

Strokovni prispevek/Professional article

PRIKAZ RAZISKAV BAKTERIJE *HELICOBACTER PYLORI* V SPLOŠNI BOLNIŠNICI MARIBOR OD LETA 1988 DO 2005

PRESENTATION OF STUDIES ON THE BACTERIUM *HELICOBACTER PYLORI* AT MARIBOR TEACHING HOSPITAL BETWEEN 1988 AND 2005

Jelka Reberšek-Gorišek¹, Žarko Pinter², Milan Pocač³, Rajko Kavalarič⁴, Dušan Novak⁵

¹ Oddelek za nalezljive bolezni in akutna vročinska stanja, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska ul. 5, 2000 Maribor

² Internistični ambulantno diagnostični center Archimed, Razlagova ul. 24, 2000 Maribor

³ Oddelek za gastroenterologijo in endoskopijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska ul. 5, 2000 Maribor

⁴ Oddelek za patološko morfologijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska ul. 5, 2000 Maribor

⁵ Center za mikrobiologijo, Zavod za zdravstveno varstvo Maribor, Prvomajska 1, 2000 Maribor

Prispelo 2006-08-25, sprejeto 2006-10-29; ZDRAV VESTN 2006; 75: Supl. II: 41-8

Ključne besede *Helicobacter pylori*; gastritis; ulkusna bolezen; diagnostične metode; protimikrobno zdravljenje; odstranitev; epidemiološke značilnosti; protitelesa IgG in IgA; antigen v blatu; Maribor; leto 1988-2005

Izvleček

Izhodišča Z odkritjem bakterije *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice in s potrditvijo njene ključne vloge pri patogenezi ulkusne bolezni dvanaestnika, želodca, gastritisa, pomembne vloge pri limfomu MALT (angl. mucosa associated lymphoid tissue) in nastanku raka želodca se je pokazala tudi možnost vzročnega zdravljenja teh pri boleznih z protimikrobnimi zdravili. Cilj protimikrobnega zdravljenja je doseči odstranitev *H. pylori*, zmanjšanje recidivov bolezni in zmanjšati tveganje za razvoj želodčnega raka. Okužbo s *H. pylori* zdravimo s kombinacijami več protimikrobnih zdravil. Naravni rezervoar okužbe za *H. pylori* je človeški želodec. Pri prevalenci okužbe so pomembni tudi starost bolnikov, socialno ekonomski status in bivalne razmere. Določanje protiteles razredov IgG in IgA proti *H. pylori* v serumu in dokazovanje antigena v blatu pri asimptomatskih bolnikih je pomembno za epidemiološke raziskave.

Bolniki in metode V raziskave so bili vključeni bolniki, rutinsko napoteni v Splošno bolnišnico Maribor (SBM) s kroničnim gastritisom in z recidivi ulkusne bolezni dvanaestnika ali želodca, v študijo o dokazovanju protiteles proti *H. pylori* v serumu in antigena v blatu pa asimptomatski bolniki. *H. pylori* smo dokazovali v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice s histološko preiskavo, kulturo, hitrim ureaznim testom in z ugnezdjeno verižno reakcijo s polimerazo (angl. nested polymerase chain reaction – nested PCR), v brisih zobnega plaka prav tako z metodo PCR nested. Protimikrobno zdravljenje za izkoreninjenje *H. pylori* smo izvajali v 3 študijah s primerjavo 2 skupin bolnikov. Prva skupina je redno prejela ranitidin 2 × 150 mg dnevno, v prvi študiji 3 tedne, v naslednjih študijah 8 tednov in po potrebi antacid. Druga skupina bolnikov je v prvi študiji prejela ranitidin 2 × 150 mg + eritromicin 4 × 500 mg dnevno teden dni, v drugi študiji ranitidin 2 × 150 mg + koloidni bizmutov

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Prim. Jelka Reberšek-Gorišek, dr. med., Oddelek za nalezljive bolezni in akutna vročinska stanja, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska ul. 5, 2000 Maribor, e-mail: j.gorisek@sb-mb.si

subcitrát (KBS) 2×240 mg dnevno 4 tedne, v tretji študiji pa KBS 4×120 mg + amoksisilin 4×500 mg + metronidazol 4×500 mg dnevno 2 tedna. Z latex aglutinacijskim testom (Orion) in z encimsko imunskim testom (Virion-Serion) smo dokazovali protitelesa razredov IgG in IgA proti *H. pylori* v serumu in antigen v blatu (HpSA-Meridian). V protokolih o epidemioloških značilnostih *H. pylori* okužbe smo zbirali in analizirali podatke o starosti in spolu bolnikov, njihovih bivalnih, sanitarnih, socialnoekonomskih razmerah in šolski izobrazbi.

Rezultati

Raziskave so pokazale, da je bil *H. pylori* najpogostejše prisoten pri ulkusni bolezni dvanajstnika in želodca. Uspešnost antimikrobnega zdravljenja in odstranitve *H. pylori* z ranitidinom in eritromicinom teden dni dolgo je bila 11,1 %, s kombinacijo ranitidina in KBS 4 tedne dolgo 19,04 %, s tretirno kombinacijo KBS + amoksisilin + metronidazol 2 tedna pa 92 %. *H. pylori* v zobnem plaku smo dokazali v 16,6 %. Za možne dejavnike tveganja za nastanek okužbe smo ovrednotili srednjo starost, slabe do srednje dobre bivalne in ekonomske razmere ter nizko do srednješolsko izobrazbo bolnikov. Pri asimptomatskih bolnikih smo dokazali protitelesa IgG pri 26/34 bolnikih, pri 1/34 so bila mejno pozitivna in negativna pri 7/34. Protitelesa IgA so bila prisotna pri 17/34, pri 6/34 mejno pozitivna in negativna pri 11/34. Pozitiven antigen v blatu je imelo 10/33 bolnikov, 23/33 pa negativen. Protitelesa IgG in IgA v serumu in antigen v blatu so bila prisotna pri 8/33 bolnikih.

Zaključki

Rezultat raziskav je bil začetek iskanja *H. pylori* pri bolnikih z gastritisom in ulkusno boleznijo v SBM ter ugotovitev, da je najpogostejše prisoten pri ulkusni bolezni dvanajstnika in želodca. Za dokaz *H. pylori* smo uvedli histološko metodo, kulturo in hitri ureazni test v rutinsko klinično prakso v SBM. Pričeli smo vzročno zdravljenje gastritisa in ulkusne bolezni z antimikrobnimi zdravili in spremljali uspešnost odstranitve *H. pylori* in s tem povezano ozdravitev ter znižanje recidivov bolezni. Ugotovili smo, da antimikrobna občutljivost in vitro ni porok za klinično uspešnost, kar nam je pokazal rezultat zdravljenja z eritromicinom. Tudi monoterapija ni bila dovolj učinkovita. Hipoteze, da je dentalni plak lahko pomemben rezervoar okužbe s *H. pylori*, nismo potrdili. Metoda PCR nested za dokaz *H. pylori* v biopsičnih vzorcih želodčne sluznice in brisih zobnega plaka je primer hitre in zanesljive diagnostične metode. Z analizo epidemioloških značilnosti smo ugotovili, da so možni dejavniki tveganja za nastanek *H. pylori* okužbe srednja starost bolnikov, slabe do srednje dobre bivalne in ekonomske razmere ter nizka do srednješolska izobrazba. Pri asimptomatskih bolnikih smo dokazali prisotnost protiteles IgG in IgA proti *H. pylori* v serumu ter antigena v blatu.

Key words

Helicobacter pylori; gastritis; ulcer disease; diagnostic methods; antimicrobial treatment; eradication; epidemiologic characteristics; IgG and IgA antibodies; antigen in feces; Maribor; 1988–2005

Abstract**Background**

The discovery of the bacterium *Helicobacter* (*H.*) *pylori* in biopsy specimens from the gastric mucosa and the confirmation of its key role in the pathogenesis of duodenal and gastric ulcer disease, and gastritis, its significant role in mucosa associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma and in the occurrence of gastric cancer also offered the possibility of causal treatment of these diseases with antimicrobial agents. The aim of antimicrobial treatment is the eradication of *H. pylori*, the decrease of recurrences and lessening the risk of gastric cancer diseases. *H. pylori* infection is treated with a combination of several antimicrobials. The human stomach is a natural reservoir of *H. pylori*. In the prevalence of *H. pylori* infection, patient age, socio-economic status, living and sanitary conditions can play an important role. Determination of serum IgG and IgA antibodies against *H. pylori* and detection of the antigen in the feces of asymptomatic patients is important for epidemiologic studies.

Patients and methods

The study included patients with chronic gastritis and with recurrence of duodenal and gastric ulcer disease referred routinely to Maribor Teaching Hospital (MTH) while the study on the identification of serum antibodies against *H. pylori* and of antigen in feces included asymptomatic patients. For confirmation of *H. pylori* in biopsy specimens of the gastric mucosa we used the histologic method, culture, the urease test and the nested polymerase chain reaction (nested PCR) method. The latter was also used for dental plaque smears. Antimicrobial treatment with the aim of eradicating *H. pylori* was carried out in three

studies comparing two groups of patients: The first group always received ranitidine – 2 × 150 mg over 3 weeks in the first study and over 8 weeks in the two further studies, with an addition of antacids if needed. The second group received ranitidine 2 × 150 mg + erythromycin 4 × 500 mg for one week in the first study, ranitidine 2 × 150 mg + colloidal bismuth subcitrate (CBS) 2 × 240 mg over 4 weeks in the second study, and CBS 4 × 120 mg + amoxycillin 4 × 500 mg + metronidazole 4 × 500 mg over two weeks in the third study. With the latex agglutination and with the enzyme immune system (Virion-Serion) we identified IgG and IgA antibodies against H. pylori in serum, and antigen in feces (HpSA – Meridian). In protocols of epidemiologic characteristics of H. pylori infection we collected and analyzed the data regarding patient age and gender, living and sanitary conditions, socio-economic status and the education level.

Results

The studies showed that H. pylori was most frequently present in ulcer disease of duodenum and stomach. The success of antimicrobial treatment and eradication of H. pylori with ranitidine and erythromycin over one week was 11.1 %, with the combination of ranitidine and CBS over four weeks 19.04 %, with the triple combination therapy with CBS + amoxycillin + metronidazole over two weeks 92 %. In dental plaque, H. pylori was confirmed in 16.6 %. Middle age, poor or medium living conditions and economic status, and primary to secondary education were all identified as possible risk factors for H. pylori infection. In asymptomatic patients we confirmed IgG antibodies against H. pylori in serum in 26/34, in 1/34 they were borderline positive, and negative in 7/34 patients. IgA antibodies were present in 17/34, in 6/34 they were borderline positive, and negative in 11/34. Antigen in feces was positive in 10/33 patients, negative in 23/33. Serum IgG and IgA antibodies and antigen in feces were confirmed in 8/23 patients.

Conclusions

Our studies resulted in the beginning of H. pylori detection in MTH patients with gastritis and ulcer disease, and in the ascertainment that H. pylori was most frequently present in ulcer disease of stomach and duodenum. For the confirmation of H. pylori, the histologic method, culture and the urease test were introduced into routine clinical practice of MTH. Causal treatment of gastritis and ulcer disease with antimicrobials was introduced, and the success of H. pylori eradication and the decrease of recurrences was followed. We found that antimicrobial sensitivity in vitro did not warrant clinical success – a statement proved by the results of treatment with erythromycin. The effect of monotherapy was also insufficient. The hypothesis that dental plaque could be a significant reservoir of H. pylori infection was not confirmed. The nested PCR method for proof of H. pylori in gastric mucosa biopsy specimens and dental plaque smears is a rapid and reliable diagnostic method. The analysis of epidemiologic characteristics showed that risk factors for the occurrence of H. pylori infection are middle age, poor or medium living conditions and socio-economic status, and primary to secondary education. In asymptomatic patients we proved the presence of IgG and IgA antibodies, and of antigen in feces.

Uvod

Zdravnika Barry J. Marshall in J. Robin Warren sta leta 1982 z odkritjem bakterije *Helicobacter (H.) pylori*, najprej poznane kot *Campylobacter (C.) pylori* ali *pyloridis*, v bioptičnih vzorcih želodčne sluznice pri človeku in potrditvijo njene ključne etiološke vloge pri nastanku gastritisa in ulkusne bolezni želodca in dvanajstnika bistveno spremenila dotedanje pojmovanje o patogenezi in načinu zdravljenja teh bolezni (1–8). Za to odkritje sta prejela leta 2005 tudi Nobelovo nagrado. Z odkritjem bakterijskega povzročitelja se je pokazala možnost vzročnega zdravljenja. Te bolezni so pričeli zdraviti tudi z antimikrobnimi zdravili (9–11). Nesporno ima *H. pylori* najpomembnejšo vlogo pri patogenezi ulkusne bolezni dvanajstnika, želodca in pri kroničnem gastritisu, pomembno vlogo pri nizko malignem B limfomu tipa MALT in nastanku raka želodca, s čimer je povezan tudi pomen odstranitve te bakterije (12–14). Po podatkih iz literature ima do

95 % bolnikov z ulkusom dvanajstnika in do 75 % bolnikov z ulkusom želodca prisoten *H. pylori*. Z odstranitvijo te bakterije se odstotek ozdravitve zviša prek 90 %, tveganje za pojav recidiva bolezni zniža tudi pod 10 % (15). *H. pylori* je mikroaerofilna po Gramu negativna bakterija, dobro prilagojena življenju v kislem okolju, kot je v človeškem želodcu. Domneven način širjenja okužbe je fekalno-oralni, oralno-oralni, gastro-oralni (možen prenos z gastroskopom). Študije pa poročajo tudi o tem, da je okužba pogostejša pri članih družine (16–18). Znano je, da je naravni rezervoar za *H. pylori* človeški želodec. Obstajajo tudi hipoteze, da je pomemben rezervoar okužbe lahko tudi ustna votlina: zobni plak, gingiva, slina (19, 20). *H. pylori* so osamili v bioptičnih vzorcih želodčne sluznice, v blatu, slini, gingivi, zobnem plaku, najden je tudi pri aterosklerotičnem plaku aortne anevrizme in pri kolo-rektalnem raku (21). Epidemiološki dejavniki, kot so starost bolnikov, socialnoekonomski status in bivalne razmere so dejavniki tveganja za okužbo s *H. pylo-*

ri (17, 22–24). Bakterija *H. pylori* je in vitro občutljiva na številna antimikrobna zdravila: amoksicilin, makrolide, nitrofurane, tetracikline, aminoglikozide, imidazole (metronidazol, tinidazol), kinolone, rifampicin in tudi bizmutove soli. Vendar občutljivost in vitro ni vedno porok za klinično uspešnost in izkoreninjenje. Prisotnost bakterije *H. pylori* lahko dokazujemo z različnimi invazivnimi in neinvazivnimi metodami. Invazivne zahtevajo biopsijo želodčne sluznice za histološko metodo, za mikrobiološko osamitev (kulturo), za hitri ureazni test in PCR. Neinvazivne metode so dihalni test 13 C urea, serološke preiskave za dokaz protiteles proti *H. pylori* v serumu, slini ali blatu. Neinvazivna metoda je tudi dokaz *H. pylori* v blatu, slini ali zobnem plaku s kulturo ali metodo PCR. Odkritje *H. pylori* in povezave z gastritisom in ulkusno boleznijo želodca in dvanajstnika je sprožilo širom po svetu in tudi v Sloveniji številne raziskave zlasti s področja epidemiologije in antimikrobnega zdravljenja okužbe s *H. pylori*.

Tudi v SBM smo sledili člankom o odkritju *H. pylori* in pomembnosti njene vloge ter ustanovili raziskovalno skupino, ki so jo sestavljali infektologinja, dva gastroenterologa, mikrobiolog in patohistolog, ki so sodelovali v različnih raziskavah. V letu 1988 smo v okviru raziskovalne skupnosti občine Maribor in SBM v okviru programskega sklopa Izboljšanje in varstvo zdravja ter socialne varnosti populacije izvedli prospektivno študijo o bakteriji *C. pylori*, kot se je takrat še imenovala, s ciljem, ugotoviti pogostnost njene prisotnosti pri bolnikih z gastritisom, ulkusno boleznijo želodca in dvanajstnika ter o vplivu antibiotika eritromicina na potek bolezni in odstranitev bakterije *C. pylori* (25). Rezultate te študije smo predstavili na slovensko-hrvaškem srečanju gastroenterologov maja leta 1989 v Rogaški Slatini. To je bila predstavitev prve slovenske študije o zdravljenju z antibiotiki s ciljem odstraniti *C. pylori* in s tem pristopiti k vzročnemu zdravljenju teh bolezni. Tej študiji so kmalu sledile obsežne raziskave drugih slovenskih institucij (26–28) in se pridružile podobnim raziskavam v svetu. Večina nadaljnjih raziskav s področja okužbe s *H. pylori* v svetu in pri nas je bila namenjena iskanju najučinkovitejšega izbora antimikrobnih zdravil za visok odstotek odstranitve *H. pylori* (29–37) in epidemiologiji (38–40). Od leta 1988 dalje je naša skupina opravila v SBM vrsto raziskav na tem področju. Vse raziskave so bile prospektivne v okviru raziskovalne skupnosti občine Maribor in SBM, majhen delež tudi v okviru Ministrstva za zdravje. Leta 1989 smo nadaljevali s študijo o pogostnosti *C. pylori* pri gastritisu in ulkusni bolezni ter vplivu eritromicina na odstranitev *C. pylori* (41). Vpliv koloidnega bizmutovega subcitrate (KBS) na odstranitev *H. pylori*, kot se je takrat bakterija že imenovala, smo preučevali v letih 1990 in deloma 1992 (42). Ta študija je potekala počasi, ker smo morali nabavljati KBS v tujini. V tem obdobju smo pričeli pri bolnikih s *H. pylori* določati v serumu tudi protitelesa proti *H. pylori* in jih določali tudi pri nadaljnjih študijah v letih 1992, 1993, 1994 in 2005. V letih 1992 do 1994 smo izvedli raziskavo o zdravljenju *H. pylori* okužbe s kombinacijo dveh antibiotikov (amoksicilina in metronidazola) in KBS s ciljem, doseči stopnjo

odstranitve *H. pylori* v visokem odstotku (> 90 %). Tej študiji smo priključili tudi raziskavo o epidemioloških značilnostih in možnih dejavnikih tveganja za nastanek *H. pylori* okužbe (43). Vpliva različnih antibiotikov in KBS na stopnjo odstranitve *H. pylori* po letu 1994 nismo več preučevali, ker so se po tem času v svetu in v Sloveniji že oblikovala priporočila za zdravljenje *H. pylori* okužbe v klinični praksi. Z metodo PCR nested smo leta 1996 in 1997 dokazovali HP v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice in v brisih zobnega plaka v sodelovanju z institutom Ruder Bošković v Zagrebu (44, 45). V letu 2005 smo iskali prisotnost protiteles razredov IgG in IgA proti *H. pylori* v serumu in antigen v blatu z encimsko-immunskim testom pri bolnikih, ki so se zdravili zaradi drugih bolezni na infektivnem oddelku SBM in v času študije niso imeli kliničnih znakov gastritisa ali ulkusne bolezni. Imeli pa so anamnestični podatek o neznanih nekajletnih želodčnih težavah. Ti bolniki niso nikoli prejeli antimikrobnih zdravil za zdravljenje okužbe *H. pylori*, so pa občasno prejemali antibiotike zaradi drugih bolezni. Odvzem je bil opravljen hkrati z drugimi diagnostičnimi preiskavami v sklopu bolezni, zaradi katerih so se bolniki zdravili na oddelku. Dokazovanje protiteles v serumu in antigena v blatu sta neinvazivni diagnostični metodi. Dokaz antigena v blatu je novejša metoda, ki jo priporočajo avtorji za začetni diagnostični postopek pri bolnikih, ki še niso bili zdravljeni za okužbo s *H. pylori*, pa tudi pri bolnikih po zaključenem zdravljenju. Ta test je primeren zlasti za majhne otroke, ker je preiskava zelo enostavna in neboleča (46–48). Primarni cilj te raziskave je epidemiološka študija o prisotnosti protiteles v serumu in antigena v blatu pri asimptomatskih bolnikih. Študija še ni zaključena.

Razen naše skupine so se v SBM ukvarjali s študijami o *H. pylori* okužbi tudi kolegi iz pediatričnega in gastroenterološkega kliničnega oddelka in objavili svoje rezultate (49–55).

Bolniki

V raziskave, ki smo jih pričeli leta 1988, so bili vključeni le bolniki, ki so bili napoteni v SBM rutinsko zaradi dispeptičnih težav, suma na gastritis ali ulkusno bolezen dvanajstnika ali želodca. Bolniki so bili različne starosti obeh spolov, različnih socialnoekonomskih slojev in iz različnih področij širše mariborske regije. Pri teh bolnikih smo ob preiskavah, ki so potekale rutinsko, iskali tudi prisotnost bakterije *H. pylori*. V študije so bili vključeni bolniki s kroničnimi težavami in recidivi bolezni, v nobeno od študij niso bili vključeni otroci ali nosečnice. V raziskave, pri katerih smo preučevali vpliv antimikrobnih zdravil in KBS na odstranitev *H. pylori*, niso bili vključeni bolniki, ki so uživali antibiotike mesec dni pred preiskavo, prav tako ne bolniki z ledvično okvaro ali podatkom o alergiji na preiskovane antibiotike. Vse bolnike smo natančno in obsežno seznanili s postopki in namenom raziskav. Vključene so bile le osebe, ki so dale svoj pristanek. Bolniki, ki so prejemali antibiotike in KBS, so bili opozorjeni na možen pojav stranskih učinkov zdravil. Imeli so možnost stalnih osebnih in telefonskih

konzultacij z zdravnikom, ki je raziskavo vodil, in bili seznanjeni z rezultati raziskave. Vsi bolniki, ki so sodelovali v študijah, so bili po zaključku študije še obravnavani v pristojni gastroenterološki ambulanti v primeru težav. Sodelovanje z bolniki je bilo zelo dobro. Študije so potekale po načelih Helsinške in Tokijske deklaracije.

Metode

Po odvzemu anamnestičnih podatkov je bila pri bolnikih opravljena ezofagogastroduodenoskopija z lokalno premedikacijo in z gastroskopom Olympus Gif Q10 ali Q20. Sledil je odvzem biopsijskih vzorcev za histološki pregled (4 vzorci: 2 iz antruma in 2 iz korpusa), praviloma po eden za mikrobiološko osamitev (kulturo), za hitri ureazni test in metodo PCR (odvisno od raziskave). Za dokaz *H. pylori* v zobnem plaku je bil vzet bris zobnega plaka na Oddelku za nalezljive bolezni in vročinska stanja v SBM po opravljeni gastroskopiji. Endoskopske preiskave so bile opravljene v endoskopski enoti SBM in v internističnem diagnostičnem centru Archimed v Mariboru. Odvzeti biopsijski vzorec za histološko preiskavo je bil fiksiran v 10-odstotnem nevtralnem formalinu. Histološke rezine so bile barvane za oceno morfoloških sprememb po metodi hematoksilin-eozin, za dokaz *H. pylori* pa še po metodi Giemsa in Warthin Starry. Vse preiskave so bile opravljene v SBM. Mikrobiološke preiskave je izvajal center za mikrobiologijo Zavoda za zdravstveno varstvo (ZZV) Maribor. Biopsijski vzorec za dokaz kulture je bil poslan v tekočem transportnem gojišču in nacepljen na gojišča Columbia agar (Bioline) z dodatkom 10 % ovčje krvi in inkubiran v mikroaerofilnih pogojih pri 37 °C 3–5 dni (kasneje modificiran postopek s podaljšanjem inkubacije do 7 dni in z dodatkom 5 % ovčje krvi). Hkrati so se pripravili preparati, obarvani po Gramu in z metilenskim modrilom za mikroskopski pregled. Izolirane bakterije so bile testirane na občutljivost na dogovorjene antibiotike. V ZZV so opravili tudi serološke preiskave protiteles proti *H. pylori* v serumu leta 1991 z latex aglutinacijskim testom (Orion), od leta 1992 dalje pa protitelesa razredov IgG in IgA z encimsko-immunskim testom (Virion-Serion). Od leta 2000 dalje se določa tudi antigen v blatu z encimsko-immunskim testom (HpSA-Meridian). Za ureazni test, ki je hitra diagnostična metoda za posredni dokaz *H. pylori* s testom hidrolize, ki smo ga pričeli izvajati leta 1989, smo uporabljali komercialni test CLO (Delta West Pty. Western Australia). Biopsijski vzorec smo potopili v testno ploščico, kjer se je ob prisotnosti *H. pylori* rumena barva spremenila v intenzivno rdečo. Spremembo barve smo odčitavali po 20 minutah, eni, treh in 24 urah. Test smo ovrednotili pozitivno, če se je ploščica obarvala rdeče v okviru treh ur.

Vse preiskave za dokaz *H. pylori* v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice in brisih zobnega plaka so bile opravljene z metodo PCR nested na oddelku za molekularno medicino Inštituta Ruđer Bošković v Zagrebu. Metoda se je izkazala kot hitra, visoko občutljiva ter specifična. Specifičnost in občutljivost metode se dodatno poveča z modifikacijo klasične reakcije PCR,

ko se namesto ene reakcije izvajata dve zaporedno. V drugi reakciji se uporablja par začetnih oligonukleotidov, komplementarnih z robnimi deli delčka DNA, ki je pomnožena v prvi reakciji PCR. Takšna modificirana metoda se imenuje PCR nested. V študijah s preučevanjem vpliva protimikrobnih zdravil, vključno s KBS, na uspešnost zdravljenja in odstranitve *H. pylori*, smo po opravljenih endoskopskih preiskavah za vsako študijo oblikovali dve skupini bolnikov, pozitivnih na *H. pylori*. Prva skupina je vedno prejela klasično antiulkusno zdravljenje s tabletami ranitidin 2 × 150 mg dnevno in po potrebi antacidna zdravila, druga skupina v prvi študiji poleg ranitidina še antibiotik eritromicin 4 × 500 mg dnevno 7 dni, v drugi študiji ranitidin 2 × 150 mg dnevno + KBS 2 × 240 mg dnevno 4 tedne in v tretji študiji trojitno kombinacijo KBS 4 × 120 mg + amoksicilin 4 × 500 mg + metronidazol 4 × 500 mg dnevno 14 dni. Po zaključenem zdravljenju smo pri obeh skupinah pri vseh bolnikih preiskave ponovili z enakimi metodami kot ob prvi preiskavi in to v prvi študiji po 3 tednih, v naslednjih raziskavah po 8 (in več) tednih, pri malem številu po 1 letu (ali več). Smatrali smo, da je *H. pylori* odstranjen, če so bili rezultati po vseh metodah, s katerimi smo bakterijo iskali v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice, po zaključenem zdravljenju negativni. Vse bolnike smo spremljali na pojav ponovitve bolezni najmanj leto dni. V primeru ponovitve bolezni so bili vsi bolniki napoteni na preiskave takoj. Odvzete serološke preiskave za dokaz protiteles pred in po zaključku zdravljenja so bile v pomoč pri vrednotenju odstranitve *H. pylori* pri bolnikih, ki niso želeli kontrolne gastroskopije po 1 letu. V študiji o epidemioloških značilnostih *H. pylori* okužbe smo pri bolnikih s posebnim protokolom zbirali podatke o starosti, spolu, rasi, narodnosti, geografski legi, zaposlitvi, bivalnih pogojih, preskrbi s pitno vodo, stopnji izobrazbe, ekonomskih razmerah, pojavnosti gastritisa in ulkusne bolezni pri družinskih članih ter kirurških posegih v trebuhu. Podatke smo analizirali in statistično prikazali.

Rezultati

Leto 1988 in 1989 – Preučevanje pogostnosti *C. pylori*, uspešnosti zdravljenja in odstotek odstranitve *C. pylori* z ranitidinom in eritromicinom pri bolnikih z gastritisom in ulkusno boleznijo

V raziskavo je bilo vključenih 108 bolnikov z gastritisom, ulkusno boleznijo želodca in dvanajstnika. *C. pylori*, dokazan s histološko metodo in kulturo, je bil prisoten pri 67 (62 %) bolnikih, pri 41 (38 %) pa ne. Najčeste je bil najden pri ulkusni bolezni dvanajstnika pri 37 (34 %) bolnikih, sledijo bolniki z ulkusno boleznijo želodca 35 (32 %), kroničnim gastritisom 22 (22 %) in erozivnim gastritisom 14 (12 %). Bolnike s *C. pylori* smo razvrstili v dve skupini. Prva je štela 32 bolnikov, ki so prejeli ranitidin 2 × 1 tab po 150 mg dnevno 21 dni in po potrebi antacida, druga skupina je štela 31 bolnikov in je prejela poleg ranitidina še antibiotik eritromicin 4 × 500 mg 7 dni. V prvi skupini je prišlo do izboljšanja stanja pri 26 (81 %)

bolnikih brez odstranitve *C. pylori*, v drugi skupini pri 27 (87 %) bolnikih in z odstranitvijo *C. pylori* pri 3 (11,1 %) bolnikih. 4/67 bolniki niso prišli na kontrolne preiskave do zaključka študije, zato njihovi rezultati niso prikazani. Rezultat te raziskave je tudi bil, da je postalo dokazovanje *C. pylori* (kasneje *H. pylori*) od konca leta 1988 dalje v SBM s histološko preiskavo in kulturo rutinska metoda. Od leta 1989 dalje smo dokazovali *H. pylori* tudi s hitrim ureaznim testom.

**Leto 1990 (marec) do 1992 (marec) –
Preučevanje vpliva koloidnega bizmutovega
subcitrata in ranitidina na odstranitev
H. pylori pri bolnikih z gastritisom in ulkusno
bolezni**

V raziskavi je sodelovalo 55 bolnikov, od teh je imelo 43 (78,1 %) bolnikov s histološko metodo, kulturo in hitrim ureaznim testom dokazan *H. pylori* v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice. Bolniki s pozitivnim *H. pylori* so bili razvrščeni v dve skupini. Vsaka je štela po 21 bolnikov (ena bolnica ni želela nadalje sodelovati v študiji). Prva skupina je prejela ranitidin 2×150 mg dnevno 8 tednov in po potrebi antacida, druga skupina pa ranitidin 2×150 mg + KBS 2×2 tab po 120 mg dnevno 4 tedne. V skupini, ki je prejela ranitidin, ni prišlo pri nobenem bolniku do odstranitve *H. pylori*, v drugi skupini, ki je prejela poleg ranitidina še KBS, je bila okužba s *H. pylori* ozdravljena pri 4 (19,04 %) bolnikih.

**Leto 1992 (november) do 1994 (februar) –
Preučevanje tritirnega antimikrobnega
zdravljenja pri bolnikih s kroničnim
gastritisom in ulkusno boleznijo ter prisotno
bakterijo *H. pylori***

V študijo je bilo vključenih 50 bolnikov s *H. pylori*, potrjenim s histološko metodo in hitrim ureaznim testom. Oblikovani sta bili 2 skupini: vsaka je štela po 25 bolnikov.

Prva skupina je prejela ranitidin 2×150 mg dnevno 8 tednov (+ po potrebi antacida), druga skupina je prejela amoksicilin 4×500 mg + metronidazol 4×500 mg + KBS 4×120 mg dnevno 2 tedna. V prvi skupini ni pri nobenem bolniku prišlo do odstranitve *H. pylori*, v drugi skupini je bila okužba s *H. pylori* ozdravljena pri 23 (92 %) bolnikih.

**Leto 1993 (januar) do 1994 (december) –
Preučevanje epidemioloških značilnosti *H.*
pylori okužbe pri bolnikih s kroničnim
gastritisom in ulkusno boleznijo**

Študija je vključevala 60 bolnikov. Srednja starost bolnikov 52,3 leta, moških je bilo 55 %, žensk 45 %, slovenske narodnosti, prihajali so iz iste geografske regije. Vsi so imeli urejeno preskrbo s pitno vodo iz javnega vodovoda. 35 % bolnikov je živel v slabih bivalnih prostorih, 48,4 % v srednjih in 6,6 % bolnikov v zelo dobrih. Osnovnošolsko izobrazbo je imelo 46,7 % bolnikov, srednješolsko 50 % in 3,3 % visokošolsko. Slabe ekonomske razmere je navajalo 43,3 %, srednje dobre 53,4 % in 3,3 % zelo dobre. Kronič-

ni gastritis ali ulkusno bolezen smo zasledili tudi pri 8,3 % družinskih članov, 3,4 % bolnikov je imelo kirurške posege v trebuhu in 1,7 % bolnikov je bilo zaposlenih v zdravstvu. Za možne dejavnike tveganja smo ovrednotili srednjo starost, slabe do srednje dobre bivalne in ekonomske razmere ter nizko do srednješolsko izobrazbo.

**Leto 1996 (junij) do 1997 (maj) – Dokaz *H.*
pylori v zobnem plaku z metodo PCR nested**

Rezultati študije iskanja *H. pylori* v brisih zobnega plaka z metodo PCR nested pri 24 bolnikih s *H. pylori*, potrjenem v biopsijskih vzorcih želodčne sluznice z metodo PCR nested in histološko metodo so pokazali, da je bil *H. pylori* dokazan v brisih zobnega plaka pri 4 (16,6 %) bolnikih. Bris zobnega plaka je bil odvzet po opravljeni gastroskopiji na Oddelku za nalezljive bolezni in vročinska stanja SBM, gastroskopija pa je bila opravljena v Internističnem diagnostičnem centru Archimed. Hipoteze, da je zobni plak pomemben rezervoar okužbe in s tem možnega prenosa s slino ta rezultat ni potrdil, ni je pa tudi povsem ovrgel.

**Leto 2005 (od junija do 31. decembra) –
Dokazovanje protiteles razredov IgG in IgA
proti *H. pylori* v serumu in antigena v blatu pri
asimptomatskih bolnikih z encimsko
imunskim testom**

V raziskavi je sodelovalo 44 bolnikov. Vsi bolniki niso oddali seruma in blata na preiskavo. Serum na dokaz protiteles IgG in IgA je bil odvzet pri 34/44 bolnikih, vzorci blata pa pri 33/44 bolnikih. Oba vzorca je oddalo 23/44 bolnikov. Pri asimptomatskih bolnikih smo dokazali protitelesa IgG pri 26/34, pri 1/34 so bila mejno pozitivna in negativna pri 7/34 bolnikih. Protitelesa IgA so bila prisotna pri 17/34 bolnikih, pri 6/34 mejno pozitivna in negativna pri 11/34. Prisoten antigen v blatu je imelo 10/33 bolnikov, 23/33 pa ne. Protitelesa IgG in IgA v serumu in antigen v blatu so bili prisotni pri 8/33 bolnikih.

Zaključki

Rezultat raziskav, ki smo jih začeli leta 1988, pomenijo v SBM pričetek rutinskega iskanja *H. pylori* pri bolnikih z gastritisom, ulkusno boleznijo želodca in dvanajstnika in uvedbo dokaza *H. pylori* s histološko metodo, kulturo in hitrim ureaznim testom v rutinsko klinično prakso. V tem času smo pričeli tudi z zdravljenjem bolnikov z gastritisom in ulkusno boleznijo z antibiotikom eritromicinom, ker smo poznali podatke o občutljivosti in vitro in zato pričakovali dobre rezultate tudi v klinični praksi, kar so začetki študije tudi nakazovali. Zaključni rezultat raziskave je pokazal 11,1-odstotno odstranitev bakterije. Ugotovili smo, da občutljivost na antibiotik eritromicin in vitro ne sovпада s klinično uspešnostjo. Tudi študija o vplivu KBS na odstranitev *H. pylori* ni dala pričakovanih rezultatov, saj je bila dosežena stopnja odstranitve 19,04 %. Obe študiji sta tudi dokazovali, da monoterapija ne zadošča za uspešno odstranitev *H. pylori*. Potreb-

na je kombinacija več antimikrobnih zdravil, kar nam je potrdila tudi raziskava z učinkom tritirnega zdravljenja z 92-odstotno uspešnostjo odstranitve *H. pylori*. Po letu 1994 dalje so se v svetu že oblikovala priporočila kdaj in kako zdraviti okužbo s *H. pylori* in leta 1997 jih je sprejelo Evropsko združenje za raziskave *H. pylori*, še v istem letu tudi združenje za gastroenterologijo in hepatologijo pri slovenskem zdravniškem društvu (56). Pri upoštevanju priporočil je potrebno budno spremljanje uspešnosti zdravljenja tudi v lokalnem okolju, saj vemo, da narašča pridobljena odpornost proti vsem antimikrobnim zdravilom in se podatki o odpornosti lahko razlikujejo tudi v slovenskem prostoru. Prav tako je potrebno upoštevati podatek, da in vitro občutljivost ni porok tudi za klinično uspešnost in spremljati podatke o neželenih učinkih zdravil. Zato se bodo priporočila verjetno še spreminjala in optimalnih še ni.

S PCR diagnostiko dokaza *H. pylori* v bioptičnih vzorcih želodčne sluznice in brisih zobnega plaka smo ugotovili, da gre za hitro in dobro diagnostično metodo (57). Hipoteze, da je zobni plak pomemben rezervoar okužbe s *H. pylori* nismo potrdili, vendar bi te raziskave veljale še nadaljevati. Prav tako se nam zdi vreden za nadaljnjo raziskavo podatek, ki smo ga ugotovili v epidemiološki študiji o pojavnosti gastritisa in ulkusne bolezni s prisotnim *H. pylori* pri družinskih članih in s tem možnosti prenosa iz človeka na človeka. Posebno pozornost bomo posvetili rezultatom študije o dokazovanju protiteles razredov IgG in IgA v serumu in antigena v blatu pri asimptomatskih bolnikih. Študija še ni zaključena. Pričakujemo, da bodo rezultati zelo zanimivi z epidemiološkega vidika, pa tudi za nadaljnji pristop k diagnostičnim in terapevtskim postopkom pri asimptomatskih bolnikih s pozitivnimi protitelesi razredov IgG in IgA v serumu in antigena v blatu (58).

Vse opravljene študije pa so potrdile dejstvo, da je zelo dobro sodelovanje bolnikov in zdravnikov temeljilo na pogostih in obsežnih pogovorih o namenih in ciljih raziskav, kar je bistveno prispevalo k rezultatom študij.

Literatura

- Marshall BJ. Unidentified curved bacillion gastric epithelium in active chronic gastritis (letter). *Lancet* 1983; 1: 1273-4.
- Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis (letter). *Lancet* 1983; 1: 1273-3.
- Axon ATR. Campylobacter pyloridis - What role in gastritis and peptic ulcer? *B M J* 1986; 293: 772.
- Rathbone BJ, Wyatt JL, Heatley RV. Campylobacter pyloridis - a new factor in peptic ulcer disease? *GUT* 1986; 27: 635-41.
- Radšel-Medvešek A. Črevesne infekcijske bolezni. Zbornik del V. jugoslovanski kongres infektologov; 1987 Portorož 1987; Slovenija. Ljubljana: Združenje infektologov; 1987.
- Tytgat GNJ, Axon ATR, Dixon MF, Graham DY, Lee A, Marshall BY. Helicobacter pylori: causal agent in peptic ulcer disease? In: Working Party Reports of the 9th World Congresses of Gastroenterology, Melbourne, Australia. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1990.
- Blaser MJ. Gastric Campyloacter like organisms, gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1987; 93: 371-83.
- Gubina M, Križman I, Tretjak Ž, Juteršek A, Marković S. Campylobacter pylori and gastritis. 9th Jugoslave-Italian Meeting of Inf Dis; 1988 Belgrade; Srbija.
- Mc Nulty CAM, Gearty JC, Crump B, Davis M, Donovan IA, Melikian V, et al. Campylobacter pyloridis and associated gastritis: investigation blind, placebo controlled trials of bismuth salicylate and erythromycin ethylsuccinate. *BMJ* 1986; 293: 645-9.
- Tytgat GNJ, Rauws EAJ, Kortner EH. Campylobacter pylori. Diagnosis and treatment. *J Clin Gastroenterol* 1989; 11 Suppl 1: 549-53.
- Marshall BJ, Warren JR, Blincow ED, Goodwin CS, et al. Prospective double blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of Campylobacter pylori. *Lancet* 1988; 24: 1437-42.
- Axon ATR. Helicobacter pylori in the pathogenesis of peptic ulcer-evidence in favour. In: Malferheiner P, Ditschuneit H, eds. Helicobacter pylori, gastritis and peptic ulcer. Berlin: Springer Verlag; 1990: p. 345-9.
- Sipponen P. Helicobacter pylori infection a common worldwide environmental risk factor for gastric cancer? *Endoscopy* 1992; 24: 424-7.
- Stolte M. Helicobacter pylori - Spektrum: von der Gastritis bis hin zum Malignom. Editorial *Leber Magen Darm* 1992; 3: 91-4.
- Graham DY, Lew GM, Klein PD, Evans DG, Evans DJ Jr., Saeed ZA, et al. Effect of treatment of Helicobacter pylori infection on the long-term recurrence of gastric or duodenal ulcer. *Ann Intern Med* 1992; 116: 705-8.
- Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Klein PD, Adam E. Person-to-person transmission of Helicobacter pylori infection? *Proc Am Coll Gastroenterol* 1990; 98.
- Webb PM, Knight T, Greaves S, Wilson A, Newel DG, Elder J, Forman D. Realltion between infectin with Helicobacter pylori and living conditions in childhood: evidence for person-to-person transmission in early life. *BMJ* 1994; 308: 750-3.
- Drumm B, Pérez-Pérez GI, Blaser MJ, et al. Intrafamilial clustering of Helicobacter pylori infection. *N Engl J Med* 1990; 322: 359-63.
- Cammaraota G, Tursi A, Montalto M. Role of dental plaque in the transmission of Helicobacter pylori infeciton. *J Clin Gastroenterol* 1996; 22(3): 174-7.
- Ferguson D, Li C, Patel N, Mayberry W, Chi D, Thomas J. Isolation of Helicobacter pylori from saliva. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2802-4.
- Moss and Colleagues. H. pylori a risk factor for colorectal carcinoma? Digestive Disease week - San Diego, California 1995; vol. 2.
- Gorišek J, Pocajt M, Pinter Ž, Kavalar R. The epidemiology ob Helicobacter pylori infection in chronic gastritis and gastric and duodenal ulcer in the Maribor region. Abstracts. 7th Eur Cong Clin Microbiol Inf Dis 1995; 1995 Marec 26-30; Dunaj, Avstrija.
- 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.
- Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr., Klein PD, Adam E. Epidemiology of Helicobacter pylori an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991; 100: 1495-501.
- Gorišek J, Pocajt M, Novak D. Kampilobakter in ulkusna bolezen. Poročilo raziskovalne naloge. Maribor: Mestna občina Maribor, Splošna bolnišnica Maribor; 1988.
- Gubina M, Medvešek-Radšel A, Križman I, Marković S. Antralni gastritis in Helicobacter pylori: pomen in možnosti dokazovanja gastrične okužbe. Znanstveno posvetovanje. Ljubljana: Medicinska fakulteta; 1990. p. 98-108.
- 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.
- Tepes B, Kavčič B, Jurjec B. Pogostnost Helicobacter pylori pozitivnega gastritisa pri rutinskih gastroskopijah. *Zdrav Vestn* 1993; 62: 97-9.
- Graham DY, Lew GM, Malaty HM, et al. Factors influencing the eradication of Helicobacter pylori with triple therapy. *Gastroenterology* 1992; 102: 493-6.
- Patchett S, Brattie S, Keane C, O'Morain C. Short report: short term triple therapy for Helicobacter pylori-associated duodenal ulcer disease. *Alimetn-Pharmacol-Ther* 1992; 6: 113-7.
- Wong WM, Chen CY, Jon CM, et al. Long term follow-up and serological study ather triple therapy of Helicobacter pylori associated duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1793-6.

32. Lind T, Veldhuysen von Zanten SI, Unge P, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* using one-week triple therapies combining omeprazole with two antimicrobials: the MACH1 study. *Helicobacter* 1996; 1: 138–44.
33. Tepeš B, Kavčič B. Our experience in eradication of *Helicobacter pylori* in patients with chronic ulcer disease and preliminary results of more than one year follow-up. *Acta Gastroenterol Belgica* 1993; 56 Suppl: 154–4.
34. Tepeš B, Gubina M, Kavčič B, Košutič D, Križman I, Ihan A. Prospektivna kontrolirana študija zdravljenja bolnikov s *Helicobacter pylori* pozitivno ulkusno boleznijo dvanajstnika. *Zdrav Vestn* 1995; 64: 687–91.
35. Logar-Car G, Gubina M, Ferlan-Marolt V, Avšič-Županc T. Kronični *Helicobacter pylori* poz. gastritis pri otrocih – naše izkušnje z dvotedensko trojitno terapijo. *Rogaški dnevi '95*, Rogaška Slatina. Povzetki. 1995: 33–4.
36. Gubina M, Tepeš B, Gorenšek M, Križman I, Ihan A, Poljak M. Sensitivity of *Helicobacter pylori* to eight antibiotics. The Fifth International Conference on the Macrolides, Azalides, Streptogramins and Ketolides. 2000; Sevilla; Španija.
37. Tepeš B, Gubina M. Razlogi za neuspeh protimikrobnega zdravljenja okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori* in naše terapevtske možnosti. *Zdrav Vestn* 2004; 73: 5036–6.
38. 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. *Di Dis Sci* 1991; 36: 1084–8.
39. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infections. *Epidemiol Rev* 1991; 13: 42–59.
40. Gubina M, Tepeš B, Vidmar G, Ihan A, Logar J, Wraber B, Poljanec J, et al. Prevalenca protiteles proti bakteriji *Helicobacter pylori* v Sloveniji v letu 2005. *Zdrav Vestn* 2006; 75: 169–73.
41. Gorišek J, Pocajt M, Novak D. *Kampilobakter* in ulkusna bolezen. Poročilo raziskovalne naloge. Maribor: Mestna občina Maribor, Splošna bolnišnica Maribor; 1989.
42. Gorišek J, Pinter Ž, Pocajt M, Kavalr R, Novak D. Vpliv koloidnega bizmutovega subcitrate in ranitidina na eradikacijo bakterije *Helicobacter pylori* pri bolnikih z gastritisom in ulkusno boleznijo. *Zdrav Vestn* 1994; 63: 377–9.
43. Gorišek J, Pocajt M, Novak D. *Helicobacter pylori* in ulkusna bolezen. Poročilo raziskovalne naloge. Maribor: Mestna občina Maribor, Splošna bolnišnica Maribor; 1994.
44. Pavelič J, Gall Trošelj K, Gorišek J, Pavelič K. Odkrivanje bakterije *Helicobacter pylori* u bolesnika s obolenjima probavnog trakta metodom lančane reakcije polimeraze. In: Reberšek Gorišek J, ed. *Črevesne okužbe: zbornik predavanj*. Maribor: Splošna bolnišnica Maribor; 1994. p. 55–9.
45. Reberšek Gorišek J, Pinter Ž, Pavelič J. Confirmation of *Helicobacter pylori* bacterium in dental plaque by the nested PCR method. *Digestion* 1998; 59 Suppl 3: 471.
46. Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. *Lancet* 1999; 354: 30–3.
47. Fanti L, Mezzi G, Cavallero A, Gesu G, Bonato C, Masci E. A new simple immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* infection: Antigen in stool specimens. *Digestion* 1999; 60: 456–60.
48. Chang MC, Wu MS, Wang HH, Wang HP, Lin JT. *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test – A simple, accurate and non-invasive test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 299–302.
49. Skok P, Križman I, Skok M. Refluksna bolezen požiralnika, peptična razjeda in okužba s *Helicobacter pylori* – prospektivna, kontrolna raziskava. *Zdrav Vestn* 2003; 72: 71–7.
50. Skok P. *Helicobacter pylori* in posledične bolezni in ulkusna in gastroezofagealna refluksna bolezen. Učna delavnica. Povzetki predavanj. Oktober 27–28 2000, Maribor. Maribor: Splošna bolnišnica Maribor; 2000. p. 8–11.
51. Skok P, Križman I, Skok M. H. *pylori* eradication in bleeding peptic ulcer: a prospective, controlled study. *Hepato-Gastroenterol* 2001; 48 Suppl 1: 95.
52. Skok P. Vpliv izkoreninjenja bakterije *Helicobacter pylori* na razvoj refluksne bolezni požiralnika pri bolnikih s krvavečo peptično razjedo (doktorska disertacija). Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2001.
53. Mičetić-Turk D, Urlep Žužej D, Krajnc M, Knehtl M. Diagnostična vrednost neinvazivnih testov pri okužbi s *Helicobacter pylori* v otroški dobi. *Med Razgl* 2006; 45: 79–89.
54. Mičetić-Turk D, Kolacek S, Perci M, Dašović I, Jadresin O, Lukić A. Randomized study of two tripple therapies in the eradication of *Helicobacter pylori* (HP) in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31 Suppl 2: 149.
55. Mičetić-Turk D. Okužba s *Helicobacter pylori* pri otrocih in mladostnikih. In: Juričič M, Mugoša J, Lajovic J, eds. *Mladostnik in zdravje: zbornik III. kongresa šolske in visokošolske medicine Slovenije*; 2001 Maj 24–26; Novo mesto. Ljubljana: Sekcija za šolsko in visokošolsko medicino SZD; 2001. p.175–9.
56. Tepeš B, Križman I. Priporočila za zdravljenje okužbe z bakterijo *Helicobacter pylori* v Sloveniji. *Zdrav Vestn* 1998; 67: 159–62.
57. LIC, Ferguson D, Musich PR, Thomas E. High prevalence of *Helicobacter pylori* in saliva demonstrated by a novel PCR assay. *Dig Dis Sci* 1996; 41(11): 2142–9.
58. McNamara D, Whelan H, Hamilton H, Beattie S, O Morain C. HpSa assesment of a new non invasive diagnostic assay for *Helicobacter pylori* infection an an Irish population. *I Med Sci*. 1999; 168: 111–13.