Otkrivanje infekcija uzrokovanih bakterijom Helicobacter pylori: pojavnost u Osječko-baranjskoj županiji

Polić, Ana

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:152:209338

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Ana Polić

OTKRIVANJE INFEKCIJA UZROKOVANIH BAKTERIJOM HELICOBACTER PYLORI: POJAVNOST U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI

Diplomski rad

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Ana Polić

OTKRIVANJE INFEKCIJA UZROKOVANIH BAKTERIJOM HELICOBACTER PYLORI: POJAVNOST U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI

Diplomski rad

Osijek, 2018.

Rad je ostvaren u Službi za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije u Osijeku.

Mentorica: doc.dr.sc. Suzana Bukovski

Rad sadržava trideset stranica, dvije tablice i sedam slikovnih prikaza.

Sadržaj

1. UVOD 1

1.1. *Helicobacter pylori* 1

1.1.1. *Helicobacter pylori* kroz povijest 1

1.1.2. Morfološke i mikrobiološke značajke bakterije *Helicobacter pylori* 2

1.1.3. Patogenost bakterije *Helicobacter pylori* 3

1.2. Dijagnostičke metode u otkrivanje infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* 4

1.2.1. Neinvazivne dijagnostičke metode 4

1.2.2. Invazivne dijagnostičke metode 7

1.2.3. Važnost odabira odgovarajuće dijagnostičke metode 9

2. CILJ ISTRAŽIVANJA 11

3. ISPITANICI I METODE 12

3.1. Ustroj istraživanja 12

3.2. Ispitanici i uzorci 12

3.3. Metode 13

3.3.1. Dokazivanje nalaza bakterije *Helicobacter pylori* u stolici imunokromatografskom metodom 13

3.3.2. Statističke metode 14

4. REZULTATI 15

4.1. Učestalost infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* u Osječko-baranjskoj županiji (2013. – 2015.) 15

4.2. Usporedba učestalosti pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* s obzirom na dob i spol ispitanika 16

4.3. Dinamika pojavnosti *izolata Helicobacter pylori* 2013. – 2015. 17

5. RASPRAVA 20

6. ZAKLJUČAK 24

7. SAŽETAK 25

8. SUMMARY 26

9. LITERATURA 27

10. ŽIVOTOPIS 30

Popis kratica

HP, *H.pylori - Helicobacter pylori*

MALT limfom *(eng mucosa-associated lymphoid tissue*) - limfom, limfoidno tkivo u mukozama

12C, 13C, 14C - izotopi ugljika koji se koriste u dijagnostičke svrhe

WHO *(eng World Health Organization)* - Svjetska zdravstvena organizacija

PCR *(eng Polymerase chain reaction)* - lančana reakcija polimeraze

Real-time PCR - lančana reakcije polimeraze u "realnom" vremenu

qPCR "Real Time" PCR - kvantifikacija lančane reakcije polimeraze u "realnom" vremenu

ELISA *(eng enzyme-linked immunosorbent assay)* - enzimski imunotest

IgG *(eng Immunoglobulin G)* - imunglobulin G

IgM *(eng Immunoglobulin M)* - imunoglobulin M

POCT *(eng Point-of-care testing)* - pretrage uz bolesnika

ZZJZ - Zavod za javno zdravstvo

1. UVOD

1.1. Helicobacter pylori

Helicobacter pylori je proteobakterija prvi put opisana 1983. godine kao pripadajuća vrsta roda *Campylobacter*, ali je iz tog roda izdvojena 1989. godine (1). Najčešći je uzročnik infekcija u pacijenata sa simptomima bolova u gornjem abdomenu. Dokazano je da godinama može obitavati u ljudskom organizmu, a hoće li se njezina prisutnost manifestirati kao bolest sa simptomima ili ne, često ovisi i o samom imunološkom sustavu i općenitom fizičkom stanju pacijenta. U imunokompromitiranih osoba može stvarati velike probleme i neugodnosti, dok je eradikacija uglavnom dugotrajna i iscrpljujuća. Brojnim istraživanjima utvrđeno je da *Helicobacter pylori* ima ulogu u razvoju gastritisa, želučanog i duodenalnog ulkusa, odnosno karcinoma želuca, kao i ekstranodalnog β–staničnog limfoma marginalne zone (MALT limfoma) (2). Zbog toga je nužan ozbiljan pristup dijagnostici i primjena odgovarajuće terapije. Cilj je liječenja umanjiti postojeće tegobe bolesnika kod kojih je pronađen izolat *Helicobacter pylori* te spriječiti daljnje komplikacije koje mogu nastati nepridržavanjem utvrđenih smjernica liječenja.

1.1.1. *Helicobacter pylori* kroz povijest

Davne 1926. Amerikanac Paul de Kruif u svojoj knjizi "Lovci na mikrobe" (engl. *Microbe Hunters*) objavljuje da postoje mikrobi koji uzrokuju zarazne bolesti (3). No, velika prekretnica za osobe sa simptomima boli u gornjem dijelu abdomena dogodila se tek 1982. godine kada su J. Robin Warren i Barry Marshall iz bioptata želuca izolirali nepoznatu bakteriju tvrdeći da uzrokuje gastritis i želučani ulkus (4). Budući da su to bile bolesti koje su pogađale velik broj stanovništva, otkriće je bilo iznimno važno.

Warren, inače patolog, primijetio je prisutnost bakterije u svim tkivima kod kojih je bilo vidljivo upalno stanje. Opazio je "zakrivljeni" mikroorganizam "Campylobacter" kojega

je izolirao kao uzročnika bolesti probavnog sustava. U istraživanju mu se pridružio Barry Marshall, pripravnik na odjelu interne medicine. Njih dvojica su u laboratoriju u kontroliranim uvjetima uspjeli uzgojiti kulturu tada poznatu kao *Campylobacter pyloridis*. Ubrzo su i znanstvenici u drugim krajevima svijeta počeli dokazivati prisutnost te bakterije u želučanoj sluznici kod kroničnih gastritisa (3).

Budući da su sve češće provođena istraživanja koja su pokazivala povezanost između infekcije *H.pylori* i karcinoma želuca, pod okriljem WHO-a osnovana su udruženja za istraživanje infekcija uzrokovanih tom bakterijom. Prvi sastanak Europske grupe za istraživanje bolesti uzrokovanih bakterijom *H.pylori* održan je 1996. godine i tada su objavljene smjernice za dijagnostiku i eradikaciju *H.pylori*, a prvi sastanak hrvatskih liječnika na kojem se govorilo o istoj problematici održan je dvije godine kasnije. Konferencija gastroenterologa u svrhu preispitivanja dotada korištenih smjernica i mogućeg uvođenja novih pravila i mijenjanja postojećih održana je 2012. godine (2).

1.1.2. Morfološke i mikrobiološke značajke bakterije *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori je gram-negativna bakterija duljine 2-4 μm i širine 0.5-1 μm. Spiralno je zavijena i dobro pokretna bakterija. Na jednom polu ima 4 – 6 bičeva koji su zaslužni za njezinu veliku pokretljivost, posebice u viskoznim medijima (1) (Slika 1).



Slika 1. Prikaz bakterije *Helicobacter pylori* (elektronski mikroskop), prilagođeno prema (3)

U kulturi se obično može naći u obliku štapića , u kokoidnom obliku, ali i u nepravilnim oblicima. Mikroaerofilna je te joj je za rast potrebno 5 – 6 % kisika (O_2), 7 – 12 % ugljikovog dioksida (CO_2) i povećana vlažnost. Stvara enzime kao što su: ureaza, katalaza, hemolizin, proteaze, oksidaza i citotoksin. *Helicobacter pylori* je bakterija osjetljiva na isušivanje i dezinficijense, kao i na većinu antibiotika (eritromicin, azitromicin, amoksicilin) (1).

1.1.3. Patogenost bakterije *Helicobacter pylori*

Iako je jedan od najčešćih uzročnika bakterijskih infekcija, o načinima širenja bakterije *Helicobacter pylori* vrlo se malo zna. Poznato je da često obolijevaju osobe koje su međusobno u bliskom kontaktu i da se bolest uglavnom javlja u područjima u kojima žive stanovnici lošijeg socioekonomskog statusa, pa se pretpostavlja da se širenje može spriječiti osiguravanjem boljih higijenskih uvjeta. Kada se jednom nastani na sluznici, *Helicobacter pylori* tu ostaje jako dugo, a to može dovesti čak i do stjecanja specifičnog humoralnog i staničnog imuniteta u bolesnika.

Budući da se ova bakterija osim s gastritisom, povezuje i s adenokarcinomom te ekstranodalnim β–staničnim limfomom marginalne zone (MALT limfom) infekciju treba shvatiti vrlo ozbiljno (1). Virulentnost *Helicobacter pylori* leži u njezinoj brzoj pokretljivosti i obilnoj produkciji enzima. Zahvaljujući svojim bičevima lako i brzo prodire kroz sluz i smješta se na epitelnim stanicama. Infekcija može proći asimptomatski ili se manifestirati kao akutni gastritis.

U nekim slučajevima infekcija prolazi asimptomatski. Ipak, nakon dugotrajne upale bez obzira na to manifestirala se ona ili ne, na mjestima upalno promijenjene sluznice mogu nastati peptički ulkusi. Ako se njihovom liječenju pristupi ozbiljno te se krene s korištenjem antimikrobnih lijekova, ubrzo se javlja cijeljenje, a daljnje komplikacije su svedene na minimum. Time se također smanjuje šansa za nastanak adenokarcinoma želuca i MALT limfoma.

1.2. Dijagnostičke metode u otkrivanje infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

Prema aktualnim smjernicama bolesnika s dispeptičnim tegobama mlađeg od četrdeset pet godina bez alarmantnih simptoma, nije potrebno izlagati invazivnim endoskopskim metodama (2). Za otkrivanje *H.pylori* odabire se neka od neinvazivnih dijagnostičkih metoda: urea izdisajni test, određivanje antigena *H. pylori* u stolici ili serološka kvantitativna laboratorijska analiza. Navedeni testovi izvode se rutinski (5). Specijalistička gastroenterološka obrada preporučuje se bolesnicima starijima od četrdeset pet godina te svima onima koji imaju ozbiljnije simptome poput znakova gastrointestinalnog krvarenja ili palpatornih rezistencija u trbuhu (2). Endoskopski pregled kojim se uzimaju bioptički uzorci osnova je invazivnih metoda. Bioptati se nakon toga mogu analizirati patohistološki, brzim testom ureaze, mikrobiološki (uzgajanjem kulture) i PCR testiranjem (6).

1.2.1. Neinvazivne dijagnostičke metode

Urea izdisajni test temelji se na dokazu prisutnosti enzima ureaze koji je odraz aktivnosti i perzistencije bakterije *Helicobacter pylori* u ljudskom organizmu, odnosno želucu. Ureaza se nalazi u citoplazmi stanice *Helicobacter pylori*, a služi u opskrbi stanice spojevima amonijaka i dušika potrebnih za sintezu aminokiselina (8).

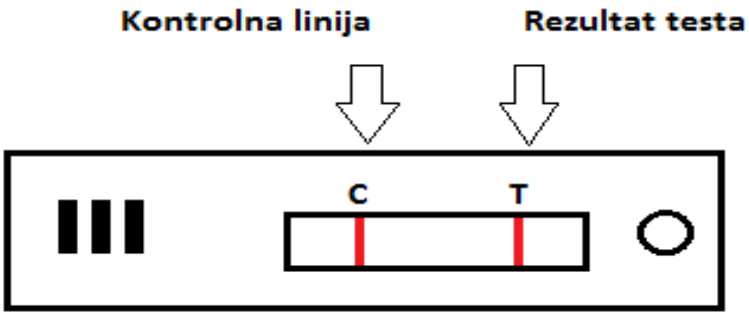
U izdahnutom zraku određuju se izotopi ugljika 13C i 14C. 13C je prirodni i neradioaktivni izotop, dok je 14C radioaktivan. Ako je *H.pylori* prisutna u želucu, ureaza će prouzrokovati razgradnju ureje na amonijev ion i bikarbonat. Amonijev ion resorbira se u krvotok i izlučuje mokraćom, a oslobođeni 13/14 CO_2 nastao razgradnjom bikarbonata bit će prisutan u izdahnutom zraku (8, 9).

Pacijente je potrebno prethodno informirati i upozoriti da bi trebali prestati s uzimanjem protusekretornih lijekova (inhibitori protonske pumpe, blokatori histaminskih receptora, preparati bizmuta) ili antibiotika najmanje dva tjedna prije izvođenja testa (9).

Informiran pacijent dolazi na pretragu te nakon što izdahne prvi uzorak zraka popije sok bogat vitaminom C u kojem se nalazi najčešće oko 75 mg ureje označene izotopom ugljika (14C ili 13C). Vitamin C koristi se jer su proteklih godina istraživanja pokazala kako limunska kiselina izaziva relaksaciju fundusa želuca (10). Također, neki znanstvenici tvrde, da velika količina unesenog vitamina C ima blagonakloni učinak u bolesnika s gastritisom.

Kod 13C-urejnog izdisajnog testa rezultat je razlika omjera $13CO_2/12CO_2$, a rezultati mjerenja dobivaju se metodama infracrvene spektroskopije ili masene spektrofotometrije. Ako se koristi izotop 14C, princip samog mjerenja nešto je drukčiji. Iskazuje se radioaktivni izotop 14C nastao razgradnjom 14C-obilježene ureje kao udio u odnosu na upotrebljenu dozu (8).

Za otkrivanje infekcije uzrokovane bakterijom *H.pylori* često se koriste ***testovi za dokazivanje prisutnosti antigena Helicobacter pylori u stolici***. Postoje dvije vrste tih neinvazivnih testova, a to su imunokromatografski "screening" testovi za kvalitativnu detekciju te laboratorijski testovi ELISA (enzimski imunotest) (11). Imunokromatografski testovi (Slika 2) su jednostavni za korištenje i pouzdani. Sadrže monoklonalna protutijela na *Helicobacter pylori*. Na testnoj trakici nalaze se protutijela nanesena na dva različita mjesta: adsorbirana na testnu trakicu u obliku linije i predstavljaju pozitivnu kontrolu te konjugirana s koloidnim česticama tako da bi se mogla stvoriti još jedna linija (pozitivan rezultat testa). Ako je test pozitivan, osim linije koja označuje pozitivnu kontrolu (zona C) vidljiva je i dodatna, također crvenkasta linija u zoni T. U slučaju nepostojanja linije u zoni C rezultat testiranja ne može biti prihvatljiv i potrebno je ponoviti testiranje. Serijsko nepojavljivanje tzv. pozitivne kontrole upućuje na neispravnost testova (primjerice rok valjanosti, temperatura skladištenja) ili na neispravno rukovanje istima (12, 13).



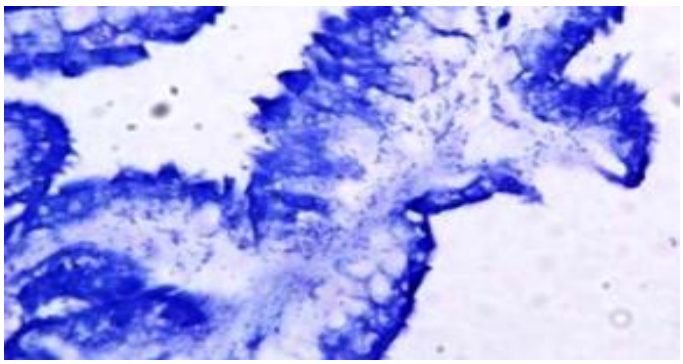
Slika 2. Prikaz imunokromatografskog testa za dokazivanje prisutnosti antigena *Helicobacter pylori u stolici* (izradila Ana Polić)

Serološka kvantitativna laboratorijska analiza prilikom sumnje na infekciju bakterijom *Helicobacter pylori* se izvodi rijetko. Iako je vrlo jednostavna i neinvazivna metoda ne preporučuje se raditi rutinski jer rezultati testa mogu biti nepouzdani za praćenje uspjeha terapije zbog dugotrajne pozitivnosti iako je sjetljivost testa viša od 90%, a specifičnost između 76% i 96% (2, 13). Za dokazivanje antitijela protiv HP se koriste imunoenzimski testovi (14). Najviše imunoenzimskih komercijalnih testova se temelji na detekciji IgG protutijela u serumu venske krvi i njima se utvrđuje prisutnost IgG protutijela na *Helicobacter pylori*. IgG protutijela na HP mogu ostati prisutna i mjesecima nakon izliječene infekcije jer ona dokazuju da je pacijent bio u kontaktu s bakterijom. IgM protutijela dokazuju trenutačnu infekciju, ali su testovi koji ih detektiraju financijski nedostupni većini zdravstvenih ustanova. Zbog toga se serološka dijagnostika koristi u slučajevima kada se kod pacijenta prvi put dokaže prisutnost *Helicobacter pylori* i to samo ako već prije nije bio podvrgnut eradikaciji (15).

1.2.2. Invazivne dijagnostičke metode

Brzi ureaza test temelji se na istom principu kao i urea izdisajni test. Budući da bakterija *H.pylori* luči veliku količinu enzima ureaze koja razgrađuje ureu na ugljikov dioksid i amonijak, princip je sličan urea izdisajnom testu. Razlika je u tome što se umjesto izdahnutog zraka ovdje koristi uzorak želučane sluznice uzet biopsijom tijekom gastroskopije, koji se stavlja u otopinu ureje i specifičnu boju. Ako je bakterija prisutna dolazi do promjene pH, odnosno boje. Promjena pH ovdje služi kao indikator tj. potvrda pozitivnosti testa. Ako je nemoguće provesti patohistološku analizu, izvodi se taj jednostavni test koji je nažalost invazivan za samog pacijenta (11, 17).

Patohistološki test smatra se jednim od najboljih testova za otkrivanje, tj. dokazivanje infekcije želuca bakterijom *H.pylori*. Velika mu je prednost što daje uvid u izgled stanica želučane sluznice, odnosno stupanj jačine upalnog procesa. Bioptati sluznice želuca se nakon standardne obrade tkiva u histokinetu, osim bojanjem hemalaun-eozinom, boje posebnim tehnikama – bojanjem po Giemsi (Slika 3) i PAS (engl. *periodic acid Schiff*)-alcijan plavilom. Test ima veliku ulogu u samoj dijagnostici, ali i eradikaciji bakterije. Bojanje po Giemsi pokazuje stupanj mukozne kolonizacije s *H. pylori*, dok se PAS-alcijan plavilom dobije prikaz intestinalne metaplazije (8, 18).



Slika 3. Prikaz bioptata želučane sluznice nakon bojenja po Giemsi, prilagođeno prema (18)

Ako je bakterija prisutna u dužem razdoblju i dosadašnja je eradikacija bila bezuspješna, tada se ponovno uzimaju bioptati želučane sluznice, ali se ovaj put šalju u mikrobiološki laboratorij gdje se provodi ***mikrobiološka kultivacija uzorka***. U bioptatima želučane sluznice dobivenima gastroskopijom dokazuje se prisutnost *H.pylori* direktnim ureaza testom i kultivacijom. Kada dođe do porasta kulture, napravi se antibiogram i odabire antibiotik na koji je bakterija osjetljiva te se započinje s liječenjem. Rezultat pretrage (test ureaze, identifikacija i antibiogram) uglavnom je dostupan u razdoblju od tri do četiri dana (11, 13).

U razvijenijim zemljama svijeta gotovo svakodnevno se pribjegava korištenju ***molekularnih metoda***. PCR – lančana reakcija polimeraze je osnovna molekularna metoda. Razvojem tehnologije i povećanjem potrebe za novim pretragama u uporabu se uvode nove "inačice" lančane reakcije polimeraze. Real-time PCR (PCR u "realnom" vremenu) je metoda koja se sve više koristi za detekciju i tipizaciju bakterije *Helicobacter pylori* (4, 11). Istraživanje provedeno u Francuskoj 2014. godine (20) pokazalo je kako je kod djece s niskom koncentracijom bakterija u bioptatu želučane sluznice "Real Time" PCR kvantifikacija (qPCR) po preciznosti daleko ispred prije navedenih invazivnih dijagnostičkih metoda (brzog ureaza testa, patohistološkog testa te mikrobiološke kultivacije uzorka). Različite PCR tehnike ("Novel" i "Nested") mogu se koristiti čak i za otkrivanje HP u uzorcima iz usne šupljine, kao što su , primjerice slina, zubni plak ili upaljena pulpa zuba, a to je veliki napredak (19, 24).

1.2.3. Važnost odabira odgovarajuće dijagnostičke metode

S obzirom na to da je pacijenta s dispeptičnim tegobama mlađeg od četrdeset pet godina nepotrebno izlagati invazivnim endoskopskim metodama, kliničari se najčešće odlučuju za neku od neinvazivnih metoda. Tako je, primjerice urejni izdisajni test osim za otkrivanje infekcije koristan i u praćenju uspješnosti terapije. Osim toga smatra se jednim od najpouzdanijih jer tragovi krvi ne mogu umanjiti vjerodostojnost nalaza dobivenih tom metodom.

Mnogo se zdravstvenih ustanova odlučuje za testiranje antigena *H.pylori* u stolici laboratorijskim ELISA testom ili brzim imunokromatografskim testom. Serološki se testovi ne smatraju pogodnima za praćenje uspjeha terapije zbog postajanja specifičnih antitijela i nakon prevedene eradikcije bakterije. Neinvazivne pretrage su znatno manje stresne za pacijenta zbog načina dobivanja potencijalnog uzorka "prirodnim putem", a kliničarima su dobar pokazatelj. Ako je nalaz testiranja nekom od gore navedenih metoda pozitivan, odmah se pristupa provođenju eradikcije bakterije (2, 13).

Specijalistička gastroenterološka obrada smatra se potrebnom u bolesnika starijih od četrdeset pet godina te svih onih koji imaju ozbiljnije simptome poput znakova gastrointestinalnog krvarenja ili palpatornih rezistencija u trbuhu. Tu se primjenjuju invazivne metode endoskopskim pregledima kojima se uzimaju biopsijski uzorci, tj. bioptati i šalju se na daljnju obradu. Patohistološki (PHD) test predstavlja "zlatni standard" kada se govori o dokazivanju infekcije *H.pylori* i po značaju je ispred brzog testa ureaze jer daje uvid u izgled stanica želučane sluznice i stupanj upalnog procesa. Značaj mikrobiološkog uzgajanja kulture je u tome što omogućuje određivanje osjetljivosti bakterije *H.pylori* na određene antibiotike i ciljano pristupanje eradikaciji (4, 11).

Ako je tehnički i financijski izvedivo, za tipizaciju *H.pylori* i određivanje rezistencije koriste se molekularne metode. Jedna od molekularnih metoda je PCR – lančana reakcija polimeraze. PCR je metoda koja se zasniva na otkrivanju i umnožavanju (amplifikaciji) jedne ili više sekvenci nukleinskih kiselina koje su specifične za porodicu, rod, vrstu, soj ili tip bakterija, virusa, odnosno parazita (Innis i sur., 1990.) (19). Takve metode sve više zauzimaju mjesto u svakodnevnom radu brojnih ustanova.

S obzirom na to da postoji mnogo različitih dijagnostičkih testova važno je znati odabrati onaj koji će svojom visokom specifičnošću i osjetljivošću moći kliničaru dati sasvim pouzdan nalaz, odnosno pacijentu omogućiti čim brže ozdravljenje i bolju kvalitetu života. Bakterija *Helicobacter pylori* je poznata po svojoj izrazitoj genskoj raznolikosti, a to govori o nužnosti ozbiljnog pristupa eradikciji i potrebnom nastojanju da se komplikacije izazvane infekcijom svedu na minimum. Bitno je svakom pacijentu pristupati individualno, u skladu s njegovom anamnezom i općim zdravstvenim stanjem, te znanjem i iskustvom pokušati pronaći što neinvazivniji i uspješniji način za eradikaciju i kasnije praćenje bolesnika.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

1. Ispitati učestalost infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* u uzorcima stolice ispitanika neinvazivnom metodom dokazivanja antigena u Osječko-baranjskoj županiji u trogodišnjem razdoblju (2013.-2015.godine).

2. Utvrditi postoji li razlika u učestalosti pozitivnih nalaza bakterije *Helicobacter pylori* s obzirom na dob i spol ispitanika.

3. Prikazati dolazi li u trogodišnjem promatranom razdoblju do porasta ili pada pojavnosti pozitivnih izolata *Helicobacter pylori* u ispitanika.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj istraživanja

Provedeno je istraživanje bilo presječno (21), a sekundarni podatci su iz postojećih dokumenata prikupljeni retrospektivno za proteklo trogodišnje razdoblje (2013.- 2015. godine).

3.2. Ispitanici i uzorci

Ispitanici su pacijenti koji su zbog sumnje na infekciju bakterijom *Helicobacter pylori* predali uzorak stolice na obradu Službi za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije u razdoblju od 2013. do 2015. godine.

Tijekom tri navedene godine 12 594 pacijenata donijelo je na obradu uzorak stolice, a na pretragu ih je uputio liječnik obiteljske medicine. Ukupni broj testiranih uzoraka mnogo je veći od broja ispitanika zbog toga što je veliki broj bolesnika donio ponavljano uzorke na obradu. Razlog tome je priroda same infekcije zbog koje se pacijent s dokazanom infekcijom mora redovito kontrolirati, odnosno pratiti prisustvo *Helicobacter pylori* sve dok ne dođe do eradikacije.

U razdoblju od 2013. do 2015.godine napravljeno je 16 579 testiranja stolice na antigen *Helicobacter pylori,* od čega je samo 3985 pozitivnih izolata bilo iz uzoraka ispitanika kojima je infekcija dokazana prvi put.

Istraživanje je provedeno u razdoblju od lipnja 2016. do rujna 2016. godine. Odobreno je od etičkog povjerenstva Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

3.3. Metode

3.3.1. Dokazivanje nalaza bakterije *Helicobacter pylori* u stolici imunokromatografskom metodom

Uzorci stolice testirani su "Diaqiuck" testovima proizvođača Dialab GmbH (Austrija) temeljenima na imunokromatografskoj metodi (Slika 4). Pripadaju skupini brzih testova, takozvanih Point of Care testova (POCT) koji se jednostavno primjenjuju u svim uvjetima. Vrlo su specifični, osjetljivi te jednostavni za interpretaciju.

"Diaqiuck" test je kvalitativni test za dokazivanje prisutnosti antigena HP u ljudskoj stolici. Test je neinvazivan, precizan i rezultati se dobiju unutar nekoliko minuta. Osnova testa su monoklonalna protutijela na HP antigen.



Slika 4. "Diaqiuck" testovi proizvođača Dialab (izradila Ana Polić)

Materijal i pribor: individualno pakirani testovi koje sadrže plastične kasete unutar kojih je smještena imunokromatografska traka, tubice ispunjene puferom, štoperica, uzorak ljudske stolice.

Postupak: Test koji se prethodno držao na sobnoj temperaturi (15 – 30 °C) pažljivo je otvoren. Štapićem na poklopcu tubice pufera uzela se manja količina uzorka stolice metodom slučajnog odabira te se bočica zatvorila, a unutarnji sadržaj je promućkan dok se nije dobila naizgled homogena tekućina. Nakon toga poklopac je pažljivo otvoren da bi se spriječilo izlijevanje sadržaja i nakapane su tri kapljice (oko 120 μL) u otvor na plastičnoj kasetici testa koji je predviđen za nanošenje uzorka. Kada je prošlo vrijeme inkubacije koje iznosi 10 minuta, slijedilo je očitavanje testa. Prisutnost obojene linije pokraj oznake T označuje pozitivan rezultat. Da bi se rezultat uzeo u obzir mora biti vidljiva i pozitivna kontrola C.

3.3.2. Statističke metode

Svi prikupljeni kategorički podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama, dok su numerički podaci opisani aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Rezultati su prezentirani grafički i tabelarno.

Za usporedbu kategoričkih podataka između nezavisnih skupina korišten je Hi-kvadrat test, a za analizu trenda u određenom razdoblju Cochran Armitage test za trend.

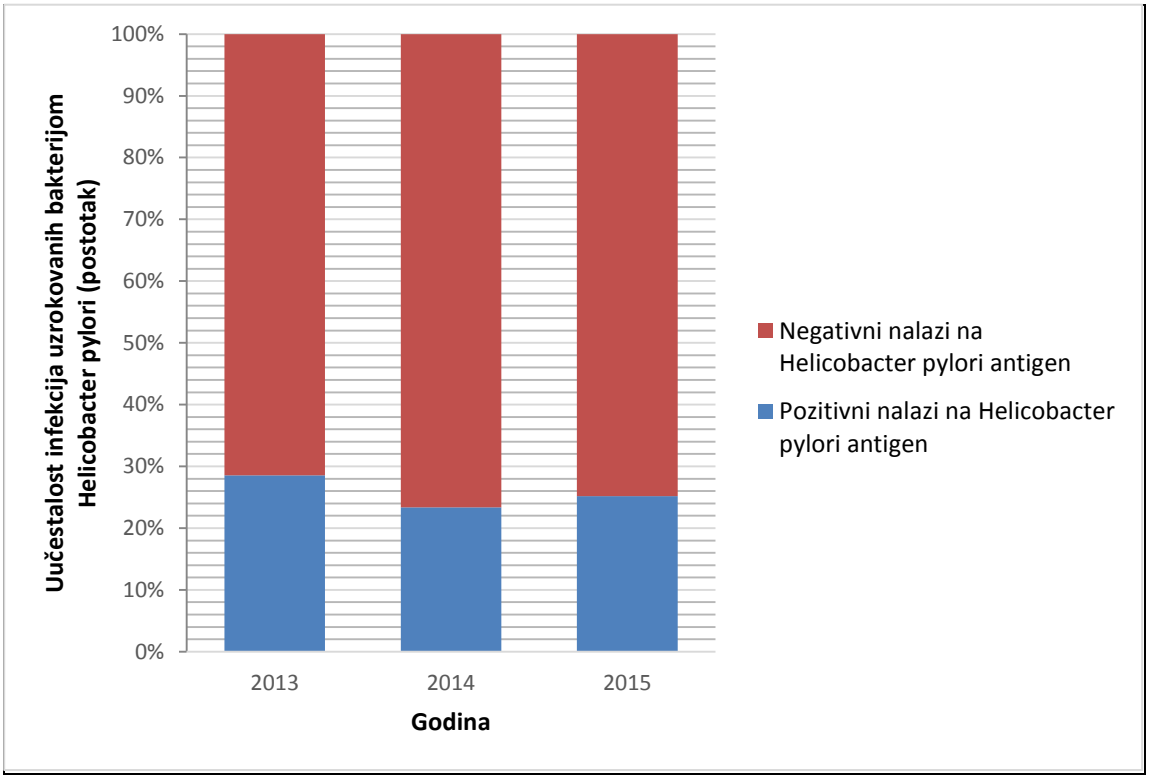
Statistička analiza učinjena je programskim sustavom MedCalc (inačica 14.12.0, MedCalc Software bvba) uz odabranu razinu značajnosti od α=0.

4. REZULTATI

4.1. Učestalost infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* u Osječko-baranjskoj županiji (2013. – 2015.)

Proporcija ukupnog broja pozitivnih izolata *Helicobacter pylori* kroz promatrani period (od 2013. do 2015. godine) u Osječko-baranjskoj županiji iznosi 25,7 % (3985 pozitivnih izolata *Helicobacter pylori* u 15 618 uzetih uzoraka; od ukupno 16 579 testiranih uzoraka oduzeti su uzorci koji su donošeni ponavljano od istih pacijenata tijekom tri godine , 961 uzorak).

Učestalost je infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* u Osječko-baranjskoj županiji u trogodišnjem razdoblju sljedeća: 2013. iznosi 28,5 %, 2014. 23,3 %, a 2015. godine 25,2 % (Slika 5).



Slika 5. Učestalost infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*

4.2. Usporedba učestalosti pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* s obzirom na dob i spol ispitanika

Od ukupno 3985 pacijenata u čijim je uzorcima stolice dokazana prisutnost antigena *Helicobacter pylori* znatno je najviše bilo pacijenata u dobi između 41 i 64 godine (51,6 %), dok je najmanje ispitanika s pozitivnim nalazom bilo do 18 godina (5,6 %) (Hi-kvadrat test, $p < 0,001$) (Tablica 1).

Tablica 1. Distribucija dobi pacijenata a pozitivnim izolatom *Helicobacter pylori*

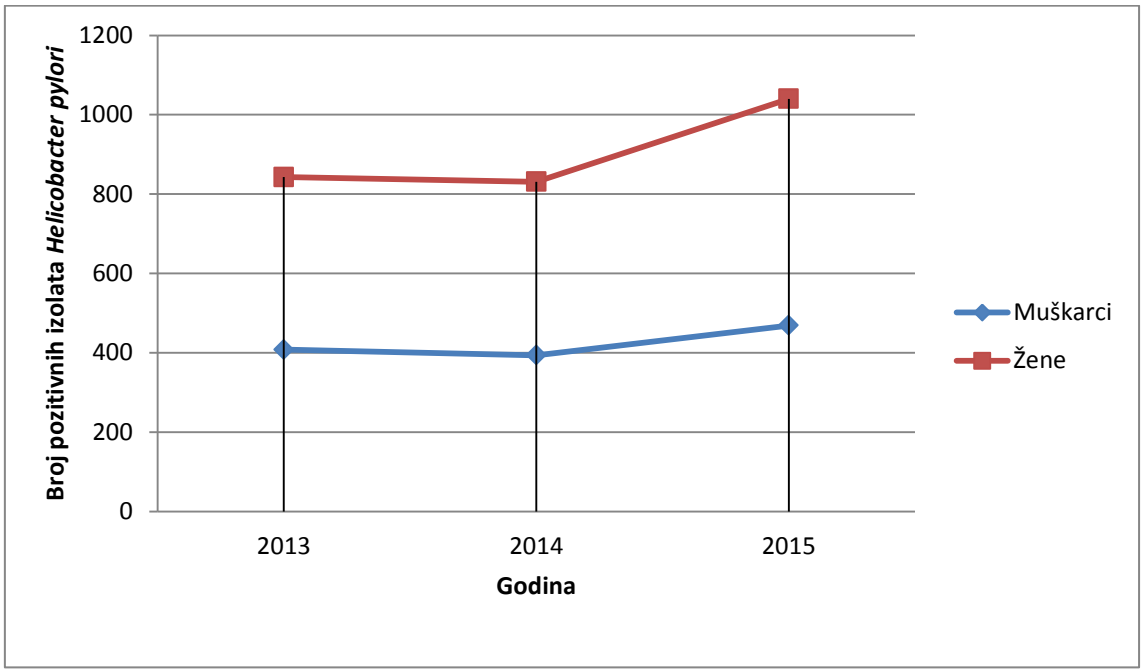
Dobne kategorije pacijenata s pozitivnim izolatom *Helicobacter pylori*	Broj (%) pacijenata s pozitivnim izolatom *Helicobacter pylori*	p*
≤18 godina	222 (5,6)	<0,001
Od 19 do 40 godina	935 (23,5)	
Od 41 do 64 godine	2058 (51,6)	
65 godina≥	770 (19,3)	
UKUPNO (broj i postotak pacijenata s pozitivnim izolatom *Helicobacter pylori*) :	3985 (100,0)	

*Hi-kvadrat test

Od pacijenata u čijim je uzorcima stolice dokazana prisutnost antigena *Helicobacter pylori* više je bilo pacijenata ženskog spola (Hi-kvadrat test, p < 0,001).

Pozitivne izolate *Helicobacter pylori* imalo je 1271 muškaraca (31,9 %), odnosno 2714 žena (68,1 %).

Promatrano prema spolu pacijenata s pozitivnim *Helicobacter pylori* izolatom znatni porast pozitivnog nalaza prisutan je u ženskih pacijenata (Cochran-Armitage test za trend, P = 0,001), dok porast pozitivnih *Helicobacter pylori* izolata u muških pacijenata nije statistički velik (Cochran-Armitage test za trend, P = 0,142) (Slika 6).



Slika 6. Porast broja pozitivnih izolata *Helicobacter pylori* prema spolu

4.3. Dinamika pojavnosti *izolata Helicobacter pylori* 2013. – 2015.

Gledajući ukupno broj uzoraka s pozitivnim izolatom *Helicobacter pylori* tijekom mjeseci 2013., 2014. i 2015. godine znatno je najviše pozitivnih uzoraka u siječnju (10,1 %), a najmanje u kolovozu (6,4 %) (Hi-kvadrat test, P < 0,001) (Tablica 2).

Tablica 2. Distribucija pozitivnih nalaza izolata *Helicobacter pylori* prema mjesecima

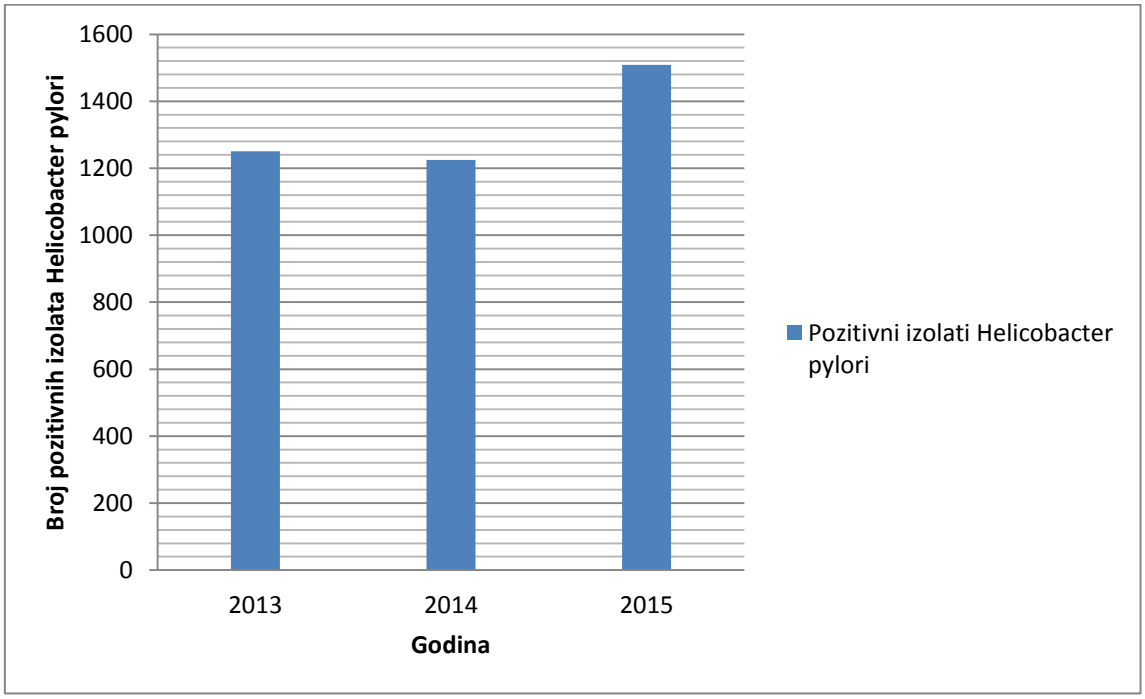
Mjesec	Broj (%) pacijenata s pozitivnim HP izolatom za 2013 godinu	p*	Broj (%) pacijenata s pozitivnim HP izolatom za 2014 godinu	p*	Broj (%) pacijenata s pozitivnim HP izolatom za 2015 godinu	p*	Ukupan broj (%) pacijenata s pozitivnim HP izolatom	p*
Siječanj	131 (10,5)	0,003	149 (12,2)	<0,001	121 (8,0)	0,049	401 (10,1)	<0,001
Veljača	119 (9,5)		134 (10,9)		134 (8,9)		387 (9,7)	
Ožujak	121 (9,7)		131 (10,7)		121 (8,0)		373 (9,4)	
Travanj	117 (9,4)		95 (7,8)		153 (10,1)		365 (9,2)	
Svibanj	121 (9,7)		110 (9,0)		152 (10,1)		383 (9,6)	
Lipanj	78 (6,2)		80 (6,5)		142 (9,4)		300 (7,5)	
Srpanj	88 (7,0)		75 (6,1)		150 (9,9)		313 (7,9)	
Kolovoz	63 (5,0)		67 (5,5)		124 (8,2)		254 (6,4)	
Rujan	93 (7,4)		103 (8,4)		116 (7,7)		312 (7,8)	
Listopad	104 (8,3)		112 (9,1)		106 (7,0)		322 (8,1)	
Studeni	131 (10,5)		73 (6,0)		100 (6,6)		304 (7,6)	
Prosinac	85 (6,8)		96 (7,8)		90 (6,0)		271 (6,8)	
Ukupno	1251 (100,0)		1225 (100,0)		1509 (100,0)		3985 (100,0)	

*Hi-kvadrat test

Znatno najviše pozitivnih uzoraka na infekciju bakterijom *Helicobacter pylori* 2013. godine prisutno je u siječnju i studenome (ukupno 21%), dok je najmanje pozitivnih uzoraka bilo tijekom kolovoza (5%) (Hi-kvadrat test, P = 0,003). Najviše pozitivnih uzoraka na infekciju uzrokovanu bakterijom *Helicobacter pylori* 2014. godine je u siječnju (12,2%), a najmanje tijekom kolovoza (8,2%) (Hi-kvadrat test, P < 0,001). U 2015. godini znatno najviše izolata *Helicobacter pylori* nađeno je tijekom travnja i svibnja (20,2,%), a najmanje tijekom prosinca (6%) (Hi-kvadrat test, P = 0,049).

Ukupan broj uzoraka s pozitivnim *Helicobacter pylori* izolatom tijekom trogodišnjeg razdoblja (2013. – 2015.) u znatnom je porastu (Cochran-Armitage test za trend, P < 0,001).

Trend porasta pojavnosti pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* u trogodišnjem razdoblju vidljiv je na Slici 7. Tako je 2015. godine za 17 %, odnosno 18 %, više pozitivnih izolata *Helicobacter pylori* nego u 2013. i 2014. godini.



Slika 7**.** Trend porasta pojavnosti pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* u razdoblju (2013. – 2015.)

5. RASPRAVA

Infekcije uzrokovane bakterijom *Helicobacter pylori* spadaju među najčešće infekcije današnjeg vremena. Pogađaju velik broj stanovništva, a izrazit je problem što bolesnici u početnim stadijima uglavnom ignoriraju simptome. Vjeruje se da tek manji broj potencijalno zaraženih osoba *Helicobacterom pylori* obrati pažnju na prve simptome te zatraži liječničku pomoć. Čak i u tom slučaju, eradikacija je često bezuspješna, a tegobe se nakon nekog vremena ponovno pojavljuju.

U provedenom istraživanju primjenom brzog neinvazivnog imunokromatografskog testa za dokazivanje prisutnosti antigena *H.pylori* u uzorku stolice ispitanika odredili smo učestalost prvi put izoliranog antigena *H.pylori* na ispitanicima Osječko-baranjske županije u trogodišnjem razdoblju (2013. – 2015.godine).

Ispitali smo postoji li razlika u učestalosti pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* s obzirom na dob i spol ispitanika, i dinamiku pojavnosti istih dobivenih tim brzim neinvazivnim testom u ispitanika tijekom trogodišnjeg razdoblja. Od ukupno 16 579 napravljenih testova u 4962 (29,9 %) dokazana je prisutnost antigena *H.pylori*. Primoizolati čine 80,3 % pozitivnih uzoraka, odnosno bilo je 3985 novootkrivenih slučajeva, dok je preostalih 20 % pozitivnih nalaza pripadalo ispitanicima koji su ponovno donijeli kontrolni uzorak stolice na testiranje.

Što se tiče spola, infekcija se češće javlja u žena (68,1 % pozitivnih izolata *H.pylori*), nego u muškaraca (31,9 % pozitivnih izolata *H.pylori*). Žene su općenito češće donosile uzorke stolice na obradu, tako da je teško razlučiti obolijevaju li stvarno češće od muškaraca ili su samo opreznije pa se odmah nakon pojave prvih simptoma javljaju svojim liječnicima i ozbiljnije pridržavaju njihovih uputa.

Očekivano djeca i maloljetnici imaju najčešće negativan nalaz, dok najviše pozitivnih izolata *H.pylori* ima u ispitanika dobne skupine 41 – 64 godina (čak 51 %). Također je vidljiv trend porasta infekcija uzrokovanih bakterijom *H.pylori* u razdoblju od 2013. do 2015., iako je u 2014. godini zabilježeno dvadeset šest pozitivnih *H.pylori* izolata manje nego prethodne godine. Godine 2015. bilježi se znatan porast od 284 novootkrivene

infekcije uzrokovanie *H.pylori*. Budući da je porast broja pozitivnih izolata *H.pylori* stalno prisutan, toj se "modernoj bolesti" treba pristupati ozbiljno i s više pažnje.

Provedena su brojna istraživanja o učestalosti infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori*, koja kao i naše ispitivanje pokazuju da je bakterija češće prisutna u pacijenata starijih od četrdeset pet godina. Sumnja se da je u velikom postotku tih pacijenata do infekcije došlo još u njihovu djetinjstvu, odnosno u razdobljima kada su higijenski uvjeti bili nešto lošiji nego danas (4).

Iako je općenito na svjetskoj razini broj infekcija uzrokovanih bakterijom *Helicobacter pylori* u blagom opadanju, poteškoće stvaraju pripadnici kultura koji su trenutačno u procesu tranzicije. Velik broj migranata, tj. njihov proces asimilacije utječe na stanovništvo područja u koja se doseljavaju te im sada prijete bolesti donesene iz drugih krajeva (25). S obzirom na to da je utvrđena povezanost broja oboljelih s njihovim socioekonomskim statusima, u slabo razvijenim zemljama i u zemljama u razvoju, broj osoba u kojih je prisutna *Helicobacter pylori*, dosta je velik. Tako neke zemlje Afrike bilježe prevalenciju preko 70 %, dok Sjeverna Amerika i Australija imaju manju od 40 %.
Što se tiče Europe, najpovoljnija je situacija (oko 10 %) u zemljama tzv. Beneluxa (Belgija, Nizozemska, Luksemburg) , a lošija je u nekim područjima Portugala i istočne Europe (preko 66 %) (22, 24). Gledajući pozitivnost izolata HP u našem uzorku (25,7 %), Osječko-baranjska županija pripada područjima stanovništva s manjim brojem izolata bakterije *Helicobacter pylori*.

U radu provedenom u Sloveniji određena je učestalost prisutnosti protutijela na IgG i IgA HP (23), stoga je teško napraviti preciznu usporedbu jer su uzorci bili serumi te metoda nije bila dokazivanje antigena u stolici ispitanika. Teško su usporedive različite vrste metoda za dokazivanje infekcija bakterijom HP, ponajprije jer testovi za dokazivanje protutijela govore o prisutnosti HP u ispitanika u prošlosti (25).

U 25,1 % njihovih ispitanika pronađena su protutijela na HP. To su bolji rezultati od onih dobivenih ispitivanjem iz 1990. godine kada je postotak pozitivnost HP iznosila

51,6 %. Najmanje osoba kod kojih je dokazana prisutnost protutijela HP u dobi je do devetnaest godina, a s godinama njihov broj raste.

Rezultati našeg istraživanja koji se odnose na Osječko-baranjsku županiju mogu se usporediti s rezultatima istraživanja provedenog u Vukovarsko-srijemskoj županiji u razdoblju od travnja 2013. do travnja 2015. godine jer je korištena ista neinvazivna metoda za otkrivanje *H.pylori* antigena (testovi za dokazivanje prisutnosti antigena *H.pylori* u stolici) (25).

Na analizu je pristiglo ukupno 1632 uzoraka stolice, od čega je 447 (27,3 %) bilo pozitivno na *H.pylori* antigen. Ukupno je 56,8 % pozitivnih izolata *H.pylori* pronađeno u žena, a 43,2 % u muškaraca. Prema dobnim skupinama najviše uzoraka s pozitivnim izolatom *H.pylori* donijeli su pacijenti srednjih godina (40 – 60 starosti). Mladi do 15 godina donijeli su 1,6 % uzoraka s antigenom *H.pylori*, te stariji od 65 godina 11,9 %. Dakle, brojčano je pristiglo manje uzoraka nego u Službu za mikrobiologiju ZZJZ Osječko-baranjske županije, ali je stopa pozitivnosti viša za 1,6 %.

U Vukovarsko-srijemskoj županiji nešto je manje žena s pozitivnim izolatom *H.pylori*, nego u Osječko-baranjskoj županiji, dok je općenito dobna struktura pacijenata čija je stolica pozitivna na *H.pylori* u obje županije približno ista.

U razdoblju od kolovoza 2013. do kolovoza 2014. godine u ambulanti primarne zdravstvene zaštite u Poreču provedeno je istraživanje koje je pokazalo da od ukupno 174 pacijenta s pozitivnim izolatom *H.pylori* žene čine 66,1 %, a ostalih 33,9 % muškarci (26). Za otkrivanje infekcije *H.pylori* korišteni su testovi za dokazivanje prisutnosti antigena *H.pylori* u stolici, ali i serološka kvantitativna laboratorijska analiza te patohistološki test.

Najviše pozitivnih *H.pylori* izolata pojavljuje se u zimskim mjesecima od prosinca do veljače (35,1 %), a najmanje u jeseni, odnosno od rujna do studenog. Postotak pozitivnih izolata (24,7 %) u ljetnim je mjesecima viši nego u Osječko-baranjskoj županiji (21,8 %). Dobna struktura pacijenata s pozitivnim nalazom ne odstupa od hrvatskog prosjeka, a to znači da i dalje većinu čine oni u dobi od 40 do 60 godina (46 % od ukupnog broja pacijenata kod kojih je test na *H.pylori* antigen bio pozitivan).

Vrlo je važan odabir metode otkrivanja infekcije. Otkrivanje je prvi i najvažniji korak u eradikaciji bakterije *H.pylori* i sprječavanju komplikacija nastalih njezinim djelovanjem (5). Istraživanjem provedenim na Tajvanu potvrđeno je kako rana eradikacija bakterije *H.pylori* smanjuje rizik za obolijevanje od karcinoma želuca (27). Dokazano je da nema znatne razlike između pacijenata u kojih je uspješno provedena rana eradikacija i zdrave populacije, dok je u pacijenata sa želučanim ulkusima koji nisu pravovremeno podvrgnuti eradikaciji šansa za razvoj karcinoma želuca znatno veća.

6. ZAKLJUČAK

Iz istraživanja o učestalosti prisutnosti antigena *H.pylori* u ispitanika na području Osječko-baranjske županije u trogodišnjem razdoblju brzim neinvazivnim testom dokazivanja antigena HP u stolici može se uočiti:

1. Analizom razdoblja 2013. – 2015.godine konstantno je visok broj pozitivnih uzoraka stolice pozitivnih na antigen *H.pylori* tijekom godina (2013. – 28.7 %, 2014. – 23,3 %, 2015 – 25,2 %.).
2. Zabilježen je i porast uzoraka poslanih na testiranje na *H.pylori* antigen u 2015. godini. Na analizu je došlo ukupno 6342 uzorka stolice, odnosno 1632 uzorka više u odnosu na 2013. i 815 uzoraka više u odnosu na 2014. godinu.
3. Pozitivni su nalazi antigena *H.pylori* češći u žena (68,1 % pozitivnih izolata *H.pylori)*, nego u muškaraca (31,9 % pozitivnih izolata *H.pylori*), a općenito je najviše pozitivnih nalaza *H.pylori* antigena u pacijenata u dobi od 41 do 64 godina (51,6 %).
4. Tijekom 2014. bilježi se lagani pad uzoraka s pozitivnim antigenom *H.pylor* u odnosu na 2013. (26 pozitivnih *H.pylori* izolata manje), no 2015. javlja se veliki porast (1867) pozitivnih izolata. Također je više primoizolata *H.pylori* u 2015. (1509), dok je u 2013. zabilježeno 1251, a u 2014. godini 1225 primoizolata.
5. Porast broja pozitivnih izolata *H.pylori* najizraženiji je u zimskim mjesecima

7. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Ispitati učestalost pozitivnih uzoraka ispitanika na antigen *Helicobacter pylori* u Osječko-baranjskoj županiji u trogodišnjem razdoblju (2013. – 2015.) neinvazivnom imunokromatografskom metodom, utvrditi postoji li razlika u učestalosti pozitivnih nalaza s obzirom na dob i spol ispitanika te prikazati dolazi li u trogodišnjem promatranom razdoblju do porasta ili pada pojavnosti pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* u ispitanika.

Ispitanici i metode: Ispitanici su pacijenti koji su zbog sumnje na infekciju bakterijom *Helicobacter pylori* predali uzorak stolice na obradu Službi za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije u razdoblju od 2013. do 2015. godine. Tijekom tri navedene godine njih je 12 594 donijelo uzorak na obradu. Uzorci stolice testirani su "Diaqiuck" testovima proizvođača Dialab, utemeljenima na imunokromatografskoj metodi.

Rezultati i zaključak: Utvrđeno je da je od 2013. do 2015. napravljeno ukupno 16 579 testiranja uzoraka koje je donijelo 12 594 pacijenta. Broj obrađenih uzoraka stolice veći je od broja pacijenata jer su isti pacijenti više puta donosili uzorke zbog kontrole uspješnosti eradikacije bakterije. Broj stolica pozitivnih na *Helicobacter pylori* antigen je 4962, a broj primoizolata 3985. Pozitivni nalazi antigena bakterije *Helicobacter pylori* češći su kod žena (68,1 % pozitivnih izolata *Helicobacter pylori*), nego kod muškaraca (31,9 % pozitivnih izolata *Helicobacter pylori*), a općenito je najviše pozitivnih nalaza *Helicobacter pylori* antigena u pacijenata od 41 do 64 godina (51,6 %). Iz analiziranih podataka vidljivo je da se broj primoizolata povećava (2013. – 1 251, 2014. – 1225, 2015. – 1509 pozitivnih izolata), dok je prosječno u trogodišnjem razdoblju bilo 25,7 % ispitanih uzoraka pozitivno na prisutnost antigena *Helicobacter pylori*.

Ključne riječi: *Helicobacter pylori*, primoizolati, Osječko-baranjska županija

8. SUMMARY

Objective: The aim of the study is to analyze the incidence of *Helicobacter pylori* in Osijek-Baranja County in a three-year period (2013 – 2015) by non-invasive immunocromatography, to determine whether there is a difference in the frequency of positive findings with regard to the age and sex and to analyze whether there is increase or decrease of incidence of *Helicobacter pylori* in the three-year period observed.

Patients and Methods: Respondents were patients who, for suspicion of the infection with *Helicobacter pylori*, provided a stool sample stool to the Department of Microbiology of the Public Health Institute of Osijek-Baranja County from 2013 to 2015. During those three years 12 594 patients provided a sample for processing. Stool samples were tested with "Diaqiuck" tests produced by Dialab, based immunochromatographic assay.

Results and conclusion: From 2013 to 2015, a total of 16 579 samples were tested for 12 594 patients. The number of analyzed stool samples was higher than the number of patients, as some of the patients provided more than one sample in order to determine successful bacterial eradication. The number of positive stool samples for *Helicobacter pylori* antigen is 4962, and the number of primo isolates is 3985. Positive *Helicobacter pylori* antigen was found more frequently in women (68% of positive *Helicobacter pylori* isolates) than in men (32% of positive *Helicobacter pylori* isolates). Generally, the largest number of positive *Helicobacter pylori* isolates was found in patients between 41 and 64 years of age (51.6%). From the analyzed data, it is evident that the number of primo isolates increases from year to year (2013 – 1251 positive isolates, 2014 – 1225 positive isolates, 2015 – 1509 positive isolates), and it can be said that the percentage of the total number of positive samples throughout the observed period, i.e. frequency is 25.7 %.

Key words: *Helicobacter pylori*, primoisolates, Osijek-Baranja County

9. LITERATURA

1. Kalenić S., Mlinarić Missoni E. *Medicinska bakteriologija i mikologija*, Zagreb MERKUR A.B.D, 2001.
2. Katičić M., Duvnjak M., Filipec Kanižaj T., Krznarić Ž., Marušić M., Mihaljević S., Plečko V., Pulanić R., Šimunić M., Tonkić A. *Hrvatski postupnik za dijagnostiku i terapiju infekcije Helicobacterom pylori*, Liječ Vjesn 2014;136:1 – 17.
3. Lynch Nancy A. *Helicobacter pylori and Ulcers: a Paradigm Revised, Federation of American Societis for Experimental Biology*, Office of Public Affairs 1998;1 – 8.
4. Kusters Johannes G., Van Vliet Arnoud H.M., Kuipers Ernst J. *Pathogenesis of Helicobactery pylori Infection*, Clinical microbiology reviews, 2006 Jul; 19(3): 449 – 490.
5. Dunn Bruce E., Cohen H., Blaser Martin J. *Clinical microbiology reviews*, 1997 Oct; 10(4): 720 – 741.
6. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. *Guidelines for the management of Helicobacter pylori infection*. Summary of the Maastricht III 2005 consensus report. Business Briefing: European Gastroenterology Review, 2005, pp 59–63
7. Davis C.P., *H. pylori Infection Symptoms, Test, and Treatment*, dostupno na adresi: https://www.medicinenet.com/helicobacter_pylori/article.htm#helicobacter_pylori_h_pylori_infection_definition_and_facts (preuzeto 1. ožujka 2018.)
8. Goddard A. F., Logan R. P. H. *Diagnostic methods for Helicobacter pylori detection and eradication*, Br J Clin Pharmacol. 2003 Sep; 56(3): 273 – 283.
9. U.S. National Library of Medicine, dostupno na adresi: https://medlineplus.gov/ency/article/007501.htm (preuzeto 15. ožujka 2018.)
10. Graham DY., Runke D., Anderson SY., Malaty HM., Klein PD. *Citric acid as the test meal for the 13C-urea breath test*, Am J Gastroenterol. 1999 May; 94(5): 1214 – 7.

11. Garza-González E., Perez-Perez G. I., Maldonado-Garza H.J., Bosques-Padilla F. J. *A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication*, World J Gastroenterol. 2014 Feb 14; 20(6): 1438 – 1449.
12. Medic24, *"DIAQUICK" H. pylori Stool Cassette*, dostupno na adresi: http://www.medic24.no/wp-content/uploads/2014/10/Pakn.vedlegg-H-pylori-stool-Z08090CE-Rev02.pdf (preuzeto10. ožujka 2018.)
13. Santacroce L, Helicobacter Pylori Infection Workup, dostupno na adresi: https://emedicine.medscape.com/article/176938-overview (preuzeto 15.ožujka 2018.)
14. Shimoyama T. *Stool antigen tests for the management of Helicobacter pylori infection*, World J Gastroenterol. 2013 Dec 7; 19(45): 8188 – 8191.
15. She R. C., Wilson A. R. , Litwin C. M. *Evaluation of Helicobacter pylori Immunoglobulin G (IgG), IgA, and IgM Serologic Testing Compared to Stool Antigen Testing*, Clin Vaccine Immunol. 2009 Aug; 16(8): 1253 – 1255.
16. Ho B., Marshall BJ. *Accurate diagnosis of Helicobacter pylori. Serologic testing*, Gastroenterol Clin North Am. 2000 Dec;29(4):853 – 62.
17. Uotani T., Graham David Y. *Diagnosis of Helicobacter pylori using the rapid urease test*, Ann Transl Med. 2015 Jan; 3(1): 9.
18. Lee J. Y, Kim N. *Diagnosis of Helicobacter pylori by invasive test: histology, Ann Transl Med. 2015 Jan; 3(1): 10.*
19. Rimbara E., Sasatsu M., Graham D.Y. *PCR Detection of Helicobacter pylori in Clinical Samples*, Methods Mol Biol. 2013; 943: 279 – 287.
20. Kalach N., Gosset P., Dehecq E., Decoster A., Spyckerelle C., Papadopolos S., Dupont, Christophe RJ. *Usefulness of Gastric Biopsy–Based Real-Time Polymerase Chain Reaction for the Diagnosis of Helicobacter pylori Infection in Children*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition: September 2015 - Volume 61 - Issue 3 - p 307 – 312.
21. Marušić M. *Uvod u znanstveni rad u medicini*. 4 izd. Zagreb. Medicinska naklada. 2008.

22. Hooi JKY., Lai WY., Ng WK., Suen MMY., Underwood FE., Tanyingoh D., Malfertheiner P., Graham DY., Wong VWS., Wu JCY., Chan FKL., Sung JJY., Kaplan GG., Ng SC. *Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis*, Gastroenterology. 2017 Aug;153(2):420 – 429.
23. Gubina M., Tepeš B., Vidmar G., Ihan A., Logar J., Wraber B., Poljanec J., Bricelj I., Domanović D., Levičnik Stezinar S., Jeverica S., Kotnik V. *Prevalence of helicobacter pylori antibodies in Slovenia in 2005*, Zdravniški Vestnik, Vol 75, No 3 (2006).
24. Mentis A., Lehours P., Mégraud F. *Epidemiology and Diagnosis of Helicobacter pylori infection*, Special Issue: XXVIIIth International Workshop on Helicobacter and Microbiota in Inflammation and Cancer, 24–26 September 2015, Nicosia, Cyprus, September 2015, 1 – 7.
25. Drenjančević M. *Uloga neinvazivnih dijagnostičkih metoda u dijagnostici Helicobacter pylori: dokaz antigena u stolici* (diplomski rad), Medicinski fakultet Osijek, Studij medicinsko-laboratorijske dijagnostike, Osijek 2015.
26. Rabar I. *Helicobacter Pylori u ambulanti PZZ-Poreč. Studije razdoblja 08/2013-08/2014* (diplomski rad), Zdravstveni fakultet Zenica, Zenica 2014., dostupno na adresi: https://www.bib.irb.hr/855907 (preuzeto 1. lipnja 2018.)
27. Wu C., Kuo K. N., Wu M., Chen Y., Wang C., Lin J. *Early Helicobacter pylori Eradication Decreases Risk of Gastric Cancer in Patients With Peptic Ulcer Disease*, Gastroenterology 2009; 137:1641 – 1648.

10. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Ana Polić

Datum i mjesto rođenja: 27. travnja 1991., Metković

e-adresa: ana.polic@live.com

Obrazovanje:

2006. - 2010. Gimnazija Metković

2010. - 2013. Zdravstveno veleučilište Zagreb
stručni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

2014. - 2018. Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijske dijagnostike

Radno iskustvo:

svibanj 2014.- svibanj 2015. Klinički bolnički centar Osijek, stručno osposobljavanje za prvostupnicu medicinsko laboratorijske dijagnostike

rujan 2016.- danas OB Dubrovnik, prvostupnica medicinsko laboratorijske dijagnostike na Odjelu za patologiju i citologiju