

Il Breath Test come indagine non invasiva di scelta per lo screening iniziale della dispepsia non ulcerosa

N. IERFONE, A. DI FULVIO, M. STANDOLI, S. PONTONE, M. TONDA, e P. PONTONE

RIASSUNTO: Il Breath Test come indagine non invasiva di scelta lo screening iniziale della dispepsia non ulcerosa.

N. IERFONE, A. DI FULVIO, M. STANDOLI, S. PONTONE, M. TONDA e P. PONTONE

*In considerazione dell'importanza del ruolo dell'*Helicobacter Pylori* (HP) nella patogenesi delle più comuni patologie gastro-enteriche, gli Autori hanno ritenuto opportuno testare la validità di una delle tecniche diagnostiche non invasive per il riconoscimento della presenza dell'HP nella mucosa gastrica.*

Alla fine dell'esperienza si può concludere, in accordo con la maggior parte degli Autori, che il Breath Test va considerato assai valido sia per sensibilità che per specificità.

SUMMARY: The Breath-Test as first step to the screening of non-ulcerous dyspepsia.

N. IERFONE, A. DI FULVIO, M. STANDOLI, S. PONTONE, M. TONDA, e P. PONTONE

*Considering the important role of *Helicobacter Pylori* (Hp) in the most common gastro-intestinal pathologies, the Authors want to test the effectiveness of a non-invasive diagnostic technique for detection of the Hp in the gastric mucosa.*

At the end of experience they think, like the most of Literature, that the Breath Test, concerning sensibility and specificity, represent the gold standard for detection of the Hp.

KEY WORDS: Dispepsia - *Helicobacter Pylori* - Esami diagnostici.
Dyspepsia - *Helicobacter Pylori* - Diagnostic test.

Premessa

L'infezione da *Helicobacter Pylori* (HP) viene considerata un problema sanitario di rilevanza mondiale in relazione alla notevole diffusione del germe nella popolazione generale e in particolare nei pazienti che lamentano sintomatologia dispeptica (Fig. 1).

La sua diffusione nella popolazione varia secondo l'area geografica così che l'infezione da HP ha andamenti differenti nei Paesi in via di sviluppo ed in quelli industrializzati. Nei primi l'infezione è diffusa ampiamente nell'età infantile, tanto che oltre il 60-70% dei bambini sotto i 5 anni si infetta e quasi tutti gli adulti sono portatori del germe. Nei Paesi sviluppati, invece, la prevalenza dell'infezione cresce con l'età a partire dalla terza-quarta decade, con una variabilità tra il 50 e il 70% (Fig. 2) (1, 2).

La sua scoperta ed il riconoscimento del ruolo patogenetico di questo batterio nella maggior parte

delle patologie gastroenteriche ne hanno profondamente segnato l'approccio diagnostico e terapeutico. Attualmente la diagnosi della presenza dell'*Helicobacter Pylori* e la sua eradicazione costituiscono un elemento cruciale nell'iter dei pazienti con sintomatologia dispeptica.

La diagnosi di infezione da *Helicobacter Pylori* può avvalersi come nessun'altra infezione di una grandissima varietà di metodiche diagnostiche che vengono distinte in test invasivi e non invasivi, a seconda che richiedano o meno l'esecuzione di una biopsia perendoscopica.

Negli ultimi anni si è assistito ad una sempre maggior diffusione dei test non invasivi ed il loro successo dipende dalla possibilità che offrono di evitare, in rapporto all'età del paziente, ai sintomi, alla presenza o meno di segni di allarme, il ricorso all'esame endoscopico come prima indagine diagnostica.

Diagnostica

Nella diagnosi dell'infezione da *Helicobacter Pylori* l'istologia è considerata il "gold standard" di riferi-



Fig. 1- Diffusione dell'infezione da HP nel mondo.

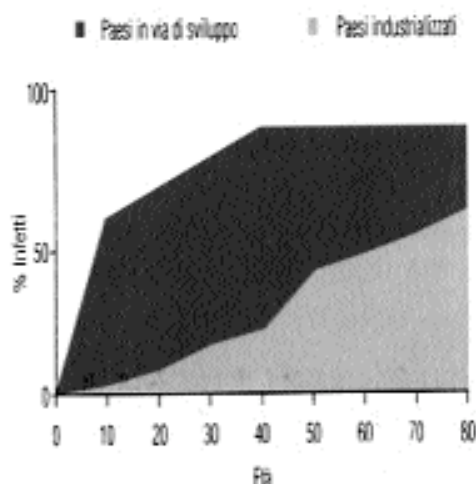


Fig.2 - Prevalenza dell'infezione da HP

mento per tutti gli altri test e consente di accertare l'esistenza dell'infezione nonché di caratterizzare il danno infiammatorio e degenerativo della mucosa gastrica ad essa correlato (Figg. 3 e 4).

L'accuratezza diagnostica dipende da vari fattori fra cui numero, sede, dimensione dei prelievi biotici ed anche dall'esperienza del patologo che studia il preparato istologico (4). Sono necessari quattro prelievi biotici (due nell'antro e due nel corpo gastrico) per una sensibilità diagnostica pari al 100%. Se il paziente ha assunto di recente inibitori di pompa protonica (PPI), sono necessarie biopsie multiple del corpo e del fondo poiché in tali condizioni la coloniz-

zazione batterica tende a ridursi ed a modificarsi, con il corpo gastrico più infettato rispetto all'antro (Fig.5).

L'esame colturale dovrebbe essere il test di riferimento nella diagnosi di infezione. Essendo tuttavia una metodica lunga e laboriosa che richiede particolari accorgimenti, diventa di fatto poco accurato e pertanto improponibile come "gold standard" (4).

Infatti, l'*Helicobacter Pylori* è un batterio particolarmente sensibile all'essiccamento, per cui i campioni biotici devono essere trasportati in laboratorio il più rapidamente possibile e mantenuti umidi con l'aggiunta di alcune gocce di soluzione fisiologica sterile o mediante l'impiego di soluzioni di trasporto. Le biopsie vanno incubate il più rapidamente possibile o, qualora vengano umidificate, l'inseminazione su piastra può essere ritardata fino a 24 ore dal prelievo purché la temperatura sia mantenuta a 4° C (3, 4).

I vantaggi dall'esame colturale consistono nella possibilità di eseguire un antibiogramma e tipizzare i ceppi isolati con metodi biomolecolari, nonché di comprendere meglio l'antibiotico-resistenza del batterio. Per esempio, la resistenza alla claritromicina è dovuta ad una mutazione puntiforme in un'ansa conservata della sub unità 23S dell'rRNA (20).

Altra alternativa è il test rapido all'ureasi che sfrutta la potente attività ureasica prodotta dall'*Helicobacter Pylori* (RTU), che scinde l'urea, contenuta nel medium, in anidride carbonica ed ammoniaca.

L'innalzamento del pH indotto dall'ammoniaca viene rilevato da un indicatore (rosso fenolo). La sensibilità e specificità di questi test variano dall'85 al 95% e dipendono dal tipo di kit usato (CP-TEST, CLO-TEST) e, quindi, dal mezzo contenente l'indi-

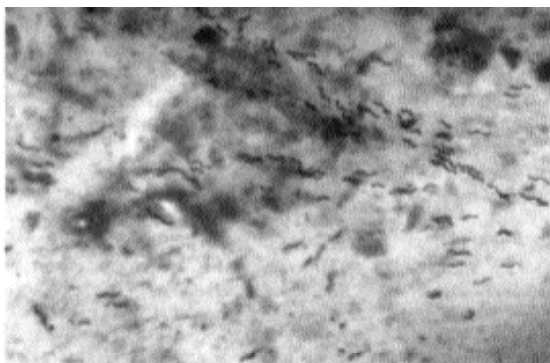


Fig. 3 - Si apprezzano numerosi batteri tipo HP nella mucosa gastrica.

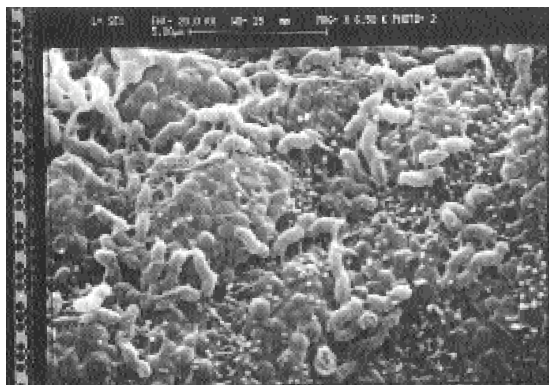


Fig. 4 - Studio in microscopia elettronica di mucosa gastrica invasa da HP.

catore di pH, dal tempo di osservazione, variabile da 20-30 minuti fino a 24 ore, dalla validità del prelievo. È opinione consolidata che il test non vada attuato in corso di trattamento con farmaci antisecretivi in grado di inibire l'attività ureasica del batterio e in caso di sospensione della terapia da meno di dieci giorni. In questi casi, anche se correttamente eseguito, il test potrebbe non riconoscere un'infezione con carica batterica molto ridotta (5-7).

I test sierologici sono test considerati non invasivi, che ricercano la presenza di anticorpi verso l'*Helicobacter Pylori*. Come tali, essi indicano l'avvenuta esposizione al germe, senza peraltro essere in grado di valutare se l'infezione è al momento attiva oppure no. Essi vengono schematicamente distinti in test di laboratorio, quando sono eseguiti con strumentazione specifica "ad hoc", ed in test ambulatoriali, quando sono effettuati di fronte al paziente fornendo risultati immediati, i cosiddetti "near patient test".

La sensibilità dei test sierologici di laboratorio va dal 90 al 100% mentre scende al 70-85% per quelli ambulatoriali. La loro specificità è in genere più bassa e più variabile (75-80%) (8).

I valori di sensibilità e specificità sono, inoltre, dipendenti da diversi fattori: età del soggetto, somministrazione di farmaci (FANS), coesistenza di altre patologie, quali cirrosi, fibrosi cistica del pancreas, e soprattutto sono in relazione al ceppo di *Helicobacter Pylori* infettante. Gli studi di immunologia hanno, infatti, dimostrato che esistono delle differenze sia qualitative che quantitative del pattern di risposta anticorpale in relazione al ceppo infettante.

Recentemente è stato posto in commercio un kit per la ricerca immunoenzimatica di tipo qualitativo di antigeni da *Helicobacter Pylori* nelle feci (HpSA). Le informazioni disponibili evidenziano buone sensibilità (96%) e specificità (98%) e suggeriscono una potenziale utilizzazione dell'indagine, in alternativa ed altri test non invasivi, nella diagnostica di infezione e

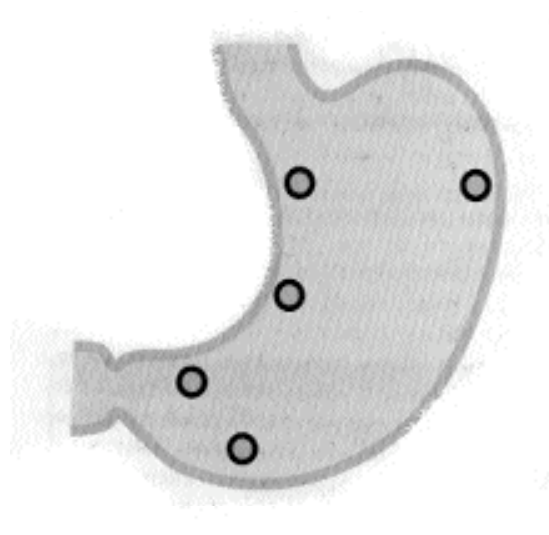


Fig. 5 - Biopsie come da protocollo.

nella valutazione del successo terapeutico in pazienti in cui non è necessario un controllo endoscopico (13,14).

Le esperienze disponibili sono tuttavia molto limitate e meritano di essere confermate in casistiche più ampie e rappresentative, anche in considerazione del fatto che alcuni Autori (17-19) riconoscono la sua validità soprattutto come esame di controllo dell'avvenuta eradicazione del batterio dopo terapia, mentre altri considerano tale test più affidabile per la diagnosi pre-trattamento (21, 22).

Il Breath Test rappresenta sicuramente l'esame non invasivo di riferimento sia per la sua accuratezza, in quanto possiede sensibilità pari al 90-100% e specificità del 99%, sia per la sua tollerabilità e facile esecuzione (9,10). Questo test si basa sull'idrolisi indotta dall'attività ureasica dell'*Helicobacter Pylori*, di urea

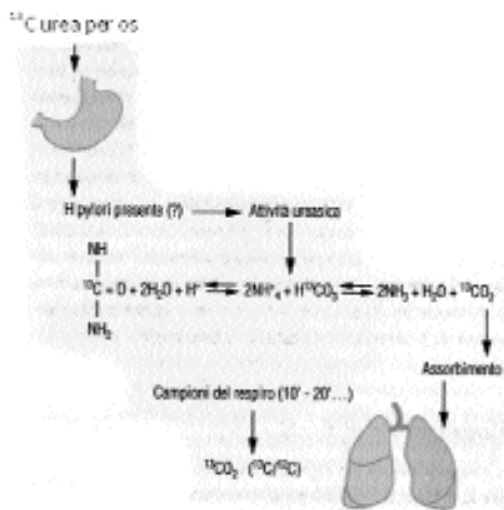


Fig. 6 - ¹³C- Urea Breath Test.

isotopicamente marcata con ¹⁴C (radioattivo) o ¹³C (stabile non radioattivo) e sulla formazione di ammonio e anidride carbonica marcata (Urea Breath Test-UBT).

Dopo essere stata assorbita attraverso le pareti gastriche, la CO₂ marcata passa nel pool dei bicarbonati plasmatici e, quindi, viene espirata. La presenza nel respiro di anidride carbonica marcata equivale a dimostrare la presenza di ureasi batterica nella cavità gastrica (Fig. 6).

Se il batterio è assente, l'urea marcata non viene idrolizzata (le cellule dell'organismo umano non possiedono attività ureasica) ed è eliminata con le feci.

In genere il test viene eseguito in laboratorio somministrando al paziente 100-125 mg di un pasto contenente dai 100 ai 237 ml di integratore ricco in lipidi (11) oppure 75 mg di ¹³C-urea disciolta in 100-200 ml di acido citrico o succo di frutta (12). Il momento della raccolta dell'espirato avviene a circa trenta minuti dalla somministrazione dell'urea marcata ed il valore del cut-off normale è pari al 5 %.

Le tecniche di rilevazione della anidride carbonica marcata sono diverse a seconda dell'isotopo adoperato. Mentre la ¹⁴CO₂ viene misurata con *beta-counter*, strumento generalmente presente in numerosi ambulatori, la ¹³CO₂ viene misurata con lo spettrometro di massa atomica, strumento sofisticato disponibile in pochi centri.

La differenza fra il ¹⁴C-UBT ed il ¹³C-UBT non consiste unicamente nelle tecniche di misurazione ma anche nel fatto che il primo espone ad una dose di radioattività equivalente a quella di un giorno di esposizione alla radioattività di fondo naturale, mentre il secondo è totalmente non radioattivo e quindi può

essere usato con sicurezza anche nei bambini e nelle donne gravide.

Pazienti e metodi

Nella nostra Unità Operativa Complessa di Chirurgia Endoscopica (Direttore: Prof. P. Pontone) del Dipartimento di Scienze Chirurgiche della I Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università "La Sapienza" di Roma, abbiamo sottoposto al Breath Test (¹³C-UBT) per la ricerca dell'*Helicobacter* un gruppo di pazienti che presentavano una sintomatologia dispeptica, senza segni d'allarme, come anemia, perdita di peso, vomito, senza familiarità per cancro o GERD, utilizzandolo come primo test di screening data la sua elevata accuratezza, l'estrema disponibilità del paziente a sottoporsi a tale indagine non invasiva e l'assoluta semplicità di esecuzione. Infatti, è inutile sottolinearlo, i pazienti non lamentano alcun disturbo né durante né dopo la effettuazione dell'esame.

I partecipanti allo studio, condotto dal novembre 2000 all'aprile 2002, sono stati 345 di cui 142 di sesso maschile e 203 di sesso femminile, con età media di 45 anni.

Di questi, 165 presentavano epigastralgia, 98 dispepsia, 59 meteorismo addominale e 23 positività familiare verso l'*Helicobacter Pylori* in assenza di sintomi clinici.

Dei 345 pazienti sottoposti al test del respiro 252 (73%) sono risultati positivi alla ricerca del batterio, mentre 93 (27%) erano negativi (Figg. 7 e 8).

I 252 pazienti positivi sono stati quindi sottoposti ad un ciclo di terapia eradicante (Tripla: PPI 20 mg x 2/die per una settimana, amoxicillina 1 per 2/die per sette giorni, claritromicina 500 mg per 2/die per sette giorni) ed a un successivo controllo con Breath Test dopo 30 giorni dalla sospensione della terapia.

Al controllo 237 pazienti (94%) sono risultati negativi alla ricerca dell'*Helicobacter Pylori* con risoluzione della sintomatologia dispeptica, mentre 15 (6%) hanno evidenziato la mancata eradicazione del batterio. Questi ultimi sono stati quindi sottoposti ad un nuovo ciclo di terapia eradicante (Quadruplice: PPI 20 mg x 2/die per una settimana, amoxicillina 1 g per 2/die per cinque giorni, claritromicina 500 mg per 2/die per cinque giorni, metronidazolo 250 mg per 3/die per cinque giorni).

Al controllo, sempre con il Breath-Test, 3 pazienti di questi ultimi sono risultati nuovamente positivi e, quindi, abbiamo ritenuto opportuno sottoporli ad esofagogastroduodenoscopia (EGDS) per eseguire un controllo istologico dell'*Helicobacter Pylori*, con successivo esame colturale ed antibiogramma per definire con maggior precisione l'antibiotico da usare nel caso specifico. Taluni Autori (15, 16), infatti, hanno proposto l'uso della tetracicline, dei macrolidi, etc. nel caso di resistenza agli antibiotici usati più di frequente.

Conclusioni

Il nostro studio ci porta a concludere che, di fronte a pazienti giovani con una sintomatologia di tipo dispeptico, non indicativa di reflusso ma di una patologia gastrica, e che non presentano segni di allarme, sia giusto proporre come prima indagine il Breath Test per valutare la presenza dell'*Helicobacter Pylori*.

Se il paziente risulterà positivo alla ricerca, dovrà essere trattato per l'eradicazione del batterio e, se si otterranno la scomparsa della sintomatologia e l'eradicazione dello stesso, valutata sempre con il Breath

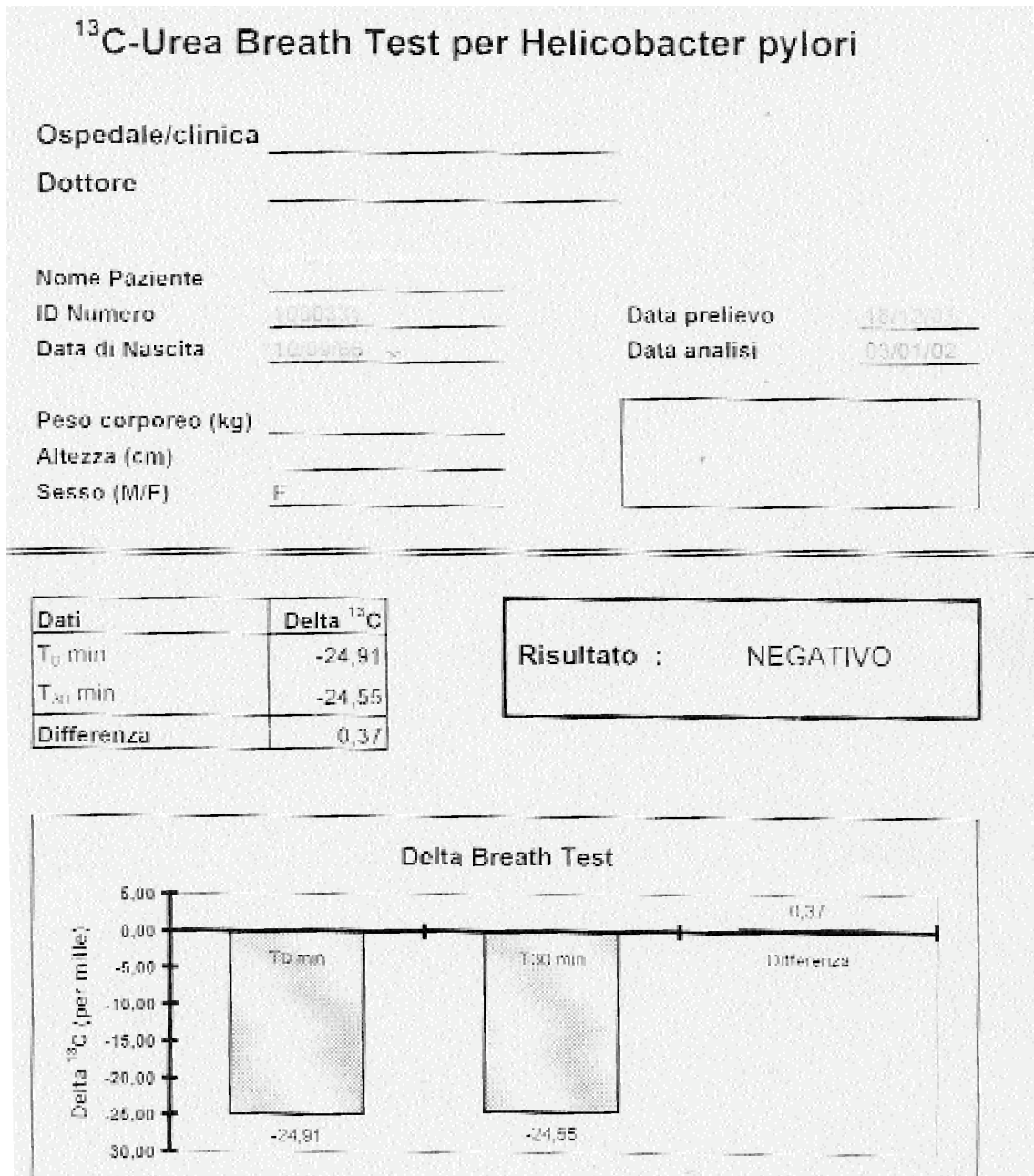


Fig. 7 - BreathTest. Risultato negativo.

Test, non lo si sottoporrà all'esame endoscopico. Qualora, al contrario, il risultato del test di controllo risulti negativo, ma la sintomatologia dispeptica persista anche dopo un ulteriore periodo di assunzione di PPI, si consiglia al paziente di sottoporsi ad EGDS per escludere la presenza di eventuali lesioni della

mucosa gastrica o duodenale responsabili della sintomatologia stessa.

Di fronte, invece, ad un paziente con età superiore a 45 anni che presenti una sintomatologia dispeptica, anche se non sono presenti i sintomi d'allarme prima menzionati, sarà necessario il ricorso all'esame endo-

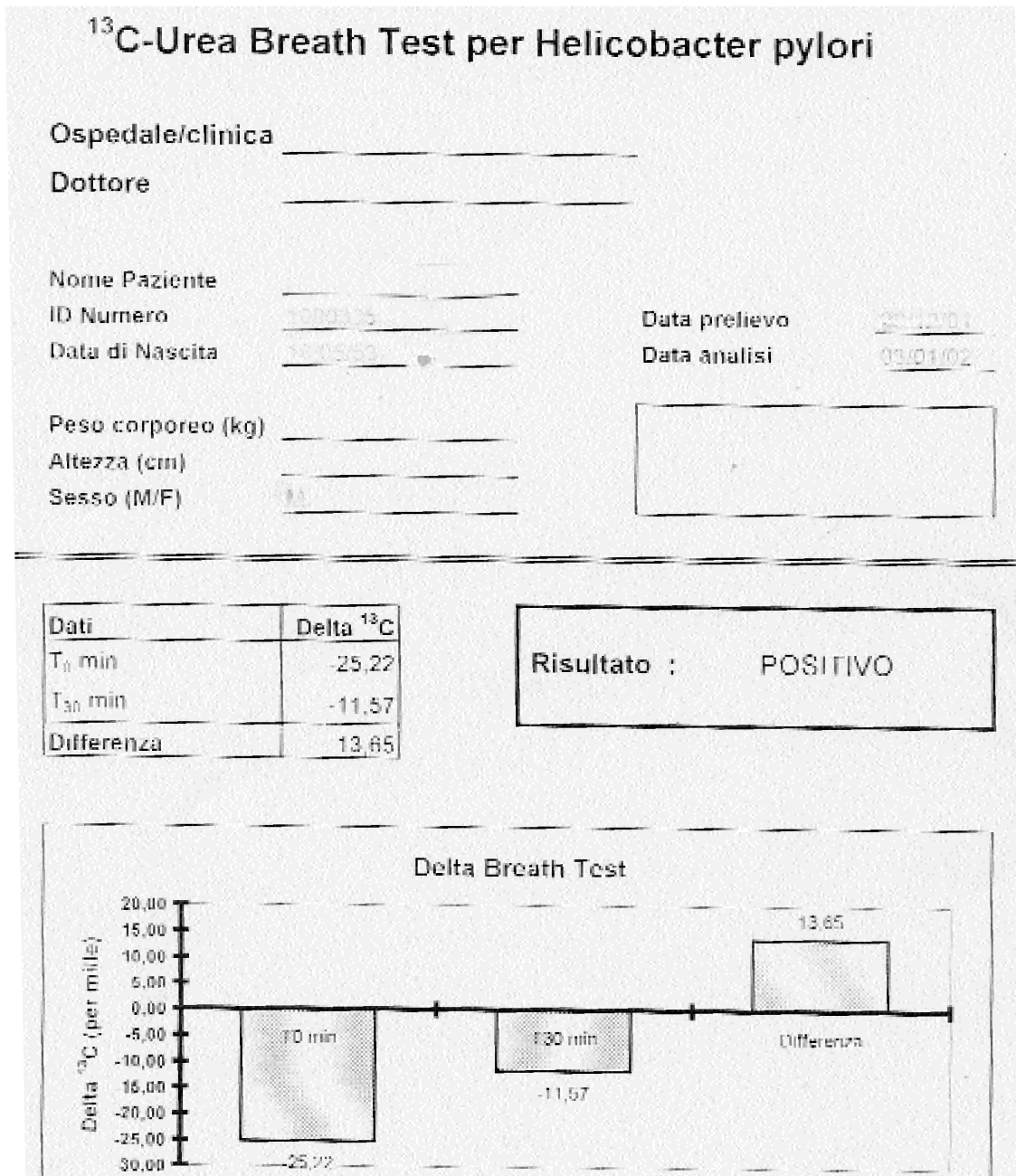


Fig. 8 - BreathTest. Risultato positivo.

scopico perché in questi casi è più probabile, indipendentemente dalla sussistenza di una positività all'infezione da *Helicobacter Pylori*, la presenza di alterazioni della mucosa gastrica di significato preneoplastico o di lesioni neoplastiche vere e proprie.

È nostra opinione che il test ideale per la diagnosi

di infezione da *Helicobacter Pylori* dovrebbe avere le seguenti caratteristiche: accuratezza elevata, riproducibilità, non invasività, facilità di esecuzione, basso costo, rapidità dei risultati. Nessuno dei test oggi disponibili può essere considerato come test ideale. Perciò la scelta deve basarsi sulle caratteristiche del

test e soprattutto deve tener conto del contesto clinico in cui la diagnosi di infezione viene richiesta.

In particolare modo si deve tenere presente l'età del paziente, il tipo di sintomatologia, la presenza di sintomi e/o segni sospetti, la avvenuta assunzione da parte del paziente di terapia antibiotica o di farmaci in grado di bloccare l'attività ureasica dell'*Helicobacter Pylori*.

Per il paziente giovane con sintomatologia dispeptica non complicata, e che non è mai stato trattato per tale sintomatologia, riteniamo utile proporre, come prima indagine diagnostica, il Breath Test; qualora questo risulti positivo sarà opportuno decidere di sot-

toporlo a terapia eradicante. È questo il cosiddetto "test and treat" proposto per la prima volta da Bianchi Porro nella sua ricerca pubblicata sul *Corriere Medico* del 30 settembre 2002. Il risultato è stato positivo, nel 50-70% dei pazienti trattati.

Nel paziente con età superiore ai 45 anni e sintomatologia dispeptica, la migliore strategia è sicuramente quella di procedere all'effettuazione di un esame endoscopico durante il quale si eseguiranno dei prelievi biotipici sia per il test rapido dell'ureasi (RUT) che per l'esame istologico. La decisione del tipo di trattamento sarà presa sulla base della risposta di queste due indagini diagnostiche.

Bibliografia

1. Pounder RE, Neg D: The prevalence of *Helicobacter Pylori* infection in different countries. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 (suppl 2):33.
2. Parsonnet J: The incidence of *Helicobacter Pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 (suppl 2):45.
3. Megraud F: Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter Pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1996 (Suppl.215), 31,57.
4. Glupczyński Y: Culture of *Helicobacter Pylori* from gastric biopsies and antimicrobial susceptibility testing. In: Lee A, Megraud F (Eds), *Helicobacter Pylori: techniques for clinical diagnosis and basic research*, London WB Saunders, 1996; pp.17-32.
5. Vaira D, Holton J, Courus S et al: Urease tests for *Campylobacter pylori*: care in interpretation. *J Clin Pathol* 1988; 41: 812.
6. Laine L, Estrada R, Lewin DN, Cohen H: The Influence of warming on rapid urease test results: a prospective evaluation. *Gastrointest Endosc* 1996;44:429.
7. Laine L, Chun D, Stein C et al: The influence of size number of biopsies on rapid urease test results: a prospective evaluation. *Gastrointest Endoscopy* 1996; 43 :49.
8. Vaira D, Holton J, Menegatti M et al: Blood tests, in the management of *Helicobacter pylori*. *Gut*, 1998; 43 (suppl.1) S 39-S46.
9. Perri E, Festa R, Quitaamo M, Andriulli A: Methodological problems and pitfalls of urea Breath-test. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30 (Suppl 3): s315.
10. Kel McColl, LS Murray, Gillen D, Walker A, Wirz A, Fletober J, Mowat C, Henry E, Kelman A: Randomised trial of endoscopy diagnosis compared with non invasive *H. pylori* testing alone in the management of dyspepsia. *BMJ* 2002; 324:999.
11. Logan RPH, Dill S, Baner FE, et al: The European 13 C urea breath-test for detection of *H. pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3: 915.
12. Klein PD, Malaty HM, Martin RF, et al: Non invasive detection of *H. pylori* infection in clinical practice. The 13 C urea breath-test. *Am J Gastroenterol* 1996; 91, 690.
13. Vaira D, Menegatti M, Acciardi C, et al: A novel antigen assay based on stool specimen for the detection and the follow up of *Helicobacter pylori*. Preliminary report. *Gastroenterol* 1998; 114:A317.
14. Trevisani L, Sartori S, Galvani F et al: Two unusual techniques for diagnosing *Helicobacter Pylori* infection. *Gastroenterol International* 1997; 10 (Suppl 4): 58.
15. Megraud F, Pichavant R, Palegry D et al.: Ranitidine bismuth citrate (RBC) coprescribed with clarithromycin is more effective in the eradication of *H. pylori* than omeprazole with clarithromycin. *Gut* 1997; 41 (suppl1): A 337.
16. Savarino V., Bisso G, Pivari M, Bilardi C, et al: A comparison of three 7-day triple regimens in the eradication of *Helicobacter pylori* infection. Preliminary results. *Gastroenterol* 1998; 114 (4) a, 1187 (Abstract) DDW 1998.
17. Altinola M, Dilek ON: Usefulness of the HP stool antigen-test detection HP infection. *Acta Gastroenterol Belg*, 2002; 65 (2):74.
18. Manes G, Balzano A, Iaquinto G: Accuracy of stool antigen test in post-eradication assessment of HP infection. *Dig Dis Sc* 2001; 46 (11): 2440.
19. Vaira D, Vakil N, Menegatti M et al: The stool antigen test for detection of HP after eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 (suppl): 16.
20. Rotimi O, Cairus A, Gray S, Moayyedi P, Dixon MF: Histological identification of *Helicobacter Pylori*: comparison of staining methods. *J Clin Pathol* 2000; 53: 756.
21. Gisbert JP, Cabrera MD, Pajares JM: Stool antigen test for initial *Helicobacter Pylori* diagnosis and for confirmation of eradication after therapy. *Med Clin (BBARC)* 2002; 118 (11): 401.
22. Arents NL, Van Zwetaa, Thijs JC, Jong A: The accuracy of the *Helicobacter Pylori* stool antigen test in diagnosis of *Helicobacter Pylori* in treated and untreated patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13 (4), 383.