

Laboratorijska dijagnostika i epidemiološke značajake *Helicobacter pylori* infekcija

Vavidec, Danica

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:418138>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
Diplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika

Danica Vavidec

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA I EPIDEMIOLOŠKE
ZNAČAJKE HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJA

Diplomski rad

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
Diplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika

Danica Vavidec

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA I EPIDEMIOLOŠKE
ZNAČAJKE HELICOBACTER PYLORI INFEKCIJA

Diplomski rad

Osijek, 2018.

OVAJ RAD IZRAĐEN JE U ZAVODU ZA JAVNO ZDRAVSTVO
OSJEČKO-BARANJSKE ŽUPANIJE I KATEDRI ZA MIKROBIOLOGIJU
I PARAZITOLOGIJU MEDICINSKOG FAKULTETA OSIJEK
SVEUČILIŠTA JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

Mentor rada: doc. dr. sc. Domagoj Drenjančević, dr. med.

Rad ima listova 27, tablica 9 , slika 1.

SADRŽAJ

| | |
|---|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. <i>Helicobacter pylori</i> | 1 |
| 1.1.1. Epidemiologija i patogeneza | 2 |
| 1.1.2. Klinički značaj <i>H. pylori</i> | 3 |
| 1.2. Laboratorijska dijagnostika..... | 3 |
| 1.2.1. Test antigena <i>H. pylori</i> u stolici | 4 |
| 1.2.2. Urejni izdisajni test (UIT) | 4 |
| 1.2.3. Serološki testovi | 4 |
| 1.2.4. Invazivne metode | 4 |
| 1.3. Liječenje infekcije <i>H.pylori</i> | 5 |
| 2. CILJ RADA | 6 |
| 3. ISPITANICI I METODE | 7 |
| 3.1. Ustroj studije..... | 7 |
| 3.2. Ispitanici..... | 7 |
| 3.3. Uzorci i metode..... | 7 |
| 3.4. Statistička obrada podataka | 8 |
| 4. REZULTATI | 9 |
| 5. RASPRAVA | 17 |
| 6. ZAKLJUČAK | 19 |
| 7. SAŽETAK | 20 |
| 8. SUMMARY | 22 |
| 9. LITERATURA | 24 |
| 10. ŽIVOTOPIS | 27 |

POPIS KRATICA KORIŠTENIH U TEKSTU

H. pylori – *Helicobacter pylori*

ELISA – eng. *enzyme linked immunosorbent essay*

GERB – gastroezofagealna refluksna bolešt

MALT – limfom – eng. *Mucosa-Associated Lymphoid Tissue*

IPP – inhibitori protonske pumpe

PCR – eng. *polymerase chain reaction*

UIT – urejni izdisajni test

ZZJZ - Zavod za javno zdravstvo

1. UVOD

Infekcije uzrokovane bakterijom *Helicobacter pylori* danas su globalni problem, smatra se da je oko 50 % populacije inficirano tom bakterijom. Spoznaja o postojanju bakterija na želučanoj sluznici starija je od jednog stoljeća, kada se već raspravljalo o infektivnom agensu kao mogućem uzročniku upale želučane sluznice i peptičkog ulkusa (1). Bakterija je prvi put izolirana 1982. godine, a opisana 1983. godine kada su Marshal i Werren upozorili na izravnu povezanost spiralne bakterije i infiltracije sluznice polimorfonuklearnim leukocitima. 1987. godine daju naziv *Campylobacter pylori*, potom je izdvojena iz skupine *Campylobacter* (1989. god.) i svrstana u skupinu pod današnjim imenom *Helicobacter pylori* (2).

Brojna istraživanja potvrdila su ulogu *H. pylori* kod razvoja kroničnog gastritisa, želučanog i duodenalnog ulkusa. Prepoznata mu je etiološka uloga u patogenezi karcinoma želuca i ključna uloga u nastanku niskomalignih MALT-limfoma.

Na temelju tih istraživanja *Helicobacter pylori* je 1994. godine svrstan u karcinogene prvog reda (3).

Infekcija *H.pylori* započinje ulaskom bakterije u probavni sustav domaćina. Ishod infekcije ovisi o sposobnosti bakterije da svlada fizikalno-kemijske barijere u želucu, njenom prihvaćanju za epitelne stanice, razmnožavanju i daljnjem širenju. Bakterija mijenja imunski odgovor domaćina neprestanim podržavanjem uravnoteženosti između umnažanja bakterije i obrambenog odgovora domaćina, čime se objašnjava postojanje dugotrajne upalne reakcije niskog intenziteta. Infekcija se razvija i kod odraslih i kod djece, štoviše infekcija se zbiva najčešće u dječjoj dobi i u većine zaraženih traje doživotno (4).

1.1. *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori je zavnuti gram-negativni štapić, koji je nađen na sluznici čovjekova želuca. Ta bakterija dovodi do dugotrajne (kronične) upalne reakcije želuca (gastritis). Vrlo je pokretan zahvaljujući postojanju bičeva (4 - 6) koji se mogu naći na jednom polu ili na oba pola bakterije. Bakterija je mikroaerofilna, a optimalni rast postiže na 37°C, raste sporo i za rast treba bogatu podlogu. Jedina je bakterija koja preživi u niskom pH području. Svi sojevi *Helicobacter pylori* luče ureazu (koja neutralizira niski pH želuca), oksidazu, katalazu, mucinazu i fosfolipazu. Neki sojevi luče citotoksin i CagA protein. Lipopolisaharid

H. pylori sadržava lipid A, oligosaharid i postranični O-lanac koji je antigenski istovjetan antigenima krvnih grupa pa se smatra da štiti bakteriju od imunskog odgovora domaćina (5).

1.1.1. Epidemiologija i patogeneza

Incidencija infekcije *H. pylori* teško se izravno utvrđuje s obzirom na to da akutna infekcija ima vrlo malo karakterističnih simptoma ili ih uopće nema. To je razlog da se u literaturnim podacima uglavnom navode podatci prevalencije infekcije, a ne incidencije. Prevalencija je odraz ravnoteže između učestalosti i trajanja infekcije u nekoj zajednici.

Infekcija *H. pylori* utvrđena je u svim dijelovima svijeta, u ljudi svih rasa i dobi. Rasprostranjenost infekcije je vrlo varijabilna i kreće se od 35 % u razvijenim zemljama do > 90 % u zemljama u razvoju. U zemljama u razvoju (zemljama s niskim higijenskim standardom) većina djece je inficirana *H. pylori* prije desete godine života, dok se maksimum inficiranosti (80 %) postiže prije pedesete godine života. U razvijenim zemljama serološki pokazatelji infekcije su vrlo rijetko pozitivni u djece mlađe od deset godina, rastu do 10 % u dobi 18 - 30 godina, a maksimum inficiranosti (50 %) doseže se tek nakon 60 godina života. Prevalencija infekcije *H. pylori* u Hrvatskoj u dobi 20 - 70 godina iznosi 60,4 – 68 % i znatno raste u starijim dobnim skupinama, posebno iznad 45 godine (6). Epidemiološka ispitivanja potvrđuju da je moguć prijenos infekcije pri endoskopiji, međutim najčešći put prijenosa infekcije je priborom za jelo, poljupcem, konzumacijom ostataka hrane i fekalno-oralnim putem. Način prijenosa infekcije nije u potpunosti istražen, međutim sve dosadašnje spoznaje govore u prilog tome da se infekcija prenosi izravno sa zaražene osobe na zdravu osobu, a ne preko prijenosnika iz čovjekove okoline (7). Infekcija započinje ulaskom bakterije u probavni sustav. Da bi *Helicobacter* postao patogen, mora prvo kolonizirati želučanu sluznicu, perzistirati i moći inducirati bolest. Bakterija u želucu svrdlastim kretanjem dopire do epitelnih stanica, adhezinom se priljubi uz njih ili uđe u mukozni sloj, može prodrijeti i u citoplazmu epitelnih stanica te u stromu, nalazimo je i u makrofagima. U vrlo niskom pH bakterija preživljava lučeći ureazu koja alkalizira sluz pri čemu se stvaraju amonijevi ioni i štite bakteriju od djelovanja kiseline (8). *Helicobacter pylori* je karakteriziran velikom genskom varijabilnošću, tako da je pojava različitih izolata u istog pojedinca tijekom vremena moguća zbog promjena u strukturi DNA, rekombinantnih događaja kao i endogenih mutacija (9). Ta se infekcija povezuje i s

određenim ekstragastričnim manifestacijama kao što su neke kožne bolesti te vaskularni i imunosni poremećaji.

1.1.2. Klinički značaj *H. pylori*

Kod vrlo malog broja bolesnika *H. pylori* nestane sa želučane sluznice, uglavnom akutne infekcije prelaze u kronične, a u većine bolesnika, ako se ne liječe, infekcija traje doživotno. Kolonizacija bakterijom uvijek dovodi do akutnog gastritisa koji je karakteriziran infiltracijom neutrofila i mononukleara u želučanu sluznicu. Neke osobe nemaju jasne simptome bolesti, iako mogu imati upalne promjene na želučanoj sluznici, koje se mogu potvrditi gastroskopskim pregledom. U drugih se osoba mogu razviti kliničke slike poput ulkusa, tumora, karcinoma ili limfoma želuca (10). Najčešći simptom infekcije *H.pylori* je ravnomjerna i tupa bol u predjelu želuca. Javlja se u razmacima od nekoliko dana do nekoliko tjedana. Kod ulkusa na želucu bol se pojačava nakon konzumacije hrane. Kod ulkusa na dvanaesniku bol se javlja nekoliko sati nakon jela ili usred noći na prazan želudac, a prestaje unosom hrane. Važni simptomi infekcije su gubitak tjelesne težine izazvan averzijom prema hrani, nadutost, podrigivanje, mučnina i povraćanje, ali simptomi mogu i izostati ili biti vrlo blagi. Jedna od čestih komplikacija su krvarenja iz želuca i javljaju se u 25 % slučajeva (11). Inficirane osobe su 3 do 6 puta sklonije nastanku želučanog karcinoma. Infekcija *H.pylori* je povezana s intestinalnim tipom adenokarcinoma antruma i korpusa želuca, ali ne i karcinomom kardije. Također je povezana s limfomom želuca i posebnim monoklonskim tumorom MALT-limfomom.

1.2. Laboratorijska dijagnostika

Dijagnostičke metode za dokazivanje infekcije *H.pylori* dijele se na invazivne i neinvazivne metode. Invazivne su metode vezane za gastroskopiju, uzimanje uzorka želučane sluznice za patohistološku analizu, brzi ureaza-test te mikrobiološku analizu i kultivaciju i molekularni test PCR u biopsijskom uzorku. Neinvazivni testovi su serološki testovi, urejni izdisajni test i test detekcije antigena u stolici. (12)

1.2.1. Test antigena *H. pylori* u stolici

Dostupna su dva testa za detekciju antigena u stolici, laboratorijski test ELISA i brzi uredski test temeljen na imunokromatografskoj tehnici. Imunoenzimskim postupkom može se izravno otkriti prisutnost antigena u stolici (13). Tim se testovima može procijeniti uspjeh terapije već četiri tjedna nakon završetka terapije jer se liječenjem razina antigena smanjuje ili potpuno nestaje iz stolice bolesnika (14).

1.2.2. Urejni izdisajni test (UIT)

Urejni izdisajni test brz je i pouzdan test za otkrivanje *H.pylori* pa se može koristiti kao skrining-test. Pomoću spektrometrije mjeri se razina izdahnutog CO₂ u kojem je atom ugljika radioaktivno obilježen. Test je visoko osjetljiv (90 %) i specifičan (96 %), dok se pouzdanost tog testa kreće oko 95 % (15). U svrhu još veće osjetljivosti testa ne bi trebalo uzimati nikakve antibiotike četiri tjedna prije izvođenja pretrage jer su primijećeni lažno negativni nalazi u bolesnika liječenih inhibitorima protonske pumpe, antibioticima i bizmutom (16).

1.2.3. Serološki testovi

Serološka testiranja detektiraju IgG protutijela, a prednost se daje ELISA-testu, validiranom i komercijalno dostupnom. Osjetljivost testova je 90%, a specifičnost 83%, koriste se u dijagnozi i epidemiološkim istraživanjima. IgG titar nije koristan za kontrolu eradikacije infekcije jer mu je ponekad potrebno do godinu dana da njegova razina padne na 50 %, pa se ti testovi ne preporučaju za rutinsku primjenu praćenja uspješnosti liječenja (17).

1.2.4. Invazivne metode

Endoskopski pregled gornjeg dijela probavnog trakta s uzimanjem biopsije standardna je dijagnostička procedura za većinu bolesnika koji imaju smetnje probavnog trakta. Uzimaju se dva biopsijska uzorka (jedan iz antruma, drugi iz korpusa) za patohistološku analizu, brzi ureaza-test za mikrobiološku analizu ili molekularni PCR-test (18). Brzi ureaza-test – u uzorku se

dokazuje prisutnost ureaze koja oslobađa amonijak koji podiže Ph uzorka te uzrokuje promjenu boje (iz žute u crvenu). Histologija –*H.pylori* može se prikazati standardnim bojenjem želučane sluznice dobivene endoskopijom. Bitno je istaknuti da terapija protusekrecijskim lijekovima mijenja naseljenost bakterije u želucu pa biopsija samo antralne sluznice može dovesti do lažno negativnih nalaza (19). Osim toga nalaz patohistološke analize može također biti lažno negativan ako je uzorak želučane sluznice uzet s mjesta intestinalne metaplazije ili želučanog karcinoma (20). Mikrobiološka je analiza korisna u određivanju razvoja rezistencije na lijekove i planiranje druge linije liječenja kod rezistentnih bolesnika (21).

1.3. Liječenje infekcije *H.pylori*

Osjetljivost *H.pylori in vitro* velika je na niz antibiotika, dok je *in vivo* osjetljivost znatno slabija, naročito kod liječenja pojedinačnim antibioticima pa se eradikacija bakterije ne može postići monoterapijom. Trenutne preporuke nalažu da svi pacijenti s duodenalnim i želučanim vrijedom trebaju primiti eradikacijsku terapiju ako se dokaže prisutnost bakterije. Liječenje se provodi tzv. trojnom terapijom, koja uključuje inhibitore protonske pumpe (Omeprazol), antibiotike (Amoksisilin i Klaritromicin), liječenje traje 7 - 10 dana (22). Neuspjeh terapije je najčešće povezan s rezistencijom bakterije na antibiotike, a ne s reinfekcijom. Druga linija terapije uključuje kelate bizmuta, metronidazol i tetracikline zajedno s inhibitorima protonske pumpe kroz 14 dana (23). Uspješnost eradikacije u razvijenim zemljama je oko 90 %, a reinfekcija je vrlo rijetka (1 %). Iako postoji više načina eradikacije, treba uzeti kod svih u obzir da je neophodna dobra suradnja bolesnika, da postoji relativno visoka rezistencija na metronidazol i klaritromicin, da metronidazol ima česte nuspojave te da su kelati bizmuta neugodni za uzimanje. U mjere prevencije infekcije *H.pylori* svakako bi trebalo biti uključeno uzimanje probiotika koji djeluju na smanjenje nuspojava i time omogućuju bolju suradljivost bolesnika, što povećava postotak eradikacije *H.pylori* (24). Sve smjernice ističu da terapijski protokol za infekciju *Helicobacter pylori* mora biti jednostavan, jeftin i dobro podnošljiv kako bi se što lakše i što potpunije proveo.

2. CILJ RADA

1. Prikazati najvažnije epidemiološke karakteristike infekcije *H.pylori*
2. Ispitati učestalost infekcije *H.pylori* u ispitivanoj populaciji
3. Prikazati raspodjelu bolesnika prema spolu, dobi i radnom statusu
4. Ispitati osjetljivost *H.pylori* na antibiotike tijekom tri godine.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Istraživanje je presječno iz povijesnih podataka.

3.2. Ispitanici

U istraživanje su uključeni bolesnici koje je uputio liječnik primarne zdravstvene zaštite na odjel mikrobiologije Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije na dokazivanja antigena *H.pylori* u stolici i bolesnici koje je uputio gastroenterolog koji je prethodno bolesniku uzeo bioptički uzorak želučane sluznice endoskopijom u svrhu dokazivanja prisutnosti *H.pylori* u sluznici želuca. Ispitanici ne sudjeluju aktivno u istraživanju, nego se koriste podatci iz baze podataka Službe za mikrobiologiju unazad tri godine.

3.3. Uzorci i metode

Svi podatci o uzorcima i ispitanicima dobiveni su iz elektroničke baze podataka Mikrobiološkog laboratorija ZZJZ Osječko-baranjske županije. Uzorci stolice obrađeni su neinvazivnom metodom za pacijenta, imunokromatografskim testom („Diaquick“). Metoda je brza, jednostavna i lako izvodiva.

„Diaquick“ je imunokromatografski skrining-test za kvalitativno dokazivanje antigena *H. pyloria* u stolici. Uzorak stolice pomiješa se s puferom i nanese na kasetu na kojoj su nanesena poliklonska antitijela na membranu. Uzorak putuje kapilarnim silama do mjesta gdje je antitijelo koje je obilježeno koloidnim česticama, stvara se kompleks koji je obojen i vidljiv na prozorčiću kasete.

Pozitivan test pokazuje crveno označenu zonu na mjestu vezivanja antigena s antitijelom. Odsustvo crveno obojene linije ukazuje na negativan test. Prisutnost obojene linije kontrole (bez obzira na pozitivan ili negativan ishod testa) pokazatelj je kontrole i ispravnosti provođenja testa.

Test je osjetljiv 94 %, a specifičan 96,7 %.

Invazivnom metodom uzimanja uzorka biopsije želučane sluznice dokazuje se postojanja *H. pylori* u sluznici želuca metodom kultivacije.

Uzorak biopsije nasađuje se na ureu i na krvnu podlogu koja je obogaćena i na kojoj je omogućen bolji rast u mikroaerofilnim uvjetima. Inkubacija traje 5 - 7 dana u mikroaerofilnim uvjetima na 37°C u vlažnoj komori uz prisustvo CO₂ (5 – 10 %). Porast kulture zahtijeva identifikaciju, bojenje po gramu, testove na katalazu, ureazu i oksidazu koji su pozitivni za *H. pylori* i izradu antibiograma u svrhu dokazivanja osjetljivosti ili rezistencije na testirane antibiotike.

Test osjetljivosti radi se difuzijskom metodom, bakterijski soj (McF 0,5) nanosi se na hranjivu, obogaćenu podlogu na koju se dodaju diskovi antibiotika koji se testiraju i kultivira pod istim uvjetima kao i uzorak, nakon inkubacije određuju se zone osjetljivosti antibiotika.

Test je osjetljiv 70 - 80 %, a specifičnost je gotovo 100 %, osjetljivost testa je niža pri kontroli nakon provedene eradikacijske terapije.

3.4. Statistička obrada podataka

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli su testirane hi-kvadrat testom ili Fischerovim egzaktnim testom. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je podešena na $\alpha=0,05$. Podatci su statistički analizirani upotrebom informatičkog programa SPSS (inačica 16.0, SPSS Inc., Chicago, IL, SAD) i Microsoft Office Excel tabličnog kalkulatora.

4. REZULTATI

U laboratoriju za crijevne bolesti Službe za mikrobiologiju, Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine ukupno je obrađeno 17 958 pacijenata upućenih na dokazivanje antigena *H.pylori* u stolici i 304 pacijenta kojima je endoskopijom uzet uzorak biopsije želučane sluznice.

Tablica 1. Odnos pozitivnih i negativnih ispitanika 1. 1. 2014. - 31. 12. 2016. godine

| | 2014. god. | 2015. god. | 2016. god. | UKUPNO | P * |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|--------|------------|
| Pozitivni | 1515 (27,43 %) | 1835 (29,18 %) | 1339 (21,83 %) | 4 689 | P < 0,0001 |
| Negativni | 4008 (72,57 %) | 4467 (70,82 %) | 4794 (78,17 %) | 13 269 | |
| UKUPNO | 5523 (100,0 %) | 6302 (100,0 %) | 6133 (100,0 %) | 17 958 | |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

(* Hi-kvadrat test)

Tablica 1. pokazuje ukupan broj uzoraka u svakoj godini pojedinačno i odnos pozitivnih i negativnih uzoraka na antigen *H.pylori* u stolici.

Tablica 2. Ispitanici pozitivni na *H.pylori* na području Osječko-baranjske županije od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine prema dobi i spolu

| | Broj ispitanika (%) | Minimalna dob ispitanika | Maksimalna dob ispitanika | p* |
|----------|---------------------|--------------------------|---------------------------|------------|
| Muškarci | 1444 (30,7) | 2 | 91 | P < 0,0001 |
| Žene | 3245 (69,3) | 3 | 95 | |
| UKUPNO | 4689 (100 %) | 2 | 95 | |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

p*- Hi kvadrat test

Tablica 2. prikazuje ispitanike od najranije do visoko starosne dobi i odnos žena i muškaraca koji su testirani te da je statistički uočena značajna razlika prisutnosti antigena *H. pylori* među spolovima.

Tablica 3. Ispitanici pozitivni na *H.pylori* na području Osječko-baranjske županije od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine prema dobnoj skupini kojoj pripadaju

| Dobna skupina (godine) | Broj ispitanika (%) |
|------------------------|---------------------|
| 1 – 20 | 189 (4,0) |
| 21 – 40 | 798 (17,0) |
| 41 – 60 | 1913 (40,8) |
| 61 – 80 | 1651 (35,2) |
| 81 – 95 | 138 (2,9) |
| ukupno | 4689 (100,0) |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

Iz tablice 3 u kojoj je razvrstana ispitivana populacija po dobnim skupinama vidljivo je da je najviše ispitanika životne dobi od 40 - 60 godina.

Tablica 4. Ispitanici pozitivni na *H. pylori* na području Osječko-baranjske županije od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine prema dobnoj skupini kojoj pripadaju

| Dobna skupina (godine) | Broj ispitanika (%) | | |
|---------------------------|---------------------|--------------|--------------|
| | 2014. godina | 2015. godina | 2016. godina |
| 1 – 20 | 49 (3,2) | 77 (4,2) | 63 (4,7) |
| 21 – 40 | 234 (15,4) | 353 (19,2) | 211 (15,8) |
| 41 – 60 | 640 (42,2) | 733 (39,9) | 540 (40,3) |
| 61 – 80 | 546 (36,0) | 616 (33,6) | 489 (36,5) |
| 81 – 95 | 46 (3,0) | 56 (3,1) | 36 (2,7) |
| Ukupno | 1515 (100,0) | 1835 (100,0) | 1339 (100,0) |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko – baranjske županije)

p*- Hi kvadrat test

Tablica 4. prikazuje pacijente pozitivne na *H. pylori* antigen u stolici prema dobnim skupinama za svaku godinu, najviše pacijenata je dobi od 40 - 60 godina a najveći broj pozitivnih uzoraka je u 2015.godini.

Tablica 5. Ispitanici pozitivni na *H.pylori* na području Osječko-baranjske županije od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine prema radnom statusu

| Radni status (godine) | Broj ispitanika (%) | P * |
|--------------------------------------|---------------------|------------|
| Djeca (1 – 18) | 145 (3,1) | p < 0,0001 |
| Radno aktivno stanovništvo (19 – 65) | 3346 (71,4) | |
| Umirovljenici (66 i više) | 1198 (25,5) | |
| Ukupno | 4689 (100,0) | |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

p * - Hi kvadrat test

Iz tablice 5. vidljivo je da je najmanji broj ispitanika bio dječje dobi (1 – 18 god.), najveći broj ispitanika bio je 19 - 65 godina, što govori da je najveći broj pacijenata radno aktivnih što potvrđuje i statistička obrada.

Tablica 6. Ispitanici pozitivni na *H. pylori* na području Osječko-baranjske županije od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine prema radnom statusu

| Radni status (godine) | Broj ispitanika (%) 2014. godina | Broj ispitanika (%) 2015. godina | Broj ispitanika (%) 2016. godina | P * |
|--|--|--|--|------------|
| Djeca (1 – 18) | 41 (2,7) | 55 (3,0) | 49 (3,7) | P = 0,4006 |
| Radno aktivno stanovništvo (19 – 65) | 1092 (72,1) | 1322 (72,0) | 932 (69,6) | |
| Umirovljenici (66 i više) | 382 (25,2) | 458 (25,0) | 358 (26,7) | |
| Ukupno | 1515 (100,0) | 1835 (100,0) | 1339 (100,0) | |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

Tablica 6.pokazuje odnos radnog stanovništva po godinama pojedinačno te nije uočena statistički značajna razlika u pojavnosti .

Tablica 7. Pozitivni pacijenti koji su se pojavljivali dva, tri, četiri i više puta tijekom godine

| | Pozitivni 2 puta | Pozitivni 3 puta | Pozitivni 4 i više puta |
|--------------------------|------------------|------------------|-------------------------|
| 2014. 1515 pozitivnih | 158 (10,42 %) | 47 (3,10 %) | 10 (0,66 %) |
| 2015. 1835 pozitivnih | 187 (10,20 %) | 44 (2,40 %) | 15 (0,82 %) |
| 2016. 1339 pozitivnih | 110 (8,21 %) | 37 (2,76 %) | 19 (1,42 %) |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

Tablica 7. prikazuje broj pacijenata koji su se pojavljivali više puta u godini što potvrđuje da nije došlo do eradikacije *H. pylori* u prvom pokušaju provođenja terapije za eradikaciju.

Tablica 8. Odnos pozitivnih i negativnih pacijenata na *H.pylori* kojima je rađena biopsija želučane sluznice 1. 1. 2014. - 31. 12. 2016. godine

| | 2014. | 2015. | 2016. |
|-----------|-------------|-------------|-------------|
| POZITIVNI | 34 (37,8 %) | 39 (38,6 %) | 24 (21,2 %) |
| NEGATIVNI | 56 (62,2 %) | 62 (61,4 %) | 89 (78,8 %) |
| UKUPNO | 90 | 101 | 113 |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

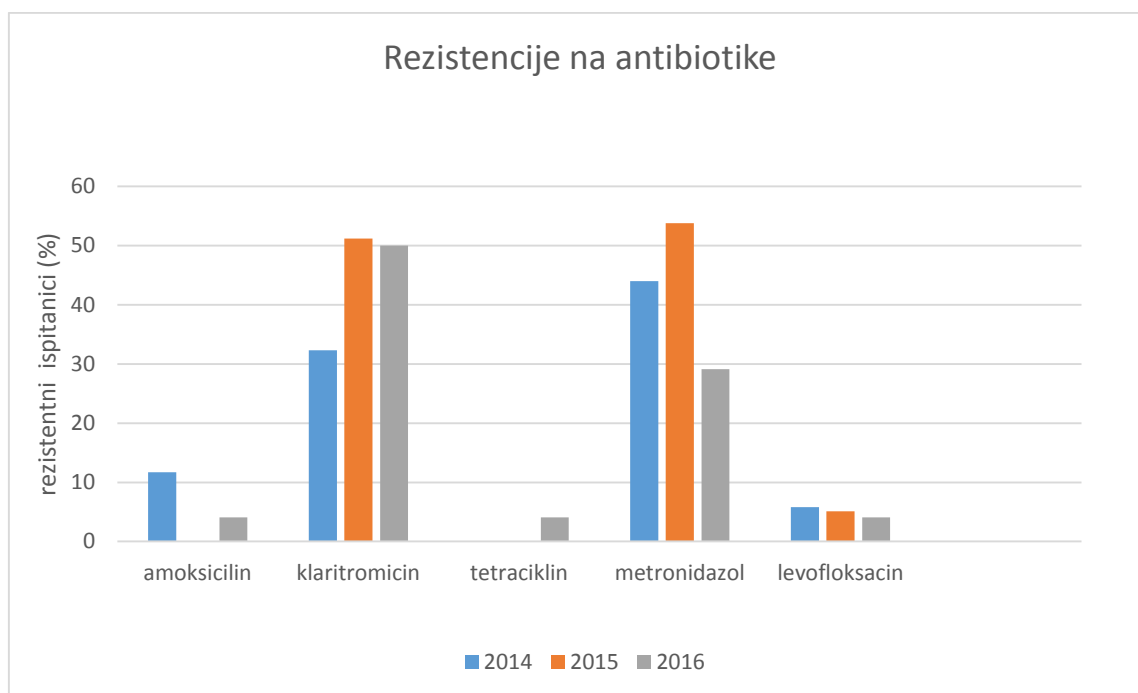
Iz tablice 8. vidljiv je postotak pozitivnih biopsija što u prosjeku za sve tri godine što predstavlja oko 1/3 od ukupnog broja ispitivanih pacijenata.

Tablica 9. Prikaz rezistencije na antibiotike koji su testirani na *H. pylori* od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine

| | 2014. | 2015. | 2016. |
|---------------|-----------|-----------|------------|
| AMOKSICILIN | 4 (11 %) | - | 1 (4,1 %) |
| KLARITROMICIN | 11 (32 %) | 20 (51 %) | 12 (50 %) |
| TETRACIKLIN | - | - | 1 (4,1 %) |
| METRONIDAZOL | 15 (44 %) | 21 (53 %) | 7 (29,1 %) |
| LEVOFLOKSACIN | 2 (5 %) | 2 (5 %) | 1 (4,1%) |

(Izvor podataka: Arhiv Službe za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije)

Tablica 9.prikazuje testirane antibiotike na *H.pylori* infekciju, njihovu primarnu rezistenciju kroz godine i prikaz rezistencije u %.



Slika 1. Prikaz rezistencije na testirane antibiotike za *H. pylori* infekcije od 1.1.2014. do 31.12.2016. godine.

5. RASPRAVA

Helicobacter pylori je usko povezan s bolestima želuca i dvanaesnika, ali isto tako i s nizom bolesti drugih organskih sustava kao što su kožne i vaskularne bolesti te bolesti štitnjače (25). Neosporna je štetnost prisustva bakterije *H. pylori* u probavnom traktu u obliku perzistiranja gastrointestinalnih bolesti i nastanka gastričnih ulkusa i karcinoma. Također je dokazan porast rezistencije na klaritromicin i metronidazol te je zbog toga i usporena eradikacija *H. pylori*. Pacijenti koji su obrađeni u ovom radu poslani su od liječnika primarne zdravstvene zaštite na dokazivanje antigena *Helicobacter pylori* u stolici i liječnika gastroenterologa za izolaciju bakterije u bioptičkom tkivu i utvrđivanje osjetljivosti na antibiotike. Pacijenti su obrađeni retrospektivno od 1. 1. 2014. do 31. 12. 2016. godine na Odjelu za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

Kod pacijenata kojima se utvrđivala postojanost antigena *H. pylori* u stolici ukupna učestalost pozitivnih nalaza je 26 %, što je znatno niže od prevalencije u RH koja je 60,4 - 68 % (26).

Podatci o raspodjeli pozitivnih pacijenata prema spolu govore da je broj žena 2,25 puta veći od broja muškaraca što se ne podudara s postojećim studijama (27). Analitičkom je obradom utvrđena značajna razlika u proporciji pozitivnih uzoraka prema spolu. Usporedbom pacijenata s obzirom na dob utvrđeno je da je najviše pozitivnih pacijenata srednje životne dobi (40 - 60 godina), dok je broj mlađe životne dobi i djece znatno manji, što je bilo i za očekivati jer su infekcije tom bakterijom učestalije u starijoj nego u mlađoj životnoj dobi (28).

Prema radnoj sposobnosti s obzirom na godine života, rezultati pokazuju da je najviše pozitivnih pacijenata aktivno radno stanovništvo (71,4 %). Analizom podataka koji su obrađeni kroz sve tri godine, nađena je statistički značajna razlika u dobnim skupinama, to ukazuje da je najveći broj pozitivnih uzoraka od pacijenata koji su radno aktivni (19 - 65 godina) što se podudara s postojećim studijama(6), međutim statistički značajne razlike u usporedbi po godinama pojedinačno nema.

Kod pacijenata koji se pojavljuju kao pozitivni tijekom godine dva, tri, četiri i više puta uočava se znatna razlika, pacijenti koji se pojavljuju dva puta daju rezultate od 10,42 %, a pacijenti koji se pojavljuju četiri i više puta 0,66 %. Takva razlika upućuje na dobru eradikaciju i dobru suradnju liječnika i pacijenata.

Kod ispitanika kojima je rađena biopsija želučane sluznice, učestalost pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* je 32,53 % što je nešto više nego kod pozitivnih na antigen *Helicobacter pylori*, ali je broj uzoraka puno manji pa te rezultate treba uzeti s rezervom.

Rezistencija na antibiotike pokazuje da su rezistencije testiranih antibiotika u Osječko-baranjskoj županiji više nego u RH, naime rezistencija na klaritromicin u RH je nešto veća od 20 %, a isto tako i rezistencija na metronidazol u RH je oko 28 %. Iz rezultata je vidljivo da je najveći postotak rezistencije na klaritromicin (51 %) i metronidazol (53 %) bio 2015. godine što ne treba smatrati konačnim postotkom rezistencije s obzirom da se radi o relativno malom broju uzoraka biopsije želuca pozitivnih na *H.pylori*.

6. ZAKLJUČAK

1. U ispitanoj populaciji u periodu od tri godine u Osječko-baranjskoj županiji može se zaključiti iz dobivenih rezultata da je značajna epidemiološka razlika u pojavnosti infekcije *H.pylori*, odnosno znatno je niža nego u RH .
2. Iz prikazanih rezultata se može zaključiti da se infekcija pojavljuje u svim dobnim skupinama, međutim najveća pojavnost je u dobi između 19-65 godina što govori da je to radno aktivno stanovništvo i da je statistički značajno.
3. Prema životnoj dobi, broj djece i mlađih od 18 godina je neznatan, dok je najviše pozitivnih pacijenata srednje životne dobi između 40 i 60 godina . Raspodjela prema spolu pokazuje da je broj žena u odnosu na muškarce 2,25 puta veći.
4. Nakon kontrolne pretrage uočeno je smanjenje pojavnosti pozitivnih pacijenata jer se nakon druge kontrole znatno smanjuje pojavnost antigena u stolici, a to ukazuje na dobru eradikaciju što je vidljivo iz tablice pojavnosti pozitivnih pacijenata .Rezistencija na klaritromicin i metronidazol u Osječko-baranjskoj županiji je u znatno višem postotku u odnosu na postotak rezistencije na nivou RH, rezistencija na tetraciklin i levofloksacin je neznatna..

7. SAŽETAK

Helicobacter pylori, gram-negativna, mala, zavinuta bakterija vrlo je značajna jer je tom bakterijom zaraženo više od 50 % populacije u svijetu. Oko 90 % slučajeva akutnog i kroničnog gastritisa izazvala je bakterija *H. pylori*, prisutna je u 95 % kod duodenalnih ulkusa i u 70 % kod želučanih ulkusa. Infekcija *Helicobacter pylori* ima značajnu ulogu u razvoju karcinoma želuca i povezana je s rijetkim tipom limfatičnog tumora MALT limfom. Veza između *Helicobacter pylori* i GERB-a vrlo je kompleksna i nepotpuno istražena. Kod osoba koje su genski predisponirane, *H. pylori* infekcija može dovesti do autoimunih procesa van probavnog sustava i to najčešće kod perifernih krvnih žila, kože ili tkiva štitnjače. Infekcija *H. pylori*, ako se ne liječi, može trajati doživotno.

Od 1.1.2014. do 31.12.2016. na području Osječko-baranjske županije u Službi za mikrobiologiju zaprimljeno je i obrađeno 17 958 pacijenata neinvazivnom metodom dokazivanja antigena *H. pylori* u stolici i 304 pacijenta s uzorkom biopsije želuca. Od ukupnog broja zaprimljenih i obrađenih uzoraka 4 689 je bilo pozitivno na antigen *H. pylori* što iznosi 26 %, a od ukupnog broja bioptata koji su obrađeni, pozitivnih je uzoraka bilo 97 što iznosi 32,53 %.

Kod pozitivnih ispitanika raspoređenih po spolu vidljivo je da je pojavnost žena 2,25 puta veća nego pojavnost muškaraca. Po raspodjeli ispitanika prema dobnim skupinama, najveći broj ispitanika je 40 - 60 godina, dok je prema raspodjeli o radnoj sposobnosti 71,4 % radno aktivno stanovništvo.

Istraživanja ispitanika koji su se pojavljivali tijekom godine dva i više puta, kod kojih je provedena eradikacijska terapija pokazuju da je ispitanika koji su se kontrolirali dva puta bilo 10,42 %, a ispitanika koji su se kontrolirali četiri i više puta 0,66 % što upućuje na dobru eradikaciju infekcije *H. pylori*.

Obrada uzoraka biopsije želuca pokazuje da je od ukupnog broja upućenih pacijenata 32,53 % pozitivno na *H. pylori*. Kod tih je pacijenata rađena osjetljivost na antibiotike iz čega je vidljivo da je najveći postotak rezistencije bio 2015. godine i to 51 % za klaritromicin, a 53 % za metronidazol.

Dokazivanje antigena *Helicobacter pylori* je neinvazivna i brza metoda koja imunokromatografskim postupkom izravno otkriva prisutnost antigena u stolici pacijenta.

Postupak ima više prednosti: brzo izvođenje (30 – 60 min.), neinvazivna je metoda za pacijenta i pristupačne je cijene. Tijekom liječenja količina se antigena smanjuje i konačno nestaje iz stolice pa je tu metodu moguće primjenjivati ne samo kod dokazivanja antigena nego i kod praćenja uspješnosti eradikacije infekcije.

Ključne riječi: *H.pylori*, brzi test, neinvazivna metoda

8. SUMMARY

Laboratory diagnosis and epidemiological characteristics of *Helicobacter pylori* infection

Helicobacter pylori, gram negative, small, bent bacteria, is very significant because it has infected more than 50% of the population worldwide. It causes approximately 90% of acute and chronic gastritis; it is present in approximately 95% of duodenal ulcers and 70% of gastric ulcers. *H. pylori* infection plays a significant role in the development of gastric cancer and is associated with a rare type of lymphatic MALT lymphoma. The link between *H. pylori* and GERB is very complex and still not completely researched. In people who are genetically predisposed, helicobacter infections lead to lymphoid-mononuclear activation, which can lead to autoimmune processes outside the digestive system, most commonly in peripheral blood vessels, skin or thyroid tissue. *H. pylori* infection, if not treated, can last for a lifetime.

From 1st January 2014 to 31st December 2016 in Osijek-Baranja County area at the Department of Microbiology, 17 958 patients were screened for *H. pylori* antigen scan in a stool and 304 patients with stomach biopsy. Of the total number of received and processed samples 4 689 were positive for *H. pylori* antigen which is 26%. Of the total number of biopsies, there were 97 positive samples, which is 32.53%.

In positive subjects classified by sex, it is evident that incidence in women is 2,25 times higher than in men. By age distribution, most of the subjects were between 40 and 60 years old. Furthermore, 71,4% of them were of work-capable population.

Analysis of respondents who underwent eradication therapy, and who appeared twice or more in one calendar year shows that 10.41% of respondents came twice, while 0.66% of respondents came 4 or more times, which indicates good eradication of infection *H. pylori*.

Analysis of stomach biopsies shows that 32.53% of patients were positive for the *H. pylori*. Those patients underwent the test of, sensitivity to antibiotics, which indicated the highest percentage of resistance in 2015, 51% for clarithromycin and 53% for metronidazole.

H. pylori antigen detection is non-invasive and fast method that directly detects the presence of the antigen in patients' stool by immunocromatography. The process has several advantages: it is a fast procedure (30 – 60 min), non-invasive method, and it is inexpensive. During the treatment, the amount of antigen is reduced and finally disappears from the stool, so this method can be applied not only in antigen detection but also in monitoring the effectiveness of eradication of the infection.

Key words: *H.pylori*, quick test, noninvasive method

9. LITERATURA

1. Marshall BJ. History of the discovery of *C. pylori* In : Blaser MJ (ed) *Campylobacter pylori* in gastritis and peptic ulcer disease. New York; Igaku- Shoin,1989,7.
2. Marshall BJ, Goodwin CS, Warren JR, *et al* A prospective double-blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 1988;2:437
3. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* .IARC Working Group Monogr Eval Carcinog Risk Hum 1994 ; 61 : 1-241.
4. Isaacson PG, Chott A, Nakamura S i sur. Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa – associated lymphoid tissue (MALT lymphoma). U. WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon :IARC; 2008.str.214 – 217.
5. Kalenić Smilja i suradnici, Medicinska mikrobiologija, Medicinska naklada, Zagreb 2013.
6. POUNDER RE, NG D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. *A liment Pharmacol Ther* 1995; 9 (suppl 2) :3
7. Perković D. *Campylobacter, Helicobacter*. U: Mlinarić Galinović G, Ramljak Šešo M, urednici. *Specijalna medicinska mikrobiologija i parazitologija* Zagreb: Merkur A.B.D; 2003. str. 39-47.
8. S. Kalenić. *Vibrio. Kampilobakter. Helikobakter*. U ; Kalenić S, Mlinarić-Massoni E urednici. *Medicinska bakteriologija i mikologija* Zagreb: Merkur A.B.D, 2005. str 231
9. Salama N, Guillemin K, McDaniel TK i suradnici A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:14668-73
10. Basynat PS, Evans G, Warburton VJ, McNully CAM, Stock D, Woodward A, Foster ME. Is there an association between *Helicobacter pylori* and colorectal cancer ? XII th international Workshop on Gastrointestinal Pathology and *Helicobacter pylori* 1999; 45 (Suppl III) : A 73.
11. Katičić M. *Peptička ulkusna bolest*. Zagreb: Medicus ; 2006.
12. Stenstrom B, Medis A, Marshall B. *Helicobacter pylori* – The latest in diagnosis and treatment . *Aust Fam Phys* 2008; 37: 608-12
13. Katičić M, Duvnjak M, Filipec Kanižaj T i sur.Hrvatski postupnik za dijagnostiku i terapiju infekcije *Helicobacterom pylori* .*Liječ.Vjesnik*; 36; 1-17.

14. Vaira D, Vakil N, Menegatti M i sur. The stool antigen test for detection of *Helicobacter pylori* after eradication therapy. *Ann Intern Med* 2002; 136: 280-7.
15. Vaira D, Holton J, Menegatti M i sur. Review article : invasive and non-invasive tests for *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14 (Suppl 3) . 13-22.
16. Gotta L, Vakil N, Ricci C i sur. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on ¹³C urea breath tests and stool test for *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 823-9.
17. Marušić M, Presečki V, Katičić M, Dominis M, Kalenić S, The place and role of serologic methods in detecting *Helicobacter pylori* infection. *Coll Antropol* 2006; 30: 529-33
18. Satoh K, Kimura K i sur. A follow- up study of atrophic and intestinal metaplasia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1998; 3: 236-40.
19. Logan RP, Walker MM, Misiewicz JJ i sur. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. *Gut* 1995; 36: 12-6.
20. Stolte M, Stadelmann O, Bethke B, Burkhard G, Relationship between the degree of *Helicobacter pylori* colonisation and the degree and activity gastritis, surface epithelial degeneration and mucus secretion. *Z Gastroenterol* 1995; 33:89-93.
21. Jakić J, Rustemović N, *Helicobacter pylori* Detection in Histological Samples, *Medicus* 2012. Vol 21. No 2. 231-235.
22. Vučković D, Plečko V, *Kampilobakter. Helikobakter.* U: Kalenić S, urednica. *Medicinska mikrobiologija*, Zagreb; Medicinska naklada; 2013. str 211.
23. Tonkić A, Tonkić M, Goić-Barišić I, Jukić I, Miše S. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in Split, Southern Croatia. *Int J Antimicrob Agents* 2005; 25: 449-50.
24. Tonkić A, Tonkić M, Goić-Barišić I, Jukić I, Šimunić M, Punda-Polić V. Primary resistance and antibiotic minimum inhibitory concentrations for *Helicobacter pylori* strains in Split, Croatia. *J Chemother* 2006; 18: 437- 9.
25. Vaira D, Melegatti M, Holton J i sur. Epidemiology and sources of *Helicobacter pylori* infection. U: *Helicobacter pylori*. Figura N, Bayeli PF, Crabtree JE (ur). *Eurohospital*. Trst 1993; 42-5.
26. Mlinarić- Galinović G, Gjenero-Margan I, Ljubin Sternak S, Sviben M, *Infekcije probavnog sustava : epidemiološka i klinička slika, dijagnostika, terapija i prevencija* Zagreb: Medicinska naklada; 2008.str 18.

27. D.Perković. Campylobacter, Helicobacter, U; MlinaBujanoverrić-Galinović G, Ramljak Šešo M, urednici. Specijalna mikrobiologija i parazitologija Zagreb. Merkur A.B.D;2003. str. 64.
28. Bujanover Y, Reif S Yahav J.Helicobacter pylori and peptic disease ithe pediatric patient.

10. ŽIVOTOPIS

Danica Vavidec

OPĆI PODATCI

Rođena 22. 6. 1963. u Čepinu, Hrvatska

Adresa: Kneza Trpimira 1b, Osijek

Kontakt: v.danica5@gmail.com

OBRAZOVANJE

Studentica druge godine Diplomskog studija medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek.

Osnovnu sam školu završila u Čepinu, OŠ. Vladimir Nazor, Čepin.

Srednju medicinsku završila sam u Osijeku 1982. godine, srednja medicinska škola Ruder Bošković – Osijek.

2011. godine upisala sam Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike i 2014. godine diplomirala.

2015. sam na istom fakultetu upisala Diplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike i 2017. upisala apsolventsku godinu.

Radim punih 36 godina u Zavodu za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije na Službi za mikrobiologiju.