatov lažno pozitivnih zaradi vpliva rastlinskih peroksidaz ter živalskega Hb. Velika prednost kvantitativnega imunokemijskega testa je nastavljiva mejna vrednost. Najbolj ugodno razmerje med diagnostično občutljivostjo in specifičnostjo smo dobili z mejno vrednostjo 55 mg/mL, vendar bi kljub temu bilo dobro, da bi diagnostična občutljivost testa bila še višja. Prednost imunokemijskega kvantitativnega testa je tudi ta, da je mogoča avtomatizacija s pomočjo biokemičnih analizatorjev. Ugotovili smo, da je test natančen, nadzor nad kakovostjo je boljši, omogoča tudi nedvoumno odčitavanje rezultata. S Kappa testom smo ugotovili, da se posamezni testi za dokazovanje FOB med seboj slabo ujemajo. Imunokemijska testa imata podobne mejne vrednosti (40 in 55 ng/mL), vendar je njuno ujemanje vseeno slabo ($k = 0,49$). S Kruskal-Wallis testom smo dokazali statistično značilne razlike med testi za dokazovanje FOB ($P = 0,004$).

Endoskopski izvid je bil pozitiven pri 37 % vseh preiskovancev. Pri 18 preiskovancih (22 %) so bili diagnosticirani polipi, pri 5 preiskovancih (6 %) je bilo diagnosticirano maligno obolenje, pri 10 preiskovancih (12 %) pa so bile vidne krvavitve iz prebavil. Ugotovili smo, da s kombinacijo barvnega kvalitativnega testa z imunokemijskim ne moremo zanesljivo dokazati ali gre za krvavitve iz zgornjega ali spodnjega dela prebavil.

Najboljšo diagnostično učinkovitost ima kvantitativni imunokemijski test, saj ima tudi najvišjo diagnostično specifičnost (92,3 %), pozitivno napovedno vrednost (77,8 %) ter površino pod ROC krivuljo (73,0 %).

Za dokazovanje FOB se je priporočala uporaba kombinacije barvnega kvalitativnega testa kot presejalnega testa in kvalitativnega imunokemijskega testa kot potrditvenega testa. Ugotovili smo, da ima kvalitativni imunokemijski test višjo diagnostično občutljivost (74,2 %) kot barvni kvalitativni test (51,6 %), torej daje kvalitativni imunokemijski test vseeno več LP rezultatov, kljub boljši analitični specifičnosti. Zato bi bila teoretično smiselno ravno obratna kombinacija testov, vendar takšna rešitev ne bi bila finančno učinkovita, prav tako je odčitavanje rezultatov teh dveh testov dvoumno, barvni kvalitativni test ima tudi številne omejitve, zato uporaba teh testov vseeno ni najbolj učinkovita.

Med endoskopsko preiskavo je bilo pri 5 preiskovancih (6 % vseh preiskovancev) diagnosticirano maligno obolenje prebavil, vsa so bila nato potrjena s histološko preiskavo, ki je referenčna metoda za diagnostiko malignih obolenj.

Imunokemijski testi za dokazovanje FOB čedalje bolj izpodrivajo kemijske teste, ki temeljijo na oksidaciji gvajakolne smole, vendar testa z zares visoko diagnostično občutljivostjo in specifičnostjo še ni. Čedalje bolj se razvijajo tudi druge diagnostične metode za odkrivanje polipov in RDČD, kot so npr. molekularno-genetske preiskave blata ter virtualna kolonoskopija. Vseeno pa je kolonoskopija najboljša, saj ni le diagnostična metoda ampak tudi terapevtska.

V primeru presejanja s katerim od teh treh testov za dokazovanje FOB bi odkrili kar nekaj adenomov ter primerov RDČD ter tako preprečili razvoj RDČD oz. izboljšali možnost ozdravitve pri preiskovancih z RDČD. Potrebno pa je ozaveščanje prebivalstva, da neznčilni simptomi obolenj prebavil niso zanemarljivi, prav tako jih je potrebno čimbolj seznaniti s pomenom dokazovanja FOB ter jih spodbujati, da se udeležijo presejalnega programa.

6. LITERATURA

1. Štiblar Martinčič D, Cör A, Cvetko E, Marš T: Anatomija, histologija in fiziologija, 1. izdaja, Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Ljubljana, 2007: 95-96, 119-134.
2. Pocajt M, Širca A: Anatomija in fiziologija za medicinske šole, popravljena in dopolnjena izdaja, DZS, Ljubljana, 2001: 62-69, 76-122, 140-146.
3. Turk H, Kersnik J: Pristop k obravnavi anemij v ambulantni zdravniški družinski medicine. Medicinski razgledi 2007; 46: 107-117.
Dostopno na: http://www.drmed.org/javne_datoteke/novice/datoteke/10746-Anemije-MR-Schrottovi-dnevic07.doc
4. Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D: Interna medicina, Littera Picta, Ljubljana, 2005: 440-546, 1174-1176, 1181-1182, 1194-1201.
5. Barovič V: Patologija, patološka fiziologija in osnove interne medicine, 1. izdaja, DZS, Ljubljana, 2004: 85-89, 165-184.
6. Kumar P, Clark M: Kumar & Clark's clinical medicine, 7. izdaja, Saunders Elsevier, Edinburgh, 2009: 241-318, 393-395.
7. Finderle P, Prezelj M: Metabolizem železa in novi pogledi v diagnostiki. Zbornik predavanj - Seminar za tehnike laboratorijske medicine 2008; 1-7.
8. Primic-Žakelj M in sodelavci: Incidenca raka v Sloveniji 2006, Onkološki inštitut Ljubljana, 2009: 18-21.
Dostopno na: http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/LP_2006.pdf
9. Štern B: Program Svit - priročnik za družinske/osebne zdravnike, Zdravstveni dom Ljubljana, Enota preventive CINDI, 2008: 3, 8-13, 30-31, 47-48.
Dostopno na:
http://www.program-svit.si/wp-content/uploads/2008/07/prirocnik_za_osebne_zdravnike.pdf
10. Osredkar J: Izbrana poglavja iz klinične kemije, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2008: 92-105, 306.
11. Novak Mlakar D, Maučec Zakotnik J: Presejanje za raka debelega črevesa in danke pri asimptomatski populaciji v starosti 50 do 69 let. Radiology and oncology 2006; 40: 95-105.
12. Žerdin M, Koželj M, Skok P: Rak debelega črevesa in danke - preprečevanje in presejanje. Zdravniški vestnik 2006; 75: 29-37.

Dostopno na: <http://vestnik.szd.si/st6-1/29-37.pdf>

13. Bratož S: Laboratorijska medicina v Sloveniji. *Revija Vita* 2009; 69: 3.
14. Možina B, Grošel A: Klinični pomen tumorskih označevalcev. *Zbornik predavanj - Hematološko društvo laboratorijskih tehnikov* 2007; 2-5.
15. Ivetič V, Kersnik J: Diagnostične preiskave za vsakdanjo uporabo, *Zavod za razvoj družinske medicine, Ljubljana*, 2007: 191-204, 212-228.
16. Atkin W: Options for screening for colorectal cancer. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2003; 237: 13-16.
17. Milčinski M: PET - možnost zgodnjega odkrivanja bolezni. Dostopno na: <http://www.kclj.si/nuklearna/PET%20brošura.pdf>
18. Pozitronska emisijska tomografija (PET) v Sloveniji - naše prve izkušnje. Dostopno na: <http://www.ukc-mb.si/index.php?id=167>
19. Scintigrafska diagnostika. Dostopno na: <http://www.ukc-mb.si/index.php?id=163>
20. Avberšek-Lužnik I: Priporočeni postopki za laboratorijske preiskave blata, *Slovensko združenje za klinično kemijo, Ljubljana*, 2000: 6-7.
21. Avberšek-Lužnik I: Laboratorijska analitika fecesa. *Zbornik predavanj - Seminar za tehnike laboratorijske medicine* 1999; 1-4.
22. Rozen P, Knaani J, Papo N: Evaluation and comparison of an immunochemical and a guaiac faecal occult blood screening test for colorectal neoplasia. *European journal of cancer prevention* 1995; 4: 475-481.
23. Young GP, Cole S: New stool screening tests for colorectal cancer. *Digestion* 2007; 76: 26-33.
24. Loitsch SM, Shastri Y, Stein J: Stool test for colorectal screening—it's time to move!. *Clinical laboratory* 2008; 54: 473-484.
25. Maučec Zakotnik J, Novak Mlakar D, Štern B, Koren P, Keršič Svetel M: Predstavitev programa Svit, 2008: 4-7, 9, 15, 16, 26-28.
Dostopno na:
http://www.program-svit.si/wp-content/uploads/2009/02/svit_predstavitev_151208.pdf
26. Brown LF, Fraser CG: Effect of delay in sampling on haemoglobin determined by faecal immunochemical tests. *Annals of Clinical Biochemistry* 2008; 45: 604-605.
27. Hema-Screen Occult Blood Test. Navodila proizvajalca, *Stanbio Laboratory, Boerne, Teksas, ZDA*, 2006.
28. Principal of immunochromatography kit. *Biological Laboratory, Japonska*, 2007.

Dostopno na: http://www.bl-inc.jp/imno_e.html

29. Diaquick FOB Cassette. Navodila proizvajalca, Dialab, Wiener Neudorf, Avstrija, 2007.
30. FOB Gold. Navodila proizvajalca, Sentinel Diagnostics, Milano, Italija, 2009.
31. Sinatra MA, St. John JB, Young GP: Interference of plant peroxidases with guaiac-based fecal occult blood tests is avoidable. *Clinical Chemistry* 1999; 45: 123-126.
32. Rozen P, Knaani J, Samuel Z: Eliminating the need for dietary restrictions when using a sensitive guaiac fecal occult blood test. *Digestive diseases and sciences* 1999; 44: 756-760.
33. Levi Z, Rozen P, Hazazi R, Vilkin A, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, Lieberman N, Klang S, Niv Y: Sensitivity, but not specificity, of a quantitative immunochemical fecal occult blood test for neoplasia is slightly increased by the use of low-dose aspirin, NSAIDs, and anticoagulants. *American journal of gastroenterology* 2009; 104: 933-938.
34. Fraser CG, Mathew CM, McKay K, Carey FA, Steele RJC: Automated immunochemical quantitation of haemoglobin in faeces collected on cards for screening for colorectal cancer. *Gut* 2008; 57: 1256-1260.
35. Koper S: Primerjava štirih metod za določanje krvi v blatu, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2009: 29.
36. Zunajbolnišnično zdravstveno varstvo. Zdravstveni statistični letopis 2007, Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije, Ljubljana, 2007: 13.

Dostopno na:

http://www.ivz.si/javne_datoteke/datoteke/1627-04_ZV_primarne_ravni_2007.pdf

37. Ravnik S, Skalicky M, Skok P: Povednost rutinske uporabe testa na prikrito krvavitev v bolnišničnem okolju. *Zdravniški vestnik* 2006; 75: 49-53.

Dostopno na: <http://vestnik.sz.d.si/st6-s2/049-053.pdf>

38. Rockey DC, Auslander A, Greenberg PD: Detection of upper gastrointestinal blood with fecal occult blood tests. *The American journal of gastroenterology* 1999; 94: 344-350.
39. Anderson SC, Cockayne S: *Clinical chemistry - concepts and applications*, popravljena izdaja, Waveland press, Long Grove, Illinois, ZDA, 2007: 72-73.
40. Allison JE: Review article: faecal occult blood testing for colorectal cancer. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 1998; 12: 1-10.
41. Fraser CG, Matthew CM, Mowat NA, Wilson JA, Carey FA, Steele RJ: Immunochemical testing of individuals positive for guaiac faecal occult blood test in a

screening programme for colorectal cancer: an observational study. *The lancet oncology* 2006; 7: 127-131.

42. Vilkin A, Rozen P, Levi Z, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, Niv Y: Performance characteristics and evaluation of an automated-developed and quantitative, immunochemical, fecal occult blood screening test. *American journal of gastroenterology* 2005; 100: 2519-2525.

43. Levi Z, Rozen P, Hazazi R, Vilkin A, Waked A, Maoz E, Birkenfeld S, Leshno M, Niv Y: A quantitative immunochemical fecal occult blood test for colorectal neoplasia. *Annals of internal medicine* 2007; 146: 244-255.

PRILOGA 1

Splošna bolnišnica Celje

Oddelek za bolezni prebavil

PRIPRAVA BOLNIKA NA KOLONOSKOPIJO (PREGLED DEBELEGA ČREVEESA)

Dan pred preiskavo: _____

1. Lahko zajtrkujete
2. Čez dan pijte čaj in čisto juho
3. Opoldne vzamete 5 tablet NOVOLAX ali DULCOLAX
4. Popoldne popijte 1 do 2 litra mlačnega DONAT Mg - brez večerje, pijete lahko čaj.

Na dan preiskave: _____

1. Čiščenje začnete na dan preiskave okrog 4. ure zjutraj. Uspešno bo le, če boste v najkrajšem času (približno 1 do 2 urah) popili pripravljeno tekočino; v en liter vode dobro primešajte in raztopite en predpisani prašek. Popijte (povprečno 3 litre) toliko tekočine, da boste odvajali čisto, morebiti rahlo rumeno tekočino, brez primesi blata. Slabo čiščenje onemogoča preiskavo!
2. Na preiskavo pridite tešči v endoskopsko interno ambulanto, na polikliniki št. 43!
3. S seboj prinesite: veljavno napotnico, če jo še niste oddali pri nas in potrjeno zdravstveno izkaznico.
4. Prinesite še morebitno rentgensko in ostalo dokumentacijo ter morebitne izvide krvi - protrombinski čas in rdečo krvno sliko (izvidi ne smejo biti starejši od sedem dni)

Če na preiskavo ne pridete, nam 2 do 3 dni pred datumom preiskave, sporočite na telefon:
(03) 424-34-48 od 7.30 - 8.30

PRILOGA 2

Splošna bolnišnica Celje

NAVODILO ZA ODVZEM BLATA

Preiskovance, ki ste naročeni na gastroskopijo ali kolonoskopijo v naši bolnišnici, vljudno prosimo, da s seboj prinesete vzorec blata v priloženi posodici z žličko. Vzorec blata potrebujemo za vrednotenje novega testa na prikrito krvavitev v blatu.

Vzorec blata ne sme priti v stik z vodo v straniščni školjki. Pomembno je, da vzorec blata odvezmete čim kasneje pred pregledom (**preiskovanci, ki ste naročeni na gastroskopijo** odvezmite blato na dan pregleda, **preiskovanci, ki pa ste naročeni na kolonoskopijo** blato odvezmite pred začetkom priprav na pregled) in ga do pregleda hranite v hladilniku.

Prosimo Vas, da izpolnite še naslednje podatke:

Ime in priimek: _____

Rojstni datum: _____

Datum ter ura odvzema blata: _____

Izpolnjen obrazec skupaj s posodico z blatom oddajte v ambulantni, kamor pridete na preiskavo.

PRILOGA 3

SKUPINA 1

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
1	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
2	0	0	0	0	0	Hb = 127 [120-160] g/L Erc = 4,39 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
3	0	0	0	1 (polip)	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
4	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
5	0	0	0	0	0	Hb = 134 [120-160] g/L Erc = 4,73 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
6	0	0	0	1 (polipi)	0	Hb = 133 [120-160] g/L Erc = 4,68 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
7	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
8	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
9	0	0	0	1 (polipi)	0	Hb = 134 L [140-180] g/L Erc = 4,46 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 10,5 L [10,6-28,3] µmol/L AFP = 1,4 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 26,4 [do 30] U/mL CA19-9 = 4,7 [do 37] U/mL CEA = 1,7 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 1,6 [do 6,9] U/mL
10	0	0	0	0	0	Hb = 119 L [120-160] g/L Erc = 4,25 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
11	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
12	0	0	0	0	0	Hb = 131 [120-160] g/L Erc = 4,34 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
13 (22)	0	0	0	0	0	Hb = 117 L [140-180] g/L Erc = 4,23 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
14	0	0	0	0	0	Hb = 152 [140-180] g/L Erc = 5,29 [4,50-6,30] *10 ¹² /L
15	0	0	0	0	0	Hb = 134 [120-160] g/L Erc = 4,72 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
16	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
17	0	0	0	0	0	Hb = 152 [140-180] g/L Erc = 5,17 [4,50-6,30] *10 ¹² /L AFP = 3,8 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 8,6 [do 30] U/mL CEA = 1,4 [do 4,7] µg/L CA 19-9 = 2,9 [do 37] U/mL CA 72-4 = 1,2 [do 6,9] U/mL
18	0	0	0	0	0	Hb = 122 [120-160] g/L Erc = 4,13 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 23,5 [6,6-26,0] µmol/L
19	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKUPINA 1 (nadaljevanje)

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
20	0	0	0	1 (polipi)	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
21	0	0	0	0	0	Hb = 126 L [140-180] g/L Erc = 4,23 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
22	0	0	0	0	0	Hb = 126 [120-160] g/L Erc = 4,16 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L
23	0	0	0	0	0	Hb = 81 L [140-180] g/L Erc = 3,09 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 19,1 [10,6-28,3] µmol/L
24	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
25	0	0	0	0	0	Hb = 136 [120-160] g/L Erc = 4,76 [4,20-5,40] *10 ¹² /L AFP = 2,2 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 19,2 [do 30] U/mL CA19-9 = 16,3 [do 37] U/mL CEA = 1,4 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 0,9 [do 6,9] U/mL
26	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
27	0	0	0	0	0	Hb = 135 [120-160] g/L Erc = 4,41 [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 11,0 [6,6-26,0] µmol/L AFP = 2,3 [do 6,7] µg/L CA19-9 = 4,9 [do 37] U/mL CEA = 0,6 [do 4,7] µg/L CA 15-3 = 15,4 [do 30] U/mL CA 72-4 = 2,1 [do 6,9] U/mL
28	0	0	0	0	0	Hb = 127 [120-160] g/L Erc = 4,21 [4,20-5,40] *10 ¹² /L AFP = 2,2 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 12,0 [do 30] U/mL CA19-9 = 10,4 [do 37] U/mL CEA = 1,6 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 0,8 [do 6,9] U/mL
29	0	0	0	0	0	Hb = 81 L [140-180] g/L Erc = 2,82 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 4,6 L [10,6-28,3] µmol/L CA19-9 = 1,6 [do 37] U/mL CEA = 9,6 H [do 4,7] µg/L
30	0	0	0	0	0	Hb = 117 L [120-160] g/L Erc = 4,49 [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 7,6 [6,6-26,0] µmol/L CEA = 1,3 [do 4,7] µg/L
31	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKUPINA 1 (nadaljevanje)

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
32	0	0	0	1 (polipi)	0	Hb = 122 L [140-180] g/L Erc = 3,97 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 4,5 L [10,6-28,3] µmol/L AFP = 5,2 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 20,5 [do 30] U/mL CA19-9 = 32,8 [do 37] U/mL CEA = 1,6 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 1,0 [do 6,9] U/mL
33	0	0	0	0	0	Hb = 143 [120-160] g/L Erc = 4,64 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
34	0	0	0	0	0	Hb = 155 [140-180] g/L Erc = 5,03 [4,50-6,30] *10 ¹² /L
35	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
36	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
37	0	0	0	0	0	Hb = 129 [120-160] g/L Erc = 4,48 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
38	0	0	0	0	1	CA 15-3 = 22,6 [do 30] U/mL CEA = 1,9 [do 4,7] µg/L
39	0	0	0	1 (benigno obolenje požiralnika z znaki krvavitve)	0	Hb = 91 L [120-160] g/L Erc = 2,86 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L
40	0	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKPUINA 2 (NEG/POZ/<55)

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
41	0	1	0	0	0	Hb = 160 [140-180] g/L Erc = 5,27 [4,50-6,30] *10 ¹² /L
42	0	1	0	0	0	Hb = 119 L [140-180] g/L Erc = 3,82 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
43	0	1	0	1 (polip)	0	Hb = 134 [120-160] g/L Erc = 4,27 [4,20-5,40] *10 ¹² /L
44	0	1	0	0 (polipi)	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
45	0	1	0	0	0	AFP = 2,4 [do 6,7] µg/L CA19-9 = 9,2 [do 37] U/mL CEA = 1,5 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 1,4 [do 6,9] U/mL
46	0	1	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
47	0	1	0	1 (polipi)	0	Hb = 128 L [140-180] g/L Erc = 4,38 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
48	0	1	0	1 (polip)	0	Hb = 135 [120-160] g/L Erc = 4,43 [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 9,8 [6,6-26,0] µmol/L
49	0	1	0	1 (polipi)	0	Hb = 149 [140-180] g/L Erc = 4,95 [4,50-6,30] *10 ¹² /L
50	0	1	0 (52)	0	0	Hb = 144 [140-180] g/L Erc = 4,71 [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 9,1 L [10,6-28,3] µmol/L
51	0	1	0 (53)	0	0	Hb = 139 L [140-180] g/L Erc = 4,66 [4,50-6,30] *10 ¹² /L

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKUPINA 3

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
52	0	1	1 (56)	1 (maligno obolenje danke)	1	Hb = 143 [140-180] g/L Erc = 4,63 [4,50-6,30] *10 ¹² /L CA19-9 = 9,0 [do 37] U/mL CEA = 11,0 H [do 4,7] µg/L
53	0	1	1 (72)	1 (polipi)	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
54	0	1	1 (79)	1 (maligno obolenje požiralnika)	1	Hb = 99 L [120-160] g/L Erc = 3,36 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 2,9 L [6,6-26,0] µmol/L CEA = 3,7 [do 4,7] µg/L
55	0	1	1	0	0	Hb = 74 L [140-180] g/L Erc = 3,69 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 15,2 [10,6-28,3] µmol/L AFP = 3,4 [do 6,7] µg/L CA19-9 = 0,9 [do 37] U/mL CEA = 0,9 [do 4,7] µg/L
56	0	1	1	0	0	Hb = 127 [120-160] g/L Erc = 4,60 [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 9,2 [6,6-26,0] µmol/L CA19-9 = 12,0 [do 37] U/mL CEA = 0,4 [do 4,7] µg/L
57	0	1	1	1 (benigno obolenje želodca z znaki krvavitve)	0	Hb = 116 L [140-180] g/L Erc = 3,82 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 9,8 L [10,6-28,3] µmol/L AFP = 4,5 [do 6,7] µg/L CEA = 1,6 [do 4,7] µg/L

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKUPINA 4

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
58	1	1	0	1 (benigno obolenje dvanajstnika, z znaki krvavitve)	0	Hb = 96 L [140-180] g/L Erc = 2,69 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
59	1	1	0	1 (benigno obolenje požiralnika, z znaki krvavitve)	0	Hb = 103 L [140-180] g/L Erc = 3,02 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 22,5 [10,6-28,3] µmol/L AFP = 1,3 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 15,3 [do 30] U/mL CA19-9 = 18,7 [do 37] U/mL CEA = 4,8 H [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 1,4 [do 6,9] U/mL
60	1	1	0	1 (polipi)	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
61	1	1	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
62	1	1	0	0	0	Hb = 118 L [120-160] g/L Erc = 3,82 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L
63	1	1	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
64	1	1	0	1 (maligno obolenje želodca, z znaki krvavitve)	1	Hb = 103 L [120-160] g/L Erc = 3,72 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 6,8 [6,6-26,0] µmol/L AFP = 2,8 [do 6,7] µg/L CA19-9 = 2,3 [do 37] U/mL CA 72-4 = 18,4 H [do 6,9] U/mL
65	1	1	0	0	0	Hb = 115 L [140-180] g/L Erc = 3,27 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 12,9 [10,6-28,3] µmol/L
66	1	1	0	0	0	Hb = 150 [140-180] g/L Erc = 4,86 [4,50-6,30] *10 ¹² /L

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKUPINA 5

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
67	1	1	1 (78)	1 (polip)	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
68	1	1	1	1 (benigno obolenje želodca, z znaki krvavitve)	0	Hb = 106 L [140-180] g/L Erc = 4,04 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 5,5 L [10,6-28,3] µmol/L
69	1	1	1	1 (polipi, hemoroidi z znaki krvavitve)	0	Hb = 83 L [140-180] g/L Erc = 2,64 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
70	1	1	1	0	0	Hb = 116 L [140-180] g/L Erc = 4,67 [4,50-6,30] *10 ¹² /L
71	1	1	1	1 (polipi)	0	Hb = 132 [120-160] g/L Erc = 4,47 [4,20-5,40] *10 ¹² /L CEA = 3,7 [do 4,7] µg/L
72	1	1	1	1 (benigno obolenje želodca, z znaki krvavitve)	0	Hb = 118 L [120-160] g/L Erc = 3,50 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L
73	1	1	1	1 (maligno obolenje debelega črevesa)	1	Hb = 84 L [120-160] g/L Erc = 3,73 L [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 0,3 L [6,6-26,0] µmol/L AFP = 2,6 [do 6,7] µg/L CA19-9 = 77,0 H [do 37] U/mL CEA = 193,3 H [do 4,7] µg/L CA 72-4 = >300 H [do 6,9] U/mL
74	1	1	1	0	0	Hb = 125 L [140-180] g/L Erc = 3,91 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L
75	1	1	1	1 (benigno obolenje želodca, z znaki krvavitve)	0	Hb = 106 L [140-180] g/L Erc = 3,76 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 3,5 L [10,6-28,3] µmol/L CEA = 1,5 [do 4,7] µg/L
76	1	1	1	1 (polipi)	0	Hb = 82 L [140-180] g/L Erc = 4,83 [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 1,5 L [10,6-28,3] µmol/L
77	1	1	1	1 (polipi)	0	Hb = 88 L [140-180] g/L Erc = 3,40 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 12,5 [10,6-28,3] µmol/L CEA = 2,3 [do 4,7] µg/L
78	1	1	1	1 (benigno obolenje želodca, z znaki krvavitve)	0	Hb = 102 L [140-180] g/L Erc = 3,32 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)

SKUPINA 6

Zap. št.	Barvni kvalitativni test	Imunokem. kvalitativni test	Imunokem. kvantitativni test [ng/mL]	Izvid endoskopske preiskave	Histološki izvid	Rezultati lab. preiskav
79	1	0	0	0	0	Hb = 100 L [140-180] g/L Erc = 3,08 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 22,6 [10,6-28,3] µmol/L AFP = 1,2 [do 6,7] µg/L CA19-9 = 12,3 [do 37] U/mL CEA = 3,4 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 0,9 [do 6,9] U/mL
80	1	0	0	0	0	NI REZULTATOV LAB. PREISKAV
81	1	0	0	1 (polipi)	0	Hb = 134 [120-160] g/L Erc = 4,63 [4,20-5,40] *10 ¹² /L Fe = 5,3 L [6,6-26,0] µmol/L AFP = 1,3 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 21,1 [do 30] U/mL CA19-9 = 4,6 [do 37] U/mL CEA = 2,6 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 1,0 [do 6,9] U/mL
82	1	0	0	1 (maligno obolenje želodca)	1	Hb = 91 L [140-180] g/L Erc = 3,87 L [4,50-6,30] *10 ¹² /L Fe = 2,9 L [10,6-28,3] µmol/L AFP = 2,9 [do 6,7] µg/L CA 15-3 = 5,6 [do 30] U/mL CA19-9 = 8,3 [do 37] U/mL CEA = 1,3 [do 4,7] µg/L CA 72-4 = 2,4 [do 6,9] U/mL
83	1	0	0	0	0	Hb = 143 [120-160] g/L Erc = 4,47 [4,20-5,40] *10 ¹² /L CA19-9 = <0,6 [do 37] U/mL CEA = 1,6 [do 4,7] µg/L CA 15-3 = 14,1 [do 30] U/mL

(L = pod mejo referenčnih vrednosti, H = nad mejo referenčnih vrednosti)