

Ορολογικές μέθοδοι: Νεότερες εφαρμογές

Δημήτριος Πολύμερος

Ορολογικές μέθοδοι διάγνωσης λοίμωξης *H. pylori*

Η ορολογική διάγνωση της λοίμωξης από *H. pylori* βασίζεται στην ανίχνευση των ειδικών αντισωμάτων τάξης IgG και IgA έναντι του μικροοργανισμού. Αυτά εμφανίζονται 3 εβδομάδες μετά την πρωτολοίμωξη και θεωρητικά διατηρούνται επ' άπειρον. Η ποσοτική ανίχνευση των αντισωμάτων έναντι του *H. pylori* γίνεται στην κλινική πράξη με τη χρήση ενζυμικής ανοσοπροσοφορητικής μεθόδου (ELISA) και με τη μέθοδο του ανοσοαποτυπώματος (immunoblot). Οι ταχείες ποιοτικές δοκιμασίες που γίνονται στο εξωτερικό ιατρείο με σταγόνα τριχοειδικού αίματος όπως και η ανίχνευση των αντισωμάτων με ELISA στα ούρα είναι μέθοδοι λιγότερο ακριβείς και δεν συνιστώνται από τις πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες της ομάδας συμφωνίας για την αντιμετώπιση της λοίμωξης από *H. pylori*, Maastricht 3.

Στα πλεονεκτήματα των ορολογικών μεθόδων συγκαταλέγονται το χαμηλό κόστος, το γεγονός ότι είναι μη επεμβατικές, ότι δεν εξαρτώνται από το βακτηριακό φορτίο και η ικανοποιητική ευαισθησία και ειδικότητα. Πιο συγκεκριμένα, η δοκιμασία αναπνοής ουρίας (UBT), η ταχεία δοκιμασία ουρεάσης, η ανίχνευση του αντιγόνου του *H. pylori* στα κόπρανα και ταχεία δοκιμασία ουρεάσης (RUT) σε ιστοτεμάχιο γαστρικού βλεννογόνου μπορεί να είναι ψευδώς αρνητικές σε περίπτωση καταστολής του βα-

Πίνακας 1. Διαγνωστική ακρίβεια των μη επεμβατικών διαγνωστικών δοκιμασιών για τη λοίμωξη από *H. pylori*.

	Ευαισθησία για την ενεργό λοίμωξη	Ειδικότητα για την ενεργό λοίμωξη
Δοκιμασία αναπνοής ουρίας	94,7%	95,7%
Δοκιμασία αντιγόνου κοπράνων	93,1%	92,8%
Δοκιμασία IgG ορού	85,0%	79,0%

κτηριακού φορτίου από αντιβιοτικά, αναστολείς αντλίας πρωτονίων και εκτεταμένη ατροφική γαστρίτιδα, ενώ τα επίπεδα των αντισωμάτων δεν επηρεάζονται.

Από την άλλη πλευρά, οι ορολογικές μέθοδοι δεν κάνουν διάκριση της ενεργού λοίμωξης από την προηγούμενη έκθεση στο μικροοργανισμό αφού παραμένουν θετικές για μεγάλο διάστημα σε άτομα με εκριζωθείσα λοίμωξη, ενώ υπάρχουν και αναφορές ψευδώς θετικών σε άτομα που δεν είχαν ποτέ λοίμωξη. Η ευαισθησία και η ειδικότητα των ορολογικών μεθόδων για τη διάγνωση της ενεργού λοίμωξης υπολείπεται αυτών των δοκιμασιών αναπνοής και αντιγόνου κοπράνων (Πίνακας 1)¹ και δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων εμπορικών kits.

Επίσης, η κλινική τους «αποτελεσματικότητα» εξαρτάται από τον επιπολασμό του *H. pylori* στους διάφορους πληθυσμούς. Σε πληθυσμούς με χαμηλό επιπολασμό *H. pylori*, μια διαγνωστική δοκιμασία για την ενεργό λοίμωξη με ευαισθησία και ειδικότητα γύρω στο 80%, όπως η ορολογική, θα αποδώσει μη αποδεκτό αριθμό ψευδώς θετικών, γεγονός που θα οδηγήσει σε άστοχες θεραπείες, σε μη ικανοποιητικές ανταποκρίσεις των δυσπεπτικών ασθενών, σε βακτηριακή αντοχή και περιττό κόστος. Για το λόγο αυτό, σε τέτοιους πληθυσμούς, δε συνιστάται η χρήση ορολογικής μεθόδου ως πρώτη εκλογή για τη διάγνωση της λοίμωξης από *H. pylori* στην κλινική πράξη.² Τέλος, η ανίχνευση των αντισωμάτων δεν είναι κατάλληλη για την επιβεβαίωση της εκρίζωσης του μικροβίου δεδομένου ότι αυτό χρειάζεται τουλάχιστον κατά 50% πτώση του τίτλου, επιτυγχάνεται σε τουλάχιστον 6 μήνες μετά τη θεραπεία, ενώ, ακόμα και τότε, μόνο το 85% των αρρώστων χαρακτηρίζονται με ακρίβεια. Σημειώνεται ότι μόνο το 36% των περιπτώσεων αρνητικοποιούν τα αντισώματα μετά τη θεραπεία εκρίζωσης.

Τελευταία, έχουν περιγραφεί νεώτερες ορολογικές μέθοδοι στην προσπάθεια για την επίτευξη υψηλότερης ευαισθησίας και ειδικότητας. Μια ηλεκτροφορητική μέθοδος με χρήση ανασυνδυασμένων αντιγόνων της εξωτερικής μεμβράνης του *H. pylori* αναφέρει ευαισθησία, ειδικότητα και διαγνωστική ακρίβεια 94%, 97% και 94,5%, αντίστοιχα³ σε σχέση με τη βιοψία και την καλλιέργεια. Μια νέα ELISA που ανιχνεύει την υποτάξη IgG2 των αντισωμάτων κατά του *H. pylori* (Helirad alert) βρέθηκε να πλεονεκτεί σε ευαισθησία και ειδικότητα έναντι της κλασικής IgG ELISA, μόνο όμως

σε πληθυσμούς με υψηλό επιπολασμό (Hong Kong).⁴ Το ίδιο ικανοποιητικά χαρακτηριστικά (ευαισθησία: 100%, ειδικότητα: 96%, διαγνωστική ακρίβεια: 95%) εμφάνισε μια δοκιμασία ανοσοαποτυπώματος (immunoblot), δοκιμασθείσα όμως και αυτή σε πληθυσμό με υψηλό επιπολασμό (Ταϊλάνδη).⁵

Τέλος, η οροαρνητικότητα στο γενικό πληθυσμό μπορεί με σχετική ασφάλεια να αποκλείσει προκαρκινική γαστρική ιστολογία, αφού σε μεγάλη σουηδική μελέτη μόνο το 2% των οροαρνητικών για *H. pylori* είχαν εντερική μεταπλασία ή ατροφία στη βιοψία γαστρικού βλεννογόνου.⁶

Ορολογικοί δείκτες διάγνωσης της γαστρίτιδας

Το *H. pylori* αποτελεί αναγνωρισμένο καρκινογόνο παράγοντα αφού η χρόνια γαστρίτιδα που προκαλεί μπορεί να εξελιχθεί σε ποσοστό ασθενών σε ατροφία, εντερική μεταπλασία, δυσπλασία και καρκίνο. Παρ' όλα αυτά, επί του παρόντος, δεν συνιστάται εκρίζωση του μικροοργανισμού στο γενικό πληθυσμό, ούτε ευρείας κλίμακας ενδοσκοπικός προσυμπτωματικός έλεγχος (screening), ακόμα και σε χώρες με υψηλή επίπτωση καρκίνου του στομάχου. Τα τελευταία χρόνια έχει εστιαστεί η προσπάθεια για τη διάγνωση των προκαρκινικών ιστολογικών βλαβών με μη επεμβατικές μεθόδους («ορολογική γαστρική βιοψία»). Μεταξύ των ορολογικών δεικτών που έχουν προταθεί είναι τα πεψινογόνα I και II και ο λόγος τους, η γαστρίνη-17, τα αντι-*Hp* αντισώματα, τα αντι-*cagA* αντισώματα, τα αντισώματα έναντι των τοιχωματικών κυττάρων (APCA), η ιντερλευκίνη-8, η ιντερλευκίνη-10, οι πολυμορφισμοί της ιντερλευκίνης-1, η γκρελίνη, ο TTF3 (serum trefoil factor3), τα νιτρικά κ.ά.

Το **πεψινογόνο I (PGI)** παράγεται από τα θεμέλια κύτταρα του σώματος, το **πεψινογόνο II (PGII)** από ολόκληρο το γαστρικό βλεννογόνο και το δωδεκαδάκτυλο και η **γαστρίνη-17 (G17)** από τα κύτταρα G του άντρου. Η χρήση των δεικτών αυτών βασίζεται στο γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις τους στον ορό αντανακλούν ιστολογική κατάσταση του γαστρικού βλεννογόνου. Η χρόνια ενεργός γαστρίτιδα του άντρου από *H. pylori* με ή χωρίς έλκος προκαλεί αύξηση της G17 και των PGI και PGII. Η ατροφική γαστρίτιδα του σώματος, με κύριο εκπρόσωπο την αυτοάνοση γαστρίτιδα της αναιμίας Biermer προκαλεί μείωση του PGI, μείωση του PGI/PGII, αύξηση της G17 και παρουσία των APCA. Η ατροφική γαστρίτιδα του άντρου χαρακτηρίζεται από μη αύξηση της G17 μετά από διέγερση, ενώ η πολυεστιακή ατροφική γαστρίτιδα από *H. pylori* χαρακτηρίζεται από μείωση των PG1, PG2 και του PGI/PGII και μείωση της G17. Τα τελευταία 20 χρόνια έχουν γίνει πολλές μελέτες με τη χρήση συνδυασμών των δεικτών αυτών με διαφορετικά αποτελέσματα ως προς την κλινική αποτελεσματικότητα (ευαισθησία, ειδικότητα, διαγνωστική ακρίβεια) λόγω ετερογένειας πληθυσμών ως προς την επίπτωση του καρκίνου και ως προς τα συμπτώματα (συχνότητα δυσπεψίας).

Στην Ιαπωνία, χώρα με υψηλή επίπτωση γαστρικού καρκίνου, ήδη χρησιμοποιείται ως κριτήριο προσυμπτωματικής γαστροσκόπησης στο γενικό πληθυσμό η συγκέντρωση του **PGI <70 ng/ml ή PGI/PGII ≤3**.

Πρόσφατη μεγάλη πληθυσμιακή προοπτική ενδοσκοπική μελέτη έδειξε ότι η εμφάνιση γαστρικού καρκίνου ήταν 5 φορές συχνότερη σε άτομα με «ατροφικό» ορολογικό προφίλ, σύμφωνα με το παραπάνω κριτήριο και οροθετικά για *H. pylori* σε σύγκριση με άτομα χωρίς «ορολογική» ατροφία και οροαρνητικά για *H. pylori*.⁷ Σε άλλη μελέτη ασυμπτωματικών ατόμων σε δυτικό πληθυσμό φάνηκε ότι ο συνδυασμός **ολικής γαστρίνης, G-17, PG-I, PG-II και ο λόγος PGI/PGII** έχει ευαισθησία >90% για το διαχωρισμό των ατόμων με «προκαρκινική» ιστολογία (πολυεστιακή ατροφική γαστρίτιδα ή ατροφική γαστρίτιδα άντρου) από τα άτομα χωρίς προκαρκινική ιστολογία.⁸

Σε **δυσπεπτικούς ασθενείς**, ο συνδυασμός **PG-I, PG-II, G-17, IgG anti-H. pylori (GASTROPANEL)** έχει υψηλή ειδικότητα (95%) αλλά χαμηλή ευαισθησία 60% για τη διάγνωση της γαστρικής ατροφίας.^{9,10} Σε άλλες σειρές δυσπεπτικών ασθενών από τη Φινλανδία βρέθηκε ότι ο καλύτερος δείκτης ατροφίας του άντρου είναι η **μεταγευματινή G17** με ευαισθησία 95%, ενώ προτείνεται η χρήση του panel που περιλαμβάνει τη μεταγευματινή **G-17, το PG-I, τα IgG anti-Hp** για τη διάκριση της ατροφίας γενικά από την απουσία ατροφίας με ευαισθησία και ειδικότητα 83 και 95%, αντίστοιχα.^{11,12} Είναι εμφανές ότι η χρήση των πεψινογόνων έχει υψηλή ειδικότητα αλλά όχι ικανοποιητική ευαισθησία για την ορολογική διάγνωση της ατροφίας. Αν ψάχνουμε για μέθοδο προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) στο γενικό πληθυσμό χρειαζόμαστε αρχικά υψηλή ευαισθησία. Ένας τέτοιος δείκτης είναι τα **αντισώματα έναντι cagA** στελέχους που συνδέεται με βαρύτερη ιστολογικά γαστρίτιδα και μεγαλύτερο κίνδυνο ατροφίας. Σε πληθυσμό με υψηλή συχνότητα ατροφικής γαστρίτιδας από *H. pylori* (Μεξικό) τα αντι-cagA έδειξαν ευαισθησία 83% στη διάγνωση της ατροφίας.¹³

Από τους υπόλοιπους βιολογικούς δείκτες ο γενετικός **πολυμορφισμός της ιντερλευκίνης-1B-511** (γονότυπος T/T) έχει συνδεθεί με μεγαλύτερα score ατροφίας και φλεγμονής, υψηλότερο ενδογαστρικό pH και χαμηλότερο λόγο PGI/PGII σε *H. pylori* θετικούς ασθενείς.¹⁴ Τέλος, οι στάθμες **γκρελίνης** του ορού, η οποία παράγεται στο σώμα του στομάχου, είναι χαμηλές και βαδίζουν παράλληλα με αυτές του PGI και του λόγου PGI/PGII σε *H. pylori* θετικούς ασθενείς και κατά συνέπεια προτείνονται ως δείκτης ατροφίας.¹⁵

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Vaira D, Vakil N. Blood, urine, stool, breath, money, and *Helicobacter pylori*. Gut 2001;48:287-289.

2. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:167-180.
3. Jiang Z, Huang AL, Tao XH, Wang PL. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and diseases associated with *Helicobacter pylori* by *Helicobacter pylori* outer membrane proteins. *World J Gastroenterol* 2004;10:3464-3469.
4. Ren Z, Borody T, Pang G, et al. Evaluation of anti-*Helicobacter pylori* IgG2 antibody for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in western and Chinese populations. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:83-89.
5. Treepongkaruna S, Nopchinda S, Taweewongsounon A, et al. A rapid serologic test and immunoblotting for the detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *J Trop Pediatr* 2006;52:267-271.
6. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, et al. A negative *Helicobacter pylori* serology test is more reliable for exclusion of premalignant gastric conditions than a negative test for current *H. pylori* infection: A report on histology and *H. pylori* detection in the general adult population. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:302-311.
7. Watabe H, Mitsushima T, Yamaji Y, et al. Predicting the development of gastric cancer from combining *Helicobacter pylori* antibodies and serum pepsinogen status: a prospective endoscopic cohort study. *Gut* 2005;54:764-768.
8. Ricci C, Vakili N, Rugge M, et al. Serological markers for gastric atrophy in asymptomatic patients infected with *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 2004; 99:1910-1915.
9. Nardone G, Rocco A, Staibano S, et al. Diagnostic accuracy of the serum profile of gastric mucosa in relation to histological and morphometric diagnosis of atrophy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:1139-1146.
10. Germana B, Di Mario F, Cavallaro LG, et al. Clinical usefulness of serum pepsinogens I and II, gastrin-17 and anti-*Helicobacter pylori* antibodies in the management of dyspeptic patients in primary care. *Dig Liver Dis* 2005;37:501-508.
11. Sipponen P, Ranta P, Helske T, et al. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case-control study. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:785-791.
12. Vaananen H, Vauhkonen M, Helske T, et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: a multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:885-891.
13. Ley C, Mohar A, Guarner J, Herrera-Goepfert R, Figueroa LS, Halperin D, Parsonnet J. Screening markers for chronic atrophic gastritis in Chiapas, Mexico. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:107-112.
14. Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. Interleukin 1beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology* 2002;123:92-105.
15. Osawa H, Nakazato M, Date Y, et al. Impaired production of gastric ghrelin in chronic gastritis associated with *Helicobacter pylori*. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:10-16.