

Strokovni prispevek/Professional article

PRIMERJAVA DVEH UREAZNIH BIOPTIČNIH TESTOV ZA DOKAZ OKUŽBE S *HELICOBACTER PYLORI* PRED ANTIMIKROBNIM ZDRAVLJENJEM IN PO NJEM

PROSPECTIVE COMPARISON OF TWO RAPID UREASE TESTS FOR THE DIAGNOSIS OF
HELICOBACTER PYLORI BEFORE AND AFTER ANTIMICROBIAL TREATMENT

Bojan Teps

Zdravilišče Rogaška, Zdravstvo, d. o. o., Zdraviliški trg 9, 3250 Rogaška Slatina

Prispelo 2003-04-10, sprejeto 2003-06-08; ZDRAV VESTN 2003; 72: 503-5

Ključne besede: ulkusna bolezen; diagnostični test; *Helicobacter pylori*; antimikrobno zdravljenje

Izvleček – Izhodišča. Hitri ureazni bioptični test (HUT) je osnovni diagnostični test za ugotavljanje okužbe s *Helicobacter pylori* pri endoskopskih preiskavah zgornjih prebavil. Razlike med posameznimi HUT testi so predvsem v hitrosti dobljenega izvida, kar je klinično pomembno. Zeleno je, da se bolniku prisotnost okužbe in s tem tudi planirano zdravljenje lahko predpiše ob zaključku endoskopske preiskave.

Metode. V študiji sem primerjal hitrost pozitivne reakcije in natančnost dveh ureaznih bioptičnih testov: CLO in Pliva bioplat. V študijo je bilo vključenih 50 bolnikov s *Helicobacter pylori* pozitivno ulkusno boleznijo. Kot diagnostične teste smo uporabili dva HUT testa, histološko preiskavo, kulturo in ¹³C urea dihalni test.

Rezultati. Senzitivnost in specifičnost obeh testov pred zdravljenjem in po njem je bila velika in se med testoma ni razlikovala tako pred zdravljenjem kot tudi po njem. Statistično značilna razlika pa je nastopila v hitrosti pozitivne reakcije pred zdravljenjem in po njem v korist Pliva bioplat testa. Pliva bioplat je bil pozitiven po 30 minutah pri 48/50 (96% bolnikov) pred uvedbo antimikrobnega zdravljenja v primerjavi z 32/50 (64% bolnikov) pri CLO testu ($p < 0,05$). Meseč dni po končanem antimikrobnem zdravljenju je bil Pliva bioplat test pozitiven pri 9/11 bolnikov (81%) po 30 minutah v primerjavi z le 3/11 (27%) pri CLO testu ($p < 0,05$).

Zaključki. Pliva bioplat hitri ureazni test je zanesljiv in hiter test za dokaz okužbe s *Helicobacter pylori* pred antimikrobnim zdravljenjem okužbe in po njej.

Key words: duodenal ulcer; diagnostical test; *Helicobacter pylori*; antimicrobial treatment

Abstract – Background. Rapid urease bioptic test (RUT) is a basic test for detection of *Helicobacter pylori* at upper gastrointestinal endoscopies. There are different RUT tests available commercially and the main difference between them lies in their reaction time. In every day clinical practice it is important for the physician to prescribe treatment at the time of upper gastrointestinal endoscopy.

Methods. This study presents comparison of two different RUTs (Pliva bioplat(e) and CLO) in terms of their accuracy and needed reaction time for the test to become positive. Fifty duodenal ulcer patients with *Helicobacter pylori* infection were included. All of them were tested with two rapid urease tests, histology, culture and ¹³C urea breath test.

Results. Sensitivity and specificity of both RUTs were very high and without any difference between them. Statistically significant difference appeared in the form of time needed for the test to become positive. Pliva bioplat(e) test became positive after 30 minutes in 48/50 (96%) of patients before introduction of the antimicrobial treatment compared with 32/50 (64%) of patients tested with the CLO test ($p < 0.05$). A month after antimicrobial therapy Pliva bioplat(e) test was positive in 9/11 (81%) after 30 minutes, compared with 3/11 (27%) of patients with the CLO test ($p < 0.05$).

Conclusions. Pliva bioplate test has practical advantages for physicians (endoscopists) who need a rapid and accurate method of diagnosing of *Helicobacter pylori* infection before and after antimicrobial therapy.

Uvod

Za dokaz okužbe s *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) pri endoskopiji zgornjih prebavil uporabljamo t. i. invazivne diagnostične teste: hitri ureazni bioptični test (HUT), histologijo, kulturo in gensko diagnostiko. Za vsakdanje praktično delo je vsekakor pomembno, da lahko zdravnik bolnika čimprej seznanjamo s prisotnostjo okužbe s *H. pylori* in priporočimo ustrezno

zdravljenje. Najhitrejši odgovor o prisotnosti *H. pylori* nam da vsekakor HUT. Zaradi svoje zelo visoke specifičnosti, ki je med 95 in 100%, je v primeru pozitivnega izvida, ob sicer nespektnih drugih spremembah pri endoskopiji, lahko tudi edini uporabljeni diagnostični test (1, 2). Najstarejši komercialno uporabljeni HUT je CLO test (Delta-West, Australia). V posebni plastični posodici je urea vklopljena v agar gel skupaj s fenolnim rdečilom in bakteriostatičnim

sredstvom. Vzorce želodčnega tkiva potopimo v agar s sterilno iglo. V primeru prisotnosti *H. pylori* pride do razgradnje uree, pH se spremeni v alkalno smer, kar povzroči spremembo barve pH indikatorja iz slamnato rumene v rdečo barvo. Na pozitiven izvid je treba počakati do nekaj ur, zadnja odčitava je po 24 urah. Test je, kot rečeno, visoko specifičen, senzitivnost pa je nekoliko nižja (okrog 90%). Z odvzemi najmanj dveh vzorcev se nekoliko izboljša tudi senzitivnost, saj se zmanjša možnost napake vzorčenja (3). Relativna slabost CLO testa je predvsem v počasnosti pozitivne reakcije. Novi testi, ki imajo namesto agar medija le testni trak, naj bi bili klinično bolj uporabni zaradi hitrejše reakcije.

V študiji sem želel primerjati dva HUT, in sicer CLO in Pliva biopstat, ki temelji na testnem traku. Primerjal sem senzitivnost in specifičnost obeh testov v primerjavi z drugimi uporabljenimi testi in pa hitrost pozitivne reakcije.

Bolniki in metode

V raziskavo je bilo vključenih 50 bolnikov s *H. pylori* pozitivno ulkusno boleznijo. Vsem smo pred začetkom antimikrobnega zdravljenja in mesec dni po končanem zdravljenju opravili naslednje diagnostične preiskave pri endoskopiji zgornjih prebavil:

- dva vzorca iz velike krivine korpusa in antruma želodca sta bila odvzeta za CLO test;
- dva vzorca iz velike krivine korpusa in antruma želodca sta bila odvzeta za Pliva biopstat test;
- za histološko preiskavo smo odvzeli po dva vzorca iz velike in male krivine korpusa in antruma želodca. Biopte smo fiksirali v 10% nevtralnem formalinu, jih vključili v parafin in štiri mikrometrski rezine obarvali s hematoksilin-eozinom in po Giemsa.

Za kulturo smo odvzeli dva vzorca iz antruma želodca. V transportnem mediju Portagerm pylori (Bio Merieux Marcy l'Etoile, Francija) smo jih poslali na Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo v Ljubljano. Tam so vzorce kultivirali na 1,5% BHI agarju z 1% kvasnim ekstraktom, obogatenim z 10% konjske krvi, 20% konjskega seruma, 1% Biovitexa (Bioline). Agarju so dodali dva antibiotika, in sicer: amphotericin B (2 mg/L) in vancomycin (10 mg/L). Kulture so inkubirali pri 37 °C do 14 dni v mikroaerofilnih pogojih.

Vsak bolnik je opravil tudi ¹³C urea dihalni test po evropskem protokolu (75 mg uree). Uporabili smo infrardeči spektrometer FANCI-2 (Olympus Europe).

Raziskava je bila izvedena skladno z deklaracijo iz Helsinkov, študijo je odobrila Komisija za medicinskoetična vprašanja Medicinske fakultete v Ljubljani. Vsi bolniki so k raziskavi podali prostovoljno pisno soglasje.

Pri statistični obdelavi smo uporabili Wilcoxonov test predznačenih rangov. Rezultat je bil statistično značilen pri $p < 0,05$.

Rezultati

Vseh 50 bolnikov, vključenih v študijo, je imelo pred začetkom zdravljenja dokazano okužbo s *H. pylori*. V razpredelnici 1 so prikazani rezultati obeh HUT glede na hitrost pozitivnega izvida. Po 30 minutah je bilo kar 48 bolnikov pozitivnih na *H. pylori* s Pliva biopstat testom v primerjavi z 32 bolniki s CLO. Razlika v hitrosti pozitivnega izvida je bila statistično značilna ($p < 0,05$). Oba diagnostična testa sta pravilno ugotovila prisotnost *H. pylori* pri vseh 50 bolnikih.

Mesec dni po končani tritritni antimikrobni terapiji (omeprazol 2 × 20 mg, amoksisicilin 2 × 1000 mg in klaritromicin 2 × 500 mg) je bila eradikacija *H. pylori* dosežena pri 37 bolnikih (74%), 13 bolnikov pa je bilo še vedno okuženih. Ko primerjamo oba HUT testa, ugotovimo, da sta prisotnost *H. pylori*

Razpr. 1. *Hitrost ugotovitve prisotnosti Helicobacter pylori pred antimikrobnim zdravljenjem pri 50 bolnikih z dvema ureaznima bioptičnima testoma.*

Table 1. *The difference in velocity of positive result for Helicobacter pylori infection in 50 patients before antimicrobial therapy with two rapid urease bioptic tests.*

Test	Čas / Time		
	30 minut / minutes	3 ure / hours	24 ur / hours
Pliva biopstat	48* (96%)	2 (4%)	0
CLO	32* (64%)	16 (32%)	2 (4%)

* Razlika je statistično značilna ($p < 0,05$).

The difference is statistical significant ($p < 0,05$).

Razpr. 2. *Hitrost izvida dveh hitrih ureaznih testov po antimikrobnem zdravljenju.*

Table 2. *The difference in velocity of positive results for Helicobacter pylori infection after antimicrobial therapy with two urease bioptic tests.*

Test	Čas / Time		
	30 minut / minutes	3 ure / hours	24 ur / hours
Pliva biopstat	9* (81%)	2 (19%)	0
CLO	3* (27%)	7 (64%)	1 (9%)

* Razlika je statistično značilna ($p < 0,05$).

The difference is statistical significant ($p < 0,05$).

Razpr. 3. *Senzitivnost in specifičnost CLO in Pliva biopstat testa pred zdravljenjem in po njem.*

Table 3. *The sensitivity and specificity of CLO and Pliva biopstat tests before and after treatment.*

Test		Pred zdravljenjem Before treatment	Po zdravljenju After treatment
CLO	senzitivnost / sensitivity	100%	96,8%
	specifičnost / specificity	100%	100%
Pliva biopstat	senzitivnost / sensitivity	100%	96,8%
	specifičnost / specificity	100%	100%

pravilno ugotovila pri 11 bolnikih, pri dveh pa sta bila lažno negativna. Tudi po antimikrobnem zdravljenju je Pliva biopstat test dokazal prisotnost *H. pylori* po 30 minutah pri devetih bolnikih, CLO test pa le pri treh bolnikih. Razlika je ponovno statistično značilna ($p < 0,05$ – razpr. 2). Senzitivnost in specifičnost sta bila tako pred terapijo kot po njej enaka za oba testa (razpr. 3).

Razpravljanje

Oba hitra ureazna bioptična testa sta se v študiji pokazala kot izredno natančna s 100% specifičnostjo in visoko senzitivnostjo (100% pred vključitvijo oz. 96,8% po antimikrobnem zdravljenju). Oba testa sta tudi zelo zanesljiva z 98% natančnostjo. Od iznajdbe testa leta 1989 (4) pa vse do danes je zato HUT osnovna invazivna diagnostična metoda za dokazovanje okužbe s *H. pylori*. Pred začetkom antimikrobnega zdravljenja je zaželeno, da se za HUT odvzame vsaj dva vzorca iz antruma želodca, saj to poveča senzitivnost testa (5). Število in lokalizacija odvzemov je še bolj pomembna po antimikrobnem zdravljenju, ko je v primeru neuspeha zdravljenja število bakterij lahko bistveno manjše (3). Po zdravljenju je tudi večja možnost za napake vzorčenja, predvsem pri starejših bolnikih, ki imajo lahko že razvito intestinalno metaplazijo, ki jo *H. pylori* ne kolonizira. Zato je pomembno, da se po zdravljenju za HUT odzame vsaj dva biopsta, najbolje iz korpusa in antruma

želodca (6). Po terapiji z zaviralci protonске črpalke lahko pride do premika bakterij *H. pylori* v korpusni del želodca in bakterijo lahko odkrijemo samo z biopti iz korpusa. Za pozitivni HUT je potrebnih med 1000 in 10.000 CFU/mml (7).

V naši študiji primerjave dveh HUT izstopa predvsem statistično značilna razlika v hitrosti pozitivnega izvida v korist Pliva biopstat testa. Možna razlaga je v razliki v osnovnem nosilnem mediju. Agar v CLO testu lahko podaljša čas difuzije ureaze in s tem čas razgradnje uree ter posledično spremembo pH. Do podobnih rezultatov so prišli tudi Chiao in sodelavci (8). Dodatna prednost pri Pliva biopstat testu je tudi možnost shranjevanja pri sobni temperaturi za razliko od CLO testa, ki ga je treba shranjevati v hladilniku.

Znana je nižja senzitivnost HUT pri bolnikih s krvavitvijo, saj lahko v teh primerih natančnost določanja *H. pylori* pade skoraj za 20% (9). V teh primerih je zato bolje uporabiti druge invazivne in neinvazivne teste.

V vsakodnevni klinični praksi lahko uporabljamo tudi magistralno pripravljene HUT, ki pa jih moramo poprej standardizirati v primerjavi z ostalimi diagnostičnimi metodami (10). Prav tako se moramo zavedati, da je HUT visoko senzitivni test, vendar so v nekaj odstotkih možni tudi lažno negativni izvidi. Zato je priporočljivo, da v vsakodnevni klinični praksi uporabimo vsaj dve diagnostični metodi. V kliničnih študijah pa so zaradi večje zanesljivosti potrebni vedno najmanj trije diagnostični testi.

Literatura

1. Schnell GA, Schubert TT. Usefulness of culture, histology and urease testing in the detection of *Campylobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 133–7.
2. El-Zimaity HM, Al-Assi MT, Genta RM, Graham DY. Confirmation of successful therapy of *Helicobacter pylori* infection: number and site of biopsies of a rapid urease test. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1962–4.
3. De Boer WA, de Vos RJ. Accuracy of pre-treatment and post-treatment biopsy based tests for the detection of *H. pylori* infection. In: De Boer WA. *Helicobacter pylori. Studies on epidemiology, diagnosis and therapy*. Amsterdam: Thesis, 1996.
4. McNulty CA, Dent JC, Uff JS, Gear MW, Wilkinson SP. Detection of *Campylobacter pylori* by the biopsy urease test: an assessment in 1445 patients. *Gut* 1989; 30: 1058–62.
5. Laine L, Chun D, Stein C, El-Beblawi I, Sharma V, Chondrosoma P. The influence of size or number of biopsies on rapid urease test results: a prospective evaluation. *Gastrointestinal Endosc* 1996; 43: 49–53.
6. Zwet AA, Thijs JC, Roosendaal R, Krippers EJ, Pena S, Graaff J. Practical diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 501–7.
7. Lee N, Lee TT, Fong KM. Assessment of four rapid urease test systems for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 18: 69–74.
8. Chiao HK, Deng CW, Chian YL et al. The media of rapid urease test influence the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Hepato-Gastroenterol* 2002; 49: 1191–94.
9. Lee JM, Breslon NP, Fallon C, O'Morain CA. Rapid urease test lack sensitivity in *Helicobacter pylori* diagnosis when peptic ulcer disease presents with bleeding. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1166–70.
10. Tepeš B, Kavčič B, Jurjec D. Pogostnost *Helicobacter pylori* pozitivnega gastritisa pri rutinskih gastroskopijah. *Zdrav Vestn* 1993; 62: 97–9.