

Strokovni prispevek/Professional article

PREVALENCA PROTITELES PROTI BAKTERIJI HELICOBACTER PYLORI V SLOVENIJI V LETU 2005

PREVALENCE OF HELICOBACTER PYLORI ANTIBODIES IN SLOVENIA IN 2005

Marija Gubina¹, Bojan Tepeš², Gaj Vidmar³, Alojz Ihan¹, Jernej Logar¹, Branka Wraber¹, Janja Poljanec⁴, Irena Bricelj⁵, Dragoslav Domanović⁵, Snežana Levičnik-Stezinar⁵, Samo Jeverica¹, Vladimir Kotnik¹

¹ Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

² ZR – Zdravstvo, 3250 Rogaška Slatina

³ Inštitut za biomedicinsko informatiko, Medicinska fakulteta Ljubljana, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

⁴ Zdravstveni dom Ljubljana, Postojnska 9, 1000 Ljubljana

⁵ Zavod Republike Slovenije za transfuzijsko medicino, Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana

Prispelo 2006-01-11, sprejeto 2006-03-02; ZDRAV VESTN 2006; 75: 169–73

Ključne besede *Helicobacter pylori; prevalenca; protitelesa IgG in IgA; Slovenija; leto 2005*

Izvleček

- Izhodišča** *Okužba z bakterijo Helicobacter pylori je najpogostejša okužba pri ljudeh, vendar se prevalenca okužbe v razvitem delu sveta znižuje zaradi boljših higienskih in bivalnih razmer ter zdravljenja okužbe pri bolnikih z izraženimi kliničnimi težavami. V raziskavi smo želeli ugotoviti, kolikšna je bila pogostost okužbe v Sloveniji v letu 2005. Kot merilo smo izbrali navzočnost protiteles proti bakteriji Helicobacter pylori v serumu preiskovancev.*
- Bolniki in metode** *Pregledali smo serume 1045 preiskovancev, starih od 0 do 90 let. Z metodo ELISA smo protitelesa razredov IgG in IgA proti Helicobacter pylori določali na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani. Rezultate smo prikazali za starostne skupine po dekadah, ločeno za moške in ženske.*
- Rezultati** *Prevalenca protiteles proti Helicobacter pylori se veča s starostjo, enako pri moških in ženskah. Povprečno smo našli protitelesa pri 25,1% (95% IZ 23–28%) pregledanih oseb. Najpogostejše, v 54% (95% IZ 40–69%) smo jih našli pri preiskovancih v starostni skupini 60 do 69 let. V starosti od 0 do 19 let je imelo 9,4%, v starosti med 20 in 49 let pa je imelo 29,6% testiranih preiskovancev pozitivne vrednosti.*
- Zaključki** *Prevalenca oseb s protitelesi proti bakteriji Helicobacter pylori se je v Sloveniji v zadnjih 15 letih močno zmanjšala, še vedno pa jih najdemo pri več kot četrtini prebivalcev Slovenije, mlajših od 45 let. To je pomemben podatek za izbiro pristopa k zdravljenju okužbe s to bakterijo.*

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Prof. dr. Marija Gubina, dr. med., Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

Naloga je bila izvedena v okviru raziskovalnega programa: Odnosi parazitskega obstajanja. Šifra: P3-0083-0381-04.

Key words *Helicobacter pylori*; prevalence; IgG and IgA antibodies; Slovenia; year 2005

Abstract

- Background** *Helicobacter pylori* infection is the most common human infection. Its prevalence is declining in the Western world because of better sanitation and living conditions and because of medical treatment of symptomatic carriers of infection. The aim of the study was to find out the prevalence of infection in Slovenia in 2005. The antibody titer against bacteria *Helicobacter pylori* in tested sera was applied as detection tool.
- Patients and methods** Serum samples from 1045 individuals from 0 to 90 years of age were collected. The laboratory investigations by ELISA tests for IgG and IgA antibodies to *Helicobacter pylori* were performed at the Institute of Microbiology and Immunology Medical Faculty in Ljubljana. Patients were divided by decades into age groups, and by sex into male and female groups.
- Results** The prevalence of seropositivity increases with age; there is no difference between men and women. The mean seropositivity rate is 25.1% (95% CI 23–28%). The peak seropositivity rate is 54% (95% CI 40–69%) in the age group 60 to 69 years. There are 9.4% positive participants in the age group 0 to 19 and 29.6% seropositive participants in the age group between 20 and 49 years.
- Conclusions** The *Helicobacter pylori* seropositivity rate has fallen dramatically in the last 15 years. There is still more than one quarter of population younger than 45 years infected, which is very important in deciding about the right therapeutic approach to that particular segment of our population.

Uvod

Okužba z bakterijo *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) je ena najpogostejših okužb pri ljudeh, ki spremlja človeštvo že iz pradavnine, saj so že pri več tisoč let starih mumijah odkrili okužbo s *H. pylori*, a z dokazovanjem genetskih značilnosti te bakterije so lahko tudi zasledovali, od kod in kam so se ljudje preseljevali (1, 2). Pri 20% okuženih nastane klinično pomembna bolezen (razjeda dvanajstnika in/ali želodca, želodčni rak in limfom želodca) (3). Prevalenca bolezni v posamezni državi je odvisna od ekonomske razvitosti, ki pogojuje sanitarno higienske in bivalne razmere, v katerih živijo ljudje. Pridobitev okužbe je odvisna tudi od tega, ali je okužena mati, koliko otrok je v družini, koliko jih živi v isti sobi. Prekuženost narašča s starostjo in je odraz predvsem slabših življenjskih razmer starejših v njihovem otroštvu, ko se zgodi večina okužb (2). V devetdesetih letih dvajsetega stoletja je bila v razvitem svetu prekuženost v starosti do 40 let od 20% do 40%, pri najstarejši skupini prebivalcev pa še dodatnih 20% (4–6). V nerazvitih državah je prevalenca okužbe že v prvih desetih letih življenja med 40% in 90% (7–9). V Sloveniji smo leta 1990 izvedli testiranje glede navzočnosti protiteles proti *H. pylori* pri 242 zdravih preiskovancih in ugotovili, da je imelo 51,6% testiranih protitelesa proti *H. pylori*. V skupini 0–29 je bilo pozitivnih 38% testiranih, največja je bila prevalenca v starostni skupini od 30 do 39 let (73,5%) (10). V raziskavi, ki jo prikazujemo, smo želeli ugotoviti, ali je prišlo v Sloveniji po preteku 15 let do sprememb v prevalenci navzočnosti protiteles proti *H. pylori*.

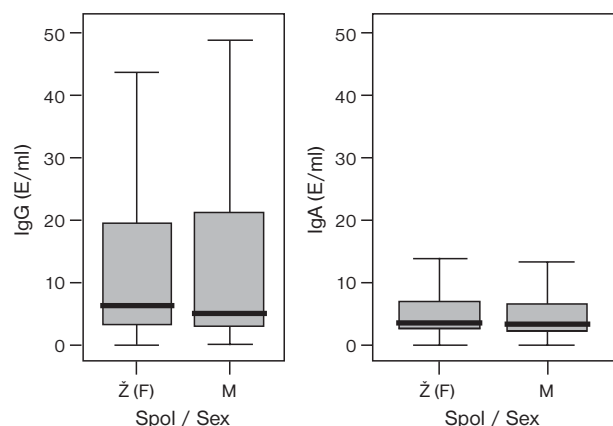
Bolniki in metode

V raziskavi smo pregledali 1045 serumskih vzorcev. Vzorce smo zbrali od 347 preiskovancev, ki so darovali kri na Zavodu za transfuzijsko medicino Republike Slovenije, od 197 preiskovancev, ki so bili na rednih sistematskih pregledih otrok v Zdravstvenem domu Ljubljana Vič, in od 501 preiskovanca, katerih serumske vzorce so pregledovali na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani. Preiskovanci, ki so darovali kri in tisti, ki so bili na sistematskem pregledu, so bili o raziskavi obveščeni in so pisno potrdili pripravljenost odstopiti del vzorca, ki je bil odvzet za izvedbo rednega predpisane pregleda. Vzorci, ki smo jih pridobili na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo, so bili ostanek od tistega, kar smo porabili za zahtevano preiskavo. Vsi zbrani vzorci so ustrezali tehničnim zahtevam za pregled vzorca, ki ga pregledujemo na navzočnost protiteles razreda IgG in IgA z metodo ELISA. Preiskovanci, ki so sodelovali v raziskavi, se niso pritoževali zaradi težav z želodcem oziroma niso imeli dokazane okužbe s *H. pylori*.

Rezultate smo statistično analizirali z neparametričnim testom Mann-Whitney in Fisherjevim eksaktnim testom. Izbrana meja statistične značilnosti je bila $p < 0,05$. Predlog raziskave je pregledala in odobrila Komisija RS za Medicinsko etiko (št. 52/12.04).

Določevanje specifičnih protiteles IgG in IgA proti *H. pylori* v serumu

Količino specifičnih protiteles IgG in IgA, uperjenih proti *H. pylori*, smo določali s kvantitativnim indirektnim encimsko imunskim testom (GAP®-IgG ali

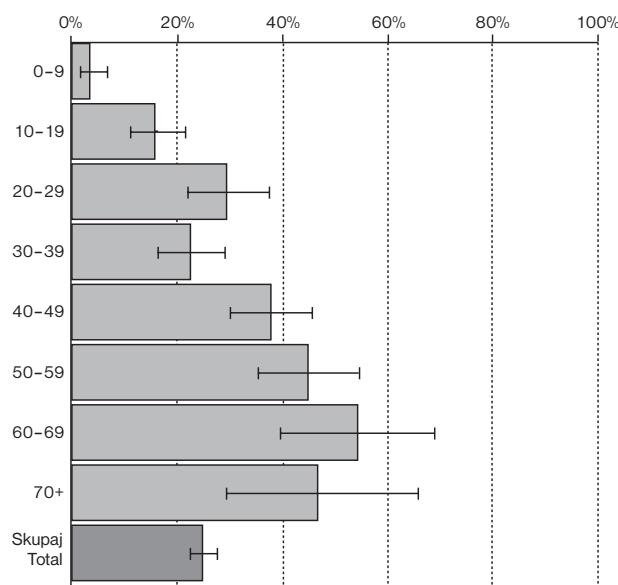


Sl. 1. Porazdelitev vrednosti IgG in IgA protiteles proti *H. pylori* ter primerjava porazdelitve med spoloma. Debela črta prikazuje mediano, zaboj 1. in 3. kvartil, ročaja pa 1. in 9. decil.

Figure 1. IgG and IgA levels of *H. pylori* antibodies and comparison of distribution by sex.

Thick line indicates a median, box represents 1st and 3rd quartile, and whiskers represent 1st and 9th decile.

GAP®-IgA – Biomerica, Kalifornija, ZDA). Test je na-rejen tako, da so na stene in dno mikrotitrne plošči-ce pritrjeni prečiščeni antigeni bakterije *H. pylori*. Preiskovani serum smo razredčili z redčitvenim pu-from 1:200 in ga dodali v ustrezne vdolbinice na testni ploščici. Če je serum vseboval specifična pro-titelesa proti *H. pylori*, so se ta vezala na pritrjene antigene. Po dodatku sekundarnih protiteles, uperje-nih proti humanemu IgG ali IgA in vezanih z enci-mom, smo izmerili količino vezanih protiteles z op-tičnim čitalcem pri valovni dolžini 450 nm (Sunrise – Tecan, Avstrija). Rezultat smo imeli za pozitiven, če smo izmerili v preiskova-nem serumu več kot 20 enot/ml iskanih protiteles, in negativen, če jih je bilo manj. Uporabljeni test ima 85-odstotno specifičnost, 90,6-odstotno občutljivost in 88,2-odstotno točnost, odkrita protitelesa v manj kot 1% navzkrižno reagira-jo z antigeni bakterij *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* in *Escherichia coli*. Za enkratno izvedbo testa smo rabili 0,2 ml razredče-nega vzorca. Serume, ki so bili hemolitični ali lipemič-ni, smo iz preiskave izklju-čili. Serume, ki jih nismo preskusili takoj, smo do uporabe hranili v zmrzo-valniku pri -20 °C.



Sl. 2. Delež IgG pozitivnih po 10-letnih starostnih raz-redih.

Vodoravna črta označuje 95-odstotni interval zaupa-nja za oceno populacijskega deleža.

Figure 2. Proportion of IgG positives by 10-year age classes.

Horizontal line denotes a 95% confidence interval of the estimated population proportion.

Rezultati

V raziskavo smo vključili serumske vzorce 1045 preiskovancev, od tega je bilo 624 (59,7%) vzorcev žensk in 421 (40,3%) vzorcev moških. Zastopane so bili vse starostne skupine od novorojencev do 90-letnikov.

Razpr. 1. Število in delež IgG in IgA pozitivnih po starostnih razredih.

Table 1. Number and proportion of IgG and IgA positive participants by age group.

Starost Age	IgG neg. IgG neg.	IgG poz. IgG pos.	IgA neg. IgA neg.	IgA poz. IgA pos.	Skupaj Total	95% IZ za delež poz. (SM-ZM) 95% CI for proportion of pos. (LL-UL)	
						IgG	IgA
0-9	195 (97%)	7 (3%)	201 (100%)	1 (0%)	202	2%-7%	0%-3%
10-19	161 (84%)	30 (16%)	186 (97%)	5 (3%)	191	11%-22%	1%-6%
20-29	98 (71%)	41 (29%)	132 (95%)	7 (5%)	139	22%-38%	2%-10%
30-39	135 (78%)	39 (22%)	167 (96%)	7 (4%)	174	16%-29%	2%-8%
40-49	97 (62%)	59 (38%)	149 (96%)	7 (4%)	156	30%-46%	2%-9%
50-59	59 (55%)	48 (45%)	102 (95%)	5 (5%)	107	35%-55%	2%-10%
60-69	21 (46%)	25 (54%)	41 (89%)	5 (11%)	46	40%-69%	4%-23%
70+	16 (53%)	14 (47%)	27 (90%)	3 (10%)	30	29%-66%	3%-25%
Skupaj Total	782 (74,9%)	262 (25,1%)	1005 (96,2%)	40 (3,8%)	1045 100%	23%-28%	3%-5%

IZ – interval zaupanja, SM – spodnja meja, ZM – zgornja meja
CI – confidence interval, LL – lower limit, UL – upper limit

V razpredelnici 1 je prikazana starostna porazdelitev preiskovancev po dekadah.

Posebej smo določali vrednosti protiteles razreda IgG in IgA in ju prikazali ločeno za oba spola. Pozitivne so bile vrednosti, višje od 20 enot/ml. Delež pozitivnih rezultatov in absolutna višina ravni protiteles IgG je bila višja od protiteles IgA, kar je bilo pričakovano (Sl. 1), saj so IgA protitelesa sekrecijska in prisotna predvsem lokalno na sluznici. S testom Manna in Whitneyja nismo ugotovili statistično značilne razlike med spoloma glede na srednjo vrednost protiteles IgG ($p = 0,06$) in IgA ($p = 0,13$). Tudi delež pozitivnih preiskovancev glede IgG protiteles se ni razlikoval med moškimi in ženskami ($p = 0,61$, Fisherjev eksaktni test). Delež IgA pozitivnih je bil statistično značilno višji pri ženskah ($p = 0,003$), vendar je bil v splošnem delež IgA zelo majhen (v celotnem vzorcu le 3,8%; 5,3% pri ženskah in 1,7% pri moških) (Sl. 1).

Delež IgG pozitivnih preiskovancev je prikazan v razpredelnici 1 in na sliki 2. V raziskavi smo ugotovili, da je bilo med 1045 preiskovanci 262 pozitivnih na *H. pylori*, kar je 25,1% delež. Največji delež preiskovancev s pozitivnimi protitelesi IgG (54%) je bil v starostnem obdobju 60 do 69 let. V starostnih skupinah 0–19 let je bilo 9,4% pozitivnih, v starostnih skupinah med 20 in 49 let pa je imelo pozitivne vrednosti 29,6% preiskovancev. Med desetletnimi starostnimi skupinami je razlika v deležu pozitivnih statistično značilna ($p < 0,001$, Fisherjev eksaktni test).

Razpravljanje

V Sloveniji smo prvič določili prevalenco prisotnosti protiteles proti *H. pylori* leta 1990, ko je bilo kar 51,6% testiranih pozitivnih. Delež IgG pozitivnih je bil pri populaciji od 0 do 29 let 38%, najvišji pa v starostni skupini 30 do 39 let, kar 73,5% (10). Podobno je bilo tudi v Avstriji, Grčiji in na Portugalskem (11), višjo prevalenco so imele Poljska, Estonija in Japonska ter številne nerazvite države in države v razvoju (11, 12). Nižja prevalenca je bila ugotovljena v ZDA, Angliji, Avstraliji in Franciji (4, 6, 13–15).

V državah razvitega sveta prevalenca okužbe s *H. pylori* v zadnjih desetletjih upada. Znižanje prekuženosti je zaznati predvsem pri generacijah, rojenih po letu 1960 (16). Razlog za to so najverjetneje boljše higienske razmere (tekoča voda kontrolirane kakovosti, izboljšane sanitarije, zavedanje pomena osebne higiene) in boljše razmere za bivanje (manjše družine, po eden otrok v sobi). Manjša prekuženost mlajših starostnih skupin s *H. pylori* gre vzporedno z manjšo prekuženostjo z drugimi črevesnimi patogeni, npr. šigelo (17). Drugi možni razlog za zmanjšanje prekuženosti pa je uporaba antibiotikov in še posebej usmerjeno zdravljenje okužbe s *H. pylori* (18, 19). Zaradi tega bi pričakovali znižanje prevalence predvsem pri starejših. Znano je, da okužba s *H. pylori* ostane prisotna vse življenje, razen kadar se razvije želodčna atrofija, ali kadar so bolniki zdravljeni z antibiotiki. Možnost ponovne okužbe je v razvitem svetu običajno okrog 1% letno (20, 21). V naši raziskavi smo ugotovili največ protiteles pri skupini preiskovancev, sta-

rih od 50 do 59 let. To je povsem drugače kot pred 15 leti, ko je bilo protiteles največ (73,5%) pri preiskovancih, starih med 30 in 39 let. Večina preiskovancev starostnega obdobja (30 do 39 let), ki je imelo v letu 1990 najvišjo prekuženost, je danes v skupini preiskovancev 50 do 59 let, kjer je ocenjena prekuženost danes 45% (torej skoraj za 30 odstotnih točk manjša). Tako smo v povprečju v letu 1990 v Sloveniji ugotovili 51,7% preiskovancev, pozitivnih na *H. pylori* v letu 2005 pa le še 25,1%. Razlika je statistično visoko značilna ($p < 0,001$). Razlog za zmanjšanje prekuženosti je vsekakor zdravljenje simptomatskih nosilcev okužbe v Sloveniji, ki ga izvajamo že več kot 10 let. V ZDA in Zahodni Evropi se je v zadnjem desetletju prekuženost s *H. pylori* zmanjšala za približno 25%. Zmanjšanje je najbolj izrazito pri otrocih (22, 23). Prekuženost s *H. pylori* v razvitih državah, npr. na Danskem in v Avstraliji, je primerljiva s podatki za Slovenijo: povprečna prekuženost Dancov je 25,6%, Avstralcev pa 32% (24, 25).

Kljub vsemu pa zaradi omejitev pri vzorčenju pričujoča študija ne dopušča povsem zanesljivih sklepov in natančnih ocen o celovitih populacijskih spremembah. Nesporno pa je, da se je porazdelitev pozitivnih serumov po starosti v primerjavi s predhodno študijo pomaknila v smeri višje starosti, ocenjena prevalenca v celotni populaciji pa se je prepolovila. Predstavljeni podatki so vsekakor pomembni za načrtovanje najustreznejšega pristopa k diagnostiki in zdravljenju okužbe z bakterijo *H. pylori* (26).

Zahvala

Za skrbno in natančno delo pri tehnični izvedbi raziskave se zahvaljujemo sodelavkam Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete v Ljubljani Jelki Markelj, Katarini Jordan in Olgi Križaj.

Literatura

- Blaser MJ. *Helicobacters* are indigenous to the human stomach: duodenal ulceration is due to changes in gastric microecology in the modern era. Gut 1998; 43: 721–7.
- Blaser MJ. An endangered species in the stomach. Sci Am 2005; 292: 24–31.
- Siponen P, Varis K, Fraki O, Korri UM, Seppala K, Siurala M. Cumulative 10 year risk of symptomatic duodenal and gastric ulcer in patients with or without chronic gastritis. Scand J Gastroenterol 1990; 25: 966–73.
- Dwyer B, Kaldor J, Tee W, Marakowski E, Raios K. Antibody response to *Campylobacter pylori* in diverse ethnic groups. Scand J Infect Dis 1988; 20: 349–50.
- Perez Perez GI, Dworkin BM, Chodos JE, Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. Ann Intern Med 1988; 109: 11–7.
- Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race and socioeconomic status. Gastroenterology 1991; 100: 1495–501.
- Gastrointestinal Physiology Working Group. *Helicobacter pylori* and gastritis in Peruvian patients: relationship to socioeconomic level, age and sex. Am J Gastroenterol 1990; 85: 819–23.
- Burstein M, Monge E, Leon BR, Lozano R, Berendson R, Gilman RH, et al. Low peptic ulcer and high gastric cancer prevalence in a developing country with a high prevalence of infection by *Helicobacter pylori*. J Clin Gastroenterol 1991; 13: 154–6.

9. Michell HM, Li YY, Hu PJ, Liu Q, Chen M, Du GG, et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in Southern China: identification of early childhood as the critical period of acquisition. *J Infect Dis* 1992; 166: 149–53.
10. Gubina M, Newell DG, Hawtin PR, Županc-Avšič T, Križman I. *Helicobacter pylori* IgG antibodies in an asymptomatic Slovenian population. *Zdrav Vestn* 1991; 60: 449–52.
11. The EUROGAST Study Group: Epidemiology of, and risk factors for *H. pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. *Gut* 1993; 34: 1672–6.
12. Matyasiak-Budnik T, Megraud F. *Helicobacter pylori* in Eastern European countries: what is the current status? *Gut* 1994; 35: 1683–6.
13. Graham DY, Adam E, Reddy GT, Agarwal JP, Agarwal R, Evans DJ Jr, et al. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in India. Comparison of developing and developed countries. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1084–8.
14. Jones DM, Eldridge J, Fox AJ, Sethi P, Whorwell PJ. Antibody to gastric *Campylobacter* - like organisms (*Campylobacter pylori-dis*) - clinical correlations and distribution in the normal population. *J Med Microbiol* 1986; 22: 57.
15. Megraud F, Brassens Rabbe MP, Denis F, Belbourni A, Hoa DQ. Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1870–3.
16. Parsonnet J, Blaser MJ, Perez Perez GI, Hargrett BN, Tauxe RV. Symptoms and risk factors of *H. pylori* infection in a cohort of epidemiologists. *Gastroenterology* 1992; 102: 41–6.
17. Keutsch GT, Bennis ML. Shigellosis. In: Evans AS, Brachman PS, eds. *Bacterial infections in humans: epidemiology and control*. New York: Plenum; 1998. p. 631–56.
18. Tytgat GNJ, Axon ATR, Dixon MF, Graham DY, Lee A, Marshall BJ. *Helicobacter pylori*: causal agent in peptic ulcer disease? In: Working Party Reports of the World Congresses of Gastroenterology, Melbourne, Australia. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1990. p. 36–45.
19. Tepeš B, Križman I. Priporočila za zdravljenje okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori* v Sloveniji. *Zdrav Vestn* 1998; 67: 159–62.
20. Forbes GM, Glaser ME, Cullen DLE, Waren JR, Christiansen LJ, Marshall BJ. Duodenal ulcers treated with *Helicobacter pylori* eradication: seven year follow up. *Lancet* 1994; 343: 258–60.
21. Tepeš B, Kavčič B, Gubina M, Križman I. A four year follow-up of duodenal ulcer patients after *Helicobacter pylori* eradication. *Hepato-Gastroenterol* 1999; 46: 1746–50.
22. Sipponen P. *Helicobacter pylori* gastritis-epidemiology. *J Gastroenterol* 1997; 32: 273–7.
23. Kamp GJ, Roosendall R, Kuipers EJ, Buitenvwerf J, van Uffelen C, Meuwissen SG, et al. *Helicobacter pylori* and the birth cohort effect: evidence of a continuous decrease of infection rates in childhood. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1480–2.
24. Milman N, Byg KE, Andersen LP, Mulvad G, Pedersen HS, Bjerregaard P. Indigenous Greenlanders have a higher sero-prevalence of IgG antibodies to *Helicobacter pylori* than Danes. *Int J Circumpolar Health* 2003; 62: 54–60.
25. Robertson MS, Cade JF, Savoia HF, Clancy RL. *Helicobacter pylori* infection in the Australian community: current prevalence and lack of association with ABO blood groups. *Intern Med J* 2003; 33: 163–7.
26. Chiba N, Veldhuyzen van Zanten SJO. ¹³C urea breath tests are the noninvasive method of choice for *H. pylori* detection. *Can J Gastroenterol* 1999; 13: 681–3.