

Received: 24.04.2017
Accepted: 17.11.2017
Published: 19.03.2018

Leczenie zakażeń *Helicobacter pylori* w świetle nasilającej się antybiotykooporności

Treatment of *Helicobacter pylori* infections in the light of the increase of antibiotic resistance

Eliza Mnich, Jakub Ibran, Magdalena Chmiela

Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

W artykule omówiono zagrożenia związane z występowaniem zakażeń pałeczkami *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) u ludzi oraz problemy jakie przynosi eradykacja drobnoustroju z zastosowaniem antybiotykoterapii. Zamieszczono przegląd dostępnych metod diagnostycznych, sposobów leczenia oraz zalecane i najbardziej skuteczne schematy terapeutyczne wobec zakażeń *H. pylori*. Opisano również mechanizmy oporności pałeczek *H. pylori* na najczęściej stosowane antybiotyki z uwzględnieniem mutacji w genomie drobnoustroju, prowadzących do oporności oraz częstszego występowania szczepów opornych na świecie. Przedstawiono substancje o potwierdzonej skuteczności przeciw *H. pylori* i oceniono możliwości ich zastosowania, jako środków wspomagających lub stosowanych samodzielnie.

Słowa kluczowe:

Helicobacter pylori • diagnostyka • leczenie • antybiotykooporność • alternatywne metody leczenia

Summary

The aim of this study was to present the risks associated with the occurrence of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in humans and the problems related to eradication procedures with the use of antibiotic treatment. The content provides an overview of the available methods of infection diagnosis and recommended therapeutic schemes as well as potential alternative schedules of treatment. Mechanisms of *H. pylori* resistance to commonly used antibiotics including the mutations in the genome leading to resistance and the incidence of resistant strains in the world has been described. Finally, we introduced substances with some potential in eradication therapy, including probiotics, plant formulations as well as polyunsaturated fatty acids and ascorbic acid.

Keywords:

Helicobacter pylori, diagnosis, treatment, antibiotic resistance, alternative treatments

GICID 01.3001.0011.6469
DOI: 10.5604/01.3001.0011.6469
Word count: 11620
Tables: –
Figures: 1
References: 132

Adres autorki:

prof. dr hab. Magdalena Chmiela, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90-237 Łódź, e-mail: magdalena.chmiela@biol.uni.lodz.pl

WSTĘP

Charakterystyka *Helicobacter pylori*

W 1984 r. Marshall i Warren z wycinków błony śluzowej żołądka pobranych za pomocą biopsji od pacjentów skierowanych na badanie gastroscopowe wyhodowali nieznane dotychczas bakterie, spokrewnione z rodzajem *Campylobacter* [81]. Drobnoustroje te znane dziś pod nazwą *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to Gram-ujemne, spiralne bakterie wyposażone w kilka rzęsek, zaliczane do mikroaerofilów. Występują w trzech postaciach morfologicznych: żywa – spiralna, przetrwalna – ziarniakowata (kokoidalna) oraz degeneratywna, powstająca podczas długotrwałej hodowli *in vitro* [4,67]. Bakterie te wytwarzają ureazę, katalizującą rozkład mocznika do amoniaku i dostosowują stężenia tego enzymu w zależności od warunków panujących w żołądku. W prawidłowych warunkach fizjologicznych, ureaza zachowuje aktywność przy pH poniżej 3,0 co pozwala na zubożenie najbliższego otoczenia bakterii i umożliwia ich przetrwanie oraz namnażanie się [47]. Aktywność katalityczna ureazy *H. pylori* jest powszechnie wykorzystywana w diagnostyce tych zakażeń [64].

Choroby i zaburzenia towarzyszące zakażeniu

Zakażenia *H. pylori* mogą mieć charakter bezobjawowy lub przebiegać z objawami dyspepsji (uczucie zgagi, ciężkość po posiłku, refluks treści pokarmowej, nadkwaśność, naprzemienne biegunki lub zaparcia) [79,86]. U osób zakażonych *H. pylori* rozwija się w nabłonku żołądka lub dwunastnicy silna reakcja zapalna, która może być przyczyną procesów patologicznych [18,109].

Nosicielstwo *H. pylori* może się przyczyniać do wystąpienia nawrotów, choroby wrzodowej żołądka i dwunastnicy (PUD; peptic ulcer disease). Skuteczna eliminacja zakażenia ma istotny wpływ na zwalczanie PUD, gdyż jak wykazano w licznych badaniach odsetek rocznej remisji po eradykacji zakażenia *H. pylori* był o połowę wyższy i przekraczał 90% przypadków. U pacjentów niepoddanych eradykacji *H. pylori* okres rocznej remisji PUD mieścił się w zakresie 60-65% [16,72,95].

Chłoniak typu MALT (mucosa associated lymphoid tissue) to nowotwór tkanki limfatycznej w obrębie śluzówki żołądka. Za jego powstanie przeważnie odpowiada aktywne zakażenie *H. pylori*. Obecność i przenikanie drobnoustrojów do blaszki właściwej żołądka inicjuje proliferację limfocytów B, a w następstwie rozwój nowotworu o charakterze łagodnym lub złośliwym [30]. Eradykacja zakażenia może doprowadzić do zmniejszenia się guzów i całkowitej remisji choroby, a także uchronić

od nawrotu chłoniaka złośliwego. Chen i wsp. zaobserwowali całkowitą remisję chłoniaka MALT o wysokim stopniu złośliwości u 64% chorych oraz brak nawrotu choroby w ciągu 5 lat obserwacji [14].

Aktywna infekcja *H. pylori* jest istotnym czynnikiem ryzyka wystąpienia gruczolakoraka żołądka oraz raka żołądka, częściej o typie jelitowym niż rozlanym. Przewlekły stan zapalny błony śluzowej żołądka prowadzi do metaplastji, a następnie do dysplazji komórek nabłonka, pokrywających ściany żołądka [56,89,124]. W 1994 r. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO; World Health Organization) uznała *H. pylori* za kancerogen klasy I.

Epidemiologia zakażeń *H. pylori*

Dane literaturowe wskazują, że na całym świecie jest 50-75% nosicieli pałeczek *H. pylori* [79,102,113,126]. Współczynnik nosicielstwa różni się w poszczególnych krajach oraz regionach geograficznych i zależy od statusu gospodarczego państwa oraz sytuacji socjoekonomicznej społeczeństwa. Na przykład w Stanach Zjednoczonych odsetek zakażeń *H. pylori* wynosi 30-40% i ze względu na rzadsze występowanie tych bakterii u dzieci przewiduje się również ograniczenie rozprzestrzenienia się zakażenia w przyszłości [16,57,99]. W cytowanych badaniach wykazano, że poziom nosicielstwa jest wprost proporcjonalny do wieku (u osób urodzonych przed 1950 r. jest najwyższy) [43]. W krajach rozwijających się odsetek nosicielstwa przekracza 70% (w Chinach wynosi ponad 80%) [129]. W Europie jeden z największych wskaźników występowania *H. pylori* odnotowano w Hiszpanii, gdzie odsetek zakażonych w Madrycie przekracza 60% populacji [104]. W Polsce średnio zakażenia *H. pylori* dotyczą 58% ogółu społeczeństwa. Według danych z 2004 r., odsetek zakażonych osób dorosłych wynosił 84%, natomiast odsetek dzieci do 18 roku życia - 32%. Wartości te sprawiają, że Polska należy do krajów o wysokim rozpowszechnieniu zakażenia [66,76]. Wśród indiańskich plemion zamieszkujących Kanadę zakażenia *H. pylori* są szeroko rozpowszechnione (95%), mimo bardzo niskiego odsetka zakażeń u pozostałej populacji tego kraju (30%). Ma na to wpływ niższy status społeczny i ekonomiczny rdzennych mieszkańców Kanady i ich większa ekspozycja na czynniki wysokiego ryzyka [9,98].

Częstsze zakażenia *H. pylori* wiążą się ściśle z wysokością dochodu, współczynnikiem zaludnienia, poziomem higieny, spożyciem zepsutej bądź niewłaściwie przetworzonej żywności, występowaniem zakażeń w rodzinie i najbliższym otoczeniu. Zależność między zakażeniem *H. pylori* a nikotynizmem, spożywaniem alkoholu, czy rodzajem diety, jest wciąż wątpliwa [12].

Zakażenia *H. pylori* mogą się rozprzestrzeniać wśród ludzi na drodze ustno-ustnej, kałowo-ustnej oraz żołądkowo-ustnej. W krajach wysoko rozwiniętych najczęstsza jest droga ustno-ustna. Jednak, mimo wykrycia czasowej obecności *H. pylori* w jamie ustnej metodami genetycznymi, nie można jednoznacznie stwierdzić, że to środowisko jest ich trwałym rezerwuarem [1,93,100]. Pałeczki *H. pylori* zostały również wyhodowane z ludzkich wymiocin, co może mieć przełożenie na rozprzestrzenianie się zakażenia [97].

Niektórzy badacze sugerują, że zanieczyszczona woda może być źródłem transmisji zakażeń *H. pylori*. Mimo że badania próbek wody w Pensylwanii i Ohio w Stanach Zjednoczonych potwierdziły obecność antygenów *H. pylori* w tym środowisku [5,48], to jednak nie udało się wykazać przekształcenia dominujących w wodzie form ziarenkowatych tych bakterii w helikalne, w organizmie człowieka. Ponadto, w przytoczonych badaniach nie wykryto DNA *H. pylori* w wodzie środowiskowej, dlatego nie ma jednoznacznego dowodu, pozwalającego sądzić, że woda może być rezerwuarem pałeczek *H. pylori* [58,91]. Natomiast wykazano, że niektóre ssaki i owady, najczęściej muchy, mogą być wektorami dla *H. pylori* [12].

DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ

Po odkryciu *H. pylori* oraz wykazaniu związku między zakażeniem tymi bakteriami a niektórymi chorobami żołądka i dwunastnicy opracowanie skutecznych metod diagnostyki miało kluczowe znaczenie w wykryciu takich zakażeń i eradykacji drobnoustroju. Obecnie dostępnych jest wiele metod pozwalających potwierdzić występowanie *H. pylori* w żołądku. Każda z nich charakteryzuje się różnym stopniem inwazyjności, skutecznością zależną od historii pacjenta, kosztami i innymi wymogami dotyczącymi posiadanego zaplecza diagnostycznego czy kwalifikacji personelu laboratoryjnego. Nowoczesne metody diagnostyki zakażeń *H. pylori* dzieli się głównie ze względu na stopień inwazyjności. Metody inwazyjne opierają się na pobraniu endoskopowo materiału badawczego, jakim jest tkanka żołądka. Pobrane fragmenty tkanki przeznacza się do badania histologicznego, szybkiego testu ureazowego (RUT; rapid urease test), badań mikrobiologicznych (posiew) oraz molekularnych z zastosowaniem łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR; polimerase chain reaction). Do pozostałych metod, określanych jako nieinwazyjne, nie jest potrzebny materiał pobrany podczas gastroskopii. Metodami nieinwazyjnymi są badania serologiczne na obecność swoistych przeciwbakteryjnych przeciwciał, wykrywanych głównie w surowicy, oddechowy test ureazowy (UBT; urea breath test) oraz badanie kału na obecność antygenów *H. pylori* (SAT; stool antigen test). Żadna z podanych wyżej metod diagnostycznych nie została jednak uznana za złoty standard w wykrywaniu zakażeń *H. pylori* i obecnie rekomenduje się kombinację przynajmniej dwóch wybranych metod. Przy doborze odpowiednich technik bierze się pod uwagę koszty wykonania badania, dostępność specjalistycznego sprzętu, a także przydatność

badan w zależności od konkretnego przypadku, objawów klinicznych i wieku pacjenta [74].

Szybki test ureazowy

Badanie z wykorzystaniem RUT polega na wykryciu aktywności ureazy *H. pylori* w celu potwierdzenia aktywnej infekcji. Pobrany wycinek tkanki żołądka (biopat) umieszcza się w podłożu agarowym lub płynnym zawierającym mocznik, bufor i wskaźnik pH. Jeśli w materiale badanym występuje aktywny enzym - ureaza, wówczas mocznik zostaje przekształcony do amoniaku i dwutlenku węgla, wskutek czego pH środowiska wzrasta i zmienia się kolor użytego wskaźnika, potwierdzając występowanie zakażenia. Komercyjne zestawy pozwalają na uzyskanie wyników w czasie 1-24 godzin, w zależności od stopnia kolonizacji nabłonka żołądka przez pałeczki *H. pylori* [16,74]. Swoistość dostępnych na rynku zestawów RUT przekracza 95%, a czułość 90% [84,117]. Dzięki możliwości uzyskania szybkich i wiarygodnych wyników, stosunkowo niskim kosztem i szerokiej dostępności komercyjnych zestawów, technika ta może być z praktycznego punktu widzenia bardziej użyteczna i atrakcyjna, niż badania histologiczne, czy posiewowe.

W praktyce diagnostycznej istnieje ryzyko uzyskania fałszywie ujemnego wyniku testu RUT w związku z przyjmowaniem przez pacjenta inhibitorów pompy protonowej (PPI; proton pump inhibitors), soli bizmutu czy antybiotyków. Dowiedziono, że czułość RUT przy stosowaniu tych substancji może spaść nawet o 25% [84], co ma duże znaczenie w medycynie praktycznej, ponieważ na gastroscopię często kierowani są pacjenci w trakcie kuracji PPI. Obecnie zaleca się w takiej sytuacji, aby negatywny wynik testu rozważyć jako fałszywie ujemny [105]. Czułość testu może również być mniejsza u pacjentów po pęknięciu wrzodu czy resekcji części żołądka [19,114], a pobranie tkanki żołądka do badań z dwóch miejsc może zwiększyć szanse na wykrycie zakażenia, szczególnie w sytuacji, gdy występują zjawiska niesprzyjające detekcji [54].

Badanie mikrobiologiczne

Od czasu odkrycia *H. pylori*, metody hodowli tych bakterii były standardowo wykorzystywane do potwierdzenia zakażenia. Jednak ze względu na koszty, długoterminową hodowlę, wymagane zaplecze techniczne i mniejszą czułość diagnostyczną w porównaniu z RUT oraz badania histologicznego, podczas IV kongresu w Maastricht zarekomendowano ich hodowlę w celu badania oporności na antybiotyki w regionach z opornością na klarytromycynę wyższą niż 20% oraz gdy druga terapia eradykacyjna zawiodła [79].

Hodowla *H. pylori* przysparza trudności ze względu na wysokie wymagania odżywcze. W laboratoriach wykorzystuje się bogate w składniki podłoża agarowe z dodatkiem krwi owczej lub końskiej, emulsji żółtkowej bądź β -cyklodekstryny [87,90,125]. *H. pylori* jest kapnofi-

lem i konieczne jest wzbogacenie atmosfery w dwutlenek węgla do stężenia 5-10%. Wprawdzie drobnoustroj został scharakteryzowany jako mikroaerofilny, niedawne badania wskazują, że możliwy jest jego wzrost w atmosferycznym stężeniu tlenu przy jednoczesnym stężeniu dwutlenku węgla na poziomie 10% [96].

Ze względu na nieregularne rozmieszczenie pałeczek *H. pylori* w śluzówce żołądka zaleca się pobranie biopłatów z dwóch różnych miejsc. Tak jak w przypadku RUT, krwawienie wrzodów, wcześniejsze terapie eradykacyjne, a także picie alkoholu i zażywanie blokerów receptorów histaminę mogą zmniejszać szanse powodzenia hodowli [19,73].

Badanie histologiczne

Badanie histologiczne, w którym identyfikuje się charakterystycznie zakrzywione bakterie określane jako *Helicobacter*-podobne organizmy (HLO; *Helicobacter* - like organisms), mimo czułości >95% nie zostało uznane za optymalną metodę diagnostyczną z powodu dużej zależności wyniku od doświadczenia histopatologa, przeprowadzającego badanie oraz liczby, wielkości, pochodzenia badanych próbek i sposobu ich wybarwiania. Ze względu na nieregularne rozmieszczenie drobnoustrojów w śluzówce żołądka oraz obniżoną czułość badania z powodu przyjmowania antybiotyków i PPI, zaleca się pobranie przynajmniej trzech fragmentów tkanki z różnych części żołądka: wcięcia kąтового, krzywizny większej trzonu oraz krzywizny większej odźwiernika [29]. Dużą zaletą badania histologicznego jest możliwość jednoczesnego stwierdzenia nieprawidłowości w tkance, które mogą towarzyszyć zakażeniu: stan zapalny, atrofia, metaplasja, a ostatecznie proces nowotworowy [25]. Wykonanie tego badania jest kosztowne i wymaga odpowiednio wykwalifikowanego personelu, co sprawia, że metoda nie jest stosowana powszechnie, tak jak RUT.

Metody molekularne

Technika PCR, polegająca na amplifikacji materiału genetycznego, jest bardzo swoistym i czułym narzędziem diagnostycznym do wykrywania zakażenia *H. pylori* u pacjentów. Przeprowadzono badanie, które umożliwiło wykrycie materiału genetycznego *H. pylori* w 20% biopłatów, w których nie można było potwierdzić zakażenia w badaniu histopatologicznym, a to wskazuje na znacznie wyższą czułość techniki PCR [131]. Techniki molekularne pozwalają również na badanie mechanizmów antybiooporności izolatów, co jest alternatywą dla hodowli na podłożach mikrobiologicznych. W ostatnich latach opracowano kompleksową technikę PCR opartą na podwójnych starterach oligonukleotydowych, która pozwala na wykrycie *H. pylori* i jednoczesną identyfikację mutacji, opornych szczepów na klarytromycynę. Technika wymaga stosunkowo niewielkich nakładów finansowych, dlatego też może znaleźć szersze zastosowanie w regionach o wysokim wskaźniku oporności *H. pylori* na klarytromycynę [71].

Dużą zaletą wykorzystania techniki PCR jest możliwość przebadania nie tylko materiału z biopsji, ale również kału i płytki nazębnej, które mogą być rezerwuarem tych bakterii [74].

Oddechowy test ureazowy (UBT)

Test UBT opiera się na ocenie aktywności ureazy *H. pylori*, wykorzystuje się mocznik znakowany węglem ^{13}C lub ^{14}C podawany doustnie, który jest metabolizowany do amoniaku i dwutlenku węgla. Następnie po upływie kilkunastu do kilkudziesięciu minut, pobiera się próbki wydychanej mieszaniny gazów. Jeśli w badanej próbce są wykrywane izotopy węgla metodą spektrometrii masowej wskazuje to na aktywną infekcję. W UBT wykorzystywany jest kwas cytrynowy, który podany doustnie stabilizuje pH w żołądku [36,108]. U małych dzieci z powodzeniem można zastosować sok jabłkowy, pomarańczowy lub grejpfrutowy przy jednocześnie zmniejszonej dawce znakowanego mocznika [82].

Jednocześnie z badaniem próbki wydychanych gazów można wykonać badanie krwi. Obecność dwuwęglanów zawierających izotop ^{13}C lub ^{14}C w krwi jest oznaką zakażenia. Czułość testu z użyciem próbki krwi jest porównywalna do czułości klasycznego UBT, co sprawia, że metoda może być z powodzeniem stosowana w diagnostyce przed i po zakończeniu terapii eradykacyjnej [15].

Podobnie jak przy RUT, użycie UBT w trakcie zażywania substancji hamujących aktywność ureazy lub wzrost *H. pylori*, może obniżyć czułość badania i dać fałszywie ujemny wynik. Dlatego zaleca się, aby po zakończeniu terapii antybiotykowej odczekać minimum 4 tygodnie, a w przypadku zażywania samych PPI 1-2 tygodnie do następnego badania [17,68].

Badania serologiczne

Badania serologiczne opierają się na wykrywaniu swoistych przeciwciał IgG przeciwko *H. pylori*, głównie we krwi. Wykrywane są za pomocą laboratoryjnych lub handlowych testów immunoenzymatycznych (ELISA; enzyme linked immunosorbent assay) oraz odczynów lateksowych. Metody są stosunkowo tanie, łatwo dostępne, a przy tym nieinwazyjne. Jednak ich czułość i swoistość są niższe (odpowiednio 85 i 79%), niż innych metod diagnostycznych, dlatego nie mogą być uznane za złoty standard w diagnostyce *H. pylori* [50,75,79,101]. Ponadto swoiste przeciwciała mogą pozostać w organizmie nawet kilka lat po skutecznej eradykacji *H. pylori*, co oznacza, że techniki ich wykrywania nie mogą znaleźć zastosowania w diagnostyce po zakończeniu terapii eradykacyjnej.

Czułość metod diagnostycznych jest różna w zależności od lokalnego odsetka osób zakażonych *H. pylori*. W praktyce okazuje się, że testy oparte na antygenach pozyskanych ze szczepów w jednym regionie świata mogą nie być wystarczająco czułe i swoiste podczas stosowania

ich w innych regionach. Dlatego dobrym rozwiązaniem może być tworzenie testów serologicznych z przeznaczeniem dla wybranych regionów geograficznych do opracowania, których wykorzystuje się „lokalny” materiał zakaźny [52,106].

Badania kału (SAT)

Badanie kału przeprowadza się w celu wykrycia antygenów *H. pylori*, a nie jak w przypadku testów serologicznych występowania swoistych surowiczych przeciwciał. Jest to metoda tania, powszechnie dostępna i nieinwazyjna. W procedurze wykorzystuje się przeciwciała poliklonalne lub monoklonalne przeciwko antygenom *H. pylori*. Zarówno czułość, jak i swoistość testu SAT przed terapią eradykacyjną *H. pylori* jest zadowalająca i wynosi >90%. Jednak po zakończeniu leczenia czułość testów SAT na bazie przeciwciał poliklonalnych jest wyraźnie niższa i spada < 90%. Z tego względu testy takie nie powinny być stosowane do potwierdzenia skuteczności leczenia [35,37]. Niektóre dane wskazują, że test SAT może zostać przeprowadzony z powodzeniem już 2 tygodnie po zakończeniu terapii eradykacyjnej. Jednak dla większej wiarygodności wyników sugerowane jest przeprowadzenie badania diagnostycznego po upływie 8-12 tygodni od zakończenia leczenia [118].

Podobnie jak w przypadku innych metod nieinwazyjnych czułość SAT spada po zastosowaniu antybiotyków, soli bizmutu i PPI. Dlatego przed badaniem, po zakończeniu przyjmowania leków, należy zachować odpowiedni odstęp czasowy [11]. Taka sama tendencja występuje w sytuacji krwawienia wrzodu i wtedy należy rozważyć przeprowadzenie innych badań [43,44].

ZWALCZANIE ZAKAŻEŃ

Ze względu na specyficzne środowisko bytowania *H. pylori*, jakim jest nabłonek ściany żołądka pokryty warstwą gęstego śluzu, eradykacja bakterii przysparza pewnych trudności. Kwasowość soku żołądkowego wpływa negatywnie na aktywność biologiczną leków przeciwbakteryjnych, co jest spowodowane ich niską stabilnością chemiczną. Również transport antybiotyków z osocza do soku żołądkowego nie jest wystarczająco wydajny. Dlatego też w zwalczaniu zakażeń *H. pylori* szerokie zastosowanie mają PPI, jako substancje hamujące aktywność H^+/K^+ ATPazy komórek okładzinowych żołądka, co ogranicza wydzielanie przez nie kwasu solnego. Podwyższenie pH soku żołądkowego nie tylko zwiększa stabilność chemiczną antybiotyków i przyspiesza ich transport przez ścianę żołądka z krwiobiegu, ale również pozwala na częściową regenerację tkanek nabłonka, uszkodzonych w wyniku zakażenia. Inhibitory pompy protonowej stosuje się też w celu łagodzenia objawów klinicznych, będących wynikiem zakażenia *H. pylori* (nadkwasota, wrzody żołądka) [102].

Najpopularniejsze, a zarazem najwcześniej używane w terapii eradykacyjnej antybiotyki to amoksycylina,

klarytromycyna i metronidazol. W pierwszych skojarzonych modelach terapeutycznych były pojedynczo łączone z PPI stanowiąc tzw. terapię podwójną. Jednak wzrost i rozpowszechnienie się na świecie oporności *H. pylori* na klarytromycynę i metronidazol spowodowały konieczność opracowania innych, skuteczniejszych metod. Obecnie stosuje się również tetracykliny, tinidazol, rifambutynę, furazolidon [102,107], a także dość często fluorochinolony [79]. Niestety w wielu regionach świata wykształcił się wysoki stopień oporności na większość z wymienionych leków, co zmusza do poszukiwania nowych sposobów eliminacji zakażeń *H. pylori* [55]. Wyjątkiem jest amoksycylina, gdyż stopień rozpowszechnienia oporności na ten antybiotyk w wielu regionach świata nie przekracza kilku procent. Amoksycylina nie powinna być jednak stosowana samodzielnie, tylko w połączeniu z PPI, co sprawia, że staje się stabilna dopiero w pH >5,5. U osób z niską wrażliwością na PPI dawałoby to niezadowalające właściwości terapeutyczne [3] i mogłoby się przyczynić do wzrostu rozpowszechnienia oporności *H. pylori*, a także innych drobnoustrojów na ten antybiotyk. U pacjentów, u których występuje uczulenie na penicylinę, amoksycylina powinna zostać całkowicie wyłączona z terapii i zastąpiona metronidazolem [79].

Do eradykacji *H. pylori* bardzo ważną z klinicznego punktu widzenia grupą substancji są bionieorganiczne sole bizmutu, które odznaczają się bardzo dużą efektywnością przeciwbakteryjną przy jednocześnie niewielkiej toksyczności dla człowieka [31]. Bioaktywne związki bizmutu znalazły zastosowanie w leczeniu dolegliwości przewodu pokarmowego ze względu na właściwości ściągające i wysuszające. Mogą również łagodzić stany zapalne śluzówki, zmniejszając jej przekrwienie oraz blokować działanie wielu bakteryjnych toksyn. Dla komórek bakteryjnych sole bizmutu są bardzo toksyczne i mają wielokierunkowe działanie, polegające na hamowaniu syntezy ściany komórkowej, ATP i enzymów, takich jak ureaza, katalaza i lipaza, a także na zaburzeniu funkcjonowania błony komórkowej przez tworzenie z nią trwałych kompleksów. Upośledzają również zdolność adhezji *H. pylori* do komórek nabłonkowych żołądka [69]. Największą zaletą tego typu związków jest to, że nie zaobserwowano do tej pory żadnych mechanizmów oporności drobnoustrojów na nie. Jednak, mimo że oddziałują na wiele procesów fizjologicznych bakterii, nie mogą być stosowane samodzielnie, gdyż mają zbyt małą skuteczność eradykacji - nieprzekraczającą 32%. Podawane z antybiotykami znacznie podwyższają ich skuteczność. Dlatego zaleca się włączenie związków bizmutu do różnych schematów leczenia zakażeń *H. pylori* [79]. W Polsce sole bizmutu są trudno dostępne, dlatego proponowany jest potrójny schemat leczenia zawierający PPI, amoksycylinę oraz metronidazol [6].

Schemat leczenia potrójnego

Strategia taka została przyjęta jako pierwszorzędna w leczeniu zakażeń *H. pylori* podczas konferencji

w Maastricht w 1997 r., gdyż dawała zadowalający poziom eradykacji >90%. Leczenie pierwszego rzutu polegało na podawaniu amoksycyliny lub klarytromycyny w połączeniu z metronidazolem i PPI, przez 7 dni. Jednak w ciągu ostatnich lat zaobserwowano zmniejszenie skuteczności tego schematu. W wielu krajach odsetek eradykacji obniżył się do 70% [79]. Taki stan uzasadnia się przede wszystkim rozpowszechnieniem oporności na klarytromycynę, która w Europie zachodniej, centralnej i południowej, a także w wielu innych regionach świata przekroczyła 20%. Główną przyczyną nieskutecznej antybiotykoterapii z wykorzystaniem klarytromycyny jest oporność *H. pylori* determinowana genetycznie, wynikająca z mutacji w podjednostce 23S RNA oraz szybkiego transferu genów oporności [110]. W rejonach o oporności *H. pylori* na klarytromycynę większej niż 15-20% (m.in. w Polsce), należy ją wycofać z leczenia [7].

Według najnowszych wytycznych z V kongresu w Maastricht w wielu krajach wykluczono klarytromycynę ze schematów leczenia zakażenia *H. pylori* ze względu na wysoką oporność szczepów bakteryjnych. Na obszarach o wysokiej oporności na klarytromycynę (>15%), ale niskiej oporności na metronidazol zaleca się potrójny schemat leczenia (PPI, amoksycylina, metronidazol) [79,80]. W krajach, w których obserwowana jest wysoka oporność szczepów *H. pylori* na klarytromycynę (>15%), ale niską na metronidazol (<15%) np. w centralnej i południowej Europie oraz w Stanach Zjednoczonych zalecana jest poczwórna terapia bez soli bizmutu lub schematy czteroskładnikowe, które nie przewidują podawania soli bizmutu (concomitant treatment), np. w sytuacji braku dostępności tego typu substancji. Natomiast na obszarach z wysoką podwójną opornością szczepów na klarytromycynę i metronidazol (>15%) jest rekomendowana poczwórna terapia z solami bizmutu. Jeśli sole bizmutu są niedostępne, wówczas można je zastąpić lewofloksacyną, ryfabutyką i wysoką dawką podwójnej terapii (PPI + amoksycylina) [80]. W celu zwiększenia skuteczności terapii możliwe jest zwiększenie dawki PPIs, a także przyjmowanie ich dwa razy dziennie, a nie jeden raz [120]. Takie zmiany w dawkowaniu inhibitorów mogą podnieść skuteczność eradykacji o 6-12% [122]. Zwiększenie skuteczności leczenia można również osiągnąć przez wydłużenie czasu antybiotykoterapii z 7 do 10-14 dni [94].

Jednym z nowo proponowanych potrójnych modeli terapeutycznych jest połączenie PPI z lewofloksacyną i amoksycyliną, zażywanych przez 10 dni. Taki schemat mógłby być stosowany po niepowodzeniu pierwszego potrójnego schematu leczenia [35,37,38]. Jednak ze względu na stale rosnącą oporność bakterii na lewofloksacynę zaleca się ostrożność w jej przepisaniu oraz wcześniejsze wykonanie antybiogramu i odradza się stosowanie u osób, które w przeszłości były nim leczone z powodu przewlekłych infekcji dolnych dróg oddechowych [79].

Schematy leczenia poczwórnego

Połączenie dwóch antybiotyków, PPI oraz soli bizmutu i ich podawanie przez 14 dni jest zalecane w krajach z podwójną opornością szczepów *H. pylori* na klarytromycynę i metronidazol. Ze schematu leczenia wykluczona jest klarytromycyna, gdyż oporność na ten antybiotyk jest szeroko rozpowszechniona [38,79].

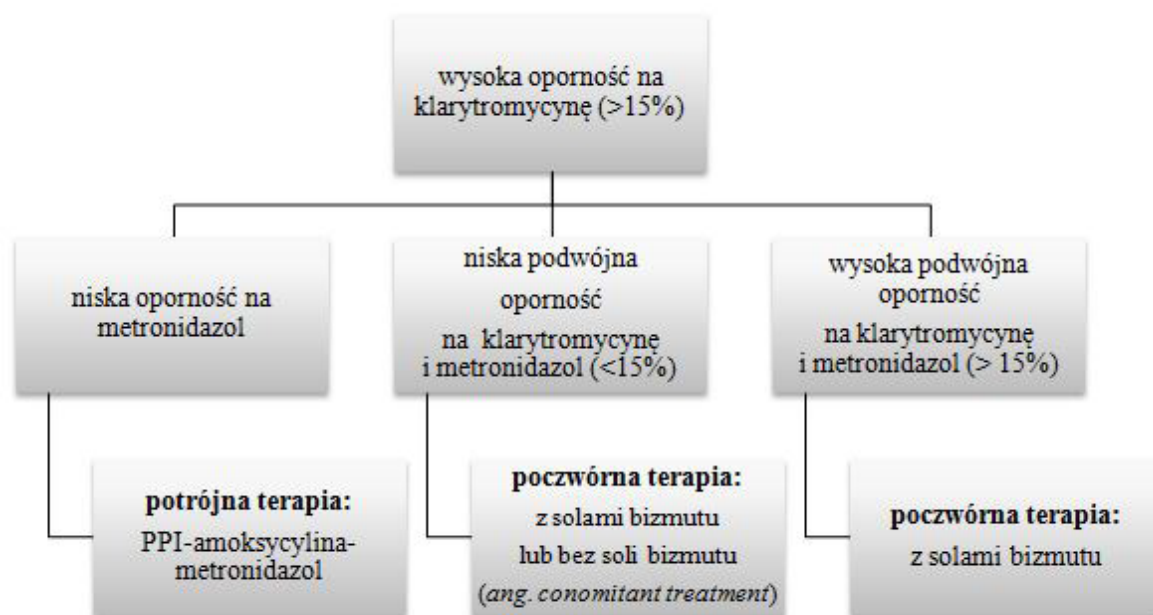
Przy niepowodzeniu eradykacji można zastosować potrójny schemat leczenia z lewofloksacyną. W razie nieskuteczności leczenia zaleca się określenie indywidualnego profilu oporności szczepu pacjenta w celu doboru odpowiedniego zestawu leków i ewentualnego włączenia antybiotyków niezastosowanych wcześniej [79]. Jednym z proponowanych schematów leczenia zakażeń *H. pylori* jest również tzw. terapia sekwencyjna, w której przez pierwsze 5 dni jest podawany najpierw tylko PPI, a następnie przez kolejne 5 dni dodatkowo klarytromycyna i tynidazol, ze skutecznością >90% [119,132]. Sposoby leczenia zakażeń *H. pylori* w zależności od oporności szczepów na klarytromycynę zostały przedstawione na ryc. 1.

Antybiotykooporność szczepów *H. pylori*

Rosnąca oporność *H. pylori* na antybiotyki, jak również dobór odpowiednich pod względem działania i właściwości chemicznych leków, są jednymi z najpoważniejszych problemów w eradykacji takich zakażeń. Powszechnie przyjęta strategia trójkowa zawierająca klarytromycynę, która początkowo dawała zadowalające wyniki (>90% eradykacji), w ostatnich latach ma coraz mniejszą skuteczność. Przyczyną tego jest coraz częstsze występowanie szczepów *H. pylori* opornych na klarytromycynę oraz wzrost oporności na metronidazol [79]. Obecnie w próbach eradykacji *H. pylori* wykorzystywanych jest wiele rodzajów antybiotyków. W artykule omówiono tylko te najczęściej używane i o największym znaczeniu terapeutycznym.

Klarytromycyna

Oporność szczepów *H. pylori* na klarytromycynę, zwiększyła się w ciągu ostatnich dwudziestu lat do >20-25% [113]. Na przykład w Japonii wzrosła z 1,8% (1996 r.) do 27,1% (2008 r.). W latach 2000-2013 ogólna oporność na klarytromycynę występowała u 31,1% badanych szczepów *H. pylori*. W Chinach oporność badanych szczepów od 2000 r. do 2014 r. wzrosła z 14,8 do 52,6%, a w Korei Południowej z 11 do 60% w latach 2005-2009. Względnie niższy wzrost częstości występowania oporności na klarytromycynę zaobserwowano w Stanach Zjednoczonych, gdzie od 1993 r. z 6,1% do 2002 r. wzrosła dwukrotnie (12,9%). Jednak w grupie weteranów wojskowych w tym kraju w latach 2009-2013 zanotowano 17,8%, szczepów *H. pylori* opornych na klarytromycynę, a u pacjentów pediatrycznych - powyżej 50%. Badania wykonane w Turcji wykazały wzrost występowania oporności z około 25 w 2003 r. do ponad 35% w 2006 r., a w Hiszpanii w latach 1998-2008 z 15 do około 35%. Najniższy



Ryc. 1. Strategie leczenia zakażeń *H. pylori*, zaproponowane podczas V kongresu w Maastricht w 2016 r. [80]

stopień oporności, który nie przekracza 5%, obserwuje się w Szwecji. Wykazano korelację między częstością występowania oporności *H. pylori* na klarytromycynę a częstością występowania zakażenia w populacji. Im większy jest w danym regionie odsetek ludzi, będących nosicielami *H. pylori*, tym większa częstość oporności na klarytromycynę. Wśród dzieci w Polsce zaobserwowano wzrost występowania oporności *H. pylori* na klarytromycynę (z 19,3 do 28% w latach 1996–2004), co najprawdopodobniej jest związane z szerokim zastosowaniem terapeutycznym tego makrolidu, np. w leczeniu infekcji dróg oddechowych [113].

Klarytromycyna należy do grupy antybiotyków makrolidowych, zawierających duży pierścień laktonowy złożony z 12–16 atomów węgla, do którego przyłączone są deoksycukry. Liczba atomów węgla w pierścieniu laktonowym klarytromycyny (14) czyni ją podobną do erytromycyny. Odróżnia ją jednak dodatkowa grupa metylowa przyłączona do pierścienia laktonowego za pośrednictwem atomu tlenu. Wobec bakterii klarytromycyna wykazuje działanie bakteriostatyczne przez hamowanie procesu biosyntezy białek. Antybiotyk wnika do komórki bakteryjnej, przyłącza się do kwasu rybonukleinowego 23S rRNA w podjednostce 50S rybosomu i nie dopuszcza do wydłużania łańcucha peptydowego, powodując jego przedwczesne uwolnienie z rybosomu. W ten sposób bakterie nie mogą wytwarzać białek o odpowiednich właściwościach i tym samym nie mogą się dzielić [123].

Głównym mechanizmem oporności bakterii na ten antybiotyk są punktowe mutacje występujące w genie

kodującym łańcuch 23S rRNA. Ich działanie polega na zmniejszeniu powinowactwa do makrolidu i uniemożliwieniu przedwczesnego przerwania translacji [55]. Mutacja powoduje zastąpienie adeniny guaniną (A→G) w pozycji 2142 lub 2143 genu bądź adeniny na cytozynę w pozycji 2142 [121]. Najniższe stężenie hamujące antybiotyku (MIC; minimal inhibitory concentration) jest najwyższe w przypadku mutacji polegającej na zamianie A→G w pozycji 2142 (MIC > 64,1 mg/l). Jednocześnie najniższy odsetek udanej eradykacji *H. pylori* (30,7%) zanotowano w grupie zakażonej szczepem z mutacją A→G w pozycji 2143 nukleotydu. Sugeruje się, że to właśnie ta punktowa mutacja odpowiada najczęściej za niepowodzenie terapii eradykacyjnej z użyciem klarytromycyny [2]. W badaniach nad genomem opornych szczepów *H. pylori* wykazano również wiele innych mutacji punktowych, takich jak A2144T, G1939A, T1942C, T2717C, T2289C, G2224T, czy C2245T. Jednak, niesprecyzowano dotąd w jakim stopniu wpływają na mechanizm oporności. Ponadto mutacje punktowe w genach *hp1048* (*infB*) i *hp1314* (*rpl22*), a także insercja 9 bp bądź delekcja 3 bp występujące niezależnie, mogą spowodować wykształcenie się niewielkiej oporności. Mutacje w tych genach mogą działać synergistycznie z mutacjami genu transkrybującego 23S rRNA i znacząco podwyższać oporność (MIC > 256 mg/l) [55].

Jednym z mechanizmów oporności *H. pylori* na klarytromycynę jest również aktywne wydalenie antybiotyku z komórki bakteryjnej za pomocą pomp wydzielniczych (efflux pump). Przeprowadzono badania genomów 15 szczepów *H. pylori* opornych na klarytromycynę

i u wszystkich zachodziła transkrypcja RNA kodującego białka pomp wydzielniczych. Stosowanie łącznie klarytromycyny i inhibitorów pompy wydzielniczej w leczeniu zakażenia *H. pylori* może osłabić oporność szczepów i znacząco obniżyć MIC [49].

Dzierżanowska-Fragnat i wsp. wykazali wysoki stopień (13-15,5%) występowania szczepów *H. pylori* opornych zarówno na klarytromycynę i metronidazol u dzieci, jak i dorosłych w Polsce [26]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach prowadzonych przez Gościński i wsp. w województwie dolnośląskim, w którym oporność szczepów *H. pylori* na oba wspomniane wyżej antybiotyki wynosiła 14% u dzieci i 22% u dorosłych [40]. W związku z wysoką opornością na klarytromycynę sugeruje się, aby ten antybiotyk nie był zalecany do terapii eradykacyjnej w Polsce, lecz powinien być zastąpiony amoksycyliną, ponieważ wszystkie szczepy *H. pylori* są nadal na nią wrażliwe [26].

Metronidazol

Oporność szczepów *H. pylori* na metronidazol w Europie, w zależności od regionu, kształtuje się w zakresie 20-40% (z wyjątkiem północy Włoch – 14,9%). Średni poziom rozpowszechnienia szczepów *H. pylori* opornych na ten chemioterapeutyk szacuje się na poziomie 33,1%. Wskaźniki są zauważalnie niższe w Europie centralnej i wschodniej. W Polsce oporność szczepów *H. pylori* wynosi około 37% i zależy od zróżnicowania regionalnego (Warszawa – 37%, województwo wielkopolskie – 45%, województwo kujawsko-pomorskie – 20%, województwo łódzkie – 18%) [8,76]. Najczęściej oporność na metronidazol, w zakresie 50-80% występuje w Meksyku. W Kanadzie i w Stanach Zjednoczonych szczepy odporne stanowią 18-22%. Relatywnie rzadziej występują w Japonii, gdzie ich odsetek nie przekracza 12%. Wzrost występowania szczepów *H. pylori* opornych na metronidazol, podobnie jak w przypadku oporności na klarytromycynę, tłumaczy się skalą stosowania tego antybiotyku w lecznictwie. Jednak nie występuje tu zależność od liczby osób zakażonych *H. pylori* w populacji. Niepowodzenie eradykacji *H. pylori* z użyciem schematu PPI, klarytromycyna i metronidazol, spowodowane opornością na metronidazol, może spowodować wtórne wykształcenie oporności na klarytromycynę [113].

Metronidazol jest pochodną nitroimidazolu wykazującą działanie cytotoksyczne wobec bakterii beztlenowych i pierwotniaków. Substancja dyfunduje biernie do wnętrza komórek bakteryjnych i pod wpływem nitroreduktazy zostaje zredukowana do acetamidu i kwasu N-(2-hydroksyetylo)-szczawiowego. Te komponenty w środowisku mającym bardzo niski potencjał oksydo-redukcyjny są redukowane do reaktywnych form azotu, które uniemożliwiają replikację DNA i przerywają nici genomu, wskutek czego bakterie obumierają. Do przebiegu pełnej transformacji leku niezbędny jest niski potencjał redoks w cytoplazmie drobnoustrojów [27]. W komórkach *H. pylori* występuje niewielkie stężenie

tłenu, dlatego jego atomy współzawodniczą z metronidazolem o wolne elektrony. W wyniku tych procesów powstają ponadtlenuki uszkadzające DNA komórki bakteryjnej prowadząc do jej śmierci [55].

Bakterie wykształciły kilka mechanizmów oporności na metronidazol. Jednym z nich jest ograniczenie dyfuzji związku do wnętrza komórki i aktywne jego wydalanie za pomocą pomp wydzielniczych. Pompy składają się z trzech elementów: białka fuzyjnego błony (AcrA), białka wewnętrznego błony (AcrB) i białka zewnętrznego błony (TolC). U pałeczek *E. coli*, białko TolC tworzy kanał w błonie komórkowej, którym są wydalone ksenobiotyki. U *H. pylori* wykryto geny homologiczne do tych kodujących białko TolC u *E. coli* [83]. Innym mechanizmem oporności jest zintensyfikowanie naprawy uszkodzonego DNA, za co odpowiada enzym kodowany przez gen *recA*. Jednak wykazano, że brak tego genu prowadzi tylko do niewielkiego zmniejszenia oporności [13]. Prawdopodobnie głównym mechanizmem oporności *H. pylori* na metronidazol jest obniżenie potencjału redukcyjnego w komórce, niezbędnego do prawidłowej transformacji antybiotyku przez delecje i insercje w genach kodujących reduktazy: *rdxA*, *frxA* i *fdxB*. Powstałe w wyniku translacji białka nie są aktywne enzymatycznie, a to uniemożliwia redukcję metronidazolu do wolnych rodników. Największą oporność powodują mutacje w genie *rdxA*, kodującym nitroreduktazę [61]. Oporność mogą powodować również mutacje punktowe w tym genie prowadzące do zastępowania w białkach pewnych aminokwasów innymi, obniżając aktywność enzymatyczną nitroreduktazy [55].

Amoksycylina

Wykazano, że częstość występowania oporności na amoksycylinę w krajach europejskich nie przekracza 2%, a największy stopień oporności występuje w Azji i Ameryce Południowej, gdzie odsetek szczepów *H. pylori* opornych wynosi nawet 38%. Oporność na ten antybiotyk nie wpływa jednak negatywnie na terapię eradykacyjną *H. pylori* w stopniu znaczącym [113].

Amoksycylina jest półsyntetycznym antybiotykiem β-laktamowym należącym do grupy aminopenicylin. Podobnie jak inne antybiotyki β-laktamowe blokuje syntezę ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych przez trwałe łączenie się z transpeptydazą bakteryjną, dzięki strukturalnemu podobieństwu do jej substratu, jakim jest kompleks dwóch reszt aminokwasu alaniny (D-ala-D-ala). Synteza ściany komórkowej bakterii zostaje zakłócona i jednocześnie bariera ta staje się bardziej przepuszczalna dla enzymów hydrolitycznych, prowadząc do autolizy komórki [65].

U większości bakterii występują dwa mechanizmy oporności na amoksycylinę. Pierwszy wiąże się ze zdolnością wytwarzania β-laktamaz, strukturalnie podobnych do białek bakteryjnych wiążących penicylinę (PBP; penicilline binding proteins), które łącząc się z cząsteczkami

antybiotyku powodują jego hydrolizę. Jednak u *H. pylori* stwierdzono, że jeśli nawet występują geny kodujące β -laktamazy, to ich biosynteza jest zazwyczaj niewielka i w małym stopniu powoduje wzrost MIC. Większe znaczenie dla występowania trwałej oporności wydają się mieć mechanizmy ograniczające wchłanianie antybiotyku oraz aktywne jego usuwanie. Główną rolę odgrywają mutacje w genach kodujących PBP, powodujące zmianę struktury tych białek i zmniejszenie ich powinowactwa do amoksyliny [55].

Lewofloksacyna

Częstość występowania oporności *H. pylori* na lewofloksacynę nie była badana tak szczegółowo, jak innych antybiotyków. Na podstawie przeprowadzonych badań, w Chinach odnotowano 34,5% opornych szczepów *H. pylori*, we Włoszech 22,1%, a w Stanach Zjednoczonych 31,9% [113]. W Europie zaobserwowano wzrost oporności *H. pylori* na lewofloksacynę z 7 do 13%, np. w południowej Polsce, poziom oporności wynosi 12% [63]. W ciągu ostatnich lat można zaobserwować wyraźny wzrost liczby szczepów opornych na ten antybiotyk. Należy zaznaczyć, że lewofloksacyna wchodzi w zakres tzw. terapii „ratującej”, po wcześniejszych nieudanych próbach eradykacji z wykorzystaniem innych antybiotyków [79].

Lewofloksacyna należy do fluorochinolonów, grupy leków inaktywujących enzymy biorące udział w syntezie DNA – gyrazę i topoisomerazę IV, które odpowiadają za superskręcenie materiału genetycznego i prawidłowe rozdzielanie się replikowanych nici przed podziałem komórki, a ich inaktywacja prowadzi do śmierci komórki [53]. Do znanych mechanizmów oporności na lewofloksacynę należą mutacje w genach kodujących gyrazę i topoisomerazę IV oraz tak jak w przypadku poprzednich antybiotyków zmniejszenie przepuszczalności błony komórkowej dla antybiotyku m.in. przez działanie pomp wydzielniczych. U pałeczek *H. pylori* mutacje występują tylko w genach kodujących gyrazę (*gyrA*, *gyrB*), a nie zaobserwowano ich w genach kodujących topoisomerazę [115]. Są również wysoce odporne szczepy *H. pylori*, które nie mają mutacji w żadnym z tych genów. Dlatego podejrzewa się, że istnieje także inny mechanizm odpowiadający za oporność na lewofloksacynę, prawdopodobnie pochodzenia plazmidowego [55].

Tetracykliny

Oporność *H. pylori* na ten typ antybiotyków w wielu krajach występuje dość rzadko i nie przekracza 1% badanych szczepów, a w większości krajów nie zaobserwowano tego zjawiska w ogóle [113]. Antybiotyki te zaburzają proces biosyntezy białek przez przyłączenie się do podjednostki 30S rybosomu i nie dopuszczają do przyłączenia się do niej cząsteczek aminoacylo-tRNA. Oporność na tetracykliny występuje w związku z mutacjami genu kodującego 16S tRNA, budującego mniejszą podjednostkę rybosomu, przez co ma mniej-

szę powinowactwo do antybiotyku. Jednocześnie w niektórych badanych szczepach opornych zaobserwowano zmniejszoną kumulację tych związków, co sugeruje, że oporność powodowana jest również zmniejszeniem przepuszczalności błony komórkowej bakterii i aktywnym wydalaniem antybiotyków [55].

Oporność wielolekowa

Dużym problemem w eradykacji zakażenia *H. pylori* jest oporność wielolekowa (MDR; multi-drug resistance), czyli oporność drobnoustroju na trzy bądź więcej antybiotyków. Szacuje się, że globalnie u 9,6% osób zakażonych występują szczepy wielolekooporne [113,116,130]. W takim przypadku lekarze muszą zmierzyć się nie tylko z trudną do leczenia samą infekcją, ale również opornością bakterii na większość z używanych w terapii leków. Przyczyną występowania tego typu oporności jest nadmierne, nieodpowiedzialne stosowanie antybiotyków, skarmianie zwierząt hodowlanych paszami zawierającymi antybiotyki oraz wykształcenie się oporności krzyżowych i wtórnych. Mechanizm oporności przeważnie polega na aktywnym wyrzuceniu ksenoantibiotyków z komórek bakterii, co możliwe jest dzięki nadekspresji odpowiednich lipofilnych białek, wbudowanych w błonę komórkową bakterii, które mogą wyrzucać antybiotyki z cytoplazmy do środowiska wykorzystując w tym celu gradient protonowy, sodowy, czy energię pochodzącą z rozpadu ATP. Wyróżnia się pięć rodzin białek spełniających funkcję „wyrzutni” ksenoantibiotyków: MF (major facilitator), SMR (small multidrug resistance), ABC (ATP-binding cassette), RND (resistance nodulation cell division) i MATE (multidrug and toxic compound extrusion). U pałeczek *H. pylori* najlepiej poznano mechanizmy aktywnego usuwania substancji związane z białkami RND. Transportery te, szeroko rozpowszechnione u bakterii Gram-ujemnych, są zdolne do wyrzutu wielu antybiotyków. Są kodowane zazwyczaj przez chromosomalne DNA. U bakterii *H. pylori* wykryto trzy rodzaje takich transporterów (hefABC, hefDEF i hefGHI) i najprawdopodobniej to one w największym stopniu odpowiadają za oporność wielolekową większości szczepów [55].

Aby przezwyciężyć MDR zależną od pomp lekowych, należałoby utrudnić aktywny transport w komórce bakterijnej. Jest wiele substancji wykazujących działanie hamujące na różne transportery wielolekowe, do których należą m.in. arylopiiperazyny, hamujące transport związany z białkami RND. Przykładem jest N-metylopirolidon, który skutecznie hamuje transportery bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Jednak arylopiiperazyny wykazują toksyczne działanie na ludzki organizm, co ogranicza ich przydatność w farmakoterapii [59].

Inhibitory pompy protonowej (PPI)

PPI to grupa leków inaktywujących ATPazę zależną od jonów potasowych i wodorowych. Enzym występuje w komórkach okładzinowych żołądka, a jego zadaniem jest transport protonów do światła żołądka, co powoduje

wydzielanie kwasu solnego i obniżenie pH. Inhibitory pompy protonowej uniemożliwiają ten proces, skutkiem czego jest wzrost pH w żołądku, dopóki komórki nie zsyntetyzują wystarczającej liczby cząsteczek nowego enzymu [10]. Podwyższenie pH soku żołądkowego nasila wydzielanie gastryny, która przyspiesza proliferację komórek nabłonka umożliwiając jego regenerację [51]. Dodatkowo mniejsza kwasowość soku żołądkowego powoduje wyższą stabilność stosowanych w terapii antybiotyków sprawiając, że pałeczki *H. pylori* są bardziej narażone na ich działanie [42].

PPI są metabolizowane w wątrobie przez cytochrom (CYP; cytochrome P) P450, zwłaszcza CYP 2C19. W zależności od genotypu CYP 2C19, populację można podzielić fenotypowo na osoby silnie, średnio i słabo metabolizujące PPI, co ma swoje odzwierciedlenie w różnym stopniu wrażliwości na tego typu związki. Osoby silnie metabolizujące PPI, będą odznaczały się małą wrażliwością na przyjmowane dawki inhibitorów, stąd może występować konieczność zwiększenia częstości podawanych dawek i ich stężenia. W innym wypadku antysekrecyjne działanie PPI może być znacznie osłabione i skrócone, wskutek czego szanse na skuteczną eradykację maleją. Ma to znaczenie w przypadku stosowania omeprazolu i lansoprazolu. Rabeprazol i ezomeprazol są metabolizowane przez CYP 2C19 w dużo mniejszym stopniu, co nie wpływa ujemnie na wyniki terapii eradykacyjnej [55].

Alternatywne preparaty lecznicze

Aktywne zakażenie *H. pylori* zwiększa ryzyko wystąpienia choroby wrzodowej żołądka lub dwunastnicy oraz różnych postaci nowotworów. Dlatego wskazane jest rozpoczęcie terapii eradykacyjnej w razie potwierdzenia objawowego zakażenia *H. pylori*. Niestety, rosnąca oporność *H. pylori* na różne antybiotyki stosowane w leczeniu zakażenia wiąże się z koniecznością opracowania nowych schematów leczenia i ustalenia grup docelowych. Jednocześnie wyklucza się podejmowanie leczenia eradykacyjnego u osób z zakażeniem bezobjawowym w obawie przed rozprzestrzenianiem się opornych szczepów *H. pylori*. Zastosowanie antybiotyków w leczeniu zakażeń *H. pylori* powinno być poprzedzone badaniem mikrobiologicznym i oceną wzoru lekooporności izolatu. Terapia eradykacyjna ze względu na liczbę stosowanych antybiotyków oraz czas ich stosowania (nawet do 14 dni) niesie za sobą wiele działań niepożądanych pogarszających komfort życia pacjentów. Z tego powodu zalecane leczenie antybiotykowe w niektórych przypadkach jest niewskazane. Potrzebne są poszukiwania nowych metod eradykacji zakażenia, uwzględniających substancje o dużej aktywności przeciw pałeczkom *H. pylori*, których stosowanie zminimalizowałoby działania niepożądane u pacjentów. W licznych badaniach są stosowane substancje pochodzenia naturalnego (roślinnego bądź zwierzęcego), należące do takich grup związków, jak: chinony, flawonoidy, taniny, kumaryny, steroidy, polifenole, terpenoidy, nienasycone kwasy tłuszczowe,

czy związki z grupy witamin. Wobec wielu z nich udokumentowano aktywność przeciwbakteryjną, jednak ze względu na nietypowy charakter zakażenia *H. pylori* związki te nie muszą być skuteczne w ich eliminacji. Ze względu na bardzo dużą liczbę badanych substancji, wyciągów i ekstraktów, w pracy zostaną opisane tylko te najlepiej zbadane oraz wykazujące potencjalnie najwyższą aktywnością przeciwbakteryjną [33,103].

Witamina C

Wiele badań, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, potwierdziło hamowanie namnażania się pałeczek *H. pylori* w środowisku witaminy C (kwasu askorbinowego), chociaż dokładny mechanizm jej działania w tym zakresie nie został wyjaśniony. W badaniu *in vitro* stężenie kwasu askorbinowego wynoszące 128 µg/ml skutecznie hamowało wzrost *H. pylori* w pH 5,5 [128]. Natomiast podawanie doustne wysokich dawek witaminy C, tj. 5 g/dziennie przez 4 tygodnie, spowodowało regres zakażenia do poziomu jego niewykrywalności u 30% badanych pacjentów. Nie stwierdzono jednak, czy nastąpiła czasowa regresja zakażenia, czy całkowite wyleczenie [60]. W innym badaniu wykazano, że podawanie 20 mg omeprazolu, 1 g amoksycyliny, 250 mg klarytromycyny i 500 mg witaminy C przez tydzień powodowało wyższy odsetek eradykacji niż w schemacie leczenia bez witaminy C (90% vs 73%) [21]. Zależność taka nie występowała w grupie pacjentów zakażonych szczepami opornymi na klarytromycynę, gdzie odsetek skutecznej eradykacji drobnoustroju był podobny i nie przekraczał 34% [20,21,23]. Z przytoczonych badań wynika, że witamina C hamuje namnażanie komórek *H. pylori*, znacznie zwiększa skuteczność terapii antybiotykowej, jednak podawanie jej z antybiotykiem nie zmniejsza oporności drobnoustroju. Sam kwas askorbinowy nie eliminuje trwale zakażenia *H. pylori*, jednak może być wartościowym suplementem w konwencjonalnej terapii eradykacyjnej. Związek ma silne właściwości antyoksydacyjne, a zakażeniu *H. pylori* towarzyszy wytwarzanie dużej ilości wolnych rodników tlenowych w żołądku [92], stąd przypuszczenie, że witamina C może niwelować to działanie i zmniejszać ryzyko wystąpienia nowotworu [77,128].

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe

Do kwasów, które skutecznie hamują wzrost *H. pylori*, należą kwasy omega-3 np. alfa-linolenowy (LLA; linoleic acid alpha), eikozapentaenowy, dokozaheksaenowy, gamma-linolenowy oraz linolowy, przy czym największą aktywność wykazywał kwas LLA, który w stężeniu 1 mM działał bakteriobójczo na *H. pylori in vitro* [112]. W badaniu *in vivo*, pacjentom z wykrytym zakażeniem *H. pylori* podawano 2 g oleju rybnego i oleju z pestek porzeczeki w stosunku 1:1 przez 8 tygodni. Mieszanina olejów zawierała wszystkie trzy kwasy omega-3. Po tym czasie, nie stwierdzono zakażenia *H. pylori* u 50% badanych, jednak po pół roku zakażenie było niewykrywalne tylko u 20% badanych [32]. Mimo że aktywność wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA; polyunsaturated

fatty acids) przeciwko *H. pylori* u ludzi została potwierdzona, to stopień eradykacji jest zbyt słaby, by stosować je samodzielnie w leczeniu takich zakażeń. O ile aktywność bakteriostatyczna i bakteriobójcza PUFA w hodowli jest bardzo wysoka, to w żołądku w niskim pH związki te są mniej stabilne. Liczba niezmienionych cząsteczek kwasów jaka dociera do śluzówki żołądka jest znikoma, przez co są nieskuteczne. Bakteriobójcze działanie kwasu LLA polega na integracji cząsteczek kwasu w błonę komórkową bakterii i jej destabilizacji. Skutkiem są mikrouszkodzenia błony, przez które wycieka zawartość cytoplazmatyczna komórek bakterii [24]. Obecnie trwają prace nad udoskonaleniem procedury jego stosowania tak, aby jego cząsteczki nie ulegały zbyt szybkiej degradacji w treści żołądkowej i włączyły się w błonę komórkową bakterii możliwie najefektywniej. Jung i wsp. [62] wytworzyli liposomalny kwas alfa-linolenowy – liposom zbudowany z LLA, cholesterolu i hydrogenizowanej L-alfa-fosfatydylocholinojaja kurzego, gdzie kwas LLA stanowił 20-30% całego liposomu. W badaniach hodowli pałeczek *H. pylori* o gęstości 5×10^6 CFU/ml, LLA w stężeniu całkowitym wynoszącym 400 µg/ml niszczył 99,9% komórek bakteryjnych w czasie 5 min. Otrzymane wyniki zachęcają do dalszych badań nad tą postacią LLA i jej zastosowaniem w leczeniu zakażenia *H. pylori*.

Jak wykazano, PUFA mają silne działanie przeciwzapalne i antyoksydacyjne. Przez hamowanie ekspresji interleukiny-8 *in vitro*, blokują kaskadę sygnałów prozapalnych w komórkach błony śluzowej żołądka stymulowanych przez *H. pylori* i mogą potencjalnie ograniczać rozwój chorób towarzyszących zakażeniu, będących wynikiem przewlekłego stanu zapalnego żołądka. Potrzebne są dalsze badania, które pozwolą określić przeciwzapalne działanie tych kwasów w organizmie ludzi, zwłaszcza na poziomie bariery nabłonkowej żołądka [70].

Probiotyki

Probiotyki to wybrane szczepy drobnoustrojów, które naturalnie występują w przewodzie pokarmowym człowieka i są wykorzystywane w produkcji preparatów leczniczych. Należą do nich m.in. drobnoustroje reprezentujące rodzaje *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Saccharomyces*. Mają szerokie zastosowanie podczas terapii antybiotykowej, nie tylko przeciwko *H. pylori*, choć w zakażeniach tymi bakteriami przynoszą zauważalne skutki wspomagające leczenie antybiotykami [22,130]. Są częściowo odporne na niskie pH, dlatego też mogą przeżyć w żołądku o wiele dłużej niż inne mikroorganizmy. Są zdolne do adhezji do komórek nabłonka żołądka, stanowią zatem naturalną konkurencję dla bakterii *H. pylori* i działają wobec nich antagonistycznie [39]. Zaobserwowano wzrost skuteczności terapii eradykacyjnej z suplementacją probiotykami w porównaniu z grupą kontrolną, chociaż niektóre badania tego nie potwierdzają [41]. Podawanie probiotyków może zmniejszać dotkliwość działań niepożądanych antybiotykoterapii, tj. biegunki, bóle brzucha, bóle głowy, nudności i inne, które w przypadku stosowania dwóch lub więcej

antybiotyków są zazwyczaj nasilone [22,130]. Działania niepożądane złożonej terapii antybiotykowej nie tylko obniżają komfort życia pacjentów, ale także mogą skłaniać do przerwania leczenia przed jego zakończeniem. Tymczasem wyniki badań wskazują, że zażycie tylko 60% przepisanych leków może zmniejszyć skuteczność leczenia nawet o 30%. Ponadto takie postępowanie może prowadzić do nabycia przez *H. pylori* oporności na stosowane antybiotyki i zmniejszyć skuteczność następnych prób eradykacji [78]. Z tego względu minimalizowanie działań niepożądanych zażywania antybiotyków przez podawanie szczepów probiotycznych powinno być ważnym elementem każdej próby terapii antybiotykowej, w tym przeciwko *H. pylori*.

Wykazano, że bakterie probiotyczne w prawidłowych warunkach fizjologicznych tworzą 90-95% flory bakteryjnej żołądka. Zobserwowano, że miejscowy wzrost pH soku żołądkowego np. w wyniku powstania wrzodów, powoduje wzrost liczby bakterii Gram-ujemnych z jednoczesnym zanikaniem szczepów probiotycznych. Wraz z normalizacją pH i przywróceniem właściwego składu mikroflory w nabłonku żołądka następowało samoistne wyleczenie wrzodu [28]. Szczepy probiotyczne biorą udział w ochronie nabłonka żołądka, wypierają inne drobnoustroje stanowiąc dla nich naturalną konkurencję, a podawane z zewnątrz mogą zmniejszać natężenie występującej reakcji zapalnej. Probiotyki, będąc regulatorem składu mikroflory przewodu pokarmowego, ograniczają zasiedlanie nabłonka przez patogeny, w tym *H. pylori* [41].

Do związków wytwarzanych przez bakterie probiotyczne i wykazujących działanie hamujące rozwój *H. pylori* w żołądku należą krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA; short chain fatty acids) oraz bakteriocyny. Spośród SCFA dla organizmu człowieka największe znaczenie mają kwasy: propionowy, masłowy, octowy i mlekowy. Kwasy te, będące wynikiem metabolizmu niektórych rodzajów błonnika (m.in. beta-glukany, pektyny, inuliny, oligosacharydy) obniżają pH soku żołądkowego i zmniejszają aktywność ureazy *H. pylori*, ograniczając ich wzrost. Największą aktywność przejawiają kwas mlekowy i octowy [41]. Kwas masłowy wykazuje wśród SCFA najsilniejsze działanie łagodzące zmiany zapalne w nabłonku [127].

Bakteriocyny są niewielkimi, peptydowymi cząsteczkami, w większości o dużym stopniu odporności na wysokie temperatury. Ich przeciwbakteryjne właściwości są wykorzystywane m.in. w lecznictwie zwierząt czy konserwacji niektórych produktów spożywczych [46]. Do mikroorganizmów zdolnych wytwarzać bakteriocyny hamujące wzrost *H. pylori* należą szczepy *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecium*, czy *Bacillus subtilis*. Największą aktywność wykazują takie związki, jak: nizyna A, leukocyna K, pediocyna PO2 i niektóre rodzaje laktocyn (laktocyny F, A164, BH5). Związki te w różny sposób zaburzają metabolizm *H. pylori* np. przez mikroporację błony komórkowej, a także osłabienie aktywności ureazy bakteryjnej [41].

Żurawina

Żurawina jest jednym z najpopularniejszych owoców jagodowych w Ameryce Północnej i niektórych krajach Europy Północnej. Spożywanie świeżych owoców, soków i innych przetworów żurawiny jest szczególnie zalecane przy zakażeniach dróg moczowych. Zawarte w niej pro-antocyjanidyny zmniejszają adhezję drobnoustrojów chorobotwórczych do nabłonka, co ułatwia wyplukiwanie patogenów, zapobiega powstawaniu biofilmów, a także wspomaga leczenie farmakologiczne [45]. Właściwości żurawiny w odniesieniu do zakażeń *H. pylori* wciąż wymagają dokładniejszych badań, jednak wiadomo, że komponenty żurawiny wykazują przeciwadhezyjne działanie również w takich zakażeniach. Hamowanie adhezji drobnoustrojów do nabłonka żołądka może mieć główne znaczenie w zwalczaniu infekcji, ponieważ uniemożliwia namnażanie się pałeczek *H. pylori* i zmianę pH środowiska w wyniku rozkładu mocznika przez ureazę tych bakterii. Zawarte w żurawinie związki zmniejszają aktywność ureazy, mają działanie antyoksydacyjne i antykancerogenne oraz hamują proliferację, co może spowalniać nowotworzenie u pacjentów z zaawansowanym zakażeniem. Badania potwierdzają, że włączenie soku z żurawiny do standardowej terapii antybiotykowej może znacząco zwiększać odsetek eradykacji u pacjentów zakażonych *H. pylori*. Jednocześnie skuteczność eradykacji drobnoustrojów na poziomie 20% u zakażonych myszy z wykorzystaniem samej żurawiny sugeruje, że preparaty na bazie tylko tego owocu są niewystarczające w zwalczaniu zakażenia [106].

Mastyks

Mastyks jest miękką żywicą pozyskiwaną z drzewa pistacji kleistej rosnącej w klimacie śródziemnomorskim, używaną głównie w celach gastronomicznych oraz w postaci werniksu do konserwacji obrazów. Działanie przeciwbakteryjne mastyksu znane było już w starożytności i już wtedy wykorzystywane do łagodzenia różnego rodzaju dolegliwości żołądkowych. Olejek eteryczny pozyskiwany z gumy mastyksowej zawiera wiele lotnych substancji o działaniu bakteriostatycznym, a najsilniejsze działanie wykazują alfa-terpineol i (E)-metyloizoeugenol. Wykazano, że związki zawarte w mastyksie powodują zmiany morfologiczne komórek *H. pylori* oraz ich degenerację do form kokoidalnych. Badania z użyciem mastyksu w próbach eradykacji *H. pylori* *in vivo* dają jednak niejednoznaczne wyniki, dlatego są potrzebne dalsze prace w celu sprawdzenia, czy substancja może być przydatna w leczeniu lub wspomaganiu leczenia tych zakażeń [85,106].

PODSUMOWANIE

Zakażenie *H. pylori* to jedno z najczęstszych zakażeń przewodu pokarmowego. Szacuje się, że około 30% ludzi jest lub było w przeszłości zakażonych tymi bakteriami, przy czym odsetek ten jest wyższy w krajach słabo rozwiniętych i rozwijających się, niż w krajach o wysokim

statusie socjalno-ekonomicznym. Zakażenie może prowadzić do wrzodów żołądka i dwunastnicy, dyspepsji, atrofii tkanek żołądka oraz nowotworów: żołądka i chłoniaka typu MALT. Podejrzewa się, że może mieć również związek z zaburzeniami wchłaniania z przewodu pokarmowego oraz niektórymi schorzeniami naczyniowymi. Eradykacja *H. pylori* obniża ryzyko wystąpienia tych chorób, a zwłaszcza choroby nowotworowej. Jednocześnie w codziennej praktyce lekarskiej nie zwalcza się zakażeń przebiegających bezobjawowo w obawie przed rozprzestrzenianiem się szczepów opornych na antybiotyki.

Obecnie znanych jest kilka metod diagnozowania zakażeń *H. pylori* różniących się stopniem inwazyjności,nością, a także kosztem samego badania. W zależności od historii choroby i leczenia pacjenta stosuje się odpowiednie metody w celu otrzymania wiarygodnych wyników i ograniczenia wyników fałszywie dodatnich bądź ujemnych. Niektóre metody mogą dostarczać dodatkowych informacji dotyczących np. oporności drobnoustroju na antybiotyki. Do metod inwazyjnych zaliczyć należy badania materiału pozyskanego przez biopsję: szybki test ureazowy, badanie mikrobiologiczne, histologiczne. Pozostałe badania to ureazowy test oddechowy, testy na obecność antygenów *H. pylori* w kale oraz surowiczych przeciwciał przeciw *H. pylori*.

Obecnie stosowane terapie antybiotykowe dają pozytywne rezultaty maksymalnie w 90% przypadków zakażeń *H. pylori*. Jednak skuteczność poszczególnych strategii stale maleje, dlatego cały czas poszukuje się nowych, bardziej skutecznych schematów terapeutycznych. W zakażeniach stosuje się dwa lub trzy różne antybiotyki podawane łącznie z inhibitorem pompy protonowej i/lub nieorganicznymi solami bizmutu, wykazującymi działanie przeciwbakteryjne. Do najczęściej stosowanych antybiotyków należą amoksylicyna, klarytromycyna, metronidazol, lewofloksacyna i rifabutin. Dużym problemem jest coraz częstsze występowanie szczepów *H. pylori* opornych na poszczególne antybiotyki, a także szczepów z opornością wielolekową. Najczęściej izoluje się szczepy odporne na klarytromycynę oraz metronidazol. Szczepy odporne na amoksylicynę występują najczęściej w Azji i Ameryce Południowej, a w Europie stanowią niecałe 2% izolatów. Oporność na tetracykliny występuje bardzo rzadko. Poważny problem stanowią szczepy z opornością wielolekową – zakażonych nimi może być nawet 10% pacjentów. Jednocześnie istnieje ryzyko powstawania szczepów opornych innych drobnoustrojów w wyniku mutacji krzyżowych.

Poszukuje się nowych, alternatywnych metod leczenia zakażeń *H. pylori* z pominięciem antybiotyków. Jednak ze względu na specyficzne środowisko w miejscu zakażenia pozyskanie substancji stabilnych w niskim pH soku żołądkowego jest rzadkością. Wiele badanych związków wykazuje działanie bakteriostatyczne *in vitro*, jednocześnie dają niezadowalające wyniki lecznicze w badaniach *in vivo*. Pod względem potencjalnej przydatności

w terapii przebadano m.in. witaminę C, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, resweratrol, preparaty żurawiny, mastyks, czosnek, a także probiotyki. Jednak niewielka skuteczność eradykacji u badanych pacjentów sprawia, że mimo aktywności przeciw *H. pylori* związki te nie mogą

być stosowane samodzielnie w terapii eradykacyjnej. Uzyskane do tej pory wyniki prac wskazują na potrzebę dalszych badań nad alternatywnymi metodami leczenia takich zakażeń.

PIŚMIENICTWO

- [1] Al-Ahmad A., Kürschner A., Weckesser S., Wittmer A., Rauberger H., Jakob T., Hellwig E., Kist M., Waidner B.: Is *Helicobacter pylori* resident or transient in the human oral cavity? J. Med. Microbiol., 2012; 61: 1146-1152
- [2] Alfaresi M.S., Eltom A.A., Alshaikh S.S., Buchel E.H., Saeed L.S., Aljenaibi M.M.: Molecular prevalence of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori* in the United Arab Emirates. Saudi Med. J., 2005; 26: 763-766
- [3] Almeida N., Romãozinho J.M., Donato M.M., Luxo C., Cardoso O., Cipriano M.A., Marinho C., Sofia C.: Triple therapy with high-dose proton-pump inhibitor, amoxicillin, and dexycycline is useless for *Helicobacter pylori* eradication: a proof-of-concept study. Helicobacter, 2014; 19: 90-97
- [4] Andersen L.P., Rasmussen L.: *Helicobacter pylori*-coccoid forms and biofilm formation. FEMS Immunol. Med. Microbiol., 2009; 56: 112-115
- [5] Aziz R.K., Khalifa M.M., Sharaf R.R.: Contaminated water as a source of *Helicobacter pylori* infection: a review. J. Adv. Res., 2015; 6: 539-547
- [6] Bartnik W.: Nowe zasady leczenia infekcji *Helicobacter pylori*. Postępy Nauk Medycznych 2009; 2: 103-106
- [7] Bartnik W.: *Helicobacter pylori*-diagnostyka i leczenie. Medycyna praktyczna - chirurgia, 2013
- [8] Bąk-Romaniszyn L., Planeta-Malecka I.: Przyczyny niepowodzenia eradykacji zakażenia *Helicobacter pylori*. Ped. Wsp. Gastroenterol Hep. Żyw. Dziecka, 2004; 4: 387-391
- [9] Bernstein C.N., McKeown I., Embil J.M., Blanchard J.F., Dawood M., Kabani A., Kliewer E., Smart G., Coghlan G., MacDonald S., Cook C., Orr P.: Seroprevalence of *Helicobacter pylori*, incidence of gastric cancer, and peptic ulcer-associated hospitalizations in a Canadian Indian population. Dig. Dis. Sci., 1999; 44: 668-674
- [10] Boparai V., Rajagopalan J., Triadafilopoulos G.: Guide to the use of proton pump inhibitors in adult patients. Drugs, 2008; 68: 925-947
- [11] Bravo L.E., Realpe J.L., Campo C., Mera R., Correa P.: Effects of acid suppression and bismuth medications on the performance of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection. Am. J. Gastroenterol., 1999; 94: 2380-2383
- [12] Brown L.M.: *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol. Rev., 2000; 22: 283-297
- [13] Chang K.C., Ho S.W., Yang J.C., Wang J.T.: Isolation of a genetic locus associated with metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1997; 236: 785-788
- [14] Chen L.T., Lin J.T., Tai J.J., Chen G.H., Yeh H.Z., Yang S.S., Wang H.P., Kuo S.H., Sheu B.S., Jan C.M., Wang W.M., Wang T.E., Wu C.W., Chen C.L., Su I.J., Whang-Peng J., Cheng A.L.: Long-term results of anti-*Helicobacter pylori* therapy in early-stage gastric high-grade transformed MALT lymphoma. J. Natl. Cancer Inst., 2005; 97: 1345-1353
- [15] Chey W.D., Murthy U., Toskes P., Carpenter S., Laine L.: The 13C-urea blood test accurately detects active *Helicobacter pylori* infection: a United States, multicenter trial. Am. J. Gastroenterol., 1999; 94: 1522-1524
- [16] Chey W.D., Wong B.C.: American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Am. J. Gastroenterol., 2007; 102: 1808-1825
- [17] Chey W.D., Woods M., Scheiman J.M., Nostrant T.T., DelValle J.: Lansoprazole and ranitidine affect the accuracy of the 14C-urea breath test by a pH-dependent mechanism. Am. J. Gastroenterol., 1997; 92: 446-450
- [18] Chmiela M., Michetti P.: Inflammation, immunity, vaccines for *Helicobacter* infection. Helicobacter, 2006; 11: 21-26
- [19] Choy Y.J., Kim N., Lim J., Jo S.Y., Shin C.M., Lee H.S., Lee S.H., Park Y.S., Hwang J.H., Kim J.W., Jeong S.H., Lee D.H., Jung H.C.: Accuracy of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* in patients with peptic ulcer bleeding. Helicobacter, 2012; 17: 77-85
- [20] Chuang C.H., Sheu B.S., Huang A.H., Yang H.B., Wu J.J.: Vitamin C and E supplements to lansoprazole-amoxicillin-metronidazole triple therapy may reduce the eradication rate of metronidazole-susceptible *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter, 2002; 7: 310-316
- [21] Chuang C.H., Sheu B.S., Kao A.W., Cheng H.C., Huang A.H., Yang H.B., Wu J.J.: Adjuvant effect of vitamin C on omeprazole-amoxicillin-clarithromycin triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. Hepatogastroenterology, 2007; 54: 320-324
- [22] Dang Y., Reinhardt J.D., Zhou X., Zhang G.: The effect of probiotics supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during eradication therapy: a meta-analysis. PLoS One, 2014; 9: e111030
- [23] Demirci H., Uygün İlikhan S., Öztürk K., Üstündağ Y., Kurt Ö., Bilici M., Köktürk F., Uygün A.: Influence of vitamin C and E supplementation on the eradication rates of triple and quadruple eradication regimens for *Helicobacter pylori* infection. Turk J. Gastroenterol., 2015; 26: 456-460
- [24] Desbois A.P., Smith V.J.: Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2010; 85: 1629-1642
- [25] Dixon M.F., Genta R.M., Yardley J.H.: Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International workshop on histopathology of gastritis, Houston 1994. Am. J. Surg. Pathol., 1996; 20: 1161-1181
- [26] Dzierzanowska-Fangrat K., Rozynek E., Celińska-Cedro D., Jarosz M., Pawłowska J., Szadkowski A., Budzyńska A., Nowak J., Romańczuk W., Prosiecki R., Józwiak P., Dzierzanowska D.: Antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in Poland: a multicentre study. Int. J. Antimicrob. Agents, 2005; 26: 230-234
- [27] Edwards D.I.: Mechanism of antimicrobial action of metronidazole. J. Antimicrob. Chemother., 1979; 5: 499-502
- [28] Elliott S.N., Buret A., McKnight W., Miller M.J., Wallace J.L.: Bacteria rapidly colonize and modulate healing of gastric ulcers in rats. Am. J. Physiol., 1998; 275: G425-G432
- [29] el-Zimaity H.M.: Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori* with biopsy. Gastroenterol. Clin. North Am., 2000; 29: 863-869
- [30] Farinha P., Gascoyne R.D.: *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. Gastroenterology, 2005; 128: 1579-1605

- [31] Ford A.C., Malfertheiner P., Giguere M., Santana J., Khan M., Moayyedi P.: Adverse events with bismuth salts for *Helicobacter pylori* eradication: systemic review and meta-analysis. *World J. Gastroenterol.*, 2008; 14: 7361-7370
- [32] Frieri G., Pimpo M.T., Palombieri A., Melideo D., Marcheggiano A., Caprilli R., D'Alessandro A., Seri S.: Polyunsaturated fatty acid dietary supplementation: an adjuvant approach to treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Nutrition Res.*, 2000; 20: 907-916
- [33] Gaby A.R.: *Helicobacter pylori* eradication: are there alternatives to antibiotics? *Altern. Med. Rev.*, 2001; 6: 355-366
- [34] Gisbert J.P., Calvet X., O'Connor A., Mégraud F., O'Morain C.A.: Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a critical review. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2010; 44: 313-325
- [35] Gisbert J.P., Morena F.: Systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2006; 23: 35-44
- [36] Gisbert J.P., Pajares J.M.: Review article: 13C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection – a critical review. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2004; 20: 1001-1017
- [37] Gisbert J.P., Pajares J.M.: Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter*, 2004; 9: 347-368
- [38] Gisbert J.P., Romano M., Gravina A.G., Solis-Muñoz P., Bermejo F., Molina-Infante J., Castro-Fernández M., Ortuño J., Lucendo A.J., Herranz M., Modolell I., Del Castillo F., Gómez J., Barrio J., Velayos B., Gómez B., Domínguez J.L. i wsp.: *Helicobacter pylori* second-line rescue therapy with levofloxacin- and bismuth-containing quadruple therapy, after failure of standard triple or non-bismuth quadruple treatments. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2015; 41: 768-775
- [39] Goldin B.R., Gorbach S.L.: Probiotics for humans. W: Probiotics, red. R. Fuller, Springer Netherlands, 1992; 355-376
- [40] Gościński G., Biernat M., Grabińska J., Bińkowska J., Poniewierka E., Iwańczak B.: The antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains isolated from children and adults with primary infection in the Lower Silesia region, Poland. *Pol. J. Microbiol.*, 2014; 63: 57-61
- [41] Gotteland M., Brunser O., Cruchet S.: Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2006; 23: 1077-1086
- [42] Graham D.Y., Fischbach L.: *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut*, 2010; 59: 1143-1153
- [43] Graham-Lomax K., Graham D.Y.: Contemporary diagnosis and management of *H. pylori*-associated gastrointestinal diseases. *Handbooks in Health Care Company*, 2005
- [44] Griño P., Pascual P., Such J., Casellas J.A., Niveiro M., Andreu M., Sáez J., Aparicio J.R., Griño E., Compañy L., Laveda R., Pérez-Mateo M.: Comparison of stool immunoassay with standard methods for detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper-gastrointestinal bleeding of peptic origin. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2003; 15: 525-529
- [45] Guay D.R.: Cranberry and urinary tract infections. *Drugs*, 2009; 69: 775-807
- [46] Gwiazdowska D., Trojanowska K.: Bakteriocynty - właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa. *Biotechnologia*, 2005; 68: 114-130
- [47] Ha N.C., Oh S.T., Sung J.Y., Cha K.A., Lee M.H., Oh B.H.: Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. *Nat. Struct. Biol.*, 2001; 8: 505-509
- [48] Hegarty J.P., Dowd M.T., Baker K.H.: Occurrence of *Helicobacter pylori* in surface water in the United States. *J. Appl. Microbiol.*, 1999; 87: 697-701
- [49] Hirata K., Suzuki H., Nishizawa T., Tsugawa H., Muraoka H., Saito Y., Matsuzaki J., Hibi T.: Contribution of efflux pumps to clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2010; 25: S75-S79
- [50] Ho B., Marshall B.J.: Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Serologic testing. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 2000; 29: 853-862
- [51] Ho K.Y., Kuan A., Zañón F., Goh K.L., Mahachai V., Kim D.Y., Yoon H.M.: Randomized, parallel, double-blind comparison of the ulcer-healing effects of ilaprazole and omeprazole in the treatment of gastric and duodenal ulcers. *J. Gastroenterol.*, 2009; 44: 697-707
- [52] Hoang T.T., Wheeldon T.U., Bengtsson C., Phung D.C., Sörberg M., Granström M.: Enzyme-linked immunosorbent assay for *Helicobacter pylori* needs adjustment for the population investigated. *J. Clin. Microbiol.*, 2004; 42: 627-630
- [53] Hooper D.C.: Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg. Infect. Dis.*, 2001; 7: 337-341
- [54] Hsu W.H., Wang S.S., Kuo C.H., Chen C.Y., Chang C.W., Hu H.M., Wang J.Y., Yang Y.C., Lin Y.C., Wang W.M., Wu D.C., Wu M.T., Kuo F.C.: Dual specimens increase the diagnostic accuracy and reduce the reaction duration of rapid urease test. *World J. Gastroenterol.*, 2010; 16: 2926-2930
- [55] Hu Y., Zhang M., Lu B., Dai J.: *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance, a continuing and intractable problem. *Helicobacter*, 2016; 21: 349-363
- [56] Huang J.Q., Sridhar S., Chen Y., Hunt R.H.: Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*, 1998; 114: 1169-1179
- [57] Hunt R.H., Xiao S.D., Megraud F., Leon Barua R., Bazzoli F., van der Merwe S., Vaz Coelho L.G., Fock M., Fedail S., Cohen H., Malfertheiner P., Vakil N., Hamid S., Goh K.L., Wong B.C., Krabshuis J., Le Mair A., World Gastroenterology Organization: *Helicobacter pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organisation Global Guideline. *J. Gastrointest. Liver Dis.*, 2011; 20: 299-304
- [58] Janzon A., Sjoling A., Lothigius A., Ahmed D., Quadri F., Svennerholm A.M.: Failure to detect *Helicobacter pylori* DNA in drinking and environmental water in Dhaka, Bangladesh, using highly sensitive real-time PCR assays. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009; 75: 3039-3044
- [59] Jarmuła A., Obłąk E., Wawrzycka D., Gutowicz J.: Oporność wielolekowa związana z aktywnym usuwaniem leków z komórek drobnoustrojów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 216-227
- [60] Jarosz M., Dzieniszewski J., Dabrowska-Ufniaż E., Wartanowicz M., Ziemiński S., Reed P.I.: Effects of high dose vitamin C treatment on *Helicobacter pylori* infection and total vitamin C concentration in gastric juice. *Eur. J. Cancer Prev.*, 1998; 7: 449-454
- [61] Jeong J.Y., Mukhopadhyay A.K., Dailidienė D., Wang Y., Velapattino B., Gilman R.H., Parkinson A.J., Nair G.B., Wong B.C., Lam S.K., Mistry R., Segal I., Yuan Y., Gao H., Alarcon T i wsp.: Sequential inactivation of rdxA (HP0954) and frxA (HP0642) nitroreductase genes causes moderate and high-level metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *J. Bacteriol.*, 2000; 182: 5082-5090
- [62] Jung S.W., Lee S.W.: The antibacterial effect of fatty acids on *Helicobacter pylori* infection. *Korean J. Intern. Med.*, 2016; 31: 30-35
- [63] Karczevska E., Klesiewicz K., Skiba I., Wojtas-Bonior I., Sito E., Czajęcki K., Zwolińska-Wcisło M., Budak A.: Variability in prevalence of *Helicobacter pylori* strains resistant to clarithromycin and levofloxacin in Southern Poland. *Gastroenterol. Res. Pract.*, 2012; 2012: 418010
- [64] Klein P.D., Malaty H.M., Martin R.F., Graham K.S., Genta R.M., Graham D.Y.: Noninvasive detection of *Helicobacter pylori* infection in clinical practice: the 13C urea breath test. *Am. J. Gastroenterol.*, 1996; 91: 690-694
- [65] Korzeniowska K., Jabłecka A., Simon K.: Działanie niepożądane antybiotyków β-laktamowych. *Nowiny Lekarskie*, 2008; 77: 134-139
- [66] Krawczyk K.A., Górská E.B., Jankiewicz U., Kowalczyk P.: *Helicobacter pylori* jako jeden z czynników wywołujących chorobę wrzodową

dową żołądka i dwunastnicy. Medycyna Rodzinna, 2013; 1: 27-31

[67] Kusters J.G., Gerrits M.M., Van Strijp J.A., Vandenbroucke-Grauls C.M.: Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. Infect. Immun., 1997; 65: 3672-3679

[68] Laine L., Estrada R., Trujillo M., Knigge K., Fennerty M.B.: Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. Ann. Intern. Med., 1998; 129: 547-550

[69] Lambert J.R., Midolo P.: The actions of bismuth in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. Aliment. Pharmacol. Ther., 1997; 11: 27-33

[70] Lee S.E., Lim J.W., Kim J.M., Kim H.: Anti-inflammatory mechanism of polyunsaturated fatty acids in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. Mediators Inflamm., 2014; 2014: 128919

[71] Lehours P., Siffré E., Mégraud F.: DPO multiplex PCR as an alternative to culture and susceptibility testing to detect *Helicobacter pylori* and its resistance to clarithromycin. BMC Gastroenterol., 2011; 11: 112

[72] Leodolter A., Kulig M., Brasch H., Meyer-Sabellek W., Willich S.N., Malfertheiner P.: A meta-analysis comparing eradication, healing and relapse rates in patients with *Helicobacter pylori*-associated gastric or duodenal ulcer. Aliment. Pharmacol. Ther., 2001; 15: 1949-1958

[73] Leszczyńska K., Namiot A., Namiot Z., Leszczyńska J.K., Jakoniuk P., Chlewicki M., Namiot D.B., Kemona A., Milewski R., Bucki R.: Patient factors affecting culture of *Helicobacter pylori* isolated from gastric mucosal specimens. Adv. Med. Sci., 2010; 55: 161-166

[74] Lopes A.I., Vale F.F., Oleastro M.: *Helicobacter pylori* infection - recent developments in diagnosis. World J. Gastroenterol., 2014; 20: 9299-9313

[75] Loy C.T., Irwig L.M., Katelaris P.H., Talley N.J.: Do commercial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy? A meta-analysis. Am. J. Gastroenterol., 1996; 91: 1138-1144

[76] Łaszewicz W.: Wyniki badań nad zakażeniem *Helicobacter pylori*. Trans Humana, Wydawnictwo Uniwersyteckie, Białystok, 2004

[77] Ma J.L., Zhang L., Brown L.M., Li J.Y., Shen L., Pan K.F., Liu W.D., Hu Y., Han Z.X., Crystal-Mansour S., Pee D., Blot W.J., Fraumeni J.F.Jr., You W.C., Gail M.H.: Fifteen-year effects of *Helicobacter pylori*, garlic, and vitamin treatments on gastric cancer incidence and mortality. J. Natl. Cancer Inst., 2012; 104: 488-492

[78] Malfertheiner P.: Compliance, adverse events and antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* treatment. Scand. J. Gastroenterol. Suppl., 1993; 196: 34-37

[79] Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Atherton J., Axon A.T., Bazzoli F., Gensini G.F., Gisbert J.P., Graham D.Y., Rokkas T., El-Omar E.M., Kuipers E.J.: Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht IV/Florence consensus report. Gut, 2012; 61: 646-664

[80] Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Gisbert J.P., Kuipers E.J., Axon A.T., Bazzoli F., Gasbarrini A., Atherton J., Graham D.Y., Hunt R., Moayyedi P., Rokkas T., Rugge M., Selgrad M., Suerbaum S., Sugano K., El-Omar E.M.: Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht V/Florence consensus report. Gut, 2012; 61: 646-664

[81] Marshall B.J., Warren J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet, 1984; 1: 1311-1315

[82] Mégraud F.: Comparison of non-invasive tests to detect *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents: results of a multicenter European study. J. Pediatr., 2005; 146: 198-203

[83] Mehrabadi J.F., Sirous M., Daryani N.E., Eshraghi S., Akbari B., Shirazi M.H.: Assessing the role of the RND efflux pump in metronidazole resistance of *Helicobacter pylori* by RT-PCR assay. J. Infect. Dev. Ctries., 2011; 5: 88-93

[84] Midolo P., Marshall B.J.: Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Urease tests. Gastroenterol. Clin. North Am., 2000; 29: 871-878

[85] Miyamoto T., Okimoto T., Kuwano M.: Chemical composition of the essential oil of mastic gum and their antibacterial activity against drug-resistant *Helicobacter pylori*. Nat. Prod. Bioprospect., 2014; 4: 227-231

[86] Moayyedi P., Deeks J., Talley N.J., Delaney B., Forman D.: An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. Am. J. Gastroenterol., 2003; 98: 2621-2626

[87] Ndip R.N., MacKay W.G., Farthing M.J., Weaver L.T.: Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiologic methods. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2003; 36: 616-622

[88] Nurgalieva Z.Z., Graham D.Y.: Pearls and pitfalls of assessing *Helicobacter pylori* status. Dig. Liver Dis., 2003; 35: 375-377

[89] Ohata H., Kitauchi S., Yoshimura N., Mugitani K., Iwane M., Nakamura H., Yoshikawa A., Yanaoka K., Arii K., Tamai H., Shimizu Y., Takeshita T., Mohara O., Ichinose M.: Progression of chronic atrophic gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection increases risk of gastric cancer. Int. J. Cancer, 2004; 109: 138-143

[90] Olivieri R., Bugnoli M., Armellini D., Bianciardi S., Rappuoli R., Bayeli P.F., Abate L., Esposito E., de Gregorio L., Aziz J., Basagni C., Figura N.: Growth of *Helicobacter pylori* in media containing cyclodextrins. J. Clin. Microbiol., 1993; 31: 160-162

[91] Owen R.J.: Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* infection. Commun. Dis. Rep. Rev., 1993; 3: R51-R56

[92] Pal J., Sanal M.G., Gopal G.J.: Vitamin-C as anti-*Helicobacter pylori* agent: more prophylactic than curative - critical review. Indian J. Pharmacol., 2011; 43: 624-627

[93] Panahi O., Rezaei S., Marzi M., Asghari sana F.: *Helicobacter pylori* and oral cavity inflammation. JPCS, 2011; 2: 13-15

[94] Paoluzi P., Iacopini F., Crispino P., Nardi F., Bella A., Rivera M., Rossi P., Gurnari M., Caracciolo F., Zippi M., Pica R.: 2-week triple therapy for *Helicobacter pylori* infection is better than 1-week in clinical practice: a large prospective single-center randomized study. Helicobacter, 2006; 11: 562-568

[95] Papatheodoridis G.V., Sougioultzis S., Archimandritis A.J.: Effects of *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on peptic ulcer disease: a systemic review. Clin. Gastroenterol. Hepatol., 2006; 4: 130-142

[96] Park S.A., Ko A., Lee N.G.: Stimulation of growth of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori* by atmospheric level of oxygen under high carbon dioxide tension. BMC Microbiol., 2011; 11: 96

[97] Parsonnet J., Shmueli H., Haggerty T.: Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. JAMA, 1999; 282: 2240-2245

[98] Pérez-Pérez G.I., Bhat N., Gaensbauer J., Fraser A., Taylor D.N., Kuipers E.J., Zhang L., You W.C., Blaser M.J.: Country-specific constancy by age in cagA+ proportion of *Helicobacter pylori* infections. Int. J. Cancer, 1997; 72: 453-456

[99] Peterson W.L., Fendrick A.M., Cave D.R., Peura D.A., Garabedian-Ruffalo S.M., Laine L.: *Helicobacter pylori*-related disease: guidelines for testing and treatment. Arch. Intern. Med., 2000; 160: 1285-1291

[100] Pytko-Polonczyk J., Konturek S.J., Karczewska E., Bielański W., Kaczmarczyk-Stachowska A.: Oral cavity as permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potential source of reinfection. J. Physiol. Pharmacol., 1996; 47: 121-129

[101] Redéen S., Petersson F., Törnkrantz E., Levander H., Mårdh E., Borch K.: Reliability of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol. Res. Pract., 2011; 2011: 940650

[102] Safavi M., Sabourian R., Foroumadi A.: Treatment of *Helicobacter pylori* infection: current and future insights. World J. Clin. Cases, 2016; 4: 5-19

[103] Samie A., Tanih N.F., Ndip R.N.: *Helicobacter pylori* infection

- challenges of antimicrobial chemotherapy and emergence of alternative treatments. Trends in *Helicobacter pylori* infection, 2014; 9: 243-277

[104] Sánchez Ceballos F., Taxonera-Samsó C., García Alonso C., Alba López C., Sainz de Los Terreros Soler L., Díaz-Rubio M.: Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the healthy population of Madrid (Spain). Rev. Esp. Enferm. Dig., 2007; 99: 497-501

[105] Shirin D., Matalon S., Avidan B., Broide E., Shirin H.: Real-world *Helicobacter pylori* diagnosis in patients referred for esophagoduodenoscopy: the gap between guidelines and clinical practise. United Eur. Gastroenterol. J., 2016; 4: 762-769

[106] Shmueli H., Domniz N., Yahav J.: Non-pharmacological treatment of *Helicobacter pylori*. World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther., 2016; 7: 171-178

[107] Smith S.M.: An update on the treatment of *Helicobacter pylori* infection. EMJ Gastroenterol., 2015; 4: 101-107

[108] Steen T., Berstad K., Meling T., Berstad A.: Reproducibility of the 14C urea breath test repeated after 1 week. Am. J. Gastroenterol., 1995; 90: 2103-2105

[109] Suerbaum S., Michetti P.: *Helicobacter pylori* infection. N. Engl. J. Med., 2002; 347: 1175-1186

[110] Tankovic J., Lascols C., Sculo Q., Petit J.C., Soussy C.J.: Single and double mutations in *gyrA* but not in *gyrB* are associated with low- and high-level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother., 2003; 47: 3942-3944

[111] The Maastricht IV/Florence Consensus Report. Gut, 2012; 61: 646-664

[112] Thompson L., Cockayne A., Spiller R.C.: Inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on the growth of *Helicobacter pylori*: a possible explanation of the effect of diet on peptic ulceration. Gut, 1994; 35: 1557-1561

[113] Thung I., Aramin H., Vavinskaya V., Gupta S., Park J.Y., Crowe S.E., Valasek M.A.: Review article: the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. Aliment. Pharmacol. Ther., 2016; 43: 514-533

[114] Tian X.Y., Zhu H., Zhao J., She Q., Zhang G.X.: Diagnostic performance of urea breath test, rapid urease test, and histology for *Helicobacter pylori* infection in patients with partial gastrectomy: a meta-analysis. J. Clin. Gastroenterol., 2012; 46: 285-292

[115] Tomb J.F., White O., Kerlavage A.R., Clayton R.A., Sutton G.G., Fleischmann R.D., Ketchum K.A., Klenk H.P., Gill S., Dougherty B.A., Nelson K., Quackenbush J., Zhou L., Kirkness E.F., Peterson S.: The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature, 1997; 388: 539-547

[116] Torres J., Camorlinga-Ponce M., Pérez-Pérez G., Madrazo De La Graza A., Dehesa M., González-Valencia G., Muñoz O.: Increasing multidrug resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from children and adults in Mexico. J. Clin. Microbiol., 2001; 39: 2677-2680

[117] Tseng C.A., Wang W.M., Wu D.C.: Comparison of the clinical feasibility of three rapid urease tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Dig. Dis. Sci., 2005; 50: 449-452

[118] Vaira D., Vakil N., Menegatti M., van't Hoff B., Ricci C., Gatta L., Gasbarrini G., Quina M., Pajares Garcia J.M., van Der Ende A., van Der Hulst R., Anti M., Duarte C., Gisbert J.P., Miglioli M. i wsp.: The stool antigen test for detection of *Helicobacter pylori* after eradication therapy. Ann. Intern. Med., 2002; 136: 280-287

[119] Vaira D., Zullo A., Hassan C., Fiorini G., Vakil N.: Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: the time is now! Therap. Adv. Gastroenterol., 2009; 2: 317-322

[120] Vallve M., Vergara M., Gisbert J.P., Calvet X.: Single vs double dose of a proton pump inhibitor in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. Aliment. Pharmacol. Ther., 2002; 16: 1149-1156

[121] Varsalovic J., Shortridge D., Kibler K., Griffy M.V., Beyer J., Flamm R.K., Tanaka S.K., Graham D.Y., Go M.F.: Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. Antimicrob. Agents Chemother., 1996; 40: 477-480

[122] Villoria A.: Acid-related diseases: are higher doses of proton pump inhibitors more effective in the treatment of *Helicobacter pylori* infection? Gastroenterol. Hepatol., 2008; 31: 546-547

[123] Wang G., Taylor D.E.: Site-specific mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* confer two types of resistance to macrolide-lincomide-streptogramin B antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother., 1988; 42: 1952-1958

[124] Watanabe T., Tada M., Nagai H., Sasaki S., Nakao M.: *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. Gastroenterology, 1998; 115: 642-648

[125] Westblom T.U., Madan E., Midkiff B.R.: Egg yolk emulsion agar, a new medium for the cultivation of *Helicobacter pylori*. J. Clin. Microbiol., 1991; 29: 819-821

[126] Williams M.P., Pounder R.E.: *Helicobacter pylori*: from the benign to the malignant. Am. J. Gastroenterol., 1999; 94: S11-S16

[127] Załęski A., Banaszkiwicz A., Walkowiak J.: Butyric acid in irritable bowel syndrome. Prz. Gastroenterol., 2013; 8: 350-353

[128] Zhang H.M., Wakisaka N., Maeda O., Yamamoto T.: Vitamin C inhibits the growth of a bacterial risk factor for gastric carcinoma: *Helicobacter pylori*. Cancer, 1997; 80: 1897-1903

[129] Zhang M., Zhou Y.Z., Li X.Y., Tang Z., Zhu H.M., Yang Y., Chhetri J.K.: Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in elderly people in the Beijing region, China. World J. Gastroenterol., 2014; 20: 3635-3639

[130] Zhang M.M., Qian W., Qin Y.Y., He J., Zhou Y.H.: Probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy: a systemic review and meta-analysis. World J Gastroenterol., 2015; 21: 4345-4357

[131] Zsikla V., Hailemariam S., Baumann M., Mund M.T., Schaub N., Meier R., Cathomas G.: Increased rate of *Helicobacter pylori* infection detected by PCR in biopsies with chronic gastritis. Am. J. Surg. Pathol., 2006; 30: 242-248

[132] Zullo A., De Francesco V., Hassan C., Morini S., Vaira D.: The sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* eradication: a pooled-data analysis. Gut, 2007; 56: 1353-1357

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.