

Urejni izdisajni test

Urea Breath Test

Miroslava Katičić¹, Tajana Filipec¹, Vladimir Maričić²

¹Gastroenterološki odjel Interne klinike, Klinička bolnica „Merkur“

10000 Zagreb, Zajčeva 19

²PLIVA d.d., DDDI

10000 Zagreb, Ulica grada Vukovara 49

Sažetak Infekcija bakterijom *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) izrazito je česta diljem svijeta. Njom je zaraženo 40-50% populacije u razvijenim zemljama te čak 80-90% populacije u zemljama u razvoju. Ta gram-negativna bakterija ima presudnu ulogu u razvitku svih vrsta kroničnoga gastritisa, stvara predispoziciju za nastanak gotovo 80% želučanih ulkusa i više od 95% ulkusa na dvanaesniku, a prepoznata je i kao želučani karcinogen I. reda. Razvijene su brojne invazivne i neinvazivne tehnike dijagnosticiranja. Tradicionalno se dijagnostika bazirala na endoskopskom pregledu jednjaka, želuca i dvanaesnika, s biopsijama želučane sluznice, a za potrebe histološke i mikrobiološke dijagnostike (invazivne metode). U traženju jednostavnijeg pristupa razvijene su i brojne neinvazivne dijagnostičke metode za otkrivanje same infekcije i za kontrolu uspjeha eradikacijske terapije. Najpopularniji neinvazivni test je urejni izdisajni test, baziran na otkrivanju označenog ugljičnog dioksida (označenog izotopom ugljika - ¹³C ili ¹⁴C) u uzorku izdahnutog zraka, kao rezultat enzimske ureazne aktivnosti bakterije *H. pylori*. Različite vrste izdisajnih testova uspješno su testirane i vrednovane, a njihova je osjetljivost i specifičnost najčešće viša od 95%. Testovi su izbora za neinvazivnu dijagnostiku infekcije *H. pylori*, kao i za kontrolu uspjeha eradikacijske terapije.

Cljučne riječi: urejni izdisajni test, brzi urezni test, dijagnostika, infekcija *Helicobacter pylori*

Summary Infection with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is very common throughout the world, occurring in 40-50% of the population in developed countries and 80-90% of the population in developing regions. This Gram-negative bacterium plays a decisive role in the development of all kind of chronic gastritis, predisposes to almost 80% of gastric and over 95% of duodenal ulcers, and has been recognised as a class I gastric carcinogen. Several techniques, both invasive and non-invasive, have been developed to diagnose *H. pylori* infection. The diagnosis has been traditionally based on endoscopy with biopsies of the gastric mucosa for histology and culture (invasive technique). In search for less intrusive methods, various non-invasive *H. pylori* testing have been developed, both for diagnostic investigation, and for therapeutic monitoring after eradication therapy. The most popular non-invasive test is urea breath test (UBT), based on the detection of labelled carbon dioxide (labelled with carbon-13 or carbon-14) in expired air as a result of *H. pylori* urease activity. Numerous variations of the UBT have been successfully tested and validated, with a sensitivity and specificity of over 95%. It is the non-invasive test of choice for diagnosing active *H. pylori* infection as well as for confirming eradication after treatment.

Key words: urea breath test, rapid urease test, diagnostics, *Helicobacter pylori*

Danas je prepoznata vodeća uloga infekcije *H. pylori* u etiopatogenezi uglavnom svih peptičnih, ali i najvećeg broja malignih želučanih bolesti. Neoborivi su dokazi o postojanju uske veze između infekcije bakterijom *H. pylori* i razvoja uglavnom svih vrsta gastritisa i najvećeg broja peptičnih ulkusa (80-90%), dviju bolesti koje zahvaćaju približno 35 do 40% cjelokupne svjetske populacije. Posebno zabrinjava podatak da je rizik od razvoja karcinoma želuca 2 do 6 puta, a po novijim pokazateljima i do 10 puta veći u osoba s infekcijom *H. pylori* nego bez nje. Potvrđena je i uska uzročno-posljedična veza između te infekcije i razvoja još jedne vrste malignih bolesti limfatičkog sustava želuca, tzv. nehodgkinskih limfoma (MALT) (1).

Posljednjih dvadesetak godina broj novih saznanja o toj infekciji i bolestima koje ona uzrokuje raste velikom brzinom. Poplava novih informacija tako je velika da je nužno dati određene smjernice i za dijagnostiku, i za liječenje.

Pregled dijagnostičkih postupaka

Dijagnostički postupci koji se danas rabe za otkrivanje infekcije *H. pylori* svrstani su u dvije skupine: invazivni i neinvazivni. Temelj svih invazivnih metoda je endoskopski pregled s ciljanim uzimanjem biopsijskih uzoraka za izravnu (histologija, izolacija) ili neizravnu (brzi urezni

test) dijagnostiku postojanja *H. pylori*. Suprotno tomu, neinvazivne, odnosno neizravne, metode otkrivaju prisutnost *H. pylori* dokazivanjem specifične aktivnosti ove bakterije, ponajprije njezina enzima ureaze (urejni izdisajni test), prisutnosti specifičnih protutijela u serumu i/ili slini zaražene osobe ili dokazom antigena *H. pylori* u stolici bolesnika (2).

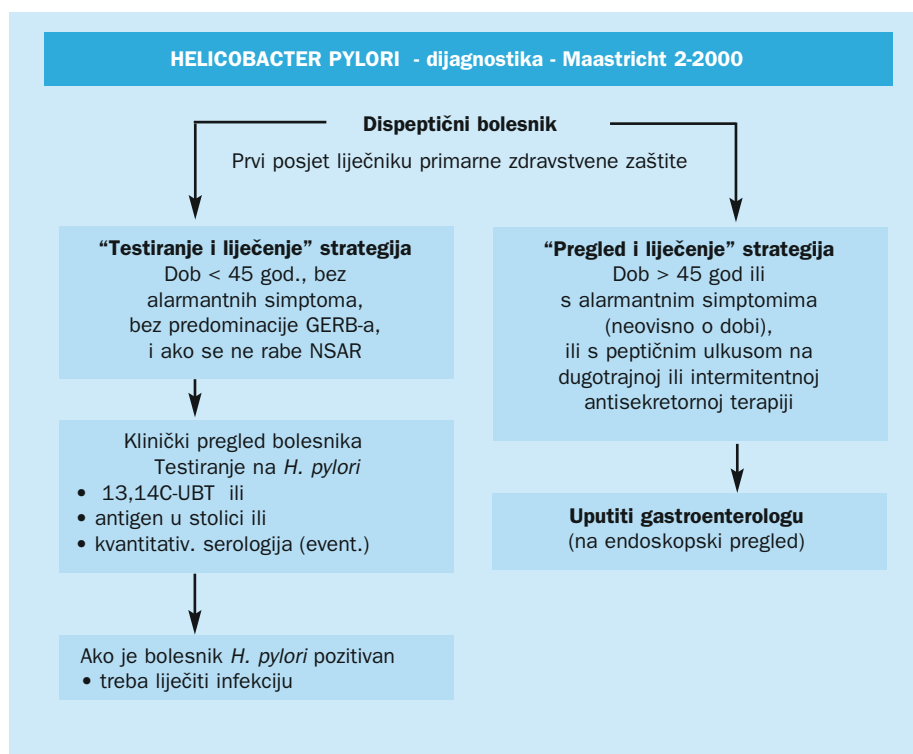
Pitanje razine liječnika koji trebaju provesti primarnu dijagnostiku infekcije *H. pylori* jedan je od glavnih predmeta rasprave svih „radnih grupa o *H. pylori*“. Upravo su prve, (3) pa i posljednje (4) europske preporuke dane o tome kada treba dijagnostiku početi već u ambulantama primarne zdravstvene zaštite, a kada bolesnika treba izravno uputiti liječniku specijalistu gastroenterologu, ponajprije zbog potrebe endoskopskog pregleda jednjaka, želuca i dvanaesnika. Uvijek se naglašava potreba najuže suradnje na lokalnoj razini između liječnika primarne zdravstvene zaštite, specijalista gastroenterologa, mikrobiologa i liječnika iz institucija javnog zdravstva.

Izbor dijagnostičkih postupaka za određivanje infekcije *H. pylori* u dispeptičnih bolesnika, a pri prvom posjetu liječniku opće medicine, ovisi o intenzitetu simptoma i dobi bolesnika. Europska skupina predlaže različit dijagnostički pristup u bolesnika mlađih i starijih od 45 godina, kao i u onih s predominantno prisutnim simptomima gastroezofagealne refluksne bolesti. U grupaciji bolesnika mlađih od 45 godina, bez tzv. alarmantnih simptoma dijagnostički se postupak može provesti već u ambulantama opće medicine, jednom od neinvazivnih dijagnostičkih metoda (u prvom redu rabeći urejni izdisajni test ili određivanje antigena *H. pylori* u stolici, a izbjegavati uporabu serološke dijagnostike, poglavito kvalitativne -

tzv. „Yes-No“ testove, ako su prve dvije metode dostupne). U slučaju pozitivnog nalaza preporučuje se provesti eradikacijsku terapiju (**strategija „test and treat“**). Uspjeh terapije treba kontrolirati također neinvazivno, koristeći se ponajprije urejnim izdisajnim testom. Za grupaciju bolesnika starijih od 45 godina, kao i za sve one s prisutnim „alarmantnim simptomima“ neovisno o dobi, preporučuje se odmah bolesnike uputiti na specijalističku gastroenterološku obradu i endoskopski pregled (**strategija „search and treat“**) (slika 1).

Do prije nekoliko godina osnovna i najčešće primjenjivana neinvazivna metoda detekcije infekcije *H. pylori* bila je serološka, to jest određivanje razine specifičnih protutijela za *H. pylori* u serumu zaražene osobe. Iako su kvalitetni laboratorijski testovi za detekciju specifičnih IgG-protutijela u dotada neliječenih bolesnika visoke osjetljivosti i specifičnosti, njihovu kliničku uporabu danas je ograničilo saznanje o znatnom smanjenju njihove dijagnostičke pouzdanosti u bolesnika u kojih je provedena eradikacijska terapija (5). I dalje su, zbog svoje relativno niske cijene i neinvazivnosti, osnovica dijagnostike u epidemiološkim istraživanjima velikih populacija. Isto tako, u bolesnika u kojih se ne može, zbog određenih razloga, učiniti endoskopski pregled ili urejni izdisajni test, dopušta se i dalje uporaba kvantitativnih seroloških testova (6).

Među neinvazivnim testovima posljednjih se godina sve češće rabi imunoenzimski test otkrivanja antigena *H. pylori* u stolici (7). Postupak ima nekoliko prednosti: izvođenje testa ne traje dugo (približno jedan sat), uzorak se uzima neinvazivnim postupkom, a prema preliminarnim rezultatima izgleda da osjetljivost (89%) i specifičnost



Slika 1. Europska preporuka za dijagnostiku i liječenje dispeptičnog bolesnika (Maastricht 2-2000 Consensus) pri prvom posjetu svom liječniku primarne zdravstvene zaštite

(95%) ovog postupka zadovoljava. Prema rezultatima testiranja ovog postupka nakon provedene eradikacijske terapije, test se može rabiti, s tek neznatno slabijom osjetljivošću i specifičnošću, i pri ocjeni uspješnosti provedene eradikacijske terapije infekcije *H. pylori* (8, 9).

Današnja specijalistička dijagnostika infekcije *H. pylori* u simptomatskih bolesnika, zbog potrebe uzimanja biopsijskih uzoraka sluznice želuca, vezana je i dalje uz endoskopski pregled želuca i dvanaesnika. Endoskopski je pristup temelj svih tzv. invazivnih metoda dijagnostike infekcije *H. pylori*. Standardni postupak dijagnostike je testiranje jednog ili dvaju biopsijskih uzoraka (jednog iz antruma, eventualno drugog iz korpusa) brzim ureaznim testom te uzimanje jednog do dvaju uzoraka korpusa i antruma za histološki pregled. Prema potrebi, može se uzeti po jedan uzorak korpusa i antruma za mikrobiološki pregled (10).

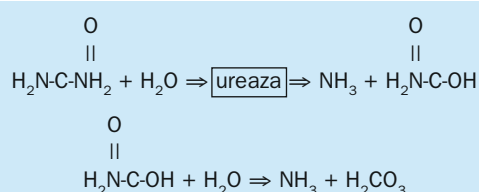
Histološki postupak detekcije *H. pylori* u pripravcima biopsijskih uzoraka želučane sluznice temelji se na identifikaciji karakterističnog S-oblika bakterije, zavinitog ili spiralnog, na površini želučane sluznice ili u lumenu žlijezda. Biopsijski uzorci sluznice antruma i/ili korpusa, uzeti tijekom endoskopije, rutinski se boje hematoksinom i eozinom, ali se za bolji prikaz same bakterije, po preporukama što ih je dala houstonska radna grupa, preporučuje rutinska uporaba posebnih bojenja i postupaka dokazivanja *H. pylori* u histološkim preparatima (postupci prema Giemsi, Gimenezu, Warthin-Starryju ili imunohistokemijsko bojenje monoklonskim protutijelima). Patohistološka dijagnostika želučane sluznice brza je, visokoosjetljiva i visokospecifična metoda (11). Osjetljivost i specifičnost histološkog postupka u identifikaciji *H. pylori* iznosi oko 90%, no mogu biti i više, a to uvelike ovisi o iskustvu histopatologa, kao i o broju uzoraka (12, 13).

H. pylori nije lako izolirati; postupak izolacije je skup i traje relativno dugo. Uspjeh izolacije *H. pylori*, zbog određenih fizikalno-kemijskih i bioloških osobitosti, uvelike ovisi o nizu čimbenika: iskustvu mikrobiologa, opremi laboratorija, vremenu potrebnom za transport uzoraka itd. Osjetljivost postupka izolacije obično je između 70 i 80%, a čak i u najpovoljnijim uvjetima rijetko prelazi 90%. Specifičnost je visoka, gotovo 100%. Postupak izolacije nuždan je pri utvrđivanju osjetljivosti *H. pylori* za antibiotike, posebno u slučaju neuspjele eradikacije. Potreban je također pri postupku točne identifikacije izoliranog soja, pri molekularnoj tipizaciji i pri istraživanjima čimbenika virulencije (14). Katkad se rabi i kao „zlatni“ standard pri utvrđivanju osjetljivosti i specifičnosti drugih dijagnostičkih postupaka (15, 16).

Enzim ureaza

H. pylori je bakterija koja proizvodi velike količine enzima ureaze, koja joj omogućava preživljavanje u izrazito kiseloj želučanoj sadržaju. Premda je otporniji na kiselinu od mnogih drugih bakterija, nakon dolaska u želudac *H. pylori* ne bi mogao preživjeti uobičajeni vrlo

niski pH želučanog soka. Stoga mu je za preživljavanje u ovom viskoznom mediju nužno, uz dobru pokretljivost (svrdlasto kretanje), koja ga brzo dovodi u sloj između sluzi i epitela gdje je kiselost manja, sposobnost tvorbe velikih količina enzima ureaze. Ureaza je prisutna u citoplazmi bakterijske stanice sa svrhom opskrbe stanice spojevima amonijaka i dušika koji su nužni za sintezu aminokiselina. Međutim, za bakteriju je čak važniji smještaj ureaze na površini bakterijske stanice, ali ovaj put u funkciji neutralizacije želučane kiseline, što se ujedno i smatra jednom od najvažnijih aktivnosti ureaze *H. pylori*. Ona katalizira hidrolizu ureje u amonijak i karbamat. Karbamati dalje spontano hidroliziraju, pri čemu se stvaraju amonijak i karbamilna kiselina. U reakciji s vodom amonijak tvori amonijev hidroksid, što ima kao posljedicu brzi porast pH-vrijednosti i alkalizaciju okoliša bakterije.



Osim ureaze, ulogu u stvaranju prikladne kiselosti okoliša bakterije ima i ATP-aza P-tipa. Premda je dokazana jasna kemotaksija bakterije prema ureji i natrijevu bikarbonatu, još nije jasno na koji način *H. pylori* pronalazi svoju nišu u sluznici antruma ili korpusa želuca. Naime, poznato je da bakterijska rasprostranjenost na sluznici nije jednolična, nego mrljasta; na nekim je dijelovima sluznice ima, na drugima nema. To se najbolje vidi tijekom liječenja, kada se podiže pH želučanog soka, a *H. pylori* se povlači iz antruma u korpus želuca.

Osim za alkalizaciju okoliša bakterije, aktivnost ureaze presudna je i za perzistenciju *H. pylori* na želučanoj sluznici, jer omogućuje bakterijskoj stanici trajno povoljni pH u neposrednoj okolici.

Dijagnostički testovi bazirani na ureaznoj aktivnosti *H. pylori*

Ureazna aktivnost ove bakterije rabi se vrlo uspješno pri kreiranju dijagnostičkih testova za otkrivanje infekcije *H. pylori*. Danas u kliničkoj praksi postoje dvije grupe testova koji rabe ureaznu aktivnost *H. pylori*: brzi ureazni testovi i urejni izdisajni testovi.

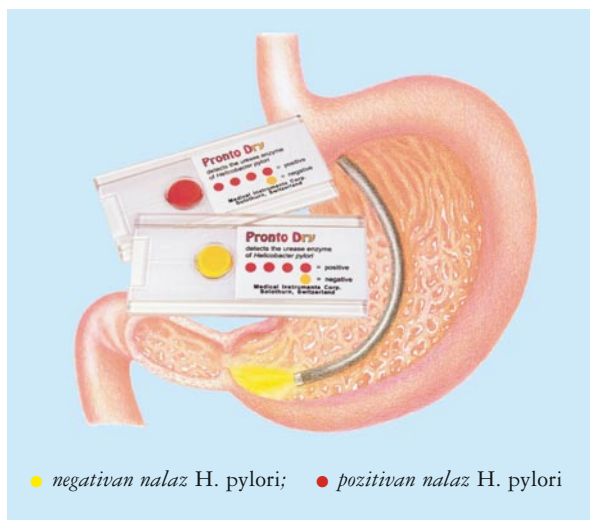
Brzi ureazni test

Ureazna se prisutnost može vrlo jednostavno dokazati uranjanjem bioptata želučane sluznice u podlogu koja sadržava ureju i indikator pH. Metoda se osniva na činjenici da ureaza, ako postoji u bioptatu, cijepa ureju u amonijak i ugljični dioksid, pri čemu se podloga alkalizira, a indikator pH pri tome promijeni boju (slika 2). Brzina reakcije upravo je razmjerna broju *H. pylori* prisutnih

u testiranom uzorku, pa su katkad, zbog premaloga broja bakterija, moguće lažno negativne reakcije. Lažno pozitivne reakcije iznimno su rijetke. Druge vrste bakterija prisutne kao onečišćenje u uzorku obično su u znatno manjem broju i zasad nisu poznati mikroorganizmi koji bi imali takvu sposobnost tvorbe ureaze, s tako visokim afinitetom i jačinom aktivnosti, poput one u *H. pylori*. Zagrijavanje medija s uzorkom može, kod nekih vrsta testova, ubrzati nastajanje reakcije i dobivanje rezultata, ali ne utječe na osjetljivost i specifičnost testa. Neki su pripravnici dizajnirani tako da su predviđena mjesta za usporedno testiranje uzoraka iz antruma i korpusa. Danas su u uporabi mnogi komercijalni, kao i „home made“ testovi. Među komercijalnim testovima na hrvatskome tržištu nalazimo testove koji se koriste agarom impregniranim urejom (CLO-test) te, vrlo brze i pouzdane, testove koji rabe semipermeabilnu membranu impregniranu urejom (**Pronto dry**) (slika 2). Svi testovi imaju uglavnom podjednaku osjetljivost i specifičnost (između 90-95%). „Home made“ testovi mogu se također vrlo jednostavno izraditi u svakom laboratoriju, a nedostatak im je relativno kratko vrijeme uporabljivosti. Međutim, premda je ova dijagnostička metoda jednostavna i jeftina, ona ipak pripada grupaciji invazivnih tehnika - služi za brzu orijentaciju o postojanju infekcije *H. pylori* tijekom endoskopskog pregleda. Najveća je prednost metode brzina dobivanja nalaza. Nalaz se, primjerice Pronto dry metodom, može dobiti već za 15-ak minuta, što znači da bolesnik rezultat testa, nakon učinjenog endoskopskog pregleda, pričekava nekoliko minuta (17).

Urejni izdisajni testovi

Izdisajni testovi rabe se u gastroenterologiji već više od trideset godina, uglavnom za dijagnostiku malapsorpcije (18). Najčešće se na taj način mjerio izdahnuti vodik, kao indikator bakterijske razgradnje šećera u probavnom sustavu. Primjenu principa izdisajnih testova za otkrivanje infekcije *H. pylori* razvili su i sugerirali istodobno



Slika 2. Brzi test ureaze (Pronto Dry test)

Graham i suradnici (19) i Marshall i Surveyor (20). Međutim, još davne 1952. god. Kornberg opisuje hidrolizu ^{14}C -označene ureje u želucu mačaka, koja se mogla suprimirati primjenom antibiotika (21). Danas je jasno da se radilo o prisutnosti mačje vrste bakterija roda *Helicobacter* (*H. felis* ili *H. heilmannii*) koji koloniziraju sluznicu velikog broja mačaka. Današnji izdisajni testovi bazirani su na već spomenutom nalazu vrlo aktivnog i specifičnog enzima ureaze koji posjeduje svaka živa bakterija *H. pylori*. Bolesnik popije ureju označenu izotopom koja bude metabolizirana s pomoću enzima ureaze na ugljični dioksid i amonijak. Visoka razina označenog CO_2 u bolesnikovu izdahnutom zraku sugerira postojanje infekcije *H. pylori*.

Ubrzo nakon prvog objavljivanja, zbog svoje jednostavnosti, visoke osjetljivosti i specifičnosti te pouzdanosti u dijagnostici primarne infekcije, kao i ocjeni uspješnosti eradikacijske terapije, izdisajni testovi postaju vrlo popularni i često rabljeni. Danas, petnaestak godina nakon prvog opisa postupka, i dalje postoje određene nejasnoće u uporabi i reprodukciji rezultata testa, unapređuje se i pojednostavnjuje tehnologija, šire se indikacije itd. Upravo je i svrha ovog članka prikazati mogućnosti ove moderne dijagnostičke metode, indikacije i ograničenja u primjeni te prikazati njezine rezultate postignute u istraživanjima u svijetu i u Kliničkoj bolnici „Merkur“ u Zagrebu.

Princip urejnog izdisajnog testa

U usporedbi s ostalim ureaza-pozitivnim mikroorganizmima, kao što su *Proteus mirabilis* ili *Yersinia enterocolitica*, *H. pylori* proizvodi izuzetno velike količine enzima ureaze. Za ocjenu aktivnosti tog enzima nužna je **prisutnost žive bakterije**. Ona će, uz pomoć ureaze, hidrolizirati ureju na amonijak i ugljični dioksid, neovisno o tome radi li se o egzogenoj ureji - unesenoj hranom, ili endogenoj - produktu metabolizma. Stvoreni ugljični dioksid, putem želučane sluznice, ulazi u krvotok, a odatle, dolaskom u pluća, ulazi u sastav izdahnutog zraka. Amonijev ion izlučuje se mokraćom.

Urejinim izdisajnim testom određuje se ukupna aktivnost enzima ureaze bakterije *H. pylori*. Osnovni je princip testiranje dvaju uzoraka izdahnutog zraka, prvog uzetog prije pokusnog obroka s određenom količinom (75 do 100 mg) označene ureje u kojoj je atom ugljika ^{12}C zamijenjen izotopima ^{13}C ili ^{14}C (danas postoje neki radovi i s izotopom ^{11}C) i drugog uzetog obično pola sata nakon ureje (22). Ako je *H. pylori* prisutan u želucu, s pomoću svojeg enzima ureaze razgradit će ureju na bikarbonat i amonijev ion, koji će se potom resorbirati u krvotok. Razgradnjom bikarbonata oslobođeni $^{13/14}\text{CO}_2$ bit će prisutan u izdahnutom zraku, a amonijev će se ion izlučiti mokraćom (slika 3). Testom se kvantitativno mjeri omjer ^{12}C i $^{13/14}\text{C}$ iz CO_2 u prvom i drugom uzorku izdahnutog zraka. Metode za mjerenje ovih omjera (δ) izotopa ugljika ^{12}C , ^{13}C ili ^{14}C iz izdahnutog zraka danas su već dobro standardizirane.

Hidroliza u testu uporabljene obilježene ureje ovisi o više čimbenika. Oni se mogu svrstati u one ovisne o primijenjenom načinu testiranja, u čimbenike samog domaćina ili u čimbenike bakterije *H. pylori*. Među njima, najveći utjecaj na test imaju: brzina pražnjenja želuca i broj bakterija *H. pylori* na površini sluznice.

Prebrzo pražnjenje označenog izotopa iz antralnoga želučanog sadržaja ne omogućava dostatnu hidrolizu unesene ureje i može uzrokovati lažno negativan nalaz testa. To se događa i u svim slučajevima reseciranog želuca sa širokom anastomozom, a problem se nastoji riješiti određenim pokusnim obrokom hrane koja inhibira želučano pražnjenje (23).

Više je grupa istraživača prikazalo postojanje pozitivne korelacije između količine stvorenog označenog CO_2 i broja (količine) bakterija na želučanoj sluznici (jačini infekcije) (24).

Zaključno se može reći da se urejnim izdisajnim testom određuje prisutnost živog i funkcionalno sposobnog *H. pylori* na želučanoj sluznici.

Metode urejnih izdisajnih testova

Danas postoji više standardiziranih metode određivanja ^{13}C i ^{14}C -izotopa u izdahnutom zraku. Metode se ponajprije dijele u dvije skupine, ovisno o tome koji se ugljikov izotop njima određuje.

^{13}C -urejni izdisajni test

U toj se metodi rabi ureja označena ^{13}C -izotopom. Radi se o prirodnom i neradioaktivnom izotopu koji se nalazi u 1,11% normalno izdahnutog zraka. Kako se ovom metodom određuje omjer $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ u izdahnutom zraku prije i nakon davanja obilježene ureje, nije potrebno odrediti volumen izdahnutog plina. Rezultat testa iskazuje se kao razlika omjera $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ (engl. excess $^{13}\text{CO}_2$ per mL). Uzorci se mogu analizirati različitim tehnologijama: spektrofotometrom mase (IRMS - engl. Isotope Ratio Mass Spectrofotometry) (25), infracrvenim spektroskopom (NDIRS - engl. Non-Dispersive Infrared Spectroscopy) ili laserskim mjerачem (LARA - engl. Laser Assisted Ratio Analyzer). Prema nalazima usporednih analiza, sve navedene metode postižu podjednako dobre rezultate (slika 3) (26).

^{14}C -urejni izdisajni test

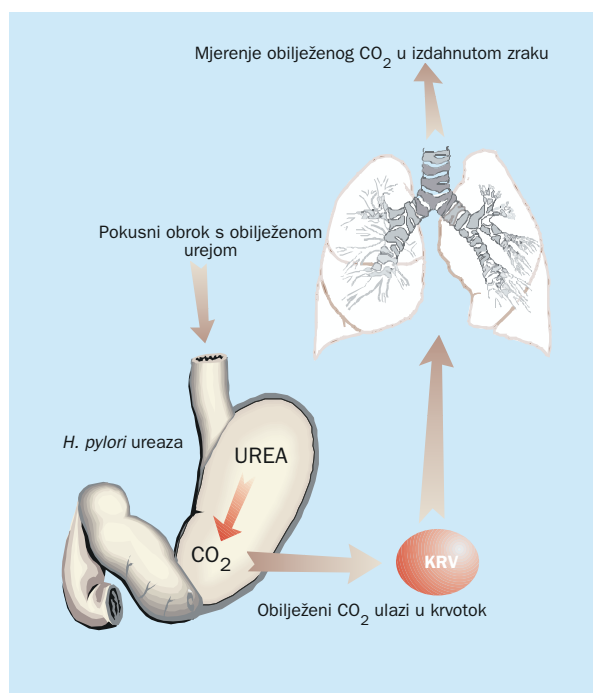
U ovoj metodi određuje se radioaktivni izotop ^{14}C nastao razgradnjom ^{14}C -obilježene ureje. Izotop zrači beta-zrake, a izdahnuti se zrak analizira putem beta-brojača. Rezultat testa iskazuje se kao udio (%) ^{14}C u odnosu na upotrijebljenu dozu u ureji. Zbog toga je u ovom testu važno definirati i volumen izdahnutog zraka koji se skuplja kao uzorak. Precizno definiran volumen skupljenog zraka važan je i zbog interindividualnih razlika u količini

endogeno stvorenog $^{12}\text{CO}_2$, koji se natječe s testom stvorenim $^{14}\text{CO}_2$ (slika 4).

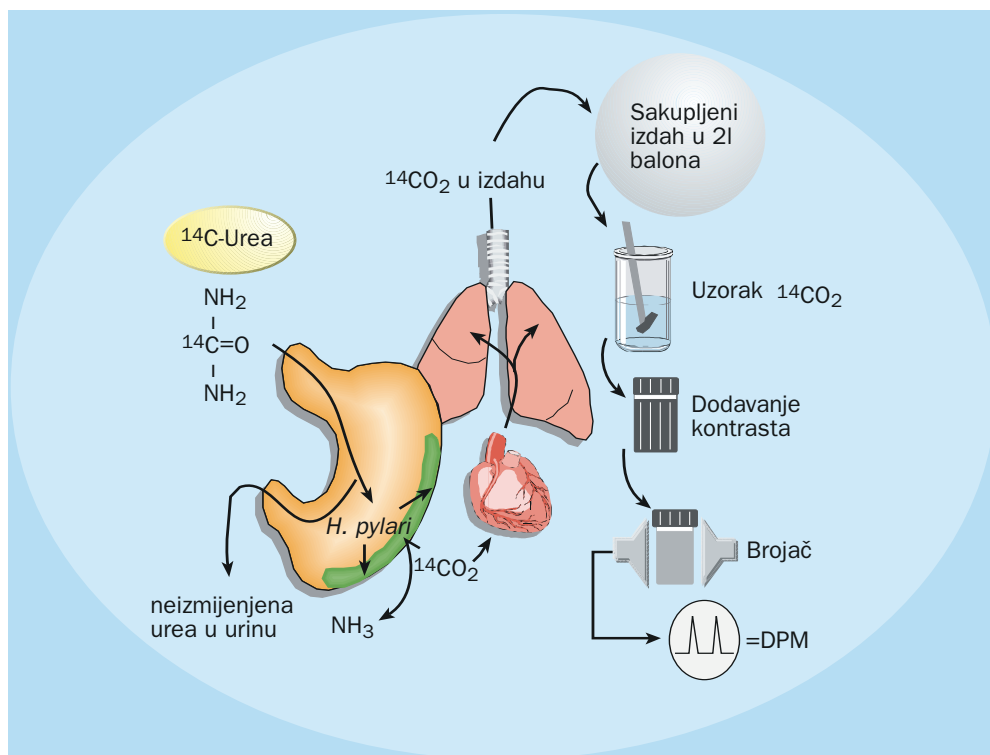
U usporedbi s ostalim urejnim izdisajnim metodama, ova je metoda jedna od najjednostavnijih i najjeftinijih. Njezin je nedostatak uporaba radioaktivnog izotopa, što zahtijeva poseban način rukovanja, kao i dodatne dozvole za rad s izvorima ionizantnog zračenja. Radioaktivni izotop ^{14}C ima poluživot 5,7 godina i zbog toga se, iako se daje u malim količinama (samo 100 kBq ili još i manje), može izlučiti samo 70%, dok se ostalih 30% atoma ugljika ugradi u druge ugljikove spojeve u tijelu. Premda ekspozicija radioaktivnosti pri jednokratnom izvođenju testa nije veća od jednodnevne doze zračenja u normalnome ljudskom okolišu i odgovara samo desetini doze zračenja dobivene prilikom rendgenskog snimanja organa prsnog koša, odnosno 0,5% od ukupne doze legalnoga dnevnog sigurnosnog limita za radnike koji rade s radioaktivnim izotopima, test se ne smije rabiti u testiranju trudnica ili male djece, a preporučljivo je izbjeći njegovo češće ponavljanje (27).

Protokol za provođenje urejnog izdisajnog testa

Premda je od uvođenja ovog testa u primjenu prošlo gotovo petnaest godina, neprekidno se, testiranjem različitih modifikacija prvobitnog protokola, pokušava maksimalno pojednostavniti i pojeftiniti način izvođenja testa, standardizirati postupak, standardizirati dijagnostičke kitove, instrumentarij, a uz stalno održavanje visoke osjetljivosti i specifičnosti.



Slika 3. Princip ^{13}C -urea izdisajni test



Slika 4. Princip $^{13}/^{14}\text{C}$ urea izdisajnog testa

Bez obzira na to koji se izotop rabi, metodologija izvođenja vrlo je jednostavna i uglavnom slična (28). Nakon što dade prvi uzorak izdahnutog zraka, bolesnik popije malu količinu ureje (najčešće 75 mg) označene izotopom ugljika (^{14}C ili ^{13}C) otopljene u voćnom soku (od limuna ili naranče). Bolesnik potom prošeće ili samo pričekava u čekaonici pola sata, nakon čega daje drugi uzorak zraka (slika 5a,b,c), nakon čega se odmah može pristupiti testiranju. Označena ureja, pod utjecajem ureaze iz *H. pylori*, razgrađuje se u bikarbonat i amonijev ion. Razgradnjom bikarbonata oslobođeni $^{13}\text{CO}_2$ ili $^{14}\text{CO}_2$ bit će prisutni u izdahnutom zraku i moguće ih je kvantitativno i kvalitativno izmjeriti.

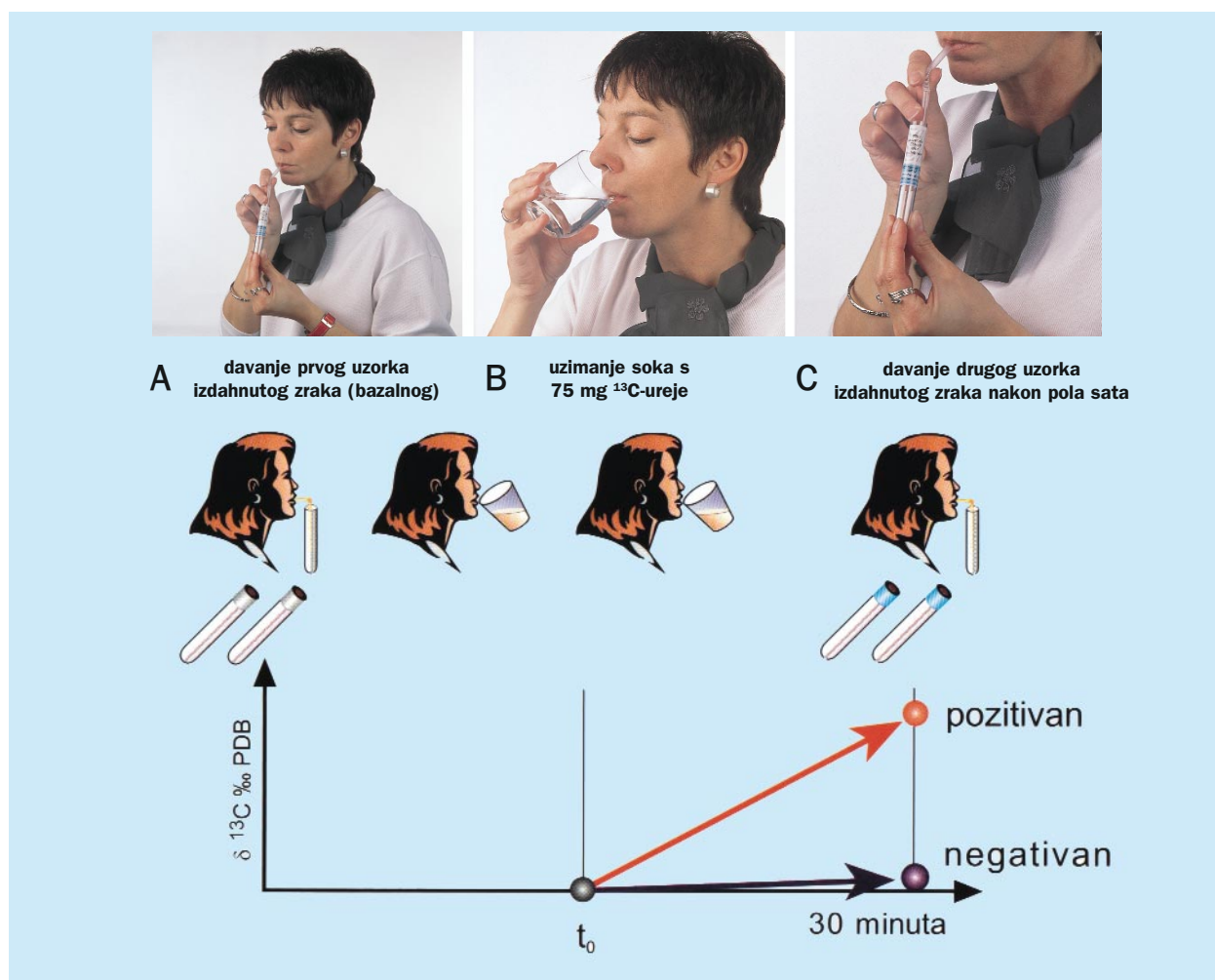
Velik se broj istraživača još bavi istraživanjima o načinu primjene i količini obilježene ureje. Kao što je već spomenuto, ispitaniku se prilikom izvođenja testa daje obrok hrane tzv. test-obrok u svrhu usporenja pražnjenja želuca i produženja vremena ekspozicije želučane sluznice obilježenoj ureji. Europski je protokol prvobitno preporučivao 100 mL masnog test-obroka (76% masti, 19% ugljikohidrata, 5% proteina), jer se u prvim studijama pokazalo da ugljikohidrati djeluju na razgradnju ureje u dvanaesniku (29). Međutim, rezultati objavljeni posljednjih nekoliko godina upućuju na uspješnu uporabu napitaka s limunskom kiselinom, za koju je dokazano da izaziva relaksaciju fundusa želuca i inhibira motilitet antruma putem gastroduodenalnog refleksa. Taj efekt nađen je čak i kod davanja vrlo malih količina - samo s 1 mL limunske kiseline (30). Međutim, neka novija istraživanja čak i to stavljaju pod upitnik; test ima jednako visoku osjetljivost i specifičnost čak i bez pokusnog obroka ili napitka s limunskom kiselinom (31, 32).

Drugi je dio istraživanja vezan uz dužinu apstinencije od hrane prije izvođenja testa. Većina protokola ne preporučuje uzimanje hrane bar 4 sata prije izvođenja testa, zbog pretpostavke da bi hrana mogla utjecati na ekskreciju $^{13,14}\text{C}$ i da bi obrok hrane ili tekućine koji se daje tijekom testa za usporenje pražnjenja želuca bio manje djelotvoran u punom želucu. S druge strane, neki od radova pokazuju da prisutnost hrane u želucu ima posve zanemariv utjecaj na rezultat testa (33, 34).

Budući da, teoretski, dio ureje može hidrolizirati i orofaringalna flora i time utjecati na rezultat, ureja se može dati u obliku kapsule, specijalno izrađene tako da se rastopi tek dolaskom u želudac. Osim toga, taj se problem može izbjeći uzimanjem uzoraka zraka 30 min nakon ingestije ureje, kada je najveći dio izdahnutog $^{13,14}\text{CO}_2$ podrijetlom iz želuca.

Radi pojednostavnjenja i pojeftinjenja postupka pod upitnik se stavlja i potreba za uzimanjem prvog (bazalnog) uzorka izdahnutog zraka. Iako on ne utječe značajno na rezultat u neliječenih bolesnika, pri kontroli uspjeha terapije ipak se savjetuje uzimanje obaju uzoraka (35).

Prvi objavljeni protokoli o načinu uzimanju uzoraka izdahnutog zraka sugerirali su, uz onaj prvi prije ingestije, uzimanje više uzastopnih uzoraka nakon ingestije ureje (36). Danas je dokazano da je u rutinskom kliničkom radu, uz održanje osjetljivosti i specifičnosti testa iznad 95%, dovoljno uzeti samo dva uzorka, jedan prije, a drugi 30 min nakon ingestije obilježene ureje. Međutim, i dalje se u nekim istraživanjima ipak preporučuje uzimanje više uzoraka nakon ingestije ureje, u svrhu još većeg povećanja osjetljivosti i specifičnosti metode.



Slika 5. Način izvođenja ^{13}C ureja izdisajnog testa

Premda je, prema nekim radovima, moguće skratiti vrijeme čekanja do uzimanja drugog uzorka izdahnutog zraka na svega 15 minuta, (37) u svakodnevnom radu ipak se najčešće rabi protokol s jednim uzimanjem uzorka izdahnutog zraka prije ingestije ureje i drugim uzorkom uzetim 30 min nakon ingestije.

Najviše se u zadnje vrijeme mijenjala granična vrijednost testova. U ranijim se radovima najčešće kao granična vrijednost razlike ($^{13}\text{CO}_2$ (*engl.* excess ($^{13}\text{CO}_2$)) pozitivnih i negativnih rezultata uzimala vrijednost 5. Ta je vrijednost bila bazirana na normalnoj distribuciji rezultata za osobe koje nisu nikada bile inficirane (gornja vrijednost izračunana je kao srednja vrijednost razlike ($^{13}\text{CO}_2$, povećanoj za 3 standardne devijacije iznad srednje vrijednosti i iznosi 4.9). Međutim, nedavno dobivene analize više velikih kliničkih ispitivanja omogućile su formiranje krivulja (*engl.* Receiver Operating Characteristics Curves - ROC), za dobivanje optimalne granične vrijednosti uz određenu osjetljivost i specifičnost. Tako je za graničnu vrijednost od 3,5 osjetljivost iznosila 98,5%, a specifičnost 97,0%, u usporedbi s osjetljivošću 96,8%

i specifičnošću 99,3% za graničnu vrijednost od 5. Ti su rezultati sugerirali pomicanje granične vrijednosti u europskom protokolu za ^{13}C -urejni izdisajni test na niže vrijednosti. Nedavno objavljeni radovi pokazuju da se kao granična vrijednost razlike ($^{13}\text{CO}_2$ treba uzeti 3 per mL, s prihvatljivim rizikom lažno negativnih rezultata od 3%. Japanski autori smatraju da se, uz pouzdanost od 98,5%, ta vrijednost može spustiti i na razinu od 2,5 per mL (38). Zanimljivi su rezultati radova koji pokazuju da vrijednost razlike ($^{13}\text{CO}_2$ obrnuto proporcionalno korelira s uspješnošću eradikacijske terapije. Čak se razmatra i mogućnost da se bolesnicima s dobivenim visokim vrijednostima urejnog izdisajnog testa poviši doza lijekova koji se rabe u eradikacijskoj terapiji (39).

Sljedeće polje istraživanja su doze označene ureje koja se rabi u testovima. Naime, za izvođenje ^{13}C -urejnih izdisajnih testova danas se uglavnom rabe doze od 75 do 100 mg ureje. Međutim, u prvim su se protokolima rabile znatno više doze, katkada čak i do 250 mg ureje, potom 150 mg, a zatim 100 mg. Danas se u većini protokola za odrasle rabi doza od 75 mg označene ureje, dok je za

djecu dovoljna doza od 50 mg, ali su objavljeni rezultati i s nižim dozama (40). Situacija je slična i u primjeru ^{14}C -izdisajnog testa. I tu su početno rabljene doze ^{14}C -ureje bile znatno više i iznosile između 185 kBq i 400 kBq. Doze koje se danas rabe znatno su niže - ispod 100 kBq, čak i do 37 kBq. Opasnost leži u činjenici da vrlo niske doze ureje mogu rezultirati u slabijoj zasićenosti enzima ureaze i lažno negativnom konačnom rezultatu testa.

Urejni izdisajni test u istraživanjima

Urejni izdisajni test pokazao se vrlo pogodnom metodom za istraživanja infekcije *H. pylori* na animalnim modelima, kao i u epidemiološkim istraživanjima, posebno u djece, ponajprije zbog svoje neinvazivnosti (41).

U posljednje dvije godine pokušava se iz rezultata urejnog izdisajnog testa kvantitativno odrediti količina *H. pylori* (gustoća infekcije *H. pylori*) na želučanoj sluznici. Međutim, rezultati tih istraživanja često su upravo oprečni. Dok se u radovima nekih autora nalazi pozitivna korelacija između visine rezultata urejnog izdisajnog testa i gustoće bakterije na sluznici želuca, kvantificiranih na histološkim uzorcima želučane sluznice, jednako kao što se nalazi i korelacija između rezultata testa i stupnja gastritisa (42, 43, 44), dotle rezultati novijih istraživanja, provedenih nakon onih prvih, negiraju mogućnost predikcije nalaza histologije prema rezultatima urejnog izdisajnog testa (45, 47 - 51).

Indikacije za uporabu urejnog izdisajnog testa

Svi su izdisajni testovi visoke osjetljivosti i specifičnosti, uglavnom uvijek iznad 95%. Premda su u rutinskoj uporabi danas različite tehnologije za izradu tih testova, od kojih neke, poput IRMS metode (spektrofotometar masa - slika 6), zahtijevaju za to posebno osposobljeno osoblje, a druge su konstruirane tako da se njima može služiti i „obično“ medicinsko osoblje (medicinske sestre, tehničari ili liječnici), kao što su NDIRS (infracrveni spektrometar - slika 7) (52, 53) i LARA (laserski analizator) metode, rezultati su uglavnom identični (54). Velika je prednost ovih dijagnostičkih metoda brzina dobivanja rezultata - oni se uglavnom dobivaju 30 minuta nakon početka testiranja. To je jedna od prednosti urejnog izdisajnog testa pred endoskopijom i metodama baziranim na biopsiji (tzv. invazivnim metodama dijagnostike), koje zahtijevaju rad osoba visoke osposobljenosti, što te metode čini skupljim, neugodnijim za bolesnike, a za dobivanje rezultata najčešće je potrebno više dana.

Indikacije za uporabu urejnih izdisajnih testova mogu se podijeliti u dvije grupacije (tablica 1): primarna dijagnostika - u bolesnika koji nikada nisu liječeni zbog infekcije *H. pylori*, i kontrola uspješnosti provedene eradikacijske terapije za infekciju *H. pylori*, pri čemu su se izdisajni testovi pokazali kao najbolji neinvazivni način kontrole uspjeha terapije u nekomplikiranim slučajevima, uvijek

onda kada nije potrebna kontrola endoskopskog i histološkog nalaza sluznice želuca.

Urejne izdisajne testove ne treba raditi u primodijagnostici (u neliječenih bolesnika) starijih od 45 godina, kao ni u bolesnika s alarmantnim simptomima, neovisno o njihovoj dobi. Sve je te bolesnike potrebno uputiti gastroenterologu ili direktno u endoskopski laboratorij, zbog potrebe endoskopskog pregleda i histološke obrade želučane sluznice.

Poznato je da se u praćenju rezultata eradikacije, u istraživačke svrhe, preporučuje uporaba barem dviju dijagnostičkih metoda, dok je u rutinskoj praksi dovoljna i jedna. Upravo se urejni izdisajni test pokazao najboljom metodom za kontrolu uspješnosti provedene eradikacijske terapije. Međutim, jednako kao i pri uporabi ostalih načina kontroliranja (histologije, brzog ureaznog testa, antigena u stolici), u slučaju perzistentno pozitivnog nalaza urejnog izdisajnog testa nakon dva ili čak i više ciklusa provedene eradikacijske terapije, potrebno je učiniti endoskopski pregled s uzimanjem uzoraka sluznice želuca za mikrobiološki pregled (kulturu i antibiogram).

Uglavnom svi terapijski protokoli sugeriraju da se kontrolno testiranje na *H. pylori* provede najranije 4 do 6 tjedana nakon završetka antibiotske eradikacijske terapije (54, 55).

Nedostaci urejnih izdisajnih testova u usporedbi s ostalim metodama

Premda su vrlo pouzdani, s osjetljivošću i specifičnošću uvijek iznad 95%, urejni izdisajni testovi moraju se provoditi uz pridržavanje nekih pravila kako bi se izbjegli, ili smanjili na minimum, neki njihovi poznati nedostaci (56).

Urejni izdisajni test ne bi trebalo raditi bolesniku koji uzima, ili je uzimao unutar posljednja 2 tjedna, određene lijekove kao što su: protusekretorni lijekovi (ponajprije inhibitori protonske pumpe, blokatori histaminskih receptora ili preparati bizmuta), antibiotici koji se rabe pri eradikacijskoj terapiji (57, 58). Standardna je preporuka da te lijekove treba izostaviti iz terapije barem 2 tjedna prije izvođenja urejnog izdisajnog testa. Iz nekih radova je vidljivo da, primjerice, negativan utjecaj uzimanja protusekretornih lijekova (inhibitora protonske pumpe) na rezultate urejnog izdisajnog testa nestaje 5 dana nakon izostanka terapije, dok drugi autori ovaj negativni utjecaj, primjerice ranitidina, na ishod testa uopće ne nalaze (59).

Kao što je već i spomenuto, urejni izdisajni test ne bi se trebao rabiti u osoba nakon parcijalnih (antralnih) gastrektomija ili ostalih operacija na želucu, upravo zbog mogućnosti dobivanja lažno negativnih rezultata. Naime, kontakt sluznice s označenom urejom je prekratak, jer je obrok koji se daje za uspoređenje pražnjenja želuca, u takvim slučajevima, slabo djelotvoran ili posve nedjelotvoran.



Slika 6. Masena spektrofotometrija (IRMS-engl. Isotope Ratio Mass Spectroscopy)

S obzirom na to da ova metoda ne daje uvid u makroskopski i histološki nalaz želučane sluznice, urejni izdisajni testovi nisu indicirani u osoba kojima je nuždan endoskopski pregled (osobe starije od 45 godina, kao i sve osobe s alarmantnim simptomima). Naime, neke se značajne strukturalne promjene kao: ezofagitis, ulkusna bolest ili maligna želučana bolest, mogu previdjeti ako se ne uradi endoskopski pregled.

Jedan od većih nedostataka urejnih izdisajnih testova je njihova nedostupnost. Uglavnom, čak i u bogatijim zemljama, najčešće instrumenti nisu neposredno dostupni bolesnicima u svakoj medicinskoj ustanovi i u svakom većem gradu. Stoga je nužno organizirati slanje uzoraka poštom u najbliži centar koji ima instrumentarij. Time se

Tablica 1. Indikacije za izvođenje ureja izdisajnog testa

Primarna dijagnostika

- Dispepsija u osoba mladih od 45 godina, bez alarmantnih simptoma osim:
- ako ne dominiraju simptomi gastroezofagealne refluksne bolesti
- ako ne uzimaju salicilate ili nesteroidne antireumatike
- Dispepsija u osoba starijih od 45 godina bez alarmantnih simptoma, ali s određenom kontraindikacijom za endoskopski pregled (teška komorbidna stanja: kardijopati, kronični plućni bolesnici, teške koagulopatije, psihički poremećaji itd.)

Kontrola uspjeha eradikacije terapije za infekciju s *H. pylori*

- Mlađi ljudi (do 45 godina starosti) kojima je određena terapija nakon testiranja neinvazivnim metodama
- Svi endoskopski pregledani *HP*-pozitivni bolesnici s:
 - urednim endoskopskim i histološkim nalazom
 - ulkusom/ožiljkom na dvanaesniku
 - gastroezofagealnom refluksnom bolešću (bez displazije na jednjaku)
 - funkcijskom dispepsijom
- nalazom kroničnog gastritisa, kompletnom int. metaplazijom, a bez displazije
- nalazom ožiljka na želucu, a bez displazije
- poremećajem koagulacije koja onemogućava uzimanje biopsijskih uzoraka

vrijeme dobivanja rezultata ove inače brze dijagnostike, za čije je izvođenje potrebno tek nekoliko minuta, produžuje za vrijeme potrebno za transport uzoraka u centar gdje će biti obrađeni, kao i za vrijeme dostave nalaza bolesniku.

Jednostavnost i neinvazivnost ove metode nosi još jednu opasnost - nepotrebno testiranje bolesnika koji uopće nemaju kliničku indikaciju za dijagnostiku infekcije *H. pylori*. Nepotrebno testiranje treba izbjegavati, posebno zato što će pri pozitivnom nalazu infekcije nadležni liječnik osjećati potrebu liječenja svog bolesnika, premda za to ne postoji klinička potreba. Pri tom treba naglasiti da svaka nepotrebna uporaba antibiotika dovodi do povećanja otpornosti ove bakterije u nekoj zajednici.

Uz to treba spomenuti da, primjerice, u nekim europskim zemljama, jednako kao i u Hrvatskoj, test nije na pozitivnoj listi pretraga koje se rade na račun zdravstvenog osiguranja, već bolesnici djelomice, ili u cijelosti, pretragu sami plaćaju. Unatoč svojoj jednostavnosti, ova metoda ne spada u jeftinije metode dijagnostike infekcije *H. pylori*.



Slika 7. Analiza infracrvenim spektrometrom pogodna je za djecu

Primjena urejnih izdisajnih testova u dijagnostici infekcije *H. pylori* u djece

Čini se logičnim da je, zbog svoje jednostavnosti i neinvazivnosti, urejni izdisajni test idealna metoda za dijagnostiku statusa *H. pylori* u djece, i pri dijagnostici i u praćenju uspjeha eradikacijske terapije (osobito ^{13}C -neradioaktivni test) (60). Smatra se da već djeca starija od 3 godine mogu u cijelosti shvatiti upute, bez problema popiti sok s ^{13}C -označenom urejom i lako dati oba uzorka izdahnutog zraka (slika 7).

U razmatranju infekcije *H. pylori* među djecom posebno su se istraživala djeca s neobjašnjivim epigastričnim ili paraumbilikalnim bolima, mučninama ili češćim povraćanjem (61). Neki su autori među tom djecom našli pokazatelje prisutne infekcije *H. pylori* značajno češće nego među zdravom djecom (62). Međutim, novija su ispitivanja pokazala da djeca s rekurirajućim abdominalnim bolima nemaju veću učestalost infekcije u usporedbi s vršnjacima bez tegoba. Nemoguće je bilo, prema kliničkoj slici, razlikovati zaraženu od nezaražene djece, a randomizirane prospektivne studije nisu potvrdile da eradikacija *H. pylori* češće dovodi do normalizacije kliničke slike od placeba (63, 64). Zbog toga je Radna grupa za ispitivanje važnosti infekcije *H. pylori* u dječjoj dobi Europskog društva za dječju gastroenterologiju i prehranu (ESPGAN) zaključila da nema podataka na osnovi kojih se može povezati gastritis uzrokovan infekcijom *H. pylori* i abdominalna bol, osim u prisutnosti peptičnog ulkusa (65). Stoga su zaključili da u djece s recidivirajućim abdominalnim kolikama nije indicirana neinvazivna dijagnostika za dokazivanje infekcije *H. pylori* (66). Pri simptomima koji bi u djeteta mogli upućivati na postojanje moguće organske bolesti, poput peptičnog ulkusa ili ezofagitisa, nužno je učiniti endoskopsku pretragu gornjeg dijela probavnog sustava. U sve endoskopirane djece, pregled je potrebno upotpuniti uzimanjem biopsijskih uzoraka želučane sluznice zbog dijagnostike infekcije *H. pylori*. Svu na taj način dijagnosticiranu *H. pylori* - pozitivnu djecu potrebno je potom liječiti eradikacijskom terapijom.

Za razliku od primodijagnostike, urejni izdisajni testovi mogu se rabiti za kontrolu provedene eradikacijske terapije, i to u sve djece u kojih nije nuždan kontrolni endoskopski nalaz.

Preporučena doza ureje koja se primjenjuje u djece do 8 godina je 50 mg. Reproducibilnost testa i način skupljanja uzoraka izdahnutog zraka u djece do 3 godine još se ispitiuju. Za djecu iznad 8 godina starosti uglavnom se rabi isti protokol kao za odrasle osobe.

Primjena urejnog izdisajnog testa u KB „Merkur“, Zagreb

U KB „Merkur“ urejni izdisajni test rabi se od 1996. godine. Testiranje se provodi prema navedenome protokolu, s apstinencijom od hrane i pića bar 4 sata prije izvođenja testa. Isto se tako nastoji testiranje provesti bar tjedan dana nakon uzimanja lijekova koji bi potencijalno mogli interferirati s rezultatima testa. Pri testiranju se rabi 75 mg obilježene ureje, a kao test-obrok daje se 100 ml narančina soka. Rezultati se analiziraju NDIRS metodom. Kontrola uspješnosti eradikacijske terapije provodi se bar 4 do 6 tjedana nakon završetka antibiotiske terapije.

Tijekom 1998. godine provedeno je komparativno, prospektivno istraživanje urejnih izdisajnih testova NDIRS i IRMS metodama u 35 ispitanika, u dobi od 23 do 67 godina. Uzorci za NDIRS uzeti su u aluminijske vrećice i odmah analizirani na infracrvenom spektrometru, a uzorci za IRMS uzeti su u staklenu tubu i poslani na analizu u drugi referentni laboaratorij (London, Velika Britanija). Svi su ispitanici i endoskopski kontrolirani te su im tom prilikom učinjeni i drugi testovi za dijagnostiku infekcije *H. pylori*: brzi ureazni test (CLO test), mikrobiološko ispitivanje (kultura i antibiogram) i histologija (na četiri uzorka želučane sluznice: dva iz antruma i dva iz korpusa) te serološki testovi (RVK, ELISA).

Primjenom statističkih metoda izračunan je Pearsonov faktor korelacije rezultata obaju testova. Rezultati su bili



Slika 8. Dijagnostički komplet („kit“) - *Helicobacter* Test INFAI

praktički identični. Zaključeno je tada da NDIRS, kao jeftinija, brža i jednostavnija metoda, ima određene prednosti u svakodnevnoj primjeni. Jedini nedostatak NDIRS prema IRMS metodi jest veća količina zraka potrebna za analizu, a što može biti problem kod transporta uzoraka na analizu u neki centralni laboratorij.

Usporedbom rezultata urejnih izdisajnih testova s ostalim dijagnostičkim metodama kao zlatnim standardima, za obje su metode (NDIRS i IRMS) dobiveni isti rezultati osjetljivosti i specifičnosti (tablica 2).

Iz ovih prikazanih rezultata može se zaključiti da je urejni izdisajni test vrlo vrijedna dijagnostička metoda detekcije infekcije *H. pylori*, visoke osjetljivosti i specifičnosti u usporedbi s drugim dijagnostičkim metodama.

Zaključak

Danas postoji više testova u dijagnostici primarne infekcije bakterijom *H. pylori*, dijagnostici eventualne reinfekcije, kao i u praćenju uspješnosti primijenjene terapije. Odabir metode uvelike ovisi o raspoloživim sredstvima, ali i odgovoru na pitanje što se dijagnostikom želi postići. U osoba s dispeptičkim tegobama mladih od 45 godina i bez komplikacija (bez tzv. alarmantnih simptoma poput anemije, gastrointestinalnog krvarenja, mršavljenja, inapetencije, već prethodno ustanovljenog želučanog ulkusa, nalaza palpatorne rezistencije u abdomenu, anamneze o uzimanju nesteroidnih antireumatika itd.) urejni izdisajni test može biti i prva metoda u dijagnostici infekcije *H. pylori*. U slučajevima postojanja navedenih simptoma i u svih osoba starijih od 45 godina već je u primarnoj dijagnostici potrebno izvesti endoskopski pregled.

Urejni izdisajni test najbolja je metoda za neinvazivnu (bez endoskopskog pregleda!) kontrolu uspješnosti eradikacijske terapije. On može vrlo jasno, jednostavno i ranije od svih drugih metoda ocijeniti uspješnost eradikacije infekcije. Međutim, u osoba s anamnezom prethodnog želučanog ulkusa, ulkusa na dvanaesniku s komplikacijama (stanje nakon krvarenja, sumnja na penetraciju) i ulkusa uzrokovanih uzimanjem nesteroidnih

Tablica 2. Usporedbe rezultata ureja izdisajnog testa s ostalim metodama (kao zlatnim standardom)

„Zlatni standard“	Osjetljivost metoda (NDIRS i IRMS)	Specifičnost metoda (NDIRS i IRMS)
CLO	100%	100%
Mikrobiologija	100%	93,1%
Histologija	87,5%	96,4%
Serologija-ELISA/RVK	33,3%	94,1%

antireumatika, preporučuje se endoskopska kontrola.

Osjetljivost i specifičnost ove metode veća je od 95%. Ona, za razliku od testova baziranih na biopsiji, može izbjeci dobivanje lažno negativnih nalaza nastalih zbog neravnomjerne distribucije bakterija po želučanoj sluznici, jer očitava stanje infekcije na sluznici cijelog želuca. Za razliku od serologije, dijagnosticira samo živi i funkcionalno aktivni *H. pylori*. Kao jednostavna, lagano ponovljiva i sigurna metoda može se rabiti i kao zlatni standard za kontrolu rezultata dobivenih ostalim dijagnostičkim metodama (67).

Trenutačnu situaciju u Hrvatskoj karakterizira manjak instrumenata za izradu izdisajnih testova - u funkciji su samo dva instrumenta, jedan maseni spektrofotometar i jedan infracrveni spektrometar. Registriran je dijagnostički komplet („kit“ - *Helicobacter Test INFAL*) za maseni spektrofotometar (slika 8), a pred registracijom je i sličan komplet za infracrvenu spektrometriju. Radi poboljšanja navedene situacije već su pokrenute određene akcije pod vodstvom PLIVE - sprema se opskrba većih regionalnih centara infracrvenim spektrometrima, a nastavljaju se već prije pokrenute akcije da se ovaj moderni i koristan test uvrsti u listu pretraga koje priznaje Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje, kako bi ga bolesnici mogli obaviti uz redovitu uputnicu.

Literatura

- KATIČIĆ M, PRESEČKI V, KALENIĆ S, DOMINIS M. Helicobacter pylori - uvod i pregled istraživanja. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1):1-5.
- KATIČIĆ M, PRESEČKI V, KALENIĆ S i sur. Dijagnostika infekcije s Helicobacterom pylori. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1):16-20.
- The European Helicobacter pylori Study Group. Current European concepts in management of Helicobacter pylori infection. Gut 1997;41:8-13.
- MALFERTHEINER P, MEGRAUD F, O'MORAIN C i sur. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection - The Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther 2002;16:167-80.
- PRESEČKI V, KATIČIĆ M, MARUŠIĆ M i sur. Serološka dijagnostika infekcije Helicobacterom pylori. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1) 23-8.
- KATIČIĆ M, PRESEČKI V. Helicobacter pylori - izazov za medicinu. Zagreb: MCG, 1996.
- MAKRISTATHIS A, PASCHING E, SCHÜTZE K i sur. Detection of Helicobacter pylori in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. J Clin Microbiol 1998;36:2772-4.
- TINNERT A, HAMLET A, SVENNERHOLM AM. Antibodies against Helicobacter pylori in feces and saliva before and after eradication therapy. Clin Microbiol Infect Dis 1998;4:634-43.
- VAIRA D, MALFERTHEINER P, MEGRAUD F i sur. Diagnosis of Helicobacter pylori infection with a new non-invasive antigen-based assay. Lancet 1999; 354:30-3.
- MISIEWICZ JJ. The Sydney System: a new classification of gastritis. Introduction. J Gastroenterol Hepatol 1991;6:207-10.
- DOMINIS M, DŽEBRO S, GAŠPAROV S i sur. Morfološka slika gastritisa i infekcije Helicobacterom pylori. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1): 36-42.
- DIXON MF, GENTA RM, YARDLEY JH, CORREA P. Classification and grading of gastritis: The updated Sydney System. Am J Surg Pathol 1996;20:1161-81.
- DIXON MF, GENTA RM, YARDLEY JH, CORREA P. Histological classification of gastritis and Helicobacter pylori infection: An agreement at last? Helicobacter. 1997;2 (Suppl 1):s17-24.
- HUA J, BIRAC C, MEGRAUD F. PCR-based RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) "fingerprinting" of clinical isolates of Helicobacter pylori. U: Helicobacter pylori: techniques in clinical diagnosis and basic research. Lee A, Megraud F (eds.) Saunders WB, London, 1996:121-7.
- SUERBAUM S, BIRKHOLZ S, GEIS G i sur. Mikrobiologische Aspekte von Helicobacter pylori. In: P. Malfertheiner (ed): Helicobacter pylori - Von der Grundlage zur Therapie. Stuttgart Thieme, 1994:1-9.
- PLEČKO V, KALENIĆ S, PRESEČKI V i sur. Helicobacter pylori - bakteriološka dijagnostika i testiranje osjetljivosti na antibiotike. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1):20-3.
- FILIPEC T, PRSKALO M, TIČAK M i sur. Brzi ureazni test. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1):33-6.
- FALLONE CA, Van ZANTEN SJO, VELDTHUYZEN, CHIBA N. The urea breath test for Helicobacter pylori infection: taking the wind out of the sails of endoscopy. Can Med Assoc J 2000; 162:371-2.
- GRAHAM DY, KLEIN PD, EVANS DJ Jr i sur. Campylobacter pylori detected noninvasively by the 13C-urea breath test. Lancet 1987;1:1174-7.
- MARSHALL BJ, SURVEYOR I. Carbon-14 urea breath test for the diagnosis of Campylobacter pylori associated gastritis. J Nucl Med 1988;29:11-6.
- KORNBERG HL, DAVIES RE, WOOD DR. The activity and function of gastric function in the cat. Biochem J 1954; 56:363-72.
- FILIPEC T, KATIČIĆ M, PAPA B i sur. Izdajski test ureje. Liječ Vjesn 2002; 124(Suppl 1):28-33.
- ATHERTON JC, WASHINGTON N, BLACKSHOW PE i sur. Effect of test meal on the distribution and emptying of 13C-urea solution in the urea breath test. Gastroenterology 1993;104:A36
- CACONILLIS F, BATTEN JJ, LOGAN RPN i sur. Qualifying the extent of Helicobacter pylori infection with the 13C urea breath test. Gut 1991;32:A565.
- BRADEN B, SCHÄFER F, CASPARY WF, LEMBCKE B. Nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy: A new analytical method for 13C-urea breath tests. Scan J Gastroenterol 1996;31:442-5.
- MÉGRAUD F. How should Helicobacter pylori infection be diagnosed. Gastroenterology 1997;113:93-8.
- STUBBS JB, MARSHALL BJ. Radiation dose estimates for the carbon-14-labeled urea breath test. J Nucl Med 1993; 34: 821-5.
- LOGAN RPH. 13C urea breath test. In: Helicobacter pylori: techniques for clinical diagnosis and basic research. Lee A, Megraud F (Eds), London: Saunders WB, 1996:74-82.
- LOGAN RPH, DILL S, BAUER FE, MISIEWICZ JJ. The European 13C-urea breath test for the detection of Helicobacter pylori. Eur J Gastroenterol Hepatol 1991;3: 905-11.
- LEODOLTER A, DOMINGUEZ-MUNOZ JE, VON ARNIM U, MANES G. 13C-Urea Breath Test for the Diagnosis of Helicobacter pylori Infection, Scand J Gastroenterol 1998; 33:267-70.
- WONG WM, WONG BC, WONG KW i sur. 13C-urea breath test without a test meal is highly accurate for the detection of Helicobacter pylori infection in Chinese. Aliment Pharmacol Ther 2000; 14: 1353-8.
- SHIOTANI A, SAEED A, YAMAOKA Y i sur. Citric acid-enhanced Helicobacter pylori urease activity in vivo is unrelated to gastric emptying. Aliment Pharmacol Ther 2001; 15: 1763-7.
- BRADEN B, DUAN LP, CASPARY WF, LEMBCKE B. More convenient 13C urea breath test modifications still meet criteria for valid diagnosis of Helicobacter pylori infection. Zeitschrift für Gastroenterologie 1994;32: 198-202.
- KIRSTEIN F, BOJARSKI C, EPPEL HJ i sur. Urea Breath Test in H. P. Diagnosis: Origin of "False" Results and Influence of Food Intake. Proceedings of the conference: Abstracts of the 4th United European Gastroenterology Week, Berlin, September, 1995.
- GISBERT JP, BENITO LM, LARA S i sur. 13C-urea breath test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection; are basal samples necessary? Eur J Gastroenterol Hepatol 2000; 12: 1201-5.

36. LOGAN R, POLSON RJ, MISIEVICZ JJ i sur. Simplified single sample ¹³Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*: comparison with histology, culture and ELISA serology. *Gut* 1991;32:1461-4.
37. PENG NJ HSU PI, LEE SC i sur. A 15-minute ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with non-ulcer dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 284-9.
38. Van ZWET A A, MÉGRAUD F, Diagnosis. Current Opinion in Gastroenterology 1998; 14(1):21-37.
39. GARCIA JIP, MONTEAGUDO AM, JIMENEZ I i sur. Predictive Value of ¹³Carbon-Urea Breath (UBT) Test for Eradication of *Helicobacter pylori* (HP) in Peptic Ulcer Disease. Proceedings of the conference: Abstracts of the 4th United European Gastroenterology Week, Berlin, September, 1995.
40. SHEU BS, LEE SC, YANG HB i sur. Lower-dose ¹³C-urea breath test to detect *Helicobacter pylori* infection - comparison between infrared spectrometer and mass spectrometry analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1359-63.
41. BODE G, ROTHENBACHER, BRENNER H, ADLER G. *Helicobacter pylori* and abdominal symptoms: A population-based study among preschool children in southern Germany. *Pediatrics* 1998; 101: 634-7.
42. ATHERON JC, WASHINGTON N, BLACKSHAW PE i sur. Effect of a test meal on the intragastric distribution of urea in ¹³C urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1995; 36:337-40.
43. BAZZOLI F, ZAGARY M, FOSSI S i sur. Urea Breath Test for the Detection of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter* 1997;2:34-7.
44. DEBONGNIE JC, PANWELS S, RAAT A i sur. Quantification of *Helicobacter pylori* infection in gastritis and ulcer disease using a simple and rapid carbon ¹⁴C- urea breath test. *J Nucl Med* 1991;32:1192-8.
45. RAWES EAJ, ROYEN EAV, LANGENBERG W i sur. ¹⁴C urea breath test in *C. pylori* gastritis. *Gut* 1989;30:789-803.
46. BAZZOLI F, ZAGARI RM, POZZATO P i sur. ¹³C UBT to quantify *Helicobacter pylori* colonization of gastric mucosa and association with severity of inflammation. *Gastroenterology* 1994;106:A48.
47. BODE G, ROTHENBACHER, BRENNER H, ADLER G. Variation in the ¹³C Urea Breath Test Value by Nationality in *Helicobacter pylori* Infected Children. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:468-72.
48. ELLENRIEDER V, GLASBRENNER B, STOFFELS C, BOOL G, ADLER G. Quantitative and semi-quantitative value of modified ¹³C-UBT for identification *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. (In press).
49. HILKER E, STOLL R, DOMSCHKE W. Quantitative assessment of *Helicobacter pylori* colonisation of the gastric mucosa by ¹³C urea breath test. *Gastroenterology* 1994;106:A93.
50. PERRI F, CLEMENTI R, BIDCEGLIA M i sur. The ¹³C UBT correlates with the bacterial load and the severity of inflammation in *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut* 1997; 41(1):A80.
51. Van de WOUW BAM, de BOER WA, HERMSEN HWEM i sur. Usefulness of the ¹⁴C urea breath test as a semi-quantitative monitoring instrument after therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:112-7.
52. HILDEBRAND P, BEGLINGER C. Nondispersive Infrared Spectrometry: A New Method for Detection of *Helicobacter pylori* Infection with the ¹³C Urea Breath Test. *Clinical Infectious Diseases* 1997;25:1003-5.
53. KOLETZKO S, SEEBOTH I, BRADEN B i sur. Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with ¹³Carbon-urea breath test. *Lancet* 1995; 345:961-2.
54. SAVARINO V, LANDI F, DULBECCO P i sur. Isotope ratio mass spectrometry (IRMS) versus laser-assisted ratio analyzer (LARA); a comparative study using two doses of ¹³C-urea. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 2168-74.
55. OHARA H, SUZUKI T, NAKAGAWA T i sur. ¹³C- UBT Using an Infrared Spectrometer for Detection of *Helicobacter pylori* and for Monitoring the Effects of Lansoprazole. *J Clin Gastroenterol* 1995;20(2):115-7.
56. Van ZANTEN V, SANDER JO, SHERMAN PM, HUNT RH. *Helicobacter pylori*: new developments and treatments, *Can Med Assoc J* 1997; 156: 1565.
57. SHEU BS, LIN CY, LIN XZ i sur. Long-term outcome of triple therapy in *Helicobacter pylori*-related non-ulcer dyspepsia: a prospective controlled assessment. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 441-7.
58. MÉGRAUD F. How Should *Helicobacter pylori* Infection Be Diagnosed, *Gastroenterology* 1997;113:93-8.
59. CUTLER AF, BROOKS E, O'MARA K. Effect of standard and high dose ranitidine on ¹³C urea breath test results. Proceedings of the conference: Xth International Workshop on Gastrointestinal Pathology and *Helicobacter pylori*, Lisbon, September, 1997.
60. KALENIĆ S, DOMINIS M, PRESEČKI V. Dijagnostika infekcija koje uzrokuje *Helicobacter pylori*. *Medicus* 1996;5:27-32.
61. IMRIE C, DRUMM B. Pathophysiology, Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of *Helicobacter pylori* Disease. *Inter S Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;8:10-5.
62. McARTHUR C, SAUNDERS N, FELDMAN W. *Helicobacter pylori*, gastroduodenal disease, and recurrent abdominal pain in children. *JAMA* 1995;273:729-34.
63. O'DONOHUE JM, SULLIVAN PB, SCOTT R i sur. Recurrent abdominal pain and *Helicobacter pylori* in a community-based sample of London children. *Acta Paediatr* 1996;85:961-4.
64. REIFEN R, RASOOLY I, SHERMAN P i sur. *Helicobacter pylori* infection in children. Is there specific symptomatology? *Dig Dis Sci* 1994;39:1488-92.
65. Paediatric Task Force Group. Consensus Report on *Helicobacter pylori* in Children. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 2000 (in press).
66. ROWLAND M, LAMBERT I, GORMALLY S i sur. Carbon ¹³-labeled urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. *J Paediatr* 1997;131:815-20.
67. BRADEN B, HAISCH M, DUAN LP i sur. Clinically feasible stable isotope technique at a reasonable price: analysis of ¹³C/¹²C abundance in breath samples with a new isotope selective nondispersive infrared spectrometer. *Zeitschrift für Gastroenterologie* 1994;32:675-8.