

# Διαγνωστικές μέθοδοι σε παιδιά

*Ευαγγελία Κατσιγιαννάκη*

Οι διαγνωστικές μέθοδοι, που χρησιμοποιούνται σήμερα για την αναζήτηση του *Helicobacter pylori* (*Hp*) στα παιδιά, διακρίνονται σε επεμβατικές και μη επεμβατικές.<sup>4,13</sup>

Οι **μη επεμβατικές** μέθοδοι αναζήτησης του *Hp* στα παιδιά είναι:

1. Η αναζήτηση του *Hp* στην οδοντική πλάκα και στο σίελο.
2. Η αναζήτηση του *Hp* στα κόπρανα.

Οι **επεμβατικές** μέθοδοι είναι:

1. Ο έλεγχος των αντισωμάτων έναντι του *Hp* στον ορό
2. Ο έλεγχος του CO<sub>2</sub> του εκπνεόμενου αέρα, μετά πόση ουρίας σεσημασμένης με ραδιενεργό άνθρακα <sup>13</sup>C.
3. Η εκτέλεση οισοφαγογαστρο12δακτυλοσκόπησης (ΟΓΔ).

Αναλυτικά αναφερόμεθα στις ανωτέρω εξετάσεις.

**1) Η αναζήτηση του *Hp* στην οδοντική πλάκα** εκτελείται με τη λήψη, με στυλεό, υλικού από την οδοντική πλάκα για την εκτέλεση καλλιέργειας και PCR. Για τη σωστή έκβαση των αποτελεσμάτων θα πρέπει να μην προηγηθεί α) αμέσως πριν τη λήψη του υλικού, καθαρισμός των δοντιών και β) δύο μήνες πριν λήψη αντιβιοτικών.

---

Επιμελήτρια Α' Γαστρεντερολογίας Παίδων, Υπεύθυνη Γαστρεντερολογικού Τμήματος Β' Παθολογικού Τομέα Νοσοκομείου Παίδων "Η Αγία Σοφία"

Η ανωτέρω μέθοδος δεν εφαρμόζεται ευρέως, λόγω του μεγάλου κόστους της PCR και της μη διάθεσης πολλών εργαστηρίων, που να εκτελούν την ανωτέρω εξέταση. Η καλλιέργεια του *Hp*, επίσης, είναι εξέταση με μικρή ευαισθησία, λόγω της ανάπτυξης πολλών μικροβίων στο σίελο.

Η αναζήτηση των αντισωμάτων IgG έναντι του *Hp* στο σίελο<sup>2,7</sup> είναι και αυτή μία μέθοδος, που έχει καταργηθεί, λόγω της μικρής της ευαισθησίας.

Το 80% των ασθενών, που έχουν αντισώματα στον ορό IgG έναντι του *Hp*, μπορεί να έχουν τα ίδια αντισώματα και στο σίελο.

**2) Η αναζήτηση του *Hp* στα κόπρανα<sup>12,15,16</sup>** είναι μία εξέταση, που τελευταία αρχίζει όλο και περισσότερο να εφαρμόζεται: 1) λόγω του μη επεμβατικού της χαρακτήρα, 2) λόγω του ότι το αποτέλεσμα της εξέτασης μπορεί να δοθεί αμέσως μετά τη λήψη του δείγματος ή να φυλαχθεί το δείγμα των κοπράνων στους  $-20^{\circ}\text{C}$  και 3) λόγω του ότι η εξέταση μπορεί να εκτελεσθεί και από μη ειδικό ιατρό ή ακόμη και από μη ιατρό.

Η αναζήτηση του *Hp* στα κόπρανα γίνεται με δύο τεχνικές, που βασίζονται στην ανοσοενζυμική μέθοδο ELISA. Η μία είναι η συνήθης ELISA, ενώ η άλλη είναι ταχεία ELISA.

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1, η ευαισθησία (94,1%, 96,1%), η ειδικότητα (100%, 90,6%) και η αρνητική προγνωστική αξία (94,6%, 96%) και των δύο μεθόδων είναι υψηλές. Βέβαια το κόστος και των δύο δοκιμασιών και κυρίως της ταχείας είναι σχετικά υψηλό, διότι τα εμπορικά σκευάσματα, προς το παρόν, κυκλοφορούν σε συσκευασίες των 48 και 20 τεμαχίων.

**Πίνακας 1.** Αναζήτηση αντιγόνου *Hp* στα κόπρανα.

ΜΕΘΟΔΟΙ	ELISA	ELISA-TAXEIA
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ανοσοενζυμική</li> <li>• Ποσοτική</li> <li>• Χρήση σπεκτροφωτομέτρου (PREMIER HpSA MERIDIAN, DAKO)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ανοσοενζυμική</li> <li>• Ποιοτική</li> <li>• Χρήση ανοσοχρωματογραφίας (IMMUNOCARD-STAT HpSA-MERIDIAN)</li> </ul>
Ευαισθησία	94,1% (97,1%)	96,1%
Ειδικότητα	100% (89%)	90,6%
Θετική προγνωστική αξία	100% (79%)	90,7%
Αρνητική προγνωστική αξία	94,6% (98,6%)	96,0%
Κόστος	48 tests-966 €	20 tests-613 €

Τη συνήθη μέθοδο ELISA για την αναζήτηση του *Hp* στα κόπρανα εκτελέσαμε σε 82 παιδιά, ηλικίας 13 μηνών έως 15 ετών, στα οποία έγινε και ΟΓΔ.<sup>8</sup> Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής φαίνονται στον Πίνακα 1, εντός των παρενθέσεων. Η ευαισθησία (97,1%), η ειδικότητα (89%) και κυρίως η αρνητική προγνωστική αξία (98,6%) της μεθόδου είναι υψηλή.

Η εξέταση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για την πρωτοδιάγνωση της λοίμωξης από *Hp*, όσο και για τον έλεγχο της εκρίζωσης του *Hp* μετά από λήψη θεραπείας.

Η εξέταση αυτή πρέπει να γίνεται τουλάχιστον 2 μήνες μετά τη λήψη αντιβίωσης και αυτός είναι ένας λόγος που καθιστά την εξέταση, όσον αφορά την πρωτοδιάγνωση, όχι και τόσο εύχρηστη στα παιδιά, τα οποία κυρίως κατά τους χειμερινούς μήνες καλύπτονται με αντιβιώσεις για διάφορες λοιμώξεις.

Στις μη επεμβατικές μεθόδους αναφέρονται τελευταία και η αναζήτηση του αντιγόνου του *Hp* στα ούρα, ως και η εκτέλεση PCR για το *Hp* στα κόπρανα, μέθοδοι δαπανηρές, που δεν έχουν τελειοποιηθεί ακόμη.

Οι **επεμβατικές** μέθοδοι αναζήτησης του *Hp* είναι οι εξής:

#### **1) Έλεγχος των αντισωμάτων ορού IgG, IgA και IgM έναντι του *Hp*.**

Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2, τα αντισώματα IgG στον ορό ανευρίσκονται στην πρόσφατη, χρόνια και θεραπευθείσα λοίμωξη από *Hp*. Μπορούν, επίσης, να συνεχίσουν να ανευρίσκονται στον ορό 3 μήνες έως και 2 έτη μετά την εκρίζωση του *Hp*.<sup>1,11</sup>

Τα αντισώματα IgA ανευρίσκονται σε πρωτολοίμωξη και σε υποτροπή χρόνιας λοίμωξης και μπορούν να διατηρηθούν στον ορό από λίγες ημέρες έως και 3 μήνες.<sup>9</sup>

Τα IgM αντισώματα ανευρίσκονται στην πρωτολοίμωξη και παραμένουν στον ορό από λίγες ημέρες έως και 1 μήνα μετά την πρωτολοίμωξη.

Οι συνήθεις μέθοδοι ελέγχου των αντισωμάτων του ορού είναι η συνήθης ELISA (ποσοτική μέθοδος), η ταχεία ELISA (ποιοτική μέθοδος) και η ανοσοαποτύπωση (IMMUNOBLOTTING).

Στον Πίνακα 2 φαίνεται η ευαισθησία (IgG 97%) και η ειδικότητα (IgG 98,1%) των μεθόδων ελέγχου των IgG αντισωμάτων στον ορό, όσο και το κόστος των εμπορικών σκευασμάτων. Τόσο η ευαισθησία όσο και η ειδικότητα είναι υψηλές, αλλά το κόστος, ιδιαίτερα της ταχείας μεθόδου, είναι μεγάλο, αν υπολογίσει κανείς, ότι η εμπορική συσκευασία είναι των 90 και 30 τεμαχίων. Αυτό σημαίνει, ότι μόνο ένα εργαστήριο έχει, προς το παρόν, τη δυνατότητα εκτέλεσης αυτών των εξετάσεων.

**Πίνακας 2.** Συνήθεις μέθοδοι ελέγχου αντισωμάτων ορού.

	Ευαισθησία	Ειδικότητα	Κόστος
<i>ELISA</i>	97%	98,1%	96 tests
• Ανοσοενζυμική	(IgG)	(IgG)	(245 €)
• Ποσοτική			
<i>ELISA Ταχεία</i>			
• Ανοσοενζυμική	97%	98,1%	30 tests
• Ποιοτική			(290 €)
<i>Ανοσοαποτύπωση</i> (Immunoblotting)			

Η μέθοδος της ανοσοαποτύπωσης (IMMUNOBLOTTING) είναι ακριβή και χρειάζεται εξειδικευμένα εργαστήρια για να εκτελεσθεί, γι' αυτό και δεν χρησιμοποιείται παρά μόνο για ερευνητικούς λόγους.

Στον Πίνακα 3 φαίνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου των αντισωμάτων στον ορό σε 531 παιδιά, ηλικίας 2 μηνών έως 15 ετών (Μ=10 έτη), που εκτελέσαμε στο Τμήμα μας.

Από τα 115 παιδιά με θετικά IgG αντισώματα ορού και αρνητικά IgA, στα 98 (85,21%) βρέθηκε *Hr* στην ιστολογική εξέταση βιοψικού υλικού από το πυλωρικό άντρο.

Από τα 17 παιδιά με θετικά IgG και IgA αντισώματα ορού, τα 16 (94,11%) είχαν θετική ιστολογική εξέταση.

Από τα 399 παιδιά με αρνητικά και τα IgG και τα IgA αντισώματα ορού, στα 377 (94,9%) η ιστολογική εξέταση ήταν αρνητική και μόνο στα υπόλοιπα 22 παιδιά (5,1%) βρέθηκε *Hr* στην ιστολογική εξέταση.

**2) Η μέθοδος ελέγχου του εκπνεόμενου CO<sub>2</sub>, μετά πόση ουρίας σεσημασμένης με ραδιενεργό <sup>13</sup>C,<sup>6,10</sup>** είναι μία άλλη μη επεμβατική μέθοδος, η οποία όμως μερικές φορές, προκειμένου να πραγματοποιηθεί σε βρέφη και νήπια, χρειάζεται να γίνει κατά τρόπο επεμβατικό.

Η ουρία χορηγείται σε παιδιά ηλικίας 3-13 ετών σε δόση 45mg, εφ' όσον το ΒΣ είναι <50kg και σε παιδιά ηλικίας μεγαλύτερης των 13 ετών και ΒΣ>50kg, σε δόση 75mg. Η μέθοδος αυτή εκτελείται μετά νηστεία 6 ωρών και συνίσταται στην λήψη 200ml χυμού πορτοκαλιού 100% (δοκιμαστικό γεύμα) κατ' αρχάς και μετά 200 ml νερού, όπου είναι διαλυμένη η σεσημασμένη ουρία. Συλλέγονται 2 δείγματα τελοεκπνεόμενου αέρα, μετά βαθειά εισπνοή, ένα αμέσως πριν τη λήψη του δοκιμαστικού γεύματος και ένα δεύτερο δείγμα μισή ώρα μετά την πόση του διαλύματος της ουρίας. Η ανάλυση των συλλεχθέντων δειγμάτων αέρα γίνεται σε ειδικό μηχάνημα υψηλού κόστους, που λίγα εργαστήρια το διαθέτουν.

**Πίνακας 3.** Διαγνωστική αξία ελέγχου αντισωμάτων ορού σε παιδιά [531 παιδιά ηλικίας 2 μηνών - 3 ετών (Μ=10 έτη)].

	<b>Αριθμός παιδιών</b>	<b>Θετική ιστολογική εξέταση</b>	<b>Αρνητική ιστολογική εξέταση</b>
IgG(+) IgA(-)	115	98 (85,21%)	
IgG(+) IgA(+)	17	16 (94,11%)	
IgG(-) IgA(-)	399		377 (94,9%)

Η συνεργασία των μεγαλύτερων σε ηλικία παιδιών και εφήβων είναι συνήθως καλή κατά την εκτέλεση της δοκιμασίας, όμως τα παιδιά, ηλικίας μικρότερης των 6 ετών, δύσκολα συνεργάζονται. Στα μη συνεργαζόμενα παιδιά μπορεί να τοποθετηθεί μικρός καθετήρας εντός της ρινικής κοιλότητας, προκειμένου να γίνει η λήψη των δειγμάτων αέρα.

Πρέπει, επίσης, προκειμένου τα αποτελέσματα να είναι αξιόπιστα, να μην έχουν ληφθεί αντιβίωση και φάρμακα αναστέλλοντα την έκκριση του γαστρικού οξέως από τον εξεταζόμενο κατά τους τελευταίους 2 μήνες, πριν την εκτέλεση της δοκιμασίας.

Η μέθοδος έχει μεγάλη ευαισθησία (>95%) και ειδικότητα (>95%) και ενδείκνυται κυρίως για την παρακολούθηση της εκρίζωσης του *Hr*.

**3) Η ΟΓΔ** είναι μία επεμβατική μέθοδος,<sup>3</sup> η οποία, όμως, μας δίδει τη δυνατότητα όχι μόνο της ασφαλούς διάγνωσης της λοίμωξης από *Hr*, αλλά και του αποκλεισμού ύπαρξης και άλλων νοσημάτων, που παρουσιάζονται με την ίδια συμπτωματολογία.

Κατά την ΟΓΔ, όπως φαίνεται στον Πίνακα 3 λαμβάνεται βιοψικό υλικό από τον βλεννογόνο του πυλωρικού άντρου για εκτέλεση:

- α. Ταχείας δοκιμασίας ελέγχου της ουρεάσης (CLO-TEST). Η δοκιμασία αυτή έχει ευαισθησία και ειδικότητα >95%.
- β. Καλλιέργειας για ανάπτυξη του *Hr* και αντιβιογράμματος. Η εξέταση αυτή παρέχει τη δυνατότητα της ταυτοποίησης του μικροβίου, αλλά ενώ έχει ειδικότητα >95%, έχει ευαισθησία >75%. Η δυνατότητα εκτέλεσης του αντιβιογράμματος βοηθάει στις περιπτώσεις ανάπτυξης ανθεκτικού *Hr* στα συνήθη αντιβιοτικά.<sup>14</sup>
- γ. Ιστολογικής εξέτασης και χρώσης με GIEMSA. Η δοκιμασία αυτή έχει ευαισθησία και ειδικότητα >95%.
- δ. PCR (Protein Chain Reaction). Η μέθοδος αυτή παρέχει τη δυνατότητα της ταυτοποίησης και τυποποίησης των στελεχών του *Hr* και έχει ευαισθησία >95% και ειδικότητα 100%, είναι όμως δαπανηρή και εκτελείται μόνο σε εξειδικευμένα εργαστήρια, κυρίως για ερευνητικούς σκοπούς.

Τα πλεονεκτήματα της εκτέλεσης ΟΓΔ στα παιδιά είναι:

- Ο συνδυασμός των αποτελεσμάτων, από τον πλήρη έλεγχο που γίνεται, μας δίνει τη δυνατότητα ασφαλούς διάγνωσης.
- Είναι ανώδυνη μέθοδος, γιατί στα παιδιά γίνεται μετά από χορήγηση αναισθησίας.

Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι, ότι είναι επεμβατική και χρειάζεται τα παιδιά να εισαχθούν στο νοσοκομείο, για λίγες ώρες, εκτός εάν πρόκειται για έφηβους, που μπορούν να συνεργασθούν και να αποφύγουν τη λήψη αναισθησίας.

Τελικά καταλήγουμε στα εξής συμπεράσματα:

- Ο συνδυασμός ελέγχου των αντισωμάτων IgG και IgA του ορού έναντι του *Hp*, ως και η αναζήτηση του αντιγόνου του *Hp* στα κόπρανα, έχει σημαντική διαγνωστική αξία επί συμφωνίας των αποτελεσμάτων και έτσι μπορεί να αποφευχθεί η εκτέλεση ΟΓΔ.
- Η υψηλή αρνητική προγνωστική αξία του συνδυασμού των IgG και IgA αντισωμάτων του ορού έναντι του *Hp* και η εξάλειψη των συμπτωμάτων από το πεπτικό μετά από συντηρητική αγωγή, μπορεί να αποτρέψει την εκτέλεση ΟΓΔ.
- Ο έλεγχος των αντισωμάτων IgG και IgA του ορού έναντι του *Hp* δεν αποτελεί ιδανική μέθοδο παρακολούθησης της εκρίζωσης του *Hp*.<sup>5</sup>  
Ο έλεγχος του αντιγόνου *Hp* στα κόπρανα μετά τουλάχιστον 2 μήνες από τη διακοπή της θεραπείας, θα αποτελέσει τη μέθοδο εκλογής για την παρακολούθηση της εκρίζωσης του *Hp* στα παιδιά, όταν μειωθεί το κόστος της.
- **Έως, κυρίως, το κόστος των ανωτέρω μεθόδων να μειωθεί περαιτέρω, η ΟΓΔ αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για την διάγνωση και παρακολούθηση της εκρίζωσης του *Hp* στα παιδιά.**

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bergey B, Marchildon P, Peacock J, Megraud F. What is the role of serology in assessing *Helicobacter pylori* eradication? *Aliment Pharmacol Ther* 2003;18:635-9.
2. Bode G, Machildon P, Peacock J, Brenner H, Rothenbachen D. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children in comparison of a salivary immunoglobulin antibody test with the 13C urea breath test. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:493-5.
3. Cadranel S, Gottrand F. Is upper gastrointestinal endoscopy required for diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection in children? Pro and cons. *Arch Pediatr* 2003;10:256-9.

4. EHPSC - Maastricht Consensus Report, 1-20 September 2000.
5. Herbrink P, van Doorn LJ. Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring of eradication therapy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000;19:164-73.
6. Imvic C, Rowland M, Bourke B, Drum B. Limitations to carbon 13-labeled urea breath testing for *Helicobacter pylori* in infants. J Pediatr 2001;139:734-7.
7. Kabir S. Review article: clinic based testing for *Helicobacter pylori* infection by enzymeimmunoassay of faeces, urine and saliva. Alliment Pharmacol Ther 2003;17:1345-54.
8. Katsiyiannakis E, Giannakis M, Mirilla I, Bouzizi P, Bassanou E, Kassiou K, Charissiadou A, Mentis A, Pangalis A. Antigen enzyme immunoassay in stool specimen for diagnosis and monitoring of *Helicobacter pylori* infection in children. World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Aug 2000, Boston Massachusetts, U.S.A. (in press).
9. Kindermann A, Konstantopoulos N, Lehn N, Demmelmair H, Koletzko S. Evaluation of two commercial enzymeimmunoassays, testing immunoglobulin G (IgG) and IgA responses, for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. J. Clin Microbiol 2001;39:3591-6.
10. Koletzko S, Feydt-Schmidt A. Infants differ from teenagers: use of non-invasive tests for the detection of *Helicobacter pylori* in children. Gastroenterology 2001;121:310-6.
11. Kohlo KL, Korhonen J, Verkasalo M, Lindahl H, Savilahti G, Rantelin H. *Helicobacter pylori* serology at diagnosis and follow up of biopsy verified infection in children. Scand J Infec Dis 2002;34:177-82.
12. Koletzko S, Konstantopoulos N, Bosman D, Feydt-Schmidt A, van der Ender A, Kalach N, Raymond J, Russmann H. Evaluation of a novel monoclonal enzymeimmunoassay for detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool from children. Gut 2003;52:804-6.
14. Mentis A, Roma E, Pangalis A, Katsiyiannakis E. Susceptibilities of *Helicobacter pylori* strains isolated from children with gastritis to selected antibiotics. J Antimicrob Chemother 1999;44:720-2.
15. Voriva D, Vaki N. Blood, urine, stool, health, money and *Helicobacter pylori*. Gut 2001;48:287-9.
16. Roggero P, Bonfiglio A, Luzzani S, Valade A, Cataliotti E, Corno G, Garlasdi MC, Carissimi E, Mosca F, Carnelli V. *Helicobacter pylori* stool antigen test: a method to confirm eradication in children. J Pediatr 2002;140:775-7.