

# Diagnosi di infezione da *Helicobacter pylori*: test invasivi e non invasivi

M. Salvagnini

Unità Operativa Complessa di Gastroenterologia, Ospedale S. Bortolo, Vicenza

## Riassunto

Il riconoscimento che la infezione da *Helicobacter pylori* è implicata in varie malattie digestive (ulcera gastrica, ulcera duodenale, carcinoma gastrico, linfoma gastrico MALT, dispepsie) ed extra-digestive (porpora trombotica primitiva, anemia sideropenica) ha reso disponibili numerosi test di identificazione sia da campioni di biopsia gastrica (test invasivi), sia da altri campioni biologici (test non invasivi). Sulla base di numerosi studi e di *Consensus Report* internazionali l'*Urea Breath Test* e in alternativa la ricerca dell'antigene fecale sono ritenuti i test di prima linea con sensibilità e specificità superiori al 90%. I test sierologici trovano invece indicazione nelle situazioni in cui facilmente l'*Urea Breath Test* e l'antigene fecale danno false negatività, quali emorragie in atto o recenti da ulcere peptiche e durante l'uso di farmaci inibitori della pompa protonica. I test invasivi, compresi quelli rapidi, vanno utilizzati in caso di indicazione clinica all'esame endoscopico mentre gli esami colturali sono indicati nei casi in cui almeno due cicli di terapia eradicante con diversi antibiotici non abbiano portato all'eradicazione del batterio.

## Summary

### Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: invasive and non-invasive tests

The knowledge of implication of *Helicobacter pylori* infections in various digestive (duodenal and gastric ulcers, gastric carcinoma, gastric MALT lymphoma, dyspepsia) and extra intestinal diseases (idiopathic thrombotic purpura, iron deficient anaemia) has been followed from more wide test availability for *Helicobacter pylori* identification. The tests can be applied to bioptic material (invasive tests) or to other organic sample (non-invasive tests). Several studies and consensus reports have recognized the *Urea Breath Test* as the most useful in clinical practice, proposing *Helicobacter pylori* antigen in faeces as the alternative one, showing both a sensitivity >90%. The serological test maintains a strong indication only in situations where urea breath test and *Helicobacter pylori* antigen in faeces are reported to have a large proportion of false negative (i.e. haemorrhages from gastric and duodenal ulcer and during treatment with proton pump inhibitors). Invasive tests, including also rapid tests, should be performed in case of clinical indication for endoscopic procedures, meanwhile the culture of *Helicobacter pylori* is indicated when at least two cycles of eradication therapy with different antibiotics failed in eradicating the bacteria.

## Premesse

L'infezione gastrica, o meglio la presenza di *Helicobacter pylori* (HP) nella mucosa gastrica, è stata ormai da più di vent'anni riconosciuta correlata con più del 90% delle ulcere duodenali, nell'80-90% delle ulcere gastriche, nel 45-70% degli adenocarcinomi gastrici e in percentuale elevata nei MALT linfomi. Alterazioni istolo-

giche significative sono rilevabili nella mucosa gastrica in circa il 60% dei soggetti portatori di tale germe. La sua relazione con la sindrome dispeptica non ulcerosa è tuttora fonte di dibattito. Infatti la diffusione ampia della dispepsia unitamente alla elevata prevalenza di infezione nella popolazione, che in Italia è stimabile tra il 20% delle fasce più giovani fino al 50-70% della po-

polazione anziana, rendono spesso difficilmente interpretabili i dati epidemiologici. Va inoltre sottolineato che l'interesse suscitato nel mondo medico dall'infezione da HP ha portato a postulare un suo ruolo in svariate altre patologie extra intestinali (Tab. I), anche se al momento attuale viene accettata una sua relazione solo con la porpora trombocitopenica e con l'anemia sideropenica.

La rilevanza epidemiologica e clinica delle patologie associate spiega l'ampio sviluppo di metodiche diagnostiche proposte per la sua identificazione. Dalle primitive metodiche che utilizzavano materiale biotico gastrico ricavato in corso di endoscopia (metodiche invasive) per la identificazione diretta del germe sulla mucosa gastrica, sono via via state proposte altre metodiche basate sulla identificazione di antigeni batterici o di anticorpi diretti contro l'HP (metodiche non invasive). Nessuna di queste metodiche ha di per sé dimostrato essere il vero *gold standard* e se, sotto un punto di vista teorico, la miglior resa diagnostica viene riconosciuta nell'utilizzo di almeno due test, nella pratica clinica viene scelto un unico test selezionato in base alla epidemiologia locale dell'infezione e alla disponibilità economiche e tecnologiche dei singoli centri<sup>1</sup>.

## Metodiche invasive

### Istologia

Il riscontro della presenza di HP nel materiale biotico è stato il primo criterio diagnostico. L'identificazione con la normale colorazione ematosilina eosina risulta agevolata con altre colorazioni, quali il Giemsa. La non uniforme distribuzione del batterio sulle superfici gastriche richiede tuttavia, per un adeguato giudizio, che siano eseguite varie biopsie, con un minimo di due in sede antrale e due in sede di corpo – fondo. Bisogna tener presente che la gastrite atrofica e la metaplasia intestinale, che rendono meno facile la crescita dell'HP, riducono la densità dei batteri e ne modificano la distribuzione, fatto che determina la necessità di una ulteriore attenzione nella mappatura biotica.

Anche il trattamento con inibitori della pompa protonica (PPI) causa una diminuzione della sensibilità di tale metodica, rendendo impossibile l'identificazione del batterio in circa un terzo dei casi.

### Test all'ureasi

L'HP possiede una elevata attività ureasica, con conseguente produzione di  $\text{NH}_3$  che produce un cambiamento del pH nel *medium*, rilevabile dal cambiamento di colore dell'indicatore acido-base (il più usato è il rosso fenolo). Questo ha portato allo sviluppo di alcuni test che utilizzano vari sistemi di rivelazione del cambiamento di pH a diversi tempi di reazione. La sensibilità di tali metodiche, paragonate all'identificazione istologica, si pone poco al di sotto del 90% ed ha trovato ampio uso nelle sale endoscopiche.

**Tabella I.** Patologie extra digestive a cui è stato attribuito un ruolo da parte dell'infezione da *Helicobacter pylori*.

- 
- Fenomeno di Raynaud
  - Orticaria
  - Rosacea
  - Cardiopatia ischemica
  - Tiroiditi
  - Ritardo della crescita
  - Sindrome di Sjogren
  - \*Anemia sideropenica
  - \*Porpora trombocitopenica
- 

\* *confermato*

Per i limiti della metodica, va sottolineato lo stesso problema riportato per la biopsia, legati alla distribuzione del batterio e all'eventuale uso di PPI.

### Coltura

La relativa complessità e i costi superiori di questa metodica la rendono indicata solamente nei casi di ripetuti insuccessi della terapia eradicante in cui l'isolamento del batterio consente di saggiarne la sensibilità ai diversi antibiotici, per una terapia mirata. Va tenuta primitivamente presente l'importanza di una corretta conservazione del campione in quanto l'HP può resistere per 24 ore in terreno di Stuart se conservato a 4°C, mentre la conservazione a temperature più elevate, anche solo 15°C, ne rende la vitalità assai bassa. Esistono in letteratura dati ricavati dall'isolamento e coltura dei batteri in materiale diverso dalla mucosa gastrica (es. placca dentaria e feci) ma il cui significato e utilità rimangono dubbi. Questa metodica, che teoricamente ha una sensibilità del 100%, è tuttavia molto influenzata dall'esperienza del singolo laboratorio microbiologico. Un altro possibile vantaggio teorico di un accurato studio microbiologico consiste nella possibilità di distinguere i vari ceppi, con particolare riguardo al tipo I che esprime il fenotipo *cagA*, in grado di produrre la citotossina vacuolizzante *vacA*. Tale ceppo è riconosciuto come il più virulento e maggiormente implicato nei danni alla mucosa. Tuttavia, nella maggior parte delle situazioni cliniche, non viene ritenuta indispensabile la determinazione della virulenza del ceppo, basandosi la terapia essenzialmente sul rilevamento della presenza del germe.

Altre metodiche di biologia molecolare applicate su vari materiali (biopsie gastriche, feci, placca batterica dentale), pur dotate di alta sensibilità, non hanno trovato applicazione clinica per il loro costo e complessità.

### Metodiche non invasive

Tali metodiche hanno avuto sempre maggiore diffusione<sup>2,3</sup>. Infatti, negli ultimi anni il crescente numero di patologie riferite alla presenza di HP e la non costante associazione con un danno alla mucosa gastrica, molto spesso modesto o assente, ha indotto a ritenere

non giustificabile in termini di costi e di rilevanza clinica il ricorso ad endoscopie (Maastricht III Consensus report)<sup>4</sup>.

### Sierologia

Numerosi test sierologici sono stati introdotti per l'identificazione dell'infezione da HP. Attualmente i più usati e raccomandabili sono quelli basati su metodica ELISA la cui sensibilità è valutabile intorno all'80%, con una specificità tra l'86 e il 98%. Va segnalata tuttavia la relativamente ampia zona grigia di positività (circa 12%) e la difficoltà a distinguere una infezione in corso da una remota, fatto che ne limita l'utilità nel monitoraggio dell'efficacia della terapia eradicante<sup>5</sup>.

I test sierologici conservano tuttavia un ruolo importante nelle situazioni in cui gli altri test sia invasivi che non invasivi dimostrino una minor sensibilità. In particolare l'indagine sierologica è tuttora indicata in soggetti in trattamento con PPI, con ulcera peptica sanguinante, con gastrite atrofica o MALT linfoma. La ricerca su siero o su saliva di anticorpi anti HP trova inoltre impiego nella diagnostica in età pediatrica.

Va infine ricordata la disponibilità di kit rapidi ad uso ambulatoriale ma la cui sensibilità è assai inferiore rispetto ai metodi ELISA e la cui scarsa accuratezza ne

sconsiglia l'uso clinico.

### Urea Breath Test C13 (UBT)

Questo test, ampiamente usato nella pratica clinica, è di relativa semplicità e con le metodiche più recenti consente l'esecuzione in tempi rapidi. Infatti la raccolta del campione di aria espirata dopo l'assunzione di urea-C13 può essere limitata ad un solo campione, oltre a quello di base, dopo 30 minuti.

Ormai innumerevoli studi ne hanno confermato l'alta sensibilità e specificità riportate intorno al 95%.

Poiché il test è dipendente dall'attività ureasica presente a livello delle prime vie, esso è da una parte influenzato, in maniera irrilevante, dalla presenza di altri batteri con simile attività metabolica presenti nel cavo orale o nello stomaco, e in maniera assai più importante, dal numero di batteri HP presenti nello stomaco. Ciò spiega il confermato rilievo di una caduta di sensibilità di circa il 30 % nei soggetti HP positivi in corso di trattamento con farmaci inibitori di pompa protonica<sup>6</sup>. In queste circostanze la ri-positivizzazione del test richiede circa 14 giorni di sospensione dal farmaco. In modo analogo la sensibilità cala in altre situazioni in cui la densità del batterio nella mucosa gastrica diminuisce, come nella gastrite atrofica e talora in corso di MALT

**Tabella II.** Raccomandazioni per la diagnosi d'HP formulate nel Consensus Report di Maastricht III.

Raccomandazioni	Livello di Evidenza	Grado della Raccomandazione
Nella strategia <i>test and treat</i> possono essere usati UBT e HpSa. Possono essere utilizzate anche altre metodiche sierologiche di alta accuratezza	1 a	B
Uso di PPI sono fonte di test falsi negativi (eccetto per la sierologia). PPI vanno sospesi almeno 2 settimane prima di eseguire il test	1 b	A
Test sierologici possono essere eseguiti quando altri test diagnostici rischiano di essere falsamente negativi, come nei pazienti con ulcere sanguinanti, atrofia gastrica, MALT linfoma o uso in atto o recente di PPI	2	B
I test sierologici non sono equivalenti e test diversi possono essere usati in differenti situazioni	2 b	B
La ricerca di anticorpi specifici in urina e saliva non hanno un ruolo nella cura del paziente, ma possono avere rilevanza epidemiologica	1 b	A
Test sierologici <i>near doctor patient</i> non hanno ruolo nella pratica clinica	1	A
La ricerca di fattori patogenetici HP relati e lo studio del polimorfismo genetico dell'ospite non sono utili nel trattamento delle infezioni da HP	3 b	D
Si raccomanda una conferma dell'avvenuta eradicazione dopo trattamento con UBT, se disponibile: in caso contrario, potrà essere usato un test fecale usando anticorpi monoclonali.	1 b	A
Coltura e antibiogramma devono essere eseguiti di routine: 1) prima del trattamento con claritromicina se nell'area geografica la resistenza alla claritromicina è superiore al 15-20 %; 2) dopo due insuccessi nel trattamento con differente schema antibiotico. Il monitoraggio della resistenza primaria all'antibiotico deve essere eseguita in laboratori di riferimento.	1 b	B
In pazienti che si presentano all'endoscopia senza pretrattamento, un test rapido all'ureasi è sufficiente per iniziare il trattamento	2	A

linfoma. Una possibilità di aumentare la potenza del test consiste nell'introduzione, assieme all'urea marcata, di sodio citrato, che induce un aumento dell'attività ureasica.

Situazioni cliniche che riducono l'utilizzazione del test sono legate principalmente a scarsa collaborazione del paziente (bambini, anziani, altre situazioni psiconeurologiche)<sup>7</sup>.

### Ricerca antigene fecale (HpSa)

Il basso costo, la facilità di impiego, l'eseguitibilità della raccolta a domicilio, hanno progressivamente diffuso l'impiego di questa metodica. Si basa su metodi di immunoassay policlonale o, più recentemente, monoclonale. La sua sensibilità e specificità sono solo modestamente inferiori a quella dell'UBT, rispettivamente del 91 e 93% (review di 89 studi)<sup>8</sup>. È tuttavia da sottolineare l'importanza di una corretta raccolta e conservazione del campione in quanto la sensibilità del test cala al 69% se il campione viene tenuto a temperatura ambiente per 48-72 ore.

Come per l'UBT, la positività per HpSa può essere influenzata da emorragie in corso del tratto gastroenterico, dalla presenza di gastrite atrofica o dall'uso di farmaci inibitori di pompa protonica.

È stato riportato come la presenza di un relativamente più alto numero di falsi positivi, dopo terapia eradicante, ne possa limitare l'uso in tal campo per un scarso valore predittivo positivo (69% contro il 95% dell'UBT). Questo dato, non confermato da altri studi, non ha portato a limitarne l'impiego nel monitoraggio post terapia anche nelle più recenti linee guida<sup>9</sup>.

Le limitazioni di impiego del test, oltre a quanto appena citato, possono risiedere in tutte quelle circostanze che rendano difficoltosa la raccolta del campione di feci.

### Indicazioni nell'impiego clinico

Nel concludere appare rilevante sottolineare un uso razionale del test, spesso eseguito su indicazioni non corrette. A ciò ha cercato di rispondere la periodica revisione delle linee guida avvenuta nel 2005 e pubblicata nel 2007 da parte dell'European Helicobacter Study Group tenutasi a Maastricht con la partecipazione di oltre 50 esperti di 26 nazioni. In tale documento vengono indicate anche linee di comportamento sull'uso appropriato dei test diagnostici per l'infezione da HP, riassunte in Tabella II.

La ricerca della presenza di HP è raccomandata nelle seguenti situazioni cliniche (tra parentesi Livello di evidenza scientifica e Grado di raccomandazione):

- ulcera gastrica e ulcera duodenale (1a, A)

- gastrite atrofica (2°, B)
- Maltoma gastrico (1c, A)
- Dopo gastrectomia per cancro dello stomaco (3b, B)
- Parenti di I grado di soggetti con cancro gastrico (3b, B)
- Dispepsia (1°, A)
- Soggetti in trattamento cronico con FANS (1b,A)
- Soggetti in trattamento a lungo termine con PPI (n.i.)
- Soggetti con anemia sideropenica non altrimenti spiegata (n.i.)
- Soggetti con porpora trombotica trombocitopenica (n.i.)

Non è invece indicata la ricerca HP in:

- soggetti malattia da reflusso gastroesofageo (1b, A)
- altre patologie extraintestinali (n.i.)

### Bibliografia

1. Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Gatta L, Geminiani A, et al. Review Artiche: invasive and non invasive tests for Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14:13-22.
2. Faigel DO, Childs M, Furth EE, Alavi A, Metz DC. New noninvasive tests for Helicobacter pylori gastritis. Comparison with tissue-based gold standard. *Dig Dis Sci* 1996; 41:740-8.
3. Hahn M, Fennerty MB, Corless CL, Magaree N, Lieberman DA, Faigel DD. Noninvasive tests as a substitute for histology in the diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Gastrointest Endosc* 2000; 52:20-6.
4. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56:772-81.
5. Chey WD, Fendrik AM. Noninvasive Helicobacter pylori testing for the "test-and-treat" strategy. A decision analysis to assess the effect of past infection on test choice. *Arch Intern Med* 2001; 161:2129-32.
6. Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, et al. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. *Am J Gastroenterol* 2003; 98:1005-9.
7. Kato S, Nakayama K, Minoura T, Konno M, Tajiri H, Matsuhisa T, et al. Japanese Pediatric Helicobacter study Group. Comparison between the 13C-urea breath test and stool antigen test for the diagnosis of childhood Helicobacter pylori infection. *J Gastroenterol* 2004; 39:1045-50.
8. Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection: a systematic review. *Helicobacter* 2004; 9:347-68.
9. Bilardi C, Biagini R, Dulbecco P, Uritano E, Gambaro C, Mele MR, et al. Stool antigen assay (HpSA) is less reliable than urea breath test for post-treatment diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:1733-8.