

Metode za dijagnostiku bakterije *Helicobacter pylori*

Merćep, Magdalena

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:478337>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



zir.nsk.hr



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Magdalena Merćep

METODE ZA DIJAGNOSTIKU BAKTERIJE

Helicobacter pylori

Završni rad

Split, 2022

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Magdalena Merćep

METODE ZA DIJAGNOSTIKU BAKTERIJE

Helicobacter pylori

METHODS FOR DIAGNOSIS OF *Helicobacter pylori*

Završni rad / Bachelor's thesis

Mentor:

doc.prim.dr.sc. Vanja Kaliterna, dr.med,

spec. medicinske mikrobiologije s parazitologijom

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu

Sveučilišni odjel zdravstvenih studija

Medicinsko laboratorijska dijagnostika

Znanstveno područje: Biomedicina i zdravstvo

Znanstveno polje: Kliničke medicinske znanosti

Mentor: doc. prim. dr. sc. Vanja Kaliterna, dr. med. spec, medicinske. mikrobiologije

Metode za dijagnostiku bakterije *Helicobacter pylori*

Sažetak:

Cilj rada: Svrha rada je detaljno prikazati načine uzorkovanja i metode otkrivanja infekcije uzrokovane bakterijom *Helicobacter pylori* te otkriti najučinkovitiju metodu dijagnosticiranja ove bakterije.

Materijali i metode Dijagnostika infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* temelji se na uporabi invazivnih i neinvazivnih metoda. U invazivne metode spadaju histološka analiza, kultura, brzi ureaza test i PCR metoda, dok u neinvazivne spadaju test dokaza antigena bakterije *Helicobacter pylori* u stolici, urea izdisajni test i serološki test. U Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko – dalmatinske županije koristi se neinvazivna metoda dokaza antigena bakterije *Helicobacter pylori*.

Rezultati: Pozitivan nalaz kod ispitivanja prisutnosti bakterije *Helicobacter pylori* očitava se na testnoj kazeti pojavom dvije crvene linije: kontrolne i linije u T regiji testa za uzorak. Od 9 uzoraka ispitanih u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Splitsko – dalmatinske županije jedan je test bio pozitivan na ovu bakteriju.

Zaključak: *Helicobacter pylori* je bakterija koja se prenosi kontaminiranom hranom i vodom, poljupcem ili fekalno – oralnim putem. Moguća je pojava asimptomatske infekcije, a ukoliko je simptomatska uzrokuje razne tegobe poput nadutosti, osjećaja žarenja u želudcu, gubitka apetita i povraćanja. Histološka metoda se i dalje smatra zlatnim standardom, međutim, radi raznih čimbenika koji ometaju proces dijagnostike, sve se više koristi neinvazivna metoda otkrivanja antigena bakterije *Helicobacter pylori* u uzorku stolice.

Ključne riječi: dijagnostika *H. pylori*, invazivne metode, neinvazivne metode, imunokromatografski test

Rad sadrži: 45 stranica, 25 slika, 33 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR'S THESIS

University of Split

University Department for Health Studies

Medical laboratory diagnostics

Scientific area: Biomedicine and health

Scientific field: Clinical medical sciences

Methods for diagnosis of *Helicobacter pylori*

Summary:

Objectives: The aim of the study is to present in detail the methods of sampling and detection methods of infection caused by the bacterium *Helicobacter pylori* and to discover the most effective method for bacterial diagnosis.

Material and methods: Diagnostic methods of infection caused by *Helicobacter pylori* bacteria are based on the use of invasive and non-invasive methods. Invasive methods include histological analysis; bacterial culture; rapid urease test and PCR method, while non-invasive include a test for evidence of *Helicobacter pylori* antigen in stool; urea breath test and serological test. The Teaching Institute for Public Health of Split-Dalmatia County uses a non-invasive method of proving *Helicobacter pylori* antigen.

Results: A positive result for presence of the *Helicobacter pylori* antigen is interpreted on the test cassette by the appearance of 2 red lines: control line and the line in the T region for test sample. Out of 9 samples tested at the Teaching Institute for Public Health of Split-Dalmatia County, one of them was positive for bacteria.

Conclusion: *Helicobacter pylori* is a bacterium that is transmitted through contaminated food and water, by kissing, or fecal-oral route. Asymptomatic infection is possible. If infection is symptomatic, it causes various complaints such as bloating, burning sensation in the stomach, loss of appetite and vomiting. The histological method is still considered the gold standard. However, due to various factors that interfere with diagnosis, a non-invasive method of detecting *Helicobacter pylori* antigen in a stool sample is increasingly being used.

Key words: diagnosis of *H. pylori*, invasive methods, non-invasive methods, immunochromatographic test

Thesis contains: 45 pages, 25 pictures, 33 literature references

Original in: Croatian

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1 <i>Helicobacter pylori</i>	1
1.2 Morfologija bakterije <i>Helicobacter pylori</i>	3
1.3 Epidemiologija infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Helicobacter pylori</i>	4
1.4 Patogeneza infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Helicobacter pylori</i>	5
1.5 Dijagnostika infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Helicobacter pylori</i>	6
1.6 Klinička slika infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Helicobacter pylori</i>	7
1.7 Liječenje infekcija uzrokovanih bakterijom <i>Helicobacter pylori</i>	8
2. CILJ RADA	9
3. MATERIJALI I METODE.....	10
3.1 INVAZIVNE METODE.....	11
3.1.1 Histološka analiza	12
3.1.2 Brzi ureaza test	14
3.1.3 Kultura.....	16
3.1.4 PCR (<i>Polymerase chain reaction</i>).....	18
3.2 NEINVAZIVNE METODE.....	20
3.2.1 Urea izdisajni test	20
3.2.3 Test dokaza antigena bakterije <i>Helicobacter pylori</i> u stolici	21
3.2.4 Serološka analiza	22
3.3 IMUNOKROMATOGRAFSKI TEST ZA KVALITATIVNU DETEKCIJU ANTIGENA BAKTERIJE <i>Helicobacter pylori</i> U UZORKU STOLICE	23
3.3.1 Princip testa	24
3.3.2 Priprema uzorka	25
3.3.3 Očitavanje rezultata	26
4. REZULTATI	29
4.1 Očitavanje rezultata	32
5. ZAKLJUČAK.....	34
6. SAŽETAK	35
7. SUMMARY.....	36
8. LITERATURA	37
9. ŽIVOTOPIS.....	40

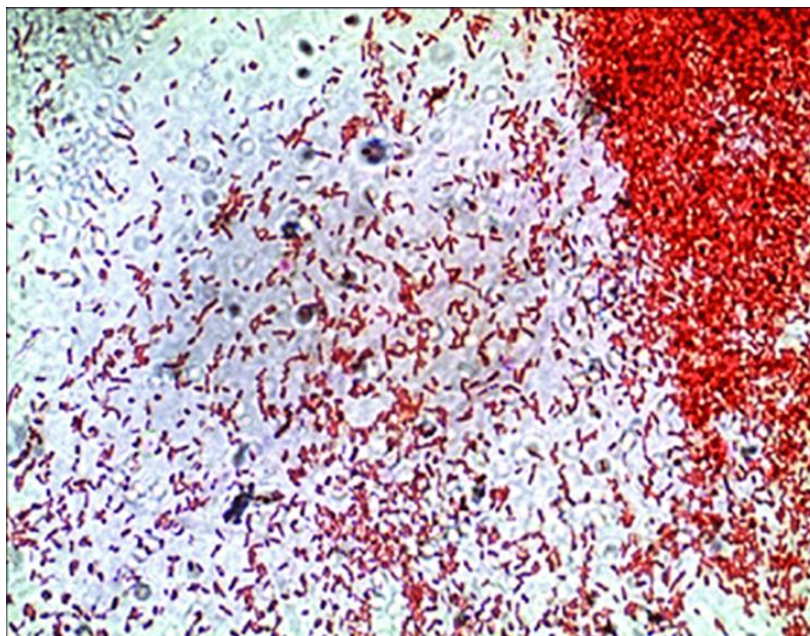
1. UVOD

1.1 *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori je mikroaerofilni, gram negativni patogen koji nastanjuje sluznicu želuca u čovjeka. Oblika je zavijenog štapića koji se pokreće pomoću flagela (Slika 1.)

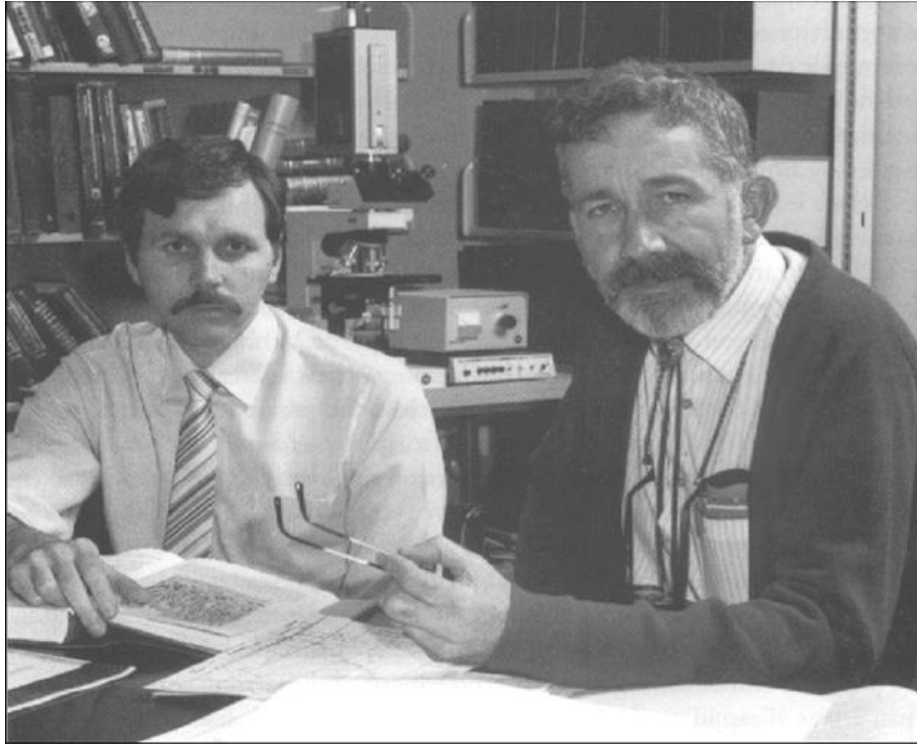
Postoje i druge vrste roda *Helicobacter* koje se mogu pronaći u probavnom sustavu čovjeka, ali znatno su rjeđe (*Helicobacter cinaedi*, *Helicobacter fennelliae*). Infekcije s bakterijom *Helicobacter pylori* povezuju se s razvojem mnogih bolesti kao što su gastritis, karcinom želuca, peptični vried i mnoge druge. Kao takva, sposobna je raditi štetu i kod djece i kod odraslih, iako su novija istraživanja pokazala kako ona svoj razvitak najviše postiže u djetinjstvu, a samim ulaskom u organizam osposobljena je da traje doživotno (1).

Bakteriju su 1984. godine otkrili znanstvenici Marshall i Warren kada su uočili infiltriranje polimorfonuklearnih leukocita kao reakciju organizma na zavijenu bakteriju te su za to otkriće 2005. godine osvojili Nobelovu nagradu (Slika 2.) (2). Promjenom morfoloških, strukturnih i genetičkih karakteristika njen se naziv oblikovao iz *Campylobacter pyloridis* u *Campylobacter pylori*, da bi na kraju dobila naziv koji nosi danas – *Helicobacter pylori* (3).



Slika 1. Bakterija *Helicobacter pylori* bojana po Gramu

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Gram-staining-of-Helicobacter-pylori-with-microscopic-observation_fig2_318021754



Slika 2. Prikaz znanstvenika Marshalla i Warrena

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/A-picture-showing-Warren-and-Marshall-taken-in-July-1984-taken-from-reference-8-with_fig1_6702133

1.2 Morfologija bakterije *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori je značajna po svojoj pokretljivosti pomoću polarnih flagela (Slika 3.). Upravo joj one omogućuju kretanje u viskoznoj želučanoj sluznici. Osim pokretljivosti, karakteristika bitna za opstanak same bakterije je proizvodnja različitih enzima kao što su ureaza, katalaza i oksidaza. Pomoću ureaze bakterija osigurava svoj opstanak u niskom pH želudca jer ga neutralizira.

Helicobacter pylori izgledom podsjeća na slovo S. Ona je mikroaerofilna što znači da je za njen rast potreban određeni postotak kisika (5 - 6 %), ugljikovog dioksida (7 - 12 %), dušika (85 %) i vlažnost. Podloge koje služe za primarnu izolaciju bakterije su Skirrow podloga sa polimiksinom B, trimetoprimom i vankomicinom, čokoladni agar kao i ostale podloge uz dodatak antibiotika od kojih su neki vankomicin, amfotericin i dr. Bakterija *Helicobacter pylori* raste u obliku prozirnih kolonija promjera od 1 - 2 mm (4).



Slika 3. Oblik *Helicobacter pylori*

Izvor: https://www.helipyred.hr/helicobacter_pylori.php

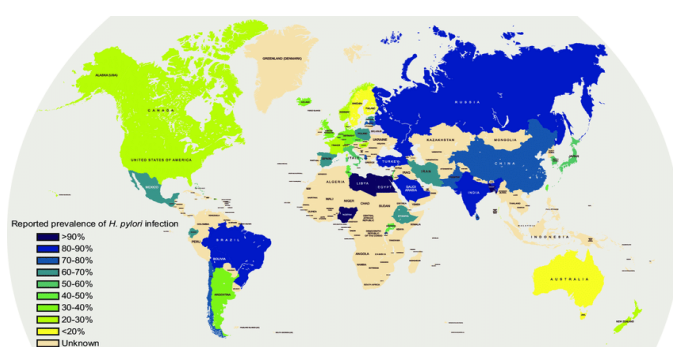
1.3 Epidemiologija infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

Infekcija uzrokovana bakterijom *Helicobacter pylori* se sve češće spominje kao jedan od glavnih zdravstvenih problema u svijetu. Prevalencija bakterije ovisi o raznim čimbenicima kao što su geografsko područje, dob, rasa i socioekonomski status. Najnoviji podaci istraživanja pokazuju kako je 4.4 milijarde svjetske populacije zaraženo bakterijom *Helicobacter pylori*. Ta brojka je različita po geografskim područjima. Najveću stopu prevalencije zauzima Afrika sa čak 79,1 %. Slijedi ju Latinska Amerika sa 63,4 % i Azija sa 54,7 %. S druge strane najnižu stopu prevalencije imaju Sjeverna Amerika sa 37,1 % i Oceanija sa 24,4 % (Slika 4.).

Na prijelazu u 21. stoljeće dogodio se pad prevalencije u visoko industrijaliziranim zemljama, dok je plato dostignut u zemljama koje su i dalje u razvoju. Značajan utjecaj na razlike u prevalenciji zauzima razina urbanizacije, sanitacija, dostupnost pitke vode i različit socioekonomski status (5). S obzirom na dob, vidljive su razlike u infekciji bakterijom *Helicobacter pylori* kod djece i kod odraslih. Smatra se da su neki od čimbenika okoliša, kao što je pušenje, uključeni u manjem stupnju u razvoj bolesti kod djece, nego kod odraslih.

Čimbenici koji najviše utječu na stopu prevalencije kod djece su nizak socioekonomski status, loša higijena, dob i spol. Uzimajući u obzir navedene čimbenike, potvrđeno je da djeca već u ranom djetinjstvu stječu infekciju podjednako u industrijaliziranim i u neindustrijaliziranim zemljama (6).

U Hrvatskoj je prevalencija 68 % s naglaskom na sjevernija, kontinentalna područja gdje je stopa raka želudca veća nego u priobalnom području (7). Točni načini prijenosa bakterije su i dalje ostali nepotvrđeni. Prijenos bakterije moguć je izravno s jedne osobe na drugu ili neizravno sa inficirane osobe u okoliš. Najčešći putovi prijenosa su konzumacijom kontaminirane hrane i vode, poljupcem i fekalno – oralnim putem (8).



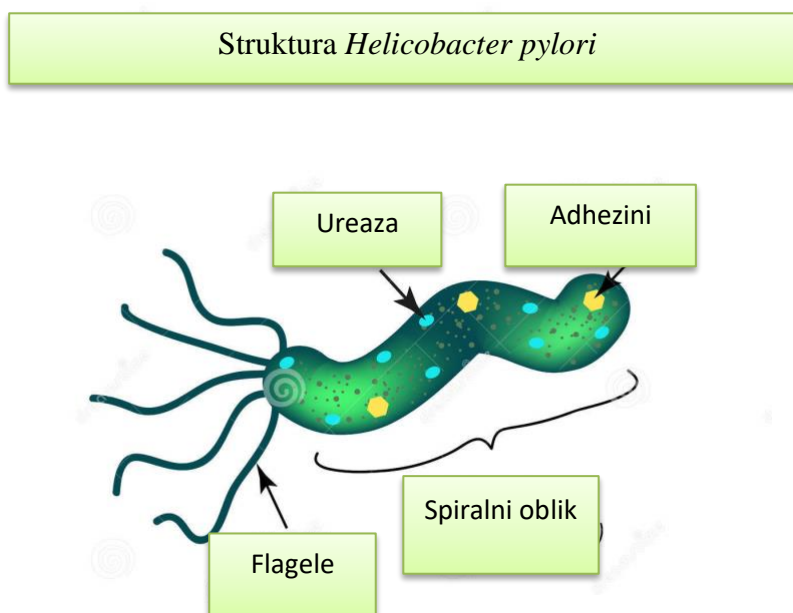
Slika 4. Prevalencija bakterije *Helicobacter pylori* na globalnoj razini

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Worldwide-prevalence-of-Helicobacter-pylori-infection-The-map-shows-the-prevalence-of-H_fig1_313254979

1.4 Patogeneza infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori u svojoj strukturi sadrži flagele, pokretne organe koji su sastavljeni od više vrsta proteinskih podjedinica. Svaka se flagela sastoji od tri komponente: bazalno tijelo, kukica i filament. Flagele igraju ključnu ulogu jer se upravo uz pomoć njih bakterija pokreće čime joj je omogućena kolonizacija želučane sluznice i olakšan početak infekcije (Slika 5.).

Helicobacter pylori sintetizira mnogobrojne enzime kao što su ureaza, katalaza i oksidaza. Ureaza je specifičan enzim jer služi pretvorbi uree u amonijak što dovodi do neutralizacije želučane kiseline i promicanja sinteze bakterijskih proteina. Gen *ureI* kodira protonski kanal uree koji omogućuje unos uree i lučenje ureaze kao odgovor na smanjenje pH želuca. Kod infekcije bakterijom *Helicobacter pylori* dolazi do intenzivnog oslobađanja stanica fagocita koji bi trebali fagocitirati samu bakteriju i ubiti ju. Jedan od enzima, katalaza, omogućuje bakteriji preživljavanje takvog oksidativnog stresa, a zauzvrat oštećuje epitelnu sluznicu želuca (9).



Slika 5. Struktura bakterije *Helicobacter pylori*

Izvor: <https://www.dreamstime.com/stock-illustration-structure-helicobacter-pylori-infographics-vector-illustration-isolated-background-image74057637>

1.5 Dijagnostika infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

Infekciju uzrokovanu bakterijom *Helicobacter pylori* moguće je otkriti koristeći se invazivnim metodama u koje ubrajamo endoskopiju, histološki pregled, brzi ureaza test i izolaciju. Ove se metode najčešće koriste kod pacijenata kod kojih je stanje alarmantno te je potrebna brza dijagnostika i djelovanje kako bi se spriječilo daljnje napredovanje infekcije. Takvi pacijenti imaju teže simptome kao što je gubitak težine, disfagija, anemija i razna krvarenja u organizmu. Prema novim smjernicama za dijagnostiku infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*, ovakva se strategija naziva „endoskopiraj pa tretiraj“.

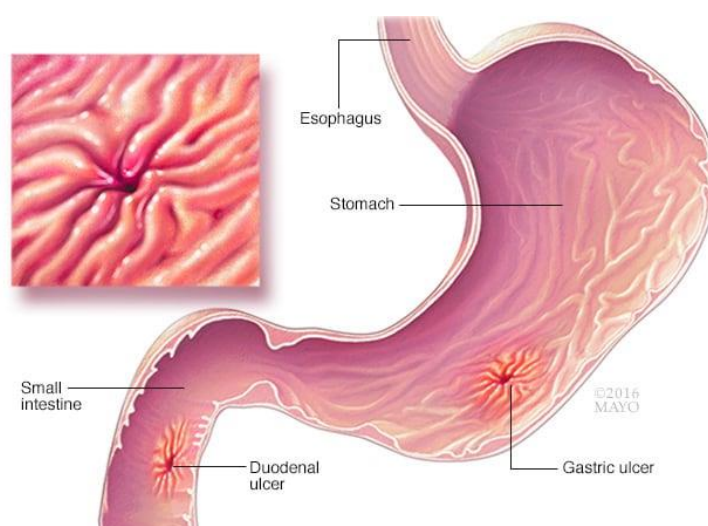
Za razliku od težih slučajeva bolesti, lakši slučajevi se tretiraju metodom „testiraj pa tretiraj“ i dijagnosticiraju se uporabom neinvazivnih metoda koji uključuju urea izdisajni test, test antigena bakterije *Helicobacter pylori* u stolici i serologiju.

Također, postoji drugi naziv za invazivne i neinvazivne testove, ovisno o funkciji. Neki se neinvazivni testovi nazivaju i aktivnim testovima jer otkrivaju aktivnu infekciju bakterijom (urea izdisajni test i test antigena u stolici), dok su serološki testovi markeri izloženosti bakteriji, no ne pokazuju je li aktivna infekcija u tijeku. Odabir metode diktiraju razne značajke, kao što su opremljenost laboratorija, dostupnost pojedinih testova te kliničko stanje pacijenta (10).

1.6 Klinička slika infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

Infekcija bakterijom *H. pylori* dovodi do razvitka različitih bolesti gornjeg gastrointestinalnog trakta sa rizikom razvijanja bolesti hepatobilijarnog trakta (11). Nakon kolonizacije želučane sluznice *Helicobacter pylori* vodi do upalnog stanja koje se očituje kod zaraženih ljudi, međutim većina ne razvija nikakve simptome. Kod osoba koje imaju simptome zaraza se očituje kroz nadutost, mučnine, gubitak apetita, povraćanje i osjećaj žarenja u želudcu (12). Kod većine oboljelih *Helicobacter pylori* nestane kroz neko vrijeme, no ukoliko se ne liječi ona se može zadržati doživotno u organizmu. Kod takvih stanja može doći do razvitka gastritisa, tumora, ulkusa, ili čak limfoma želuca (13). Većina se ljudi zarazi tijekom ranog djetinjstva. Kao takva smatra se značajnim čimbenikom za razvoj karcinoma želuca u odraslih. Poznato je da je infekcija *Helicobacter pylori* povezana sa nekoliko ekstragastričnih bolesti kod djece, uključujući smanjenje rasta, anemiju zbog nedostatka željeza te idiopatsku trombocitopenijsku purpuru (14).

Najčešći oblik infekcije kod odraslih se manifestira u obliku kroničnog gastritisa, dugotrajne upale želučane sluznice i trenutno je prisutan kod više od polovice populacije svijeta (Slika 6.) S vremenom gastritis rezultira destrukcijom želučane mukoze i njenom disfunkcijom i vodi prema smanjenju izlučivanja želučane kiseline što se ubraja u najveće rizične uvjete za nastanak raka želuca. Također, takvo stanje organizma bez proizvodnje želučane kiseline zajedno sa atrofičnim gastritisom se povezuje sa neuspješnom apsorpcijom vitamina kao što je vitamin B12 i mikronutrijenata (željezo, kalcij, magnezij, cink) (15).



Slika 6. Prikaz infekcije kod gastritisa i duodenalnog ulkusa

Izvor: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/h-pylori/symptoms-causes/syc-20356171>

1.7 Liječenje infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

Terapijski slijed u liječenju infekcija bakterije *Helicobacter pylori* treba biti jeftin, jednostavan i dobro podnošljiv za pacijente. *Helicobacter pylori* ima veliku osjetljivost na niz antibiotika *in vitro*, dok je *in vivo* osjetljivost mnogo manja, stoga eradikciju bakterije nije moguće postići monoterapijom.

Terapija koja se preporučuje prema Europskim standardima temelji se na korištenju 2 antibiotika i inhibitora protonske pumpe (IPP) i nosi naziv trojna terapija. Inhibitori protonske pumpe su ključni u eradikciji jer se njihovom primjenom smanjuje izlučivanje želučane kiseline i samim time se povećava pH želuca. Povećanjem pH želuca se osigurava eradikcija jer kada se *Helicobacter pylori* nađe u kiselijem okolišu ona prelazi u kokoidni oblik čime joj je osigurana rezistencija na antibiotike. Najčešći inhibitor protonske pumpe koji se koristi je omeprazol, a drugi antibiotici koji su djelotvorni su amoksicilin i klaritromicin. Liječenje se provodi 7-10 dana. Učinkovitost ovakve terapije je visoka, dok jedini neuspjeh nije reinfekcija, već rezistencija same bakterije.

Osim trojne terapije, koristi se i četverostruka konkomitantna terapija sa istodobnom kombinacijom IPP-a, amoksicilina, klaritromicina i metronidazola. Slična terapija može biti bazirana na bizmutu te se sastoji od tetraciklina, soli bizmuta i metronidazola u istoj tableti uz IPP (16).

Prema smjernicama Europskog društva za proučavanje helikobaktera postoje države sa rezistencijom na klaritromicin većom od 15 % i one spadaju u države sa visokom rezistencijom te postoje države sa rezistencijom manjom od 15 % koje spadaju u države sa niskom rezistencijom na bakteriju *Helicobacter*. Kod država sa niskom rezistencijom preporučeno je korištenje trojne terapije. Ukoliko neuspješna, prelazi se na drugu opciju, a to je četverostruka terapija temeljena na bizmutu. U državama sa visokom rezistencijom se kao prva linija koristi četverostruka konkomitantna terapija kod zemalja sa dualnom rezistencijom na metronidazol i klaritromicin (17).

2. CILJ RADA

Ciljevi ovog rada su:

- Opisati teoretske značajke bakterije *Helicobacter pylori*, uključujući morfologiju, patogenezu, epidemiologiju, kliničku sliku i metode liječenja kod zaraženih osoba
- Prikazati metode uzorkovanja za dijagnostiku bakterije *Helicobacter pylori*
- Prikazati cjelokupnu dijagnostiku bakterije *Helicobacter pylori*

3. MATERIJALI I METODE

Postavljanje točne dijagnoze u liječenju bakterije *Helicobacter pylori* ključno je kako bi se izliječile mnoge gastroduodenalne bolesti.

Za detekciju *Helicobacter pylori* postoji nekoliko testova koji se koriste u dijagnostici, a svaki od njih ima svoj stupanj korisnosti, ali i ograničenja prilikom uporabe u kliničkom liječenju. Za dijagnostiku bakterije nužni su dijagnostički testovi visoke osjetljivosti i specifičnosti, u ovom slučaju veće od 90%.

Izbor metoda ovisi o različitoj dostupnosti testova i pristupu, vrsti laboratorija i o samom kliničkom stanju pacijenta.

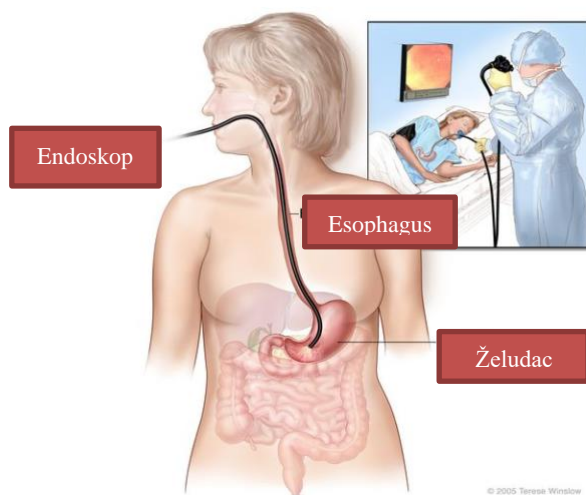
Testovi se dijele na invazivne i neinvazivne testove, no nijedan od njih se ne može smatrati zlatnim standardom u kliničkoj upotrebi. S vremenom je došlo do razvitka nekoliko tehnika čiji su rezultati pouzdani u dijagnostici (18).

3.1 INVAZIVNE METODE

Osnova invazivnih metoda je pregled endoskopom (Slika 7.). Pregled se uobičajeno radi kod bolesti povezanih s *Helicobacter pylori*, kao što su peptički ulkus, atrofični gastritis, MALT limfom i rak želuca.

Standardna dijagnostika uključuje testiranje uzoraka biopsije (uzimaju se dvije vrste uzoraka: jedan iz korpusa, a drugi iz antruma želuca): za brzi test ureaze, za histološki test i za mikrobiološku pretragu, koja se radi po potrebi. Za cjelokupnu je analizu nužan pregled pet uzoraka histološkom analizom s različitih lokacija koje uključuju dva uzorka iz korpusa, dva iz antruma i jedan u angularnom području. U spomenutim se područjima uzima biopsija jer se upravo u tim područjima događaju promjene koje uzrokuje *Helicobacter pylori*. Kod antruma bakterija uzrokuje povišenu želučanu sekreciju, a ukoliko se uspjela proširiti na korpus, aciditet može biti normalan ili snižen.

Jedna od stvari koje utječu na nalaz je terapija inhibitorima protonske pumpe jer su kod uzimanja terapije velike mogućnosti lažno negativnog nalaza ukoliko se uzima samo biopsija antralne sluznice radi usmjerenja bakterije prema fundusu želuca (19).



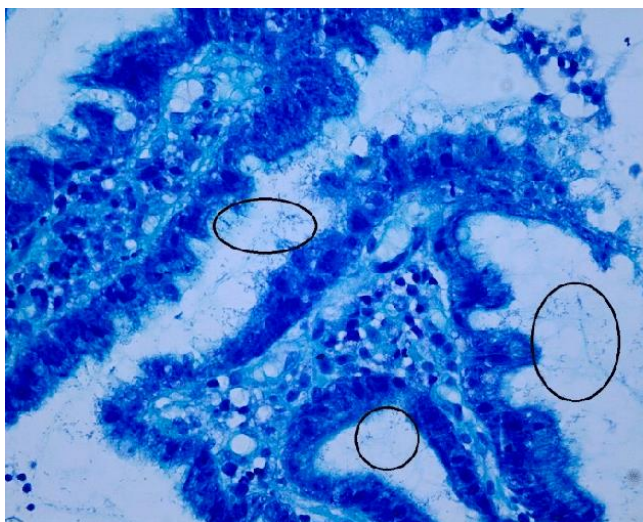
Slika 7. Endoskopija gornjeg dijela gastrointestinalnog trakta

Izvor: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/gastroscopy>

3.1.1 Histološka analiza

Histološka se metoda smatra zlatnim standardom u detekciji infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*. U dijagnostici se koristi kao prva metoda u otkrivanju. Iako pruža iznimnu osjetljivost, postoji nekoliko čimbenika koji ometaju dijagnostičku točnost same metode, a uključuju mjesto, veličinu i broj biopsija, metode bojenja, korištenje terapije i iskustvo patologa koji analizira preparate. Uzimanje terapije, u ovom slučaju inhibitora protonske pumpe, može dovesti do neodgovarajućih rezultata te se preporučuje zaustavljanje terapije 2 tjedna prije izvođenja histološke analize. Također je poželjno kod uzorkovanja uzeti više biopsijskih uzoraka kako bi se smanjila pogreška u uzorkovanju i lažno negativni rezultati, ne samo u histološkom testu već i u ostalim testovima koji kao podlogu uzorkovanja koriste biopsiju. Strategija koja osigurava maksimalan dijagnostički doprinos je uzorkovanje iz antruma i iz korpusa želuca, dakle minimalno 2 uzorka za bolji i točniji rezultat.

Bojanje preparata je ključan dio svake histološke analize. Kod dijagnostike bakterije *Helicobacter pylori* moguće je koristiti nekoliko bojanja, a to su rutinsko HE bojanje, Giemsa, Warthin-Starry, Hp srebreno bojanje, toluidin plavo, McMullen, imunohistokemijsko bojanje i ostale. Imunohistokemijsko bojanje sadržava najveću specifičnost i osjetljivost, međutim kod detekcije bakterije *Helicobacter pylori* u rutinskoj kliničkoj praksi koristi se bojanje po Giemsi kao izrazito jednostavna, osjetljiva i jeftinija metoda (Slika 8.).

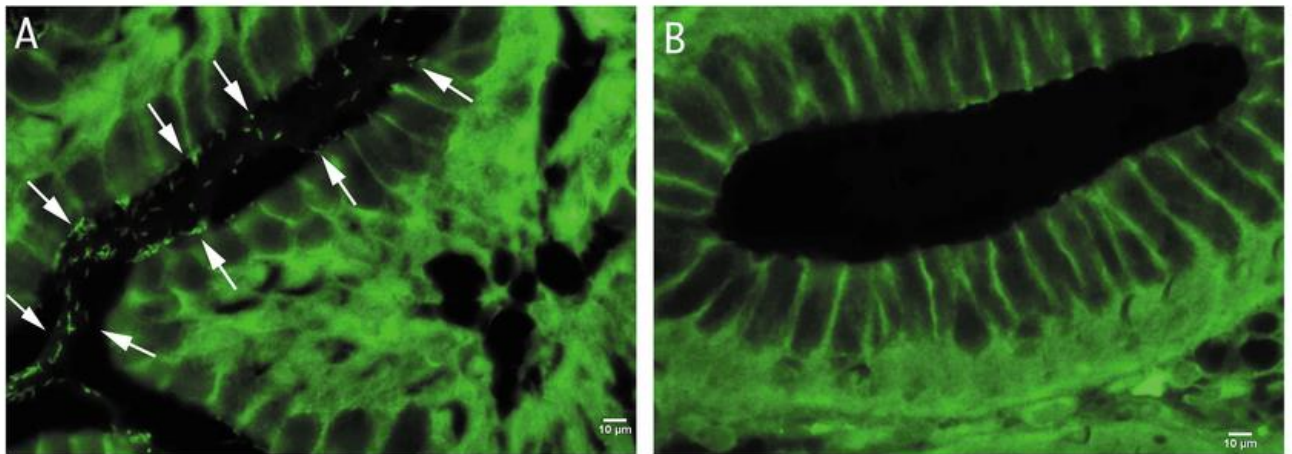


Slika 8. Bojanje po Giemsi, pozitivan rezultat na *Helicobacter pylori*

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/The-positive-results-of-Helicobacter-pylori-infection-by-Giemsa-stain-Black-circles_fig1_342221251

Uz histološku analizu, za detekciju se može koristiti i PNA - FISH (fluorescencijska hibridizacija *in situ* sa PNA sandom). Osim što je vrlo osjetljiva (97 %) i specifična (100 %) tehnika, ona olakšava identifikaciju jer se njome može otkriti kokoidni oblik *Helicobacter pylori* koji se uobičajeno ne može identificirati samim histološkim rutinskim pregledom (Slika 9.).

Osim oblika, PNA – FISH tehnikom se može detektirati rezistencija na klaritromicin iz uzoraka želučane biopsije. Unatoč specifičnostima, PNA – FISH metoda ima i nedostatke. Osim što zahtjeva naporan proces pripreme materijala i uzoraka, zahtjeva i uporabu fluorescentnog mikroskopa te posebno obučene osobe u čitanju samih rezultata (20).



Slika 9. Histološki preparat biopsije želuca pacijenta inficiranog bakterijom *Helicobacter pylori* (A) i histološki preparat biopsije želuca zdravog pacijenta (B)

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/FISH-detection-of-Hpylori-in-paraffin-embedded-sections-of-gastric-biopsies-using_fig2_258924703

3.1.2 Brzi ureaza test

Brzi ureaza test je test provjere prisutnosti bakterije *Helicobacter pylori* u uzorku uzetom biopsijom antruma želuca. Uzorak se dodaje u tubicu ili gel kako bi se stvorio kontakt samog uzorka i uree. Bakterija *Helicobacter pylori* poznata je po tome što otpušta enzim ureazu koji hidrolizira ureu i oslobađa ugljikov (IV) oksid i amonijak. Oslobađanjem amonijaka povećava se pH te samim time dolazi do promjene boje u mediju za ispitivanje (Slika 10.).

Brzi ureaza test se može izvesti u tekućem ili u čvrstom nosivom mediju. Ovisno o mediju postoje različite vrste testa za izvođenje, a to su testovi bazirani na gelu kao što su CLO test, testovi na papirnoj podlozi kao što su PyloriTeK i ProntoDry te testovi u tekućini kao što je UFT300. Svi spomenuti testovi su trenutno dostupni, međutim svaki od njih ima različito vrijeme reakcije i samim time i različito vrijeme izdavanja rezultata. Kod CLO testa vrijeme nakon kojeg se očitava rezultat iznosi 24 sata, dok kod PyloriTeK i UFT testova to vrijeme iznosi samo 5 minuta.



Slika 10. Primjer tri komercijalna testa, prvi CLO test, drugi test sa gelom i treći koji sadržava urea saturiranu membranu. Prvi red prikazuje kontrolu, a drugi pozitivne rezultate

Izvor: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4293486/>

Nadalje, test je temeljen na enzimskoj reakciji, a kod svake enzimske reakcije u obzir treba uzeti parametre koji utječu na reakciju, a to su koncentracija supstrata, koncentracija i aktivnost enzima, temperatura i vrijeme. Kako bi se dokazao pozitivan ureaza test potrebno je minimalno 100 000 *Helicobacter pylori* u uzorku biopsije kako bi se potakla promjena boje indikatora.

Osim parametara koji utječu na enzimsku reakciju, na cjelokupan rezultat utječe i prikupljanje samog uzorka. Uzorak bi se trebao uzeti točno s mjesta gdje je mikroorganizam prisutan. Na primjer, kod pacijenata sa duodenalnim ulkusom očekivano je da će se bakterija smjestiti u području antruma želuca.

Isto tako postoje mnogi faktori koji čine rezultat lažno pozitivnim kao što su antagonisti H₂ receptora, spojevi bizmuta, PPI, aklorhidrija, antibiotici i prisutnost krvi. Zbog činjenice da ne smanjuju gustoću bakterija, antagonisti H₂ receptora se mogu koristiti i do dana testiranja, dok bi se s druge strane inhibitori protonske pumpe trebali prestati uzimati i do 2 tjedna prije testiranja. Za antibiotike je to period od 4 tjedna prije testiranja. Po preporuci se, ukoliko je rezultat važan, a nedoumica velika, preporuča uraditi urea izdisajni test ili antigen test iz stolice.

Važno je spomenuti i lažnu pozitivnost testa koja se, unatoč tome što je rijetka, može dogoditi kod otpuštanja ureaze iz drugih bakterija koje ju proizvode, kao što su *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* i *Enterobacter cloacae*. Međutim, mogućnosti da ove bakterije proizvedu pozitivan rezultat su rijetke ukoliko pacijent nema aklorhidriju ili hipoklorhidriju.

Kod interpretacije rezultata, specifično kod pacijenta sa duodenalnim ulkusom, jedan pozitivan rezultat brzog ureaza testa bio bi dovoljan da se dokaže prisutnost bakterije. Međutim negativan test bi se trebao potvrditi i rezultatom histološkog ispitivanja, koji bi trebao biti bez dokaza o želučanoj upali (21,22).

3.1.3 Kultura

Uzorak za kulturu *Helicobacter pylori* uzima se biopsijom želuca. Ovakva metoda sadržava iznimnu specifičnost (gotovo 100 %), ali je manje osjetljiva (varijacije između 85 % - 95 %).

Za uzgoj bakterije *Helicobacter pylori in vitro* potrebni su posebni uvjeti koji zahtijevaju poseban transportni medij, medij za rast i za inkubaciju. Biopsijski uzroci se mogu čuvati u transportnom mediju kao što su Portagerm pylori ili Stuartov transportni medij do 24 sata iz temperaturu od 4 °C. Za uzgoj bakterije mogu se koristiti različite vrste agara. Neki od njih uključuju Skirrow agar, Columbia krvni agar (Slika 11.), Brucella agar, Pylori agar. Inkubacija ploča za agar se vrši u mikroaerobnom okruženju, dakle zahtijeva 80 % - 90 % N₂, 5 % - 10 % CO₂, 5 % - 10 % O₂ na temperaturi od 35 °C do 37 °C u vremenskom roku od 5 – 7 dana obzirom da je *Helicobacter pylori* mikroaerofilna bakterija.

Dijagnostika bakterije *Helicobacter pylori* na kulturi temelji se na različitim morfološkim značajkama zbog pozitivnih reakcija bakterije na ureazu, katalazu ili oksidazu.

Na izvođenje ove metode i njenu dijagnostičku točnost utječu razni čimbenici kao što su: loša kvaliteta uzorka, odgođen transport, izloženost aerobnom okruženju te samo iskustvo mikrobiologa. Osim vanjskih čimbenika, na dijagnostiku utječu i čimbenici domaćina kao što je gastritis u visokom stupnju, konzumacija alkohola, korištenje inhibitora protonske pumpe jer imaju nepovoljan učinak na pozitivnu stopu kulture. Zbog toga se zabranjuje uporaba lijekova najmanje 2 tjedna prije kulture, a kod antibiotika je to period od 4 tjedna.

Kod kulture se preporučuje uzorkovanje najmanje 2 uzorka iz korpusa želuca i 2 uzorka iz antruma želuca radi različite preraspodjele *Helicobacter pylori* u želudcu. Osim što služi za izolaciju bakterije *Helicobacter pylori*, ovakav test daje posebnu kliničku prednost kod ispitivanja osjetljivosti na antibiotike. Osim testa osjetljivosti na antibiotike, kultura daje uvid u daljnju analizu fenotipske i genotipske karakterizacije u svrhu postizanja što bolje terapije za liječenje bakterije *Helicobacter pylori* (23).



Slika 11. Prikaz izolacije *Helicobacter pylori* na Columbia agru

Izvor: <https://microbiologynotes.com/cultural-characteristics-of-helicobacter-pylori/>

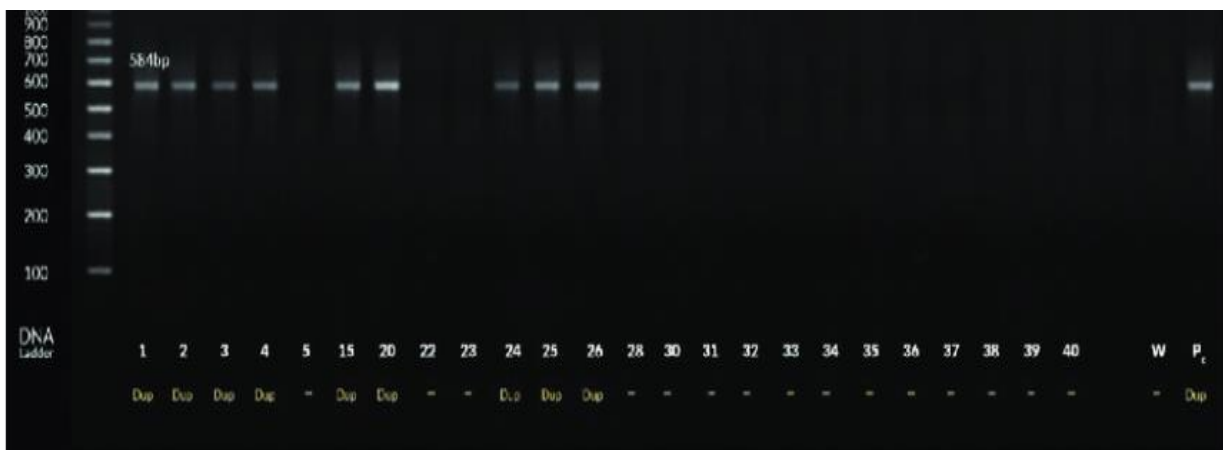
3.1.4 PCR (*Polymerase chain reaction*)

Lančana reakcija polimerazom (*polymerase chain reaction*, PCR) koristi se za dijagnozu bakterije *Helicobacter pylori* iz uzoraka biopsije želuca, iz sline, stolice, želučanog soka. Ova metoda pruža iznimno visoku specifičnost i osjetljivost (čak veću od 95 %) te pokazuje veću točnost u prikazivanju rezultata kod pacijenata sa krvarenjem. Postoje nekoliko ciljnih gena koji se koriste za otkrivanje prisutnosti bakterije *Helicobacter pylori*, a neki od njih uključuju *UreA*, *glmM*, *UreC*, *16S*, *rRNA*, *23S rRNA*, *HSP60*, *VacA*.

Uz spomenutu prednost specifičnosti i osjetljivosti, ovaj test je poseban po tome što ne zahtjeva veliku količinu uzorka, dakle nema potrebe uzimati posebne zalihe uzoraka za obradu ili transport te omogućuje kliničarima brzo donošenje odluke o liječenju pacijenata. Ova metoda također omogućuje otkrivanje raznih mutacija koje dovode do pojave rezistencije na određene antibiotike poput makrolida i fluorokinolona (24).

Korištenje ove metode pomaže pri procjeni genetske varijacije unutar čimbenika virulencije bakterije *Helicobacter pylori* te pomaže kliničarima pri ispitivanju razlika između pacijenata zaraženih različitim sojevima bakterije. Prema nekim studijama, geni *CagA* i *VacA* povezani su s težim upalama želuca i većoj prevalenciji raka želuca (25).

Osim spomenutih gena, naglasak se stavlja i na gen *DupA* za kojeg se smatra da je povezan sa stvaranjem ulkusa izazvanim bakterijom *Helicobacter pylori* (Slika 12.) Neke od studija su ukazale na nedosljedne rezultate koji su bili uzrokovani neusklađenošću primera. Zbog takvih nesukladnosti uveden je novi RT – PCR sa posebnim primerom koji je dizajniran na temelju poravnavanja 221 *DupA* genske sekvence s ciljem poboljšanja stope detekcije *DupA* gena. Da je ova metoda učinkovitija pokazale su stope detekcije koje su porasle sa uobičajenih 29,9 % na 64,2 % (26).



Slika 12. Primjer PCR produkata za *Helicobacter pylori* sa primerima na temelju gena DupA

1 – 4 , 15, 20 i 24 – 26 linije prikazuju pozitivne uzorke biopsije pacijenata

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/PCR-products-for-H-pylori-with-dupA-gene-based-primers-Lanes-1-4-and-15-20-and-24-26_fig3_342554251

Za PCR se, osim ljudskih uzoraka, koriste i uzorci iz okoliša. U epidemiološkim studijama otkrivena je visoka povezanost zaraze bakterijom *Helicobacter pylori* putem vode za piće. Osim u vodi za piće, velik je prijenos zaraze i neopranim povrćem.

Ovakva metoda pruža veliku efikasnost radi manjih troškova, lokalno dostupne opreme i stručnosti u molekularnim tehnikama (27).

3.2 NEINVAZIVNE METODE

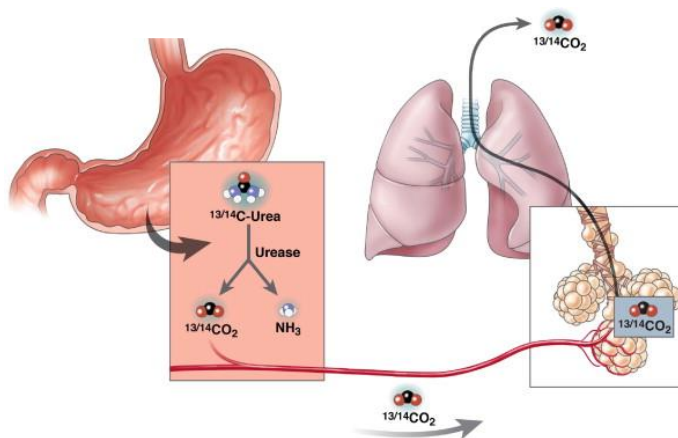
3.2.1 Urea izdisajni test

Urea izdisajni test je test koji se koristi već gotovo 30 godina i samim time ukazuje na svoju kontinuiranu popularnost i preciznost kao jedan od neinvazivnih testova.

Djelovanjem ureaze koju izlučuje bakterija *Helicobacter pylori*, urea obilježena izotopima ugljika (^{13}C ili ^{14}C) koju pacijent uzme na prazan želudac razgrađuje se na bikarbonat i amonijev ion. Amonijev će se ion reapsorbirati u krvotok i izlučiti mokraćom, a oslobođeni CO_2 koji je produkt razgradnje bikarbonata izbacuje se prikim ekspiriraja. Upravo u tom koraku se mjeri količina prisutnog CO_2 (Slika 13.).

Izotop ugljika ^{13}C je poželjniji od izotopa ugljika ^{14}C radi izbjegavanja prevelike količine zračenja. Taj isti izotop je sigurniji za djecu i trudnice jer je zračenje spomenutog niže od zračenja koje se odvija u prirodnom okolišu. Međutim, ovaj se izotop koristi manje u zemljama koje ne spadaju u visoko razvijene zbog visokog troška. Nadalje, dijagnostička točnost između oba spomenuta izotopa se ne razlikuje i zbog toga se oba testa mogu smatrati standardom neinvazivnih testova (28).

Urea izdisajni test je metoda koja osigurava vrlo visoku specifičnost i osjetljivost od čak 95 %. Osim kod otkrivanja prisutnosti bakterije *Helicobacter pylori*, ova se metoda koristi i za razna epidemiološka istraživanja te kod same procjene terapije. Pacijentu je potrebno napomenuti kako treba prestati uzimati antibiotike 4 tjedna prije ovog testa, a pacijentima koji koriste inhibitore protonske pumpe je to vrijeme od 2 tjedna prije testa (29).



Slika 13. Prikaz reakcija kod urea izdisajnog testa

Izvor: <https://www.kibion.se/scientific/info-diagnostic-methods/about-breath-tests/>

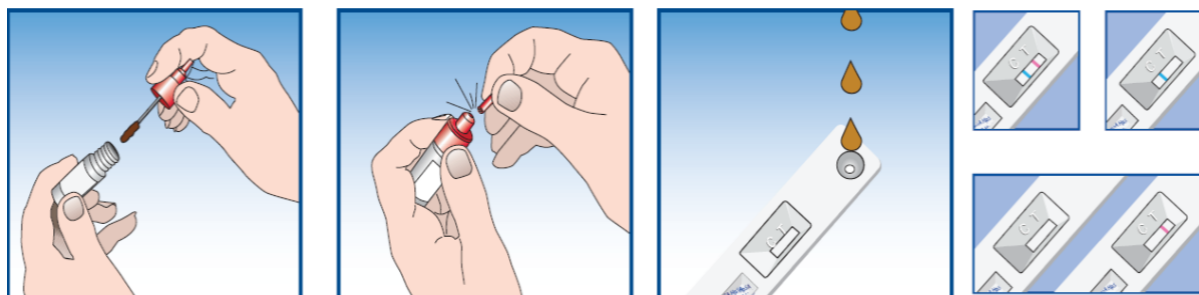
3.2.3 Test dokaza antigena bakterije *Helicobacter pylori* u stolici

Test antigena u stolici drugi je neinvazivni test sa visokom osjetljivošću i specifičnošću od čak 94 %. Ova metoda otkriva prisutnost bakterije *Helicobacter pylori* u uzorku stolice. Dvije su vrste testa za dokaz antigena u stolici, enzim imunoeesejski test i imunokromatografski test koji koriste ili monoklonska ili poliklonska protutijela. Kod nedavnih istraživanja pokazala se veća dijagnostička točnost prilikom uporabe monoklonskih protutijela za razliku od poliklonskih. Isto tako, testovi utemeljeni na enzim imunoeesejskoj metodi daju pouzdanije rezultate od imunokromatografskog testa. Takvi testovi se još koriste pri procjeni učinkovitosti terapije. Službeno vrijeme za izvođenje testa za dokaz antigena u stolici su 4 tjedna nakon završetka liječenja (30).

Uz veliku pouzdanost rezultata prilikom procjene učinkovitosti terapije, test dokaza bakterije *Helicobacter pylori* se još koristi kao prikladan i neinvazivan test kod provjere infekcije u pedijatrijskih pacijenata. Istraživanje primijenjeno kod djece u dobi od 6 do 30 mjeseci pokazalo je pouzdane i točne rezultate za dijagnostiku bakterije u male djece.

Uzevši u obzir cijenu i dostupnost, test dokaza antigena je prikladniji od urea izdisajnog testa, međutim manje je točan kod bolesnika sa teškim atrofičnim gastritisom (31).

Detaljan princip testa opisan je u poglavlju 3.3 (Slika 14.)



Slika 14. Princip izvođenja testa na antigen *Helicobacter pylori*

3.2.4 Serološka analiza

Serološka se analiza kao metoda dokaza infekcije bakterije *Helicobacter pylori* ne primjenjuje učestalo. Razlog tome je što su rezultati nepouzdana kod praćenja terapije radi dugog vremena pozitivnosti. Takav čimbenik značajno utječe na rezultate, iako je osjetljivost serološke analize veća od 90 %, a specifičnost se kreće između 76 % i 96 %.

Test se temelji na imunoenzimskoj metodi detekcije IgG antitijela u serumu pacijenta. Pozitivnost na IgG protutijela ukazuje na doticaj bolesnika sa bakterijom, iako ona mogu biti pozitivna i nekoliko mjeseci nakon uspješno izliječene infekcije. Prilikom pojave IgM protutijela dokazuje se trenutno aktivna infekcija. Upravo zbog nerazlikovanja sadašnje od prošle infekcije, serološka se analiza ne podrazumijeva standardnom metodom prilikom dokazivanja infekcije bakterijom *Helicobacter pylori* (33).

Jedna od pozitivnih strana seroloških testova je ta što na njihovu točnost ne utječe ulkusno krvarenje, gastrična atrofija kao ni uporaba inhibitora protonske pumpe niti antibiotika koji značajno mogu utjecati na rezultat kod drugih metoda.

3.3 IMUNOKROMATOGRAFSKI TEST ZA KVALITATIVNU DETEKCIJU ANTIGENA BAKTERIJE *Helicobacter pylori* U UZORKU STOLICE

Sadržaj kutije testa proizvođača Dialab:

Z08090CE - 20 testova pojedinačno pakiranih u vrećice od folije (20x REF Z08090B)

- 20 epruveta za sakupljanje, napunjenih s 2 mL pufera svaka
- 1 uložak za pakiranje

Z08091CE - 5 testova pojedinačno pakiranih u vrećice od folije (5x REF Z08090B)

- 5 epruveta za sakupljanje, napunjenih s 2 mL pufera svaka
- 1 uložak za pakiranje

(Slika 15.)



Slika 15. Dialab set za detekciju bakterije *Helicobacter pylori*

Izvor: <https://www.alphalabs.co.uk/z01405ce>

3.3.1 Princip testa

U testu se koriste dva protutijela. Jedno je protutijelo adsorbirano na membranu testne kazetice. Drugo protutijelo je u konjugatu (puferu) konjugirano s koloidalnim zlatnim česticama i omogućava crveno obojenje kod pozitivnog testa (Slika 16.). Naime, ako je *Helicobacter pylori* prisutan u uzorku stolice, on stvara kompleks sa protutijelom koje je obilježeno bojom . Kad tekućina s tim kompleksom klizi preko membrane na testnoj kazetici, veže se uz antitijelo fiksirano na membrani te se pojavljuje crvena linija. Test također sadrži i unutarnju kontrolu u obliku crvene crte koja se pojavljuje u C regiji testa. Osjetljivost ovog testa je 94,1 %, a specifičnost 99,9 %.

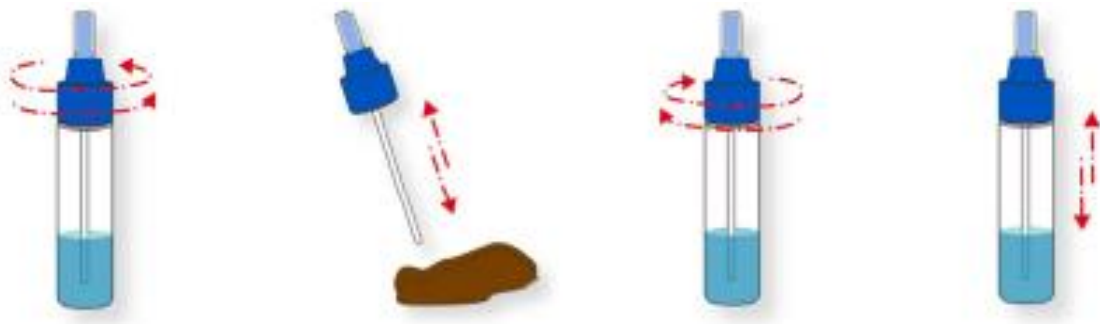


Slika 16. Kapanje uzorka na testnu kazeticu

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

3.3.2 Priprema uzorka

1. Uzorak formirane stolice uzima se sa tri mjesta pomoću aplikatora iz testne tubice te se stavlja u pufer (Slika 17.).
2. Nakon miješanja pufera s uzorkom na vorteksu takva otopina stoji petnaest minuta na sobnoj temperaturi
3. Testne kazetice se također izvade na sobnu temperaturu. Pripremljena se otopina nakon 15 minuta iz testne tubice ukapa u prozorčić kazete
4. Rezultati se očitavaju nakon petnaest minuta



Slika 17. Princip miješanja uzorka u puferu

Izvor: <https://www.alphalabs.co.uk/>

3.3.3 Očitavanje rezultata

Rezultat je pozitivan ako se pojave dvije crvene obojene linije – jedna u regiji C (kontrola testa), a druga u regiji T (testirani uzorak) testa (Slika 18.).



Slika 18. Primjer pozitivnog testa

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

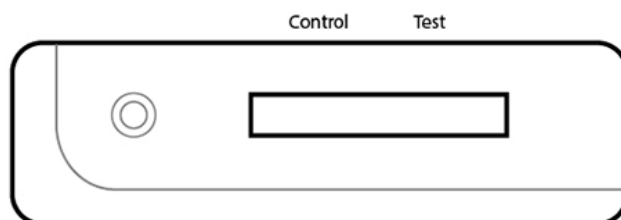
Rezultat je negativan ukoliko se pojavi samo kontrolna crvena linija u regiji C testa (Slika 19.).



Slika 19. Primjer negativnog testa

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

Rezultat testa nije valjan ukoliko se kontrolna crvena linija u C regiji ne pojavi. U tom slučaju test treba ponoviti (Slika 20.)



Slika 20. Prikaz nevaljanog testa

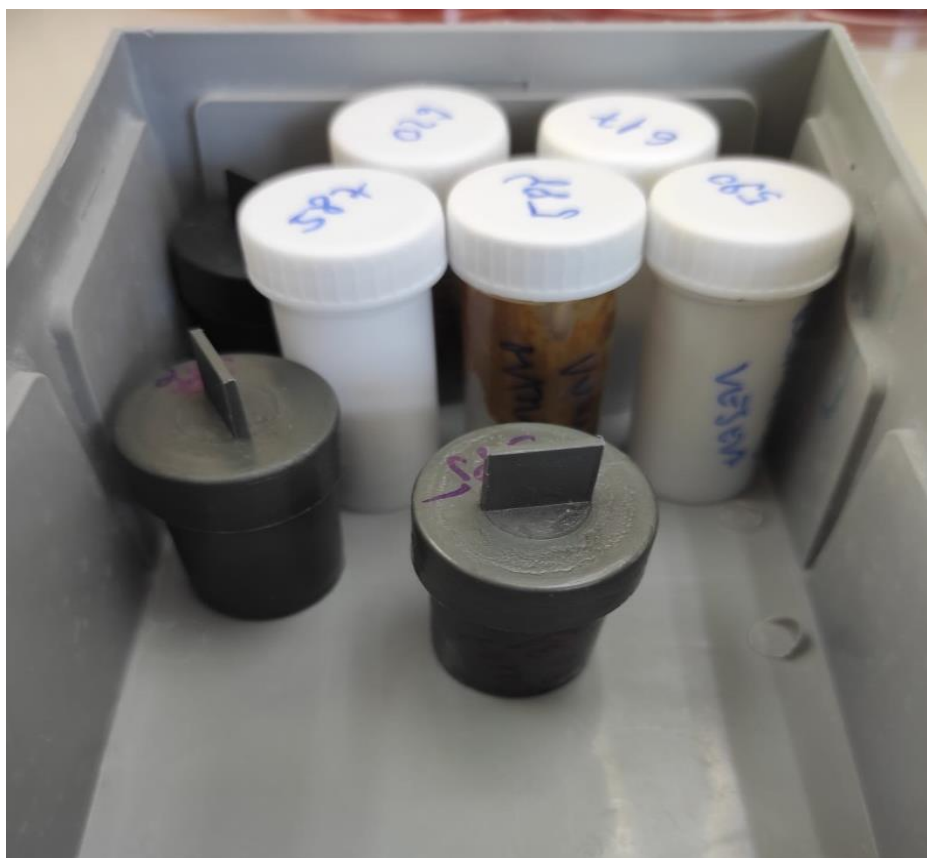
Izvor: <http://www.epitopediagnostics.com/kt113>

4. REZULTATI

Opisanom metodom smo testirali devet uzoraka stolice pacijenata za koje je tražen imunokromatografski test za detekciju antigena bakterije *Helicobacter pylori* (Slika 21.).

U posudicu smo posložili 9 uzoraka stolice prethodno donesenih od pacijenata kojima ispitujemo prisutnost bakterije *Helicobacter pylori*.

Kod uzoraka je jako bitno pravilno označavanje te slaganje brojeva s laboratorijskim brojem pacijenta kako ne bi došlo do zamjene pacijenata te pogrešne analize.



Slika 21. Uzorci stolice uzeti od pacijenata

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

Prije provođenja testa, potrebno je izdavanje radnog listića na kojem se nalaze svi potrebni podatci o pacijentu, ustanovi provedbe testa, dijagnozi, djelatniku koji je primio uzorak (Slika 22.).


str. 1/1 OBR
ORIGINAL

MBO: 139166913
M 08.08.1941

Uzimanje uzorka: 06.07.2022 07:31 Prijem: 06.07.2022 07:32
90001756 Ordinacija DZ Splitsko-Dalmatinske županije na lokaciji DZ Kaštela -
opće medicine
0179566 NIKICA ZOKIĆ
Dg: K21 Gastroezofagealni refluks
stolica na antigen *Helicobacter pylori*

ST 2212064
stolica - *Helicobacter pylori* - dokaz antigena

Prijem: ANTONELA PRGOMET

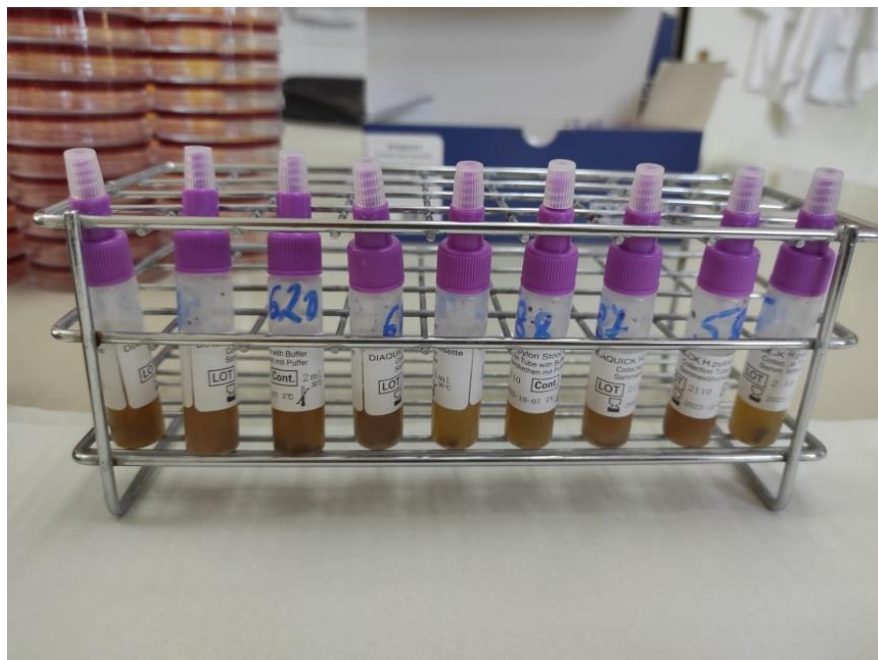


Helicobacter pylori antigen	POZ	
-----------------------------	-----	--

Slika 22. Primjer radnog listića kod testa dokaza antigena bakterije *Helicobacter pylori*

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

Uzeli smo uzorak stolice aplikatorom sa tri mjesta te ga stavili u pufer. Nakon stavljanja u pufer, vorteksirali smo te ostavili 15 minuta na sobnoj temperaturi (Slika 23.).



Slika 23. Prikaz uzoraka stavljenih u pufer

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

4.1 Očitavanje rezultata

Svih devet testova bili su valjano izvedeni. Pojavila se crvena kontrolna linija u C regiji.


Osam testova bilo je negativno na antigen bakterije *Helicobacter pylori*, a jedan je test bio pozitivan na antigen bakterije *Helicobacter pylori* u uzorku stolice. Pojavile su se dvije crveno obojene linije – jedna u regiji C, a druga u regiji T testa (Slika 24.)



Slika 24. Prikaz pozitivnih i negativnih rezultata

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

Na samom kraju izdaje se nalaz (Slika 25.) sa podacima o pacijentu, podacima o uzorkovanju, ustanovi uzorkovanja, vrstom pretrage te rezultatom testa (pozitivan/negativan).

**Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko - dalmatinske županije**
Služba za kliničku mikrobiologiju
Vukovarska 46, 21000 Split
021 401 111
mikrobiologija@nzjz-split.hr


Uzimanje uzorka: 6.7.2022. 7:31
Prijem uzorka: 6.7.2022. 7:31
Završetak nalaza: 6.7.2022. 10:58

Prezime i ime: ██████████
Datum rođenja: 8.8.1941. MBO: 139166913 OIB: 11910542841
Lab. Broj: **ST 2212064**
Uzorak: stolica
Pretraga: **Helicobacter pylori - dokaz antigena**

UPUTIO: Ordinacija DZ Splitsko-Dalmatinske županije na lokaciji DZ Kaštela -opće medicine
NIKICA ZOKIĆ

MIKROBIOLOŠKI NALAZ

Pretraga	Metoda	Rezultat	Naziv testa
Helicobacter pylori antigen	ICT	POZITIVAN	DIAQUICK H.pylori Stool Cassette, DIALAB

doc. dr. sc. MERICA CAREV, dr. med.
specijalist medicinske mikrobiologije s parazitologijom
0139165


Slika 25. Primjer pozitivnog nalaza na bakteriju *Helicobacter pylori*

Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo

5. ZAKLJUČAK

Helicobacter pylori je mirkoerofilna bakterija koja nastanjuje sluznicu želuca kod djece i kod odraslih. Kod infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* može doći do razvitka različitih oblika bolesti od kojih kao najčešće proizlaze gastritis, karcinom želuca i peptični vried. Iako se kod dosta ljudi infekcija razvija u asimptomatskom obliku, ljudi sa simptomima infekcije se najčešće žale na nadutost, mučnine, gubitak apetita, povraćanje i neugodan osjećaj žarenja u želudcu, a do toga dolazi ukoliko osoba konzumira kontaminiranu hranu i vodu, fekalno – oralnim putem i poljupcem.

Kod liječenja infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* najvažnije je brzo postavljanje dijagnoze koja se temelji na pravilnom uzimanju uzoraka.

Iako se metoda histološke analize smatra zlatnim standardom u dijagnostici infekcije bakterijom *Helicobacter pylori*, danas se ne primjenjuje toliko često zbog utjecaja različitih čimbenika na izvedbu analize. Za izvođenje histološke analize potrebno je više vremena, djelatnika, preciznosti te ne bi smjela postojati prostorna ograničenost u izvođenju testa. Uz to, test spada u invazivne metode što pacijentu zadaje dodatnu brigu i nelagodu prilikom izvođenja testa.

Kako se izbjegli navedeni problemi i kako bi se što ranije moglo reagirati na potencijalnu infekciju bakterijom *Helicobacter pylori*, danas se koristi imunokromatografski test za detekciju antigena *Helicobacter pylori*. Test je neinvazivan, zahtjeva malo vremena za očitavanje rezultata, ne zahtjeva veliki broj djelatnika niti veliki prostor za izvedbu. Ovakav brz, jednostavan i praktičan test sadržava osjetljivost od čak 94,1 % i specifičnost od 99,9 % što ga čini najpouzdanijim od neinvazivnih testova. Prilikom izvođenja testa, vrlo je bitno uzorak uzeti sa više mjesta i dobro vorteksirati u puferu te pričekati točno određeno vrijeme do pojave rezultata.

6. SAŽETAK

Helicobacter pylori je mikroaerofilni mikroorganizam koji nastanjuje sluznicu želuca u ljudskom organizmu te samim time olakšava razvoj mnogih patogenih stanja kao što su gastritis, karcinom želuca, peptični vried i mnoge druge. Čak 4,4 milijarde svjetske populacije danas je zaraženo bakterijom *Helicobacter pylori*. Uzimajući u obzir različitu raspodjelu postotaka zaraženosti na kontinentima, čak 79,1 % otpada na Afriku kao zemlju sa najvećim brojem zaraženih bakterijom *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori sadrži mnoge karakteristike koje joj pomažu opstati u želudcu čovjeka. Naime, proizvodnjom različitih enzima koji osiguravaju njenu patogenost uspijeva osigurati neutralnost želuca i samim time prodor i razvitak bolesti. Infekcije ovom bakterijom mogu se pojaviti u obliku asimptomatskih infekcija. Simptomatski pacijenti imaju simptome kao što su žarenje u želudcu, povraćanje, gubitak apetita i druge.

Bakterija *H. pylori* je značajna po tome što može dugotrajno opstati u ljudskom organizmu i izazivati simptome ukoliko se ne liječi na vrijeme i primjerenom terapijom. Liječenje bakterije zahtijeva uporabu različitih metoda, a kod *H. pylori* su to invazivne i neinvazivne metode. U invazivne metode ubrajamo histološki pregled, brzi ureaza test, izolaciju. Sam naziv „invazivne“ upućuje na to da se prilikom pregleda koristi invazivan način uzorkovanja, u ovom slučaju endoskop te se zbog toga u slučaju lakših slučajeva infekcija bakterijom *Helicobacter pylori* radije bira uporaba neinvazivnih metoda. Neinvazivne metode uključuju urea izdisajni test, test antigena u stolici i serološke testove.

Od spomenutih se metoda najčešće koristi test dokaza antigena u stolici kao test koji je brz, praktičan, ne zahtijeva velik prostor kao ni dodatne djelatnike za rad. Test uključuje očitavanje rezultata sa testne trakice na koju je prethodno nakapano par kapi pufera sa uzorkom (u ovom slučaju uzima se uzorak stolice), te je za očitavanje rezultata potrebno proći minimalno 15 minuta. Ovaj test ne služi samo za provjeru infekcije bakterijom, već upućuje na to je li korištena terapija učinkovita pri liječenju infekcije.

Terapija koja se danas koristi za liječenje infekcija uzrokovanih bakterijom *H. pylori* nosi naziv trojna terapija i uključuje korištenje 2 različita antibiotika i inhibitora protonske pumpe, koji povećava pH želuca i onemogućuje razvijanje kokoidnog oblika bakterije *H.pylori* i njeno preživljavanje. Najučinkovitiji antibiotici koji se koriste su klaritromicin i amoksisilin, a kao inhibitor protonske pumpe se koristi omeprazol.

7. SUMMARY

Helicobacter pylori is a microaerophilic organism that maintains the gastric mucosa in the human body and at the same time facilitates the development of many pathogenic conditions such as gastritis, gastric cancer, peptic ulcer and many others. 4.4 billion of the world's population are infected with *Helicobacter pylori*. Taking into account the different distribution of infection percentages on the continents, 79.1% falls on Africa as the country with the highest number of infected *Helicobacter pylori* bacteria.

It contains many characteristics that help it survive in the human stomach. By producing various enzymes that ensure its pathogenicity, it ensures the neutrality of the stomach and thus the penetration and development of the disease. Infections with this bacterium can appear as asymptomatic infections, but symptomatic cause symptoms such as burning in the stomach, vomiting, loss of appetite and others.

The bacterium *H.pylori* is significant because it can persist for a long time in the human body and cause symptoms if it is not treated in time and with appropriate therapy. Treatment of the bacterium requires the use of different methods, and in the case of *H. pylori* these are invasive and non-invasive methods. Invasive methods include histological examination, rapid urease test, isolation. The very name „invasive“ indicates that an invasive sampling method is used during the examination, in this case an endoscope, and therefore in the case of mild cases of *Helicobacter pylori* infection, the use of non-invasive methods is preferred. Non-invasive methods include urea breath test, stool antigen test and serological tests.

Of the mentioned methods, the antigen proof test in the stool is most often used as a test that is fast, practical, does not require a large space or additional employees for work. The test involves reading the results from a test strip on which a couple of drops of buffer with a sample have been previously dripped (in this case, a stool sample is taken), and it takes at least 15 minutes to read the results. This test is not only used to check for bacterial infection, but also indicates whether the therapy used is effective in treating the infection.

The therapy used today to treat infections caused by *H. pylori* is called triple therapy and includes the use of 2 different antibiotics and a proton pump inhibitor, which increases the pH of the stomach and prevents the development of the coccoid form of *H. pylori* and its survival. The most effective antibiotics used are clarithromycin and amoxicillin, and omeprazole is used as a proton pump inhibitor.

8. LITERATURA

1. Fischbach W, Malfertheiner P. *Helicobacter Pylori* Infection. Dtsch Arztebl Int. 2018;115(25):429-36. doi: 10.3238/arztebl.2018.0429. PMID: 29999489; PMCID: PMC6056709.
2. Kalenić S, Abram M, Batinić D, Beader N, Bedenić B, Bošnjak Z. Medicinska mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2013., str. 237
3. Konturek JW. Discovery by Jaworski of *Helicobacter pylori* and its pathogenetic role in peptic ulcer, gastritis and gastric cancer. J Physiol Pharmacol. 2003;Dec;54 Suppl 3:23-41. PMID: 15075463.
4. Kalenić S, Mlinarić Missoni E. Medicinska bakteriologija i mikologija, Zagreb MERKUR A.B.D, 2001.
5. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, Malfertheiner P i ostali;Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology.2017;153(2):420-29. doi: 10.1053/j.gastro.2017.04.022. Epub 2017 Apr 27. PMID: 28456631.
6. Šterbenc A, Jarc E, Poljak M, Homan M. *Helicobacter pylori* virulence genes. World J Gastroenterol. 2019;25(33):4870-884. doi:10.3748/wjg.v25.i33.4870
7. Strnad M, Presečki V, Babuš V, Turek S, Dominis M, Kalenić Smilja, Hebrang Andrija, Katičić Miroslava: Epidemiologija *Helicobacter pylori* infekcije (Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection). Liječnički vjesnik (0024-3477) 124 (2002), Suppl 1; 5-9
8. Mladenova I, Durazzo M. Transmission of *Helicobacter pylori*. Minerva Gastroenterol Dietol. 2018 Sep;64(3):251-54. doi: 10.23736/S1121-421X.18.02480-7. Epub 2018.,PMID: 29458239.
9. Kamboj AK, Cotter TG, Oxentenko AS. *Helicobacter pylori*: The Past, Present, and Future in Management. Mayo Clin Proc. 2017.;92(4):599-604. doi: 10.1016/j.mayocp.2016.11.017. Epub 2017 Feb 13. PMID: 28209367.
10. Chiara Ricci, John Holton, Dino Vaira, Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Invasive and non-invasive tests,Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Volume 21, Issue 2, 2007, Pages 299-313, ISSN 1521-6918, <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2006.11.002>
11. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev. 2006 Jul;19(3):449-90. doi: 10.1128/CMR.00054-05. PMID: 16847081; PMCID: PMC1539101.
12. Begovac J, Baršić B, Kuzamn I., Tešović G, Vince A. Klinička infektologija. Zagreb: Medicinska naklada; str. 739–40
13. Basynt PS, Evans G, Warburton VJ, McNully CAM, Stock D, Woodward A, FosterME. Is there an association between *Helicobacter pylori* and colorectal cancer ? XII thinternational Workshop on Gastroduodenal Pathology and *Helicobacter pylori* 1999; 45(Suppl III) : A 73
14. Abbas M. “Prevalence and Associated Symptoms of *Helicobacter pylori* Infection among Schoolchildren in Kassala State, East of Sudan.” Interdisciplinary perspectives on infectious diseases vol. 2018 4325752, doi:10.1155/2018/4325752

15. Sipponen P, Maaros HI. Chronic gastritis. *Scand J Gastroenterol.* 2015 Jun;50(6):657-67. doi: 10.3109/00365521.2015.1019918. Epub 2015 Apr 22. PMID: 25901896; PMCID: PMC4673514.
16. Vučković D, Plečko V, Kampilobakter. *Helikobakter.* U: Kalenić S, urednica. *Medicinska mikrobiologija.* Zagreb: Medicinska naklada, 2013., str 211
17. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon A, i sur. Management of helicobacter pylori infection-the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut.* 2017.;66(1):6–30.
18. Huh CW, Kim BW. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Korean J Gastroenterol.* 2018 Nov 25;72(5):229-236. Korean. doi: 10.4166/kjg.2018.72.5.229. PMID: 30642138.
19. Yagi K, Nakamura A, Sekine A. Comparison between magnifying endoscopy and histological, culture and urease test findings from the gastric mucosa of the corpus. *Endoscopy.* 2002 May;34(5):376-81. doi: 10.1055/s-2002-25281. PMID: 11972268.
20. Hartman DJ, Owens SR. Are routine ancillary stains required to diagnose *Helicobacter* infection in gastric biopsy specimens? An institutional quality assurance review. *Am J Clin Pathol.* 2012 Feb;137(2):255-60. doi: 10.1309/AJCPD8FFBJ5LSLTE. PMID: 22261451.
21. Cerqueira L, Fernandes RM, Ferreira RM, Carneiro F, Dinis-Ribeiro M, Figueiredo C, Keevil CW, Azevedo NF, Vieira MJ. PNA-FISH as a new diagnostic method for the determination of clarithromycin resistance of *Helicobacter pylori*. *BMC Microbiol.* 2011 May 14;11:101. doi: 10.1186/1471-2180-11-101. PMID: 21569555; PMCID: PMC3112065.
22. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. *Ann Transl Med.* 2015;3(1):9. doi:10.3978/j.issn.2305-5839.2014.12.04
23. Leszczyńska K, Namiot A, Namiot Z, Leszczyńska JK, Jakoniuk P, Chilewicz M, Namiot DB, Kemonia A, Milewski R, Bucki R. Patient factors affecting culture of *Helicobacter pylori* isolated from gastric mucosal specimens. *Adv Med Sci.* 2010;55(2):161-6. doi: 10.2478/v10039-010-0028-1. PMID: 20639184.
24. Momtaz H, Souod N, Dabiri H, Sarshar M. Study of *Helicobacter pylori* genotype status in saliva, dental plaques, stool and gastric biopsy samples. *World J Gastroenterol.* 2012 May 7;18(17):2105-11. doi: 10.3748/wjg.v18.i17.2105. PMID: 22563199; PMCID: PMC3342610.
25. Almeida N, Donato MM, Romãozinho JM, Luxo C, Cardoso O, Cipriano MA, Marinho C, Fernandes A, Sofia C. Correlation of *Helicobacter pylori* genotypes with gastric histopathology in the central region of a South-European country. *Dig Dis Sci.* 2015 Jan;60(1):74-85. doi: 10.1007/s10620-014-3319-8. Epub 2014 Aug 21. PMID: 25142169.
26. Abadi ATB, Loffeld RJLF, Constancia AC, Wagenaar JA, Kusters JG. Detection of the *Helicobacter pylori* dupA gene is strongly affected by the PCR design. *J Microbiol Methods.* 2014 Nov;106:55-56. doi: 10.1016/j.mimet.2014.07.027. Epub 2014 Aug 13. PMID: 25128081.

27. Yahaghi E, Khamesipour F, Mashayekhi F, Safarpour Dehkordi F, Sakhaei MH, Masoudimanesh M, Khameneie MK. *Helicobacter pylori* in vegetables and salads: genotyping and antimicrobial resistance properties. *Biomed Res Int*. 2014;2014:757941. doi: 10.1155/2014/757941. Epub 2014 Aug 12. PMID: 25184146; PMCID: PMC4145543.
28. McColl KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2010 Apr 29;362(17):1597-604. doi: 10.1056/NEJMcp1001110. PMID: 20427808.
29. Guarner J, Kalach N, Elitsur Y, Koletzko S. *Helicobacter pylori* diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009. *Eur J Pediatr*. 2010 Jan;169(1):15-25. doi: 10.1007/s00431-009-1033-x. Epub 2009 Jul 18. PMID: 19618211.
30. Gisbert JP, de la Morena F, Abaira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2006 Aug;101(8):1921-30. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00668.x. Epub 2006 Jun 16. Erratum in: *Am J Gastroenterol*. 2006 Oct;101(10):2445. PMID: 16780557.
31. Queiroz DM, Saito M, Rocha GA, Rocha AM, Melo FF, Checkley W, Braga LL, Silva IS, Gilman RH, Crabtree JE. *Helicobacter pylori* infection in infants and toddlers in South America: concordance between [13C]urea breath test and monoclonal *H. pylori* stool antigen test. *J Clin Microbiol*. 2013 Nov;51(11):3735-40. doi: 10.1128/JCM.01752-13. Epub 2013 Sep 4. PMID: 24006009; PMCID: PMC3889760.
32. Choi J, Kim CH, Kim D, Chung SJ, Song JH, Kang JM, Yang JI, Park MJ, Kim YS, Yim JY, Lim SH, Kim JS, Jung HC, Song IS. Prospective evaluation of a new stool antigen test for the detection of *Helicobacter pylori*, in comparison with histology, rapid urease test, (13)C-urea breath test, and serology. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 Jun;26(6):1053-9. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.06705.x. PMID: 21362044.
33. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ; European Helicobacter Study Group. Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut*. 2012 May;61(5):646-64. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302084. PMID: 22491499.

9. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime: Magdalena

Prezime: Merćep

Datum i mjesto rođenja: 9. rujna, 2000, Split

E – mail adresa: magdalena.mercep9@gmail.com

Obrazovanje:

2007. – 2015. Osnovna škola Kamen – Šine, Split

2015. – 2019. Srednja škola Jure Kaštelan, smjer Jezična gimnazija, Omiš

2019.- Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijske dijagnostike

Posebna znanja i vještine: engleski jezik (pismo i govor)

njemački jezik (pismo i govor)