

Trzy pytania zamiast jednego: zintegrowana diagnostyka *Helicobacter pylori* w materiale histopatologicznym

Od rozdziału wycinków do pojemników, przez stopień OLGA i OLGIM, po genotyp oporności na klarytromycynę oznaczony z tego samego bloczka parafinowego — z propozycją algorytmu refleksowego HpFFPE-R oraz wskaźnika jakości przedanalizycznej Hp-PAQI.

Autor korespondencyjny Zakład Patomorfologii • Pracownia Diagnostyki Molekularnej

PRACA POGLĄDOWA

PROPOZYCJA AUTORSKA

STRESZCZENIE

Rozpoznanie zakażenia *Helicobacter pylori* w materiale histopatologicznym bywa sprowadzane do pytania, czy w preparacie widać bakterie. Praca dowodzi, że jest to pytanie niewystarczające, i porządkuje zagadnienie wokół trzech pytań, na które współczesny raport powinien odpowiadać: o obecność zakażenia, o stopień zaawansowania zmian przedrakowych i o lekowrażliwość szczepu.

Omówiono granice wykrywalności barwień zależnie od gęstości kolonizacji, powtarzalność oceny parametrów zaktualizowanego systemu Sydney, znaczenie rozdziału wycinków do osobnych pojemników dla wyliczenia stopnia OLGA i OLGIM oraz możliwość oznaczenia mutacji genu 23S rRNA bezpośrednio z bloczka parafinowego. Wskazano aktualną rozbieżność między wytycznymi MAPS III z 2025 r. a zaleceniami PTG-E z 2023 r. w sprawie wycinka z wcięcia kąтового.

Zaproponowano algorytm refleksowy HpFFPE-R oraz pięciopunktowy wskaźnik jakości przedanalizycznej Hp-PAQI, kwalifikujący wiarygodność wyniku ujemnego. Oba elementy są propozycją autorską i wymagają walidacji prospektywnej.

SŁOWA KLUCZOWE • *Helicobacter pylori* • zaktualizowany system Sydney • OLGA • OLGIM • oporność na klarytromycynę • 23S rRNA • materiał FFPE • jakość przedanalizyczna

CO WNOSI TA PRACA

- 1 Przeniesienie punktu ciężkości z pytania „czy widać bakterie” na **trzy pytania raportu**: obecność, ryzyko, lekowrażliwość.
- 2 Autorski algorytm refleksowy **HpFFPE-R**, w którym wszystkie trzy odpowiedzi powstają z jednego bloczka parafinowego.
- 3 Autorski wskaźnik **Hp-PAQI** — pięć pozycji, które zamieniają wynik ujemny w wynik interpretowalny.
- 4 Zestawienie rozbieżności MAPS III (2025) i PTG-E (2023) co do wycinka z wcięcia kąтового wraz z propozycją postępowania w Polsce.

3,9%

Zgodność z protokołem
zestawów wycinków spełniało
wymóg osobnych pojemników w
analizie 400 738 badań ⁵

14,8 : 6,0%

Cena etykiety
wykrywalność zakażenia przy
zgodności z protokołem i bez niej ⁵

41%

Efekt IPP
chorych, u których po 4 tygodniach
leczenia bakterie zniknęły z
antrum, pozostając w trzonie ¹⁸

94,1%

Genotyp z bloczka
zgodność oznaczenia oporności na
klarytromycynę z FFPE z
antybiogramem ²⁰

01

Wynik, którego nie da się zinterpretować

ZDANIE „NIE STWIERDZONO DROBNOUSTROJÓW O MORFOLOGII *Helicobacter pylori*” jest najczęstszą konkluzją badania wycinka żołądka i jednocześnie zdaniem, którego klinicysta nie potrafi zinterpretować. Nie wiadomo bowiem, czy oznacza ono brak zakażenia, czy brak zakażenia **wykrywalnego użytą metodą, w materiale, który wpłynął do pracowni**. To rozróżnienie nie jest scholastyczne: przekłada się na to, czy chory dostanie antybiotyków i czy zostanie objęty nadzorem.

Skalę problemu pokazuje analiza **400 738 zestawów wycinków żołądka**. Tylko **3,9%** spełniało wymóg zaktualizowanego systemu Sydney — co najmniej dwa wycinki z antrum i dwa z trzonu przesłane **w osobnych pojemnikach**; blisko jedna

czwarta nie miała żadnego oznaczenia topograficznego. Wykrywalność zakażenia w zestawach zgodnych z protokołem wyniosła **14,8%**, a w pozostałych — **6,0%** ⁵. Ta sama pracownia, te same barwienia, ta sama wiedza; różnicę robi pojemnik i etykieta.

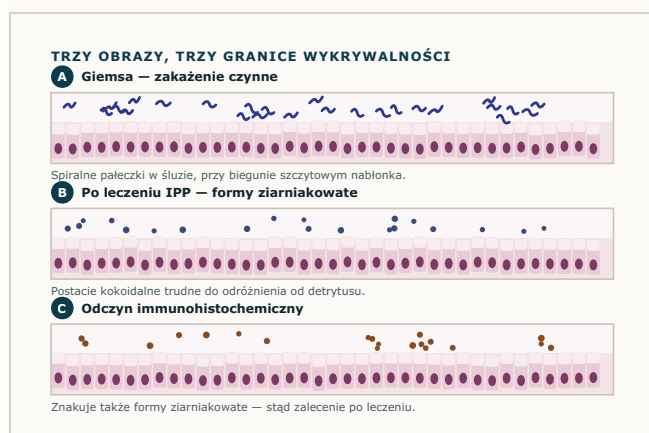
Teza tej pracy jest następująca: raport z wycinka żołądka powinien odpowiadać nie na jedno pytanie, lecz na **trzy** — czy jest zakażenie, jakie jest ryzyko nowotworzenia i czy planowany antybiotyk zadziała. Wszystkie trzy odpowiedzi można dziś uzyskać z **jednego bloczka parafinowego**, bez hodowli i bez powtórnej endoskopii. Poniżej omawiam każde z pytań, a następnie przedstawiam autorską propozycję protokołu **HpFFPE-R** oraz wskaźnika **Hp-PAQI**, który czyni wynik ujemny wynikiem interpretowalnym.

02

Pytanie pierwsze: czy jest zakażenie?

Bakteria bytuje w warstwie śluzu i przy biegunie szczytowym nabłonka dołączkowego, kolonizując błonę śluzową ogniskowo. Mapowanie topograficzne u chorych zakażonych wykazało mniej niż 3% wyników fałszywie ujemnych na wycinek z antrum wobec 6–9% na wycinek z trzonu ⁷.

OSOBNYM ZAGADNIENIEM JEST GRANICA WYKRYWALNOŚCI METODY. W badaniu z wewnętrzną kontrolą, w którym u tych samych chorych porównano trzy barwienia na preparatach zafarbowanych, czułość przy dużej gęstości bakterii wynosiła 96–98% dla każdego z nich — ale przy gęstości małej spadała do 64–70%, niemal jednakowo dla hematoksyliny z eozyną, Giemsy i barwienia Genty ¹⁰. Przewaga barwień dodatkowych leży zatem w swoistości i szybkości odczytu, a nie w ratowaniu przypadków skąpokomórkowych.



Ryc. 1. Trzy sytuacje morfologiczne, trzy różne granice wykrywalności. Formy spiralne (A) rozpoznaje się w H+E; po leczeniu przeważają formy ziarniakowate (B), których barwienia histochemiczne często nie różnicują od detrytusu; odczyn immunohistochemiczny (C) znakuje także je.

Ryciny schematyczne — grafika autorska wygenerowana programowo. Nie są mikrofotografiami i nie przedstawiają rzeczywistego materiału biologicznego.

Spór o to, czy barwienie dodatkowe wykonywać **wyprzedzająco na każdym wycinku**, jest realny i nierozstrzygnięty. Towarzystwo patologii przewodu pokarmowego zaleca podejście warunkowe ¹¹, co podpira badanie prospektywne 379 wycinków: **wszystkie** przypadki dodatnie miały gęsty powierzchniowy nacień limfocytarno-plazmocytowy, a rezygnacja z barwienia odruchowego zastąpiła 379 barwień miesięcznie około 20 odczynami immunohistochemicznymi ¹². Stanowisko przeciwne opiera się na największym zbiorze danych: wśród 731 193 badań z wyprzedzającym odczynem odsetek wyników dodatnich wyniósł 10,2% wobec 7,0% ¹³ — ramiona tego porównania są jednak skrajnie niezrównoważone i nierandomizowane.

03

Pytanie drugie: jakie jest ryzyko?

Zakażenie samo w sobie nie jest wskazaniem do nadzoru — jest nim **stopień zaawansowania zmian**. Systemy OLGA i OL-GIM przekładają nasilenie zaniku (odpowiednio: metaplasji jelitowej) w antrum i w trzonie na jeden stopień od 0 do IV. W kohorcie 7436 chorych obserwowanych średnio 6,3 roku zapadalność na nowotwór wynosiła 19,1 na 1000 osobolat w stopniu III i **41,2 w stopniu IV**, wobec 0,60 w całej kohorcie; stopień OLGA był jedynym niezależnym czynnikiem predykcyjnym w analizie wieloczynnikowej ⁸.



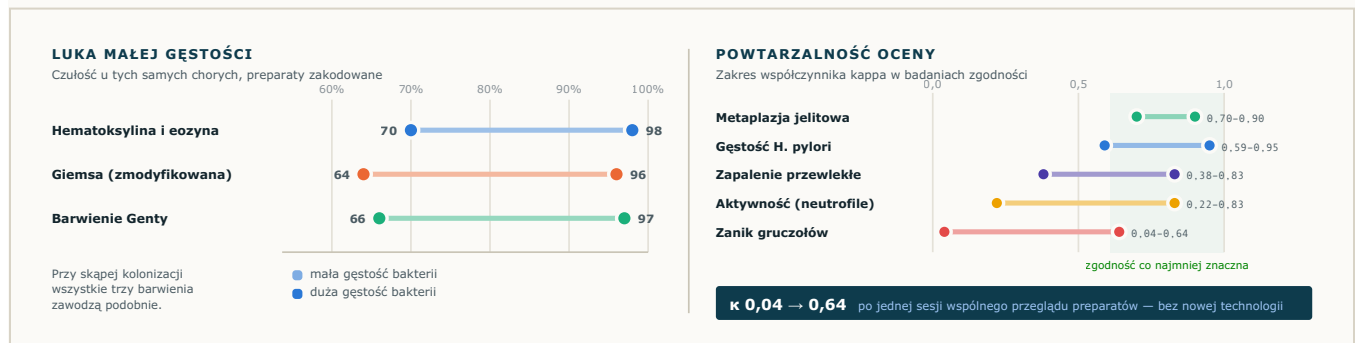
Ryc. 2. Topografia pobrania i rozdział materiału. Pięć wycinków według zaktualizowanego systemu Sydney, rozdzielonych do trzech osobno oznakowanych pojemników. Wytyczne MAPS III z 2025 r. uznają wycinek z wcięcia kątownego (I) za opcjonalny; zalecenia PTG-E z 2023 r. — nadal za należyte.

Opracowanie własne na podstawie ⁴ (protokół), ³ i ² (wytyczne). Rycina schematyczna, nie odwzorowuje proporcji anatomicznych.

Wylczenie stopnia wymaga wiedzy, z której okolicy pochodzi każdy wycinek — i tu wracamy do pojemników. Materiał złany do jednego naczynia jest dla OLGA bezużyteczny. Pomińcie samego wycinka z wcięcia kątownego zaniżało stopień u 18% chorych ogółem, ale aż u **30–35% chorych ze stopniami wysokiego ryzyka** ⁶ — czyli tam, gdzie błąd kosztuje najwięcej.

W tym punkcie zalecenia się rozeszły. Wytyczne **MAPS III z 2025 r.** uznały wycinek z wcięcia za **opcjonalny**, powołując się

na metaanalizę, w której jego dodanie nie zwiększało istotnie wykrywalności wysokiego stopnia OLGA (OR 1,15; 95% CI 0,99–1,34) ³. Zalecenia **PTG-E z 2023 r.**, obowiązujące w Polsce, opisują protokół pięciowycinkowy wraz z wcięciem ². Rozbieżność jest pozorna tylko częściowo: polski dokument **poprzedza** MAPS III. Do czasu jego aktualizacji bezpieczniej pobierać wycinek z wcięcia, zwłaszcza przy podejrzeniu zmian zaawansowanych.



Ryc. 3. Dwie granice wiarygodności morfologii. Po lewej — czułość trzech barwień u tych samych chorych, przy preparatach zakodowanych i losowo uporządkowanych: przy skąpej kolonizacji wszystkie zawodzą podobnie. Po prawej — powtarzalność oceny pięciu parametrów oraz efekt jednej sesji uzgodnieniowej na najsłabszym z nich.

Opracowanie własne; dane za ¹⁰ (panel lewy) oraz ^{14–17} (panel prawy).

Ocena stopnia ma wreszcie własną, rzadko omawianą słabość — **powtarzalność**. Zanik gruczołów, parametr decydujący o stopniu OLGA, osiąga κ 0,49–0,64, a w jednym badaniu wyjściowo zaledwie **0,04** ^{14–17}. To dlatego zaproponowano OLGIM: zastąpienie zaniku metaplasją kupuje powtarzalność kosztem czułości ⁹.

04

Pytanie trzecie: czy klarytromycyna zadziała?

W europejskim badaniu z 2018 r. średnia oporność na klarytromycynę wynosiła 21,4%, a **wynik dla Polski — 28,5%, czwarty najwyższy spośród osiemnastu krajów** (lewofloksacyna 15,5%) ²⁴. W polskiej kohorcie z lat 2016–2018 oporność pierwotna była wyższa u dzieci (54,5%) niż u dorosłych (30,6%) ²⁹ — odwrotnie, niż zwykle się zakłada. Konsensus Maastricht VI zaleca oznaczenie lekowrażliwości **przed każdym schematem zawierającym klarytromycynę** ¹; przy takich odsetkach empiryczne podanie makrolidu jest w Polsce trudne do obrony.

Rozwiązaniem, które nie wymaga ani hodowli, ani powtórnej endoskopii, jest oznaczenie mutacji genu **23S rRNA z tego samego bloczka parafinowego**, na którym postawiono rozpoznanie. Skuteczność amplifikacji z materiału FFPE wynosi 84–95% ^{21,22}, a zgodność z fenotypowym antybiogramem — **94,1% dla klarytromycyny** ²⁰. W badaniu z oceną wyniku klinicznego niepowodzenie eradykacji wystąpiło u **0 z 15** chorych bez mutacji, u 19% z mutacją w jednym genie i u **69% z mutacjami w kilku genach** ²¹.

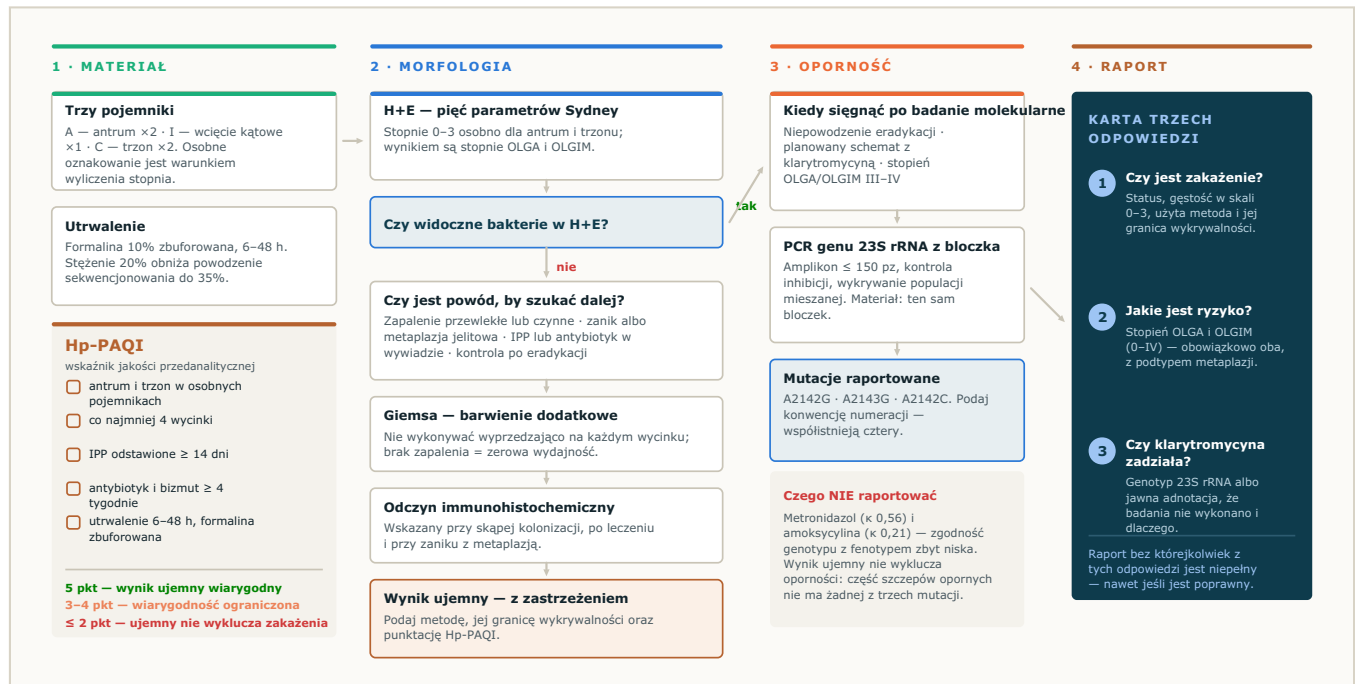
TRZY PUŁAPKI, O KTÓRYCH ŁATWO ZAPOMNIEĆ

- **Numeracja.** Współistnieją cztery konwencje pozycji nukleotydów: to, co jeden autor nazywa **A2143G**, u drugiego jest **A2142G** — o innym poziomie oporności ²³.
- **Długość amplikonu.** DNA z materiału utrwalonego jest pofragmentowane; produkty powyżej ok. 300 par zasad zawodzą, docelowo **≤ 150 pz** ²⁶.
- **Artefakt deaminacji.** Formalina generuje przejścia **C→T**, a nie **A→G**, więc nie tworzy wyników fałszywie dodatnich dla mutacji klarytromycynowych — obróbka enzymem UNG i tak pozostaje wskazana ²⁷.

Uczciwość wymaga dodania, że terapia celowana nie jest cudownym środkiem. Wobec suboptymalnej terapii potrójnej daje przewagę (RR 1,12; 95% CI 1,08–1,17), ale wobec zoptymalizowanej czterolekowej terapii z bizmutem różnica przestaje być istotna (RR 1,04; 0,99–1,09) ²⁵. Argumentem pozostaje racjonalna antybiotykoterapia i korzyść w podgrupie zakażonej szczepem opornym, a nie sam wzrost odsetka eradykacji.

05

Propozycja: protokół HpFFPE-R



Ryc. 4. HpFFPE-R — proponowany algorytm refleksywny dla laboratorium szpitalnego. Cztery etapy: przyjęcie materiału z oceną jakości przedanalizycznej (Hp-PAQI), ścieżka morfologiczna z barwieniem dodatkowym uruchamianym warunkowo, oznaczenie genotypu oporności z tego samego błoczka oraz raport odpowiadający na trzy pytania.

Opracowanie własne (propozycja autorska). Poszczególne elementy oparto na **1,3,5,11,18,20**; sam algorytm i wskaźnik Hp-PAQI nie były dotąd publikowane i wymagają walidacji prospektywnej.

SENS WSKAŹNIKA **HP-PAQI** JEST NASTĘPUJĄCY. INHIBITORY POMPY protonowej nie tyle zabijają bakterię, ile **przesuwają ją prok-symalnie**: po czterech tygodniach omeprazolu bakterie zniknęły z wycinków z antrum u **12 z 29 chorych (41%)**, pozostając w trzonie u **26 z 29** ¹⁸. Podobnie zanik z metaplasją wypiera bakterię z okolicy zmienionej ¹⁹. Wynik ujemny uzyskany z samego antrum u chorego leczonego IPP nie jest wynikiem ujemnym — jest wynikiem niediagnostycznym, i raport powinien to mówić wprost.

06

Co z tego wynika dla pracowni

WNIOSKI TEJ PRACY SĄ RACZEJ ORGANIZACYJNE NIŻ TECHNOLOGICZ-ne. Trzy najsilniejsze liczby — 6,0% wobec 14,8% wykrywalności ⁵, κ 0,04 wobec 0,64 zgodności ¹⁷ i 41% wyników fałszywie ujemnych z antrum pod wpływem IPP ¹⁸ — nie dotyczą nowego odczynnika ani aparatu, lecz pojemnika, godziny w skierowaniu i wspólnego przeglądu preparatów.

Tab. 1. Co da się wdrożyć bez nowego sprzętu. Pierwsze cztery pozycje nie wymagają żadnych zakupów, a jedynie zmiany procedury.

ZMIANA W PRAKTYCE	PODSTAWA	NAKŁAD	OCZEKIWANY EFEKT
Rozdzielić wycinki do trzech oznakowanych pojemników (A / I / C)	4,5	dwa dodatkowe pojemniki	wykrywalność 6,0% → 14,8% ; możliwość wyliczenia stopnia OLGA
Wymagać na skierowaniu godziny pobrania i sposobu utrwalenia	28	zmiana wzoru skierowania	obowiązek prawny; warunek policzenia wskaźnika Hp-PAQI
Zastąpić barwienie wyprzedzające barwieniem warunkowym	11,12	zmiana procedury	zerowa wydajność barwień w materiale bez zapalenia ¹²
Raportować stopnie OLGA i OLGIM łącznie, z podtypem metaplasji	3,8,9	zmiana wzoru raportu	stopień III–IV wyznacza chorych do nadzoru co 3 lata
Wprowadzić kwartalną sesję uzgodnieniową dla oceny zaniku	17	ok. 2 godziny pracy	zgodność ocen κ 0,04 → 0,64
Uruchomić oznaczanie 23S rRNA z błoczka dla wskazań z ryc. 4	20,21	termocykler i zestaw CE-IVD	zgodność z antybiogramem 94,1% , wynik w godzinach zamiast tygodni

Odsyłacze wskazują pracę, z której pochodzi liczba, a nie zalecenie towarzystwa naukowego.

OGRANICZENIA

- HpFFPE-R i Hp-PAQI są **propozycją autorską**, niewalidowaną prospektywnie; progi punktowe wymagają kalibracji na materiale własnym.
- Wskaźnik przypisuje pięciu pozycjom równą wagę, choć rozdział pojemników i ekspozycja na IPP ważą więcej niż pozostałe **5,18**.
- Ujemny genotyp nie wyklucza oporności; brak programu oceny zewnętrznej dla *H. pylori* nie zwalnia z obowiązku ustawowego **28**.

Wkład autorski i zastrzeżenia. Algorytm HpFFPE-R oraz wskaźnik Hp-PAQI są autorską propozycją porządkującą; nie były przedmiotem walidacji prospektywnej i nie stanowią zaleceń towarzystwa naukowego. Wszystkie dane liczbowe pochodzą z prac wymienionych w piśmiennictwie i opatrzone je odsyłaczami w miejscu użycia.

Ryciny. Wszystkie ryciny są oryginalne i wygenerowane programowo. Ryc. 1 to rysunki schematyczne — nie są mikrofotografiami; ryc. 2 nie zachowuje proporcji anatomicznych. **Konflikt interesów:** nie zgłoszono.

Finansowanie: brak.

97 Piśmiennictwo

1. Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T i wsp. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut*. 2022;71(9):1724–62.
2. Jaroń K, Pietrzak A, Daniluk J i wsp. Rekomendacje diagnostyczno-terapeutyczne zakażenia *Helicobacter pylori*. Zalecenia Grupy Roboczej Polskiego Towarzystwa Gastroenterologii. *Prz Gastroenterol*. 2023;18(3):225–48.
3. Dinis-Ribeiro M, Libânio D, Uchima H i wsp. Management of epithelial precancerous conditions and early neoplasia of the stomach (MAPS III). *Endoscopy*. 2025;57(5):504–54.
4. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(10):1161–81.
5. Lash JG, Genta RM. Adherence to the Sydney System guidelines increases the detection of *Helicobacter* gastritis and intestinal metaplasia in 400 738 sets of gastric biopsies. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(4):424–31.
6. Isajevs S, Liepniece-Karele I, Janciauskas D i wsp. The effect of incisura angularis biopsy sampling on the assessment of gastritis stage. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014;26(5):510–3.
7. Genta RM, Graham DY. Comparison of biopsy sites for the histopathologic diagnosis of *Helicobacter pylori*: a topographic study of *H. pylori* density and distribution. *Gastrointest Endosc*. 1994;40(3):342–5.
8. Rugge M, Genta RM, Fassan M i wsp. OLGA gastritis staging for the prediction of gastric cancer risk: a long-term follow-up study of 7436 patients. *Am J Gastroenterol*. 2018;113(11):1621–8.
9. Capelle LG, de Vries AC, Haringsma J i wsp. The staging of gastritis with the OLGA system using intestinal metaplasia as an alternative for atrophic gastritis. *Gastrointest Endosc*. 2010;71(7):1150–8.
10. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc*. 1997;45(6):463–7.
11. Batts KP, Ketover S, Kakar S i wsp. Appropriate use of special stains for identifying *Helicobacter pylori*: recommendations from the Rodger C. Haggitt Gastrointestinal Pathology Society. *Am J Surg Pathol*. 2013;37(11):e12–22.
12. Pittman ME, Khararjian A, Wood LD, Montgomery EA. Prospective identification of *Helicobacter pylori* in routine gastric biopsies without reflex ancillary stains. *Hum Pathol*. 2016;58:90–6.
13. Lash RH, Genta RM. Routine anti-*Helicobacter* immunohistochemical staining is significantly superior to reflex staining protocols for the detection of *Helicobacter* in gastric biopsy specimens. *Helicobacter*. 2016;21(6):581–5.
14. Andrew A, Wyatt JJ, Dixon MF. Observer variation in the assessment of chronic gastritis according to the Sydney system. *Histopathology*. 1994;25(4):317–22.
15. Chen XY, van der Hulst RWM, Bruno MJ i wsp. Interobserver variation in the histopathological scoring of *Helicobacter pylori* related gastritis. *J Clin Pathol*. 1999;52(8):612–5.
16. Salazar BE, Pérez-Cala T, Gomez-Villegas SI i wsp. The OLGA-OLGIM staging and the interobserver agreement for gastritis screening. *Virchows Arch*. 2022;480(4):759–69.
17. Interobserver variability in the application of the revised Sydney classification for gastritis. *Hum Pathol*. 2000;31(2):185–8.
18. Logan RP, Walker MM, Misiewicz JJ i wsp. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. *Gut*. 1995;36(1):12–6.
19. Kang HY, Kim N, Park YS i wsp. Progression of atrophic gastritis and intestinal metaplasia drives *H. pylori* out of the gastric mucosa. *Dig Dis Sci*. 2006;51(12):2310–5.
20. Hultén KG, Genta RM, Kalfus IN i wsp. Comparison of culture with antibiogram to next-generation sequencing using isolates and FFPE gastric biopsies. *Gastroenterology*. 2021;161(5):1433–42.
21. Nezami BG, Jani M, Alouani D i wsp. *Helicobacter pylori* mutations detected by next-generation sequencing in FFPE gastric biopsies are associated with treatment failure. *J Clin Microbiol*. 2019;57(7):e01834–18.
22. Schmitt BH, Regner M, Mangold KA i wsp. PCR detection of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* from FFPE gastric biopsies. *Mod Pathol*. 2013;26(9):1222–7.
23. Versalovic J, Osato MS, Spakovsky K i wsp. Point mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* associated with different levels of clarithromycin resistance. *J Antimicrob Chemother*. 1997;40(2):283–6.
24. Mégraud F, Bruyndonckx R, Coenen S i wsp. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe in 2018 and its relationship to antibiotic consumption in the community. *Gut*. 2021;70(10):1815–22.
25. Nyssen OP, Espada M, Gisbert JP. Empirical vs. susceptibility-guided treatment of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. *Front Microbiol*. 2022;13:913436.
26. Turashvili G, Yang W, McKinney S i wsp. Nucleic acid quantity and quality from paraffin blocks. *Exp Mol Pathol*. 2012;92(1):33–43.
27. Prentice LM, Miller RR, Knaggs J i wsp. Formalin fixation increases deamination mutation signature. *PLoS One*. 2018;13(4):e0196434.
28. Ustawa z 15 września 2022 r. o medycynie laboratoryjnej, art. 21 (Dz.U. 2022 poz. 2280); Rozporządzenie MZ z 18 grudnia 2017 r. w sprawie standardów w patomorfologii, § 3 ust. 7 (Dz.U. 2017 poz. 2435).
29. Krzyżek P, Pawełka D, Iwańczak B i wsp. High primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in pediatric and adult patients in Poland, 2016–2018. *Antibiotics (Basel)*. 2020;9(5):228.